

A microscopic image of a plant stem cross-section, likely from a species in the Apocynaceae family. The image shows a central vascular cylinder surrounded by cortical and epidermal layers. The vascular cylinder contains several large, star-shaped secretory structures, possibly resin ducts, which are stained a deep purple. The surrounding tissue is stained a lighter blue-purple. The overall structure is circular with a distinct central core.

Keyla Rodrigues da Silva

**Estruturas secretoras e desenvolvimento floral
em espécies de Apocynaceae**

**Secretory structures and floral development in
species of Apocynaceae**

São Paulo

Keyla Rodrigues da Silva

**Estruturas secretoras e desenvolvimento floral em espécies
de Apocynaceae**

**Secretory structures and floral development in species of
Apocynaceae**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração em Botânica.

Orientador: Prof. Dr. Diego Demarco

São Paulo

- 2015 -

Silva, Keyla Rodrigues

Estruturas secretoras e desenvolvimento floral em espécies de Apocynaceae.
45 páginas

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica.

1. Estruturas secretoras; 2. Flores; 3. Anatomia; 4. Evolução; 5. Apocynaceae.
-
-

Comissão Julgadora:

Prof. Dr.

Prof. Dr.

Prof. Dr. Diego Demarco
Orientador

Dedicatória

Aos meus irmãos, Vinicius, Clarissa, Bárbara e Renata,

por serem minha certeza de

Amor e Alegria, no presente e no futuro.

Ao meu avô, Alcides e em memória de minha avó,

Nilda Marques, nos quais me espelho no

Amor, Fé, Força e Coragem.

Agradecimentos

A Deus, por mostrar o melhor caminho e pela força que me motiva todos os dias a buscar o melhor.

À Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior - Capes - pelo auxílio concedido durante o Mestrado.

Ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo.

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal, no qual desenvolvi todo meu trabalho e convivi com pessoas maravilhosas. Aos técnicos responsáveis.

Ao Professor Dr. Diego Demarco, pela orientação, por toda a paciência e dedicação ao ensinar todas as técnicas de laboratório e também a dedicação da pesquisa.

Aos amigos Mariana Victório Yasmin Hirao, Fernanda Cordeiro, Carolina Bastos, Rafael Cruz por todo apoio no início desta minha caminhada e pela amizade; por todos os momentos de alegria compartilhados.

A todos os colegas do Departamento que, de uma forma ou de outra, ajudaram nestes anos trabalho.

Sumário

RESUMO.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO GERAL	3
1. NECTÁRIOS, COLÉTERES E OSMÓFOROS EM <i>MANDEVILLA</i> E <i>DITASSA</i> (APOCYNACEAE)	9
2. CABEÇA DO ESTILETE E ATIVIDADE SECRETORA EM APOCYNACEAE	28
CONCLUSÕES FINAIS.....	45

RESUMO

A circunscrição de Apocynaceae gerou diversas discussões ao longo da história devido às semelhanças morfológicas de suas flores com as dos representantes de Asclepiadaceae e, atualmente, essas duas famílias foram unidas, sendo subdivididas em cinco subfamílias. Nesse novo conceito, Apocynaceae apresenta uma sinorganização não usual de estruturas florais e somente através de uma análise comparativa das diferentes subfamílias é possível compreender como esse grupo atingiu esse alto grau de elaboração floral. Neste contexto, o presente estudo teve o propósito de caracterizar anatomicamente as estruturas secretoras florais de três representantes de diferentes subfamílias: *Tabernaemontana*, *Mandevilla* e *Ditassa*. Essa análise comparativa demonstrou que os gêneros analisados apresentam diferentes estratégias para atração do polinizador e que houve uma alteração de estrutura e posição do nectário em Apocynoideae em relação à Asclepiadoideae. Enquanto o nectário de *Mandevilla* é uma projeção glandular ao redor do ovário, em *Ditassa* apenas a epiderme do tubo dos filetes é nectarífera. Essa alteração de posição está relacionada a diferentes estratégias de dispersão do pólen: mônades em *Mandevilla* e polínias em *Ditassa*. A dispersão do pólen em mônades ou em polínias depende diretamente da secreção produzida pela cabeça do estilete que apresenta forma e função distintas nas diferentes subfamílias. O estudo de *Tabernaemontana* e *Mandevilla* evidenciou que a cabeça do estilete produz uma secreção viscosa e fluida que auxilia na adesão do pólen ao polinizador durante a coleta do néctar no fundo do tubo floral, além de reter os grãos no nível do estigma, após a visitação de uma outra flor. Por outro lado em *Ditassa*, a cabeça do estilete produz uma secreção rígida que se adere às polínias e ao polinizador sendo transferida em conjunto durante a coleta do néctar que se encontra no androceu. Além dessas glândulas, coléteres e osmóforos foram encontrados em *Ditassa*, demonstrando uma maior diversidade de estruturas secretoras associada a uma maior elaboração da morfologia floral dentro do grupo.

Palavras-chave: estruturas secretoras, flores, anatomia, evolução, Apocynaceae.

ABSTRACT

Apocynaceae circumscription led to several discussions throughout its history because of the morphological similarities of their flowers with those of Asclepiadaceae and currently these two families are united, being subdivided into five subfamilies. In this new concept, Apocynaceae presents an unusual synorganization of floral structures and, only through a comparative analysis of different subfamilies, is possible to understand how this group reached this high degree of floral complexity. In this context, this study aimed to characterize anatomically the floral secretory structures of three representatives of different subfamilies: *Tabernaemontana*, *Mandevilla* and *Ditassa*. This comparative analysis showed that the analyzed genera have different strategies to attract the pollinator and that there was structural and position shifts in Apocynoideae in relation to Asclepiadoideae. While the *Mandevilla* nectary is a glandular projection around the ovary, in *Ditassa* only the epidermis on the filaments tube is nectariferous. This change of position is related to different pollen dispersal strategies: monads in *Mandevilla* and pollinia in *Ditassa*. The pollen dispersal in monads or pollinia depends directly on the secretion produced by the style head which has distinct shape and function in the different subfamilies. The study of *Tabernaemontana* and *Mandevilla* showed that the style head produces a viscous and fluid secretion that aids in the adhesion of pollen to the pollinator, while collecting nectar at the bottom of the floral tube, and retaining the grains in the stigma level after the visitation of another flower. On the other hand, the style head of *Ditassa* produces a rigid secretion that adheres to pollinia and to pollinator, being moved together while collecting nectar which is in androecium. In addition to these glands, colleters osmophores were found in *Ditassa*, demonstrating a greater diversity of secretory structures associated with a further elaboration of floral morphology within the group.

Keywords: secretory structures, flowers, anatomy, evolution, Apocynaceae.

Introdução geral

Os representantes de Apocynaceae apresentam uma distribuição principalmente tropical e subtropical e, em menor escala, nas regiões temperadas, sendo que no Brasil, ocorrem 86 gêneros pertencentes às subfamílias Rauvolfioideae, Apocynoideae e Asclepiadoideae (Barroso 1986; Endress & Bruyns 2000).

Geralmente as flores dos representantes de Apocynaceae, apresentam inflorescência determinada, mas às vezes ocorrem como indeterminada e ocasionalmente reduzida a uma única flor, terminal ou axilar. As flores são usualmente pentâmeras, actinomorfas, com cálice gamossépalo, podendo possuir coléteres; pétalas unidas, formando o tubo da corola e estames com filetes curtos, às vezes, conatos e sempre adnatos à corola, com anteras muitas vezes adnatas a cabeça dos estiletos, o gineceu é bicarpelar, geralmente apocárpico (Woodson & Moore 1938; Fallen 1986; Judd *et al.* 2002).

Muito embora não seja facilmente compreensível como as Asclepiadoideae atingiram o mais alto grau de complexidade floral de todas as eudicotiledôneas, através de uma avaliação conjunta das demais subfamílias de Apocynaceae é possível perceber a gradação morfológica que gerou uma sinorganização não usual de partes e órgãos de diferentes categorias que conduziram à origem de novos órgãos, que não são encontrados simultaneamente em nenhuma outra família de angiospermas (Kunze 1991; Endress 1994). Da corola e do androceu surgiu a corona (Figura 1A) e um complicado sistema de canais para deposição do néctar; do androceu e gineceu formou-se o ginostégio, através de uma adnação pós-gênita da antera na base da cabeça dos estiletos (Figura 1B), e o polinário, formado por duas polínias mais o translador (Figura 1C). O polinário surgiu com o estabelecimento do ginostégio, pois este é produzido em parte pelo androceu e parte pelo gineceu (Endress 1994). Os filetes em Asclepiadoideae são unidos formando o tubo dos filetes, sendo que as anteras são livres, mas posgenitamente adnatas à porção inferior da cabeça dos estiletos através do retináculo, originando o ginostégio e um

complexo sistema de polinização (Fallen 1986; Kunze 1991; Endress 1994; Endress & Bruyns 2000). O translador é secretado pela epiderme da cabeça dos estiletos (Endress 1994) e consiste de um corpúsculo e duas caudículas, compostos por uma mistura de materiais lipofílicos e hidrofílicos (Fahn 1990). Nas Asclepiadoideae, o translador é uma secreção sólida que se adere ao inseto, cujo surgimento foi um evento singular na história evolutiva do grupo (Kunze 1994).

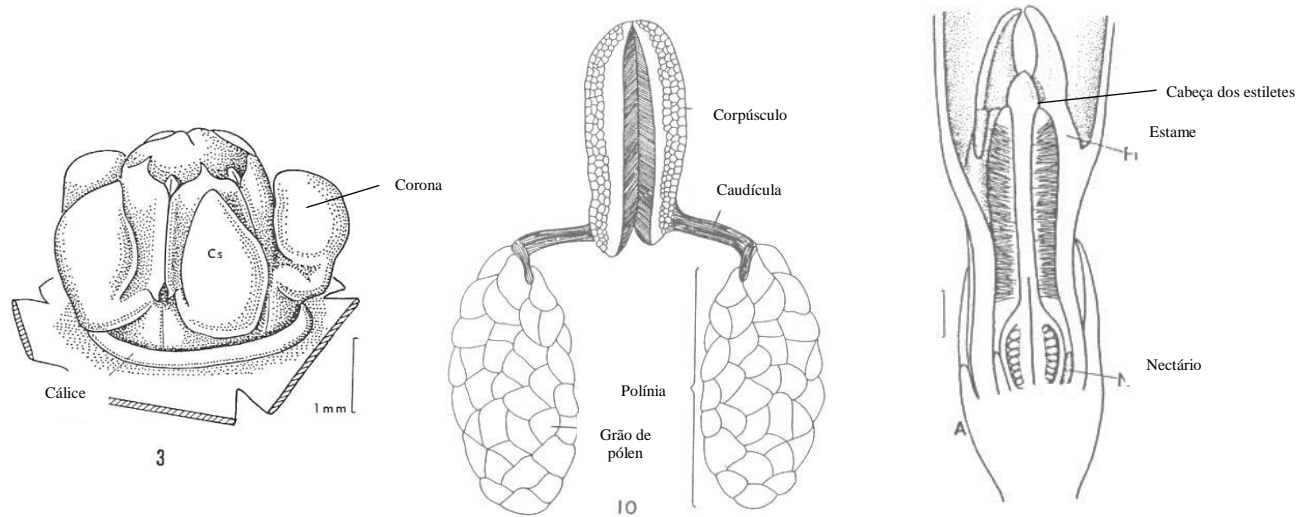


Figura 1. A. Flor de *Pachypodium succulentum* (Endress & Bruyns 2000). B. Polinário de *Asclepias curassavica* (Fahn 1990). C. Flor de *Sarcostemma* sp. (Kunze & Liede 1991).

1. Estruturas secretoras florais

As flores desta família possuem uma grande diversidade de estruturas secretoras, tais como epiderme que reveste a cabeça dos estiletos, coléteres, tricomas, idioblastos, nectários, laticíferos e osmóforos (Woodson & Moore 1938; Fallen 1986; Thomas 1991; Demarco 2005, 2008), algumas delas com reconhecida importância taxonômica e filogenética (Woodson & Moore 1938; Demarco 2005), além de representarem o sistema de defesa floral e permitirem compreender os mecanismos ou estratégias evolutivas, relacionados aos diferentes mecanismos de polinização observados (Demarco 2008).

A **cabeça dos estiletos** é coberta por epiderme secretora (Kunze 1993, 1994; Demarco 2005, 2008). A epiderme é responsável pela produção de uma secreção viscosa que, em algumas

subfamílias, forma o translador que irá se fixar ao corpo do polinizador, carregando consigo duas polínias provenientes de anteras diferentes (Endress 1994; Demarco 2005, 2008).

Poucos estudos anatômicos e histoquímicos desta estrutura foram realizados em espécies de Apocynaceae, destacando-se os realizados em *Asclepias*, *Blepharodon*, *Calotropis*, *Gonioanthea*, *Matelea* e *Oxypetalum* (Vijayaraghavan & Cheema 1977; Demarco 2005; Demarco 2014) e ainda não se conhece o mecanismo de secreção diferencial das células secretoras em espécies de Rauvolfioideae e Apocynoideae.

Os **nectários** são tecidos especializados que produzem néctar, mas podem diferir em estrutura, sendo que nectários não estruturados têm sido observados em algumas plantas (Fahn 1990). Nas Rauvolfioideae e Apocynoideae, eles apresentam-se em forma de um anel basal contínuo ao redor do ovário, frequentemente lobado (dois a cinco lobos) na porção apical (Woodson & Moore 1938). Sacarose, glicose e frutose são os constituintes mais comuns do néctar, mas mucilagem, aminoácidos, proteínas, íons minerais, vitaminas, enzimas e ácidos orgânicos também podem ser encontrados (Fahn 1990). Nas Asclepiadoideae, o néctar tem dupla função: recurso para o polinizador e indução da germinação dos grãos de pólen. Dentro da câmara estigmática, o néctar funciona como indutor de germinação e o néctar que flui dos nectários para recipientes formados pela corona ou base do tubo da corola, torna-se acessível ao polinizador (Kunze 1997).

Os **coléteres** são estruturas que produzem uma secreção viscosa que lubrifica e protege meristemas em início de desenvolvimento; a secreção pode ser constituída apenas por mucilagem (Fahn 1979) ou uma mistura de mucilagem e terpenos (Fahn 1990).

Para as Apocynaceae, os coléteres são emergências ou glândulas constantes (Thomas 1991) presentes na margem da lâmina foliar (Sennblad *et al.* 1998), base do pecíolo, brácteas, bractéolas e cálice, sendo registrados para 58 gêneros da família (Thomas 1991). Os coléteres das partes vegetativas podem ocupar posição interpeciolar ou intrapeciolar (Apezzato-da-Glória & Estelita 2000).

Dentre todas as estruturas secretoras florais, o **osmóforo** (ou glândula de perfume) é a menos conhecida em termos de estrutura e atividade secretora. Eles são apenas citados para flores de Apocynaceae (Endress 1994; Torres & Galetto 1998; Plachno *et al.* 2010), e foram descritos apenas em *Ceropegia elegans* Wall. (Vogel 1990) e em *Orbea variegata* Haw. e *Boucerosia indica* (Wight.& Arn) Plowes (Plachno *et al.* 2010).

Apesar dessa grande diversidade de estruturas secretoras, dentre os caracteres anatômicos presentes em Apocynaceae, apenas três possuem ocorrência universal na família: epiderme secretora da cabeça dos estiletos, laticíferos e floema intraxilemático (Metcalf & Chalk 1950; Fallen 1986).

A investigação morfológica sempre esteve associada aos estudos relacionados à ecologia da polinização e às análises filogenéticas, devido à riqueza de dados gerados a partir deste tipo de investigação; contudo, estes estudos geralmente referem-se apenas à morfologia e não contemplam a investigação anatômica. Através de uma análise anatômica comparativa é possível se compreender as alterações evolutivas que ocorreram nos diferentes grupos e culminaram nas elaboradas flores das Asclepiadoideae e nos complexos mecanismos de polinização.

Para isso, *Ditassa*, *Mandevilla* e *Tabernaemontana* foram investigadas nesse trabalho devido à sua ocorrência (Wanderley *et al.* 2005) e posicionamento taxonômico nas diferentes subfamílias brasileiras.

Referências

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B & ESTELITA, MEM 2000 Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). Revista Brasileira de Botânica 23:113-120.
- BARROSO, GM 1986 Sistemática de angiospermas do Brasil. v. 3, Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária.

- DEMARCO, D 2005 Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon* Decne. (Apocynaceae *s.l.*). Campinas, Tese de Mestrado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- DEMARCO, D 2008 Glândulas de órgãos vegetativos aéreos e florais de espécies de Asclepiadeae (R.Br.) Duby (Asclepiadoideae, Apocynaceae) de Mata Atlântica do estado de São Paulo. Campinas, Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- DEMARCO, D 2014 Secretary tissues and the morphogenesis and histochemistry of pollinarium in flowers of Asclepiadeae (Apocynaceae). *International Journal of Plant Sciences* 175:.
- ENDRESS, PK 1994 Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge, University Press.
- ENDRESS, ME & BRUYNS, PV 2000 A revised classification of Apocynaceae *s.l.* The *Botanical Review* 66:1-56.
- FAHN, A 1979 Secretary tissues in plants. London, Academic Press.
- FAHN, A 1990 Plant anatomy. 4th ed., Oxford, Pergamon Press.
- FALLEN, ME 1986 Floral structure in the Apocynaceae: morphological, functional and evolutionary aspects. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 106:245-286.
- JUDD, WS; CAMPBELL, CS; KELLOGG, EA; STEVENS, PF & DONOGHUE, MJ 2002 Plant systematics: a phylogenetic approach. 2nd ed., Sunderland, Sinauer Associates.
- KUNZE, H 1991 Structure and function in asclepiad pollination. *Plant Systematics and Evolution* 176:227-253.
- KUNZE, H 1993 Evolution of the translator in Periplocaceae and Asclepiadaceae. *Plant Systematics and Evolution* 185:99-122.
- KUNZE, H 1994 Ontogeny of the translator in Asclepiadaceae *s.str.* *Plant Systematics and Evolution* 193:223-242.
- KUNZE, H 1997 Corona and nectar system in Asclepiadinae (Asclepiadaceae). *Flora* 192:175-183.
- KUNZE, H & LIEDE, S 1991 Observations on pollination in *Sarcostemma* (Asclepiadaceae). *Plant Systematics and Evolution* 178:95-105.

- METCALFE, CR & CHALK, L 1950 Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses. 2 v., Oxford, Clarendon Press.
- PLACHNO, BJ; SWIATEK, P; SZYMCZAK, G 2010 Can a stench be beautiful? – Osmophores in stem-succulent stapeliads (Apocynaceae – Asclepiadoideae – Ceropegieae - Stapeliinae). *Flora* 205: 101-105
- SENNBLAD, B; ENDRESS, ME & BREMER, B 1998 Morphology and molecular data in phylogenetic fraternity: the tribe Wrightieae (Apocynaceae) revisited. *American Journal of Botany* 85:1143-1158.
- THOMAS, V 1991 Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. *Annals of Botany* 68:287-305.
- TORRES, C & GALETTO, L 1998 Patterns and implications of floral nectar secretion, chemical composition, removal effects and standing crop in *Mandevilla pentlandiana* (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 127:207-223.
- VIJAYARAGHAVAN, MR & CHEEMA, K 1977 Ontogenetical and histochemical studies on the translator apparatus in *Calotropis procera* R.Br. I. The retinaculum. *Acta Histochemica* 59:15-20
- VOGEL, S 1990 The role of scent glands in pollination. On the structure and function of osmophores. English translation by J.S. Bhatti, New Delhi, Amerind Publishing.
- WANDERLEY, MGL; SHEPHERD, GJ; MELHEM, TS & GIULIETTI, AM 2005 *Flora fanerogâmica do estado de São Paulo*. v. 4, São Paulo, RiMa.
- WOODSON, RE Jr. & MOORE, JA 1938 The vascular anatomy and comparative morphology of Apocynaceae flowers. *Bulletin of the Torrey Club* 65:135-166.

Capítulo I

Nectários, coléteres e osmóforos em *Mandevilla* e *Ditassa*

(Apocynaceae)

Capítulo 1

Nectários, coléteres e osmóforos em *Mandevilla* e *Ditassa* (Apocynaceae)

Introdução

As flores das Apocynaceae possuem uma grande diversidade de estruturas secretoras, tais como epiderme que reveste a cabeça dos estiletos, coléteres, tricomas, idioblastos, nectários, laticíferos e osmóforos (Woodson & Moore 1938; Fallen 1986; Thomas 1991), algumas delas com reconhecida importância taxonômica e filogenética (Woodson & Moore 1938), além de representarem o sistema de defesa floral e permitirem compreender os mecanismos ou estratégias evolutivas, relacionados aos diferentes mecanismos de polinização observados (Demarco 2008).

Embora as Apocynaceae apresentem diversas estratégias de dispersão do pólen e uma morfologia floral bastante complexa, algumas estruturas secretoras permitem-nos compreender as alterações que ocorreram ao longo da história evolutiva do grupo, que gradualmente elevaram a complexidade da estrutura floral como um todo, tais como a cabeça dos estiletos em relação ao modo de dispersão do pólen; a localização do nectário e o local de acúmulo do néctar em relação às diferentes síndromes de polinização, entre outros (Fallen 1986; Kunze 1991).

Além dessas estruturas secretoras diretamente relacionadas com a polinização, os representantes de Apocynaceae apresentam outras glândulas com função de proteção ou atração de polinizadores, como coléteres, laticíferos e osmóforos (Thomas 1991; Demarco *et al.* 2006; Demarco & Castro 2008; Vogel 1990).

Esse trabalho propõe investigar a estrutura dos nectários, coléteres e osmóforos florais de duas espécies de Apocynaceae pertencentes às subfamílias Apocynoideae e Asclepiadoideae, relacionando com seus aspectos evolutivos e ecológicos.

Material e métodos

O material de estudo foi obtido foram coletadas na Serra do Cipó – Santa do Riacho/MG, sendo que os locais de coleta dos indivíduos foram registrados pelo aparelho GPS, coordenadas UTM (setor 23k), *M. tenuifolia* 653121 – 7871392 e *D. gracilis* 653161 – 7871364 e as coletas foram realizadas nos meses de março de 2012 e março de 2013. O material testemunha foi identificado pelo Dr. André Olmos Simões da Universidade Estadual de Campinas. De acordo com o levantamento realizado (Wanderley *et al.* 2005) e observação de exsiccatas em herbários,

as espécies selecionadas são *Ditassa gracilis* Hand-Mazz. e *Mandevilla tenuifolia* (J.C. Mikan) Woodson.

Preparação das amostras para microscopia de luz

Para a caracterização estrutural e análise histoquímica do exsudato, o material coletado foi fixado em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e em formalina neutra tamponada (Lillie 1965). Estes materiais foram mantidos em bomba de vácuo e estocados em etanol 70%. Botões florais e flores adultas foram isolados e desidratados em série butílica (álcool butílico terciário), incluídos em parafina e seccionados transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo. Os cortes seriados foram corados com azul de astra e safranina (Gerlach 1984) e as lâminas montadas com resina sintética.

Preparação das amostras para microscopia eletrônica de varredura

Para o estudo micromorfológico das glândulas, flores em diferentes estádios de desenvolvimento foram fixadas em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e estocadas em etanol 70%. Após o isolamento das peças, o material foi seco pelo método de ponto crítico, metalizado com ouro e analisado em microscópio eletrônico de varredura (MEV).

Resultados

A partir das análises da anatomia e micromorfologia floral foram observadas muitas similaridades entre as espécies, especialmente no que se refere à ocorrência de estruturas secretoras. A análise anatômica da flor em pré-antese e antese mostrou que a produção dos diferentes tipos de secreção, em maior ou menor grau, atribui-se principalmente à presença de células da epiderme secretora, e também de parênquima com parede celular primária bastante fina, citoplasma denso e núcleo evidente.

Nectário

Os nectários de *Mandevilla* são formados por duas projeções adjacentes aos ovários e dispostas alternas a eles (Fig. 1, 4, 5). Em secções transversais, observa-se que na base dessas glândulas ocorrem projeções laterais que formam um “encaixe” no espaço formado entre os dois ovários (Fig. 5).

A epiderme do nectário não é secretora e apresenta estômatos apenas na porção apical da glândula (Fig. 2, 3, 8). O parênquima é nectarífero, sendo responsável por toda a produção do

néctar. Ele é composto por células de tamanho pequeno e de formato não muito homogêneo, sem presença de espaços intercelulares, de paredes finas, com citoplasma de coloração rosa e de aspecto denso e com núcleo relativamente grande e um grande número de idioblastos com compostos fenólicos que se posicionam principalmente nas camadas subepidérmicas (Fig. 4, 5, 7, 8). Nota-se a presença de feixes vasculares muito ramificados em meio ao tecido secretor, sendo evidente a ocorrência de vascularização tanto de floema quanto de xilema desde a base ao ápice deste nectário (Fig. 6, 8).

A forma de liberação da secreção ocorre através de estômatos modificados localizados no ápice dos nectários (Fig. 2, 3). Esses estômatos apresentam câmaras subestomáticas muito pequenas e são formados por células-guarda com parede primária bastante espessa.

Em *Ditassa*, os nectários correspondem à epiderme das câmaras estigmáticas, localizadas no tubo dos filetes nas regiões interestaminais, ou seja, alternas às anteras (Fig. 9, 12). Além disso, as alas estaminais que formam cinco fendas lateralmente às anteras adjacentes, observa-se a ocorrência de um tecido secretor (Fig. 10). Esse tecido secretor está presente apenas na fenda estaminal apenas nos estágios intermediários de desenvolvimento do botão floral, degenerando antes da pré-antese.

Atrás das fendas estaminais encontram-se as câmaras estigmáticas, local também de tecido epidérmico secretor (Fig. 11, 12). As cinco câmaras estigmáticas são formadas pelo tubo estaminal (Fig. 13) através da conação dos filetes (Fig. 9,11-12). Estas regiões apresentam um tecido epidérmico especializado composto por uma camada de células secretoras com formato quadrangular, citoplasma de aspecto denso e núcleo evidente (Fig. 9-11). Além deste nectário primário, *Ditassa* apresenta também um nectário secundário localizado internamente à corona estaminal que também é composto exclusivamente por uma epiderme secretora (Fig. 14).

Coléter

Nas duas espécies estudadas, os coléteres são observados na face adaxial do cálice entre as sépalas (Fig. 17, 18), ocorrendo em média de cinco a seis unidades por flor. Todos os coléteres estudados são persistentes, sendo observados mesmo em flores em pós-antese.

Em *Mandevilla*, o coléter apresenta-se bifido ou ramificado, com epiderme formada por células levemente alongadas (Fig. 15, 19). A região central do coléter é formada por parênquima fundamental, bastante colapsado em coléteres maduros, observando-se claramente apenas alguns idioblastos com compostos fenólicos na camada subepidérmica (Fig. 17, 19).

Os coléteres são avascularizados e ressalta-se que a secreção observada foi principalmente nas fases iniciais do desenvolvimento da flor (Fig. 19).

Em *Ditassa*, o coléter apresenta-se íntegro, com a região basal composta por células epidérmicas secretoras de formato quadrangular e o restante, por células secretoras alongadas dispostas em paliçada, com paredes primárias finas e citoplasma com coloração vermelha (Fig. 16). O parênquima fundamental no coléter de *Ditassa* é formado por células isodiamétricas quando observadas em cortes transversais, com pouco ou nenhum espaço intercelular, citoplasma com coloração rosa e núcleo evidente (Fig. 18, 20). Esses coléteres também são avascularizados.

Nota-se que a secreção foi escassa ou não foi preservada nas preparações realizadas (Fig. 20).

Osmóforo

Em *Ditassa* foi confirmada a presença de osmóforo devido à ocorrência de perfume adocicado. Ainda com o material fresco, foi realizado teste com vermelho neutro, para identificação da presença de óleos voláteis, onde obteve-se resultado positivo na face adaxial dos lobos das pétalas (Fig. 21, 22).

As análises histológicas evidenciaram a presença de células secretoras papilosas fortemente coradas apenas na face adaxial dos lobos da corola (Fig. 23).

Nas fases de botão floral, fica mais evidente a observação que as duas ou três primeiras camadas subepidérmicas apresentam um formato mais alongado em relação às células das demais camadas (Fig. 23, 25-26). Essa configuração ocorre na região do ápice das pétalas, desaparecendo na região próxima à sua base, mais ou menos no ponto em que se observa a presença de tricomas tectores, onde as células assumem uma forma maior e citoplasma de coloração mais clara (Fig. 24). Nota-se que na fase de antese, a epiderme adaxial papilosa apresenta-se com conteúdo de coloração bastante intensa (Fig. 25-26).

ILUSTRAÇÕES

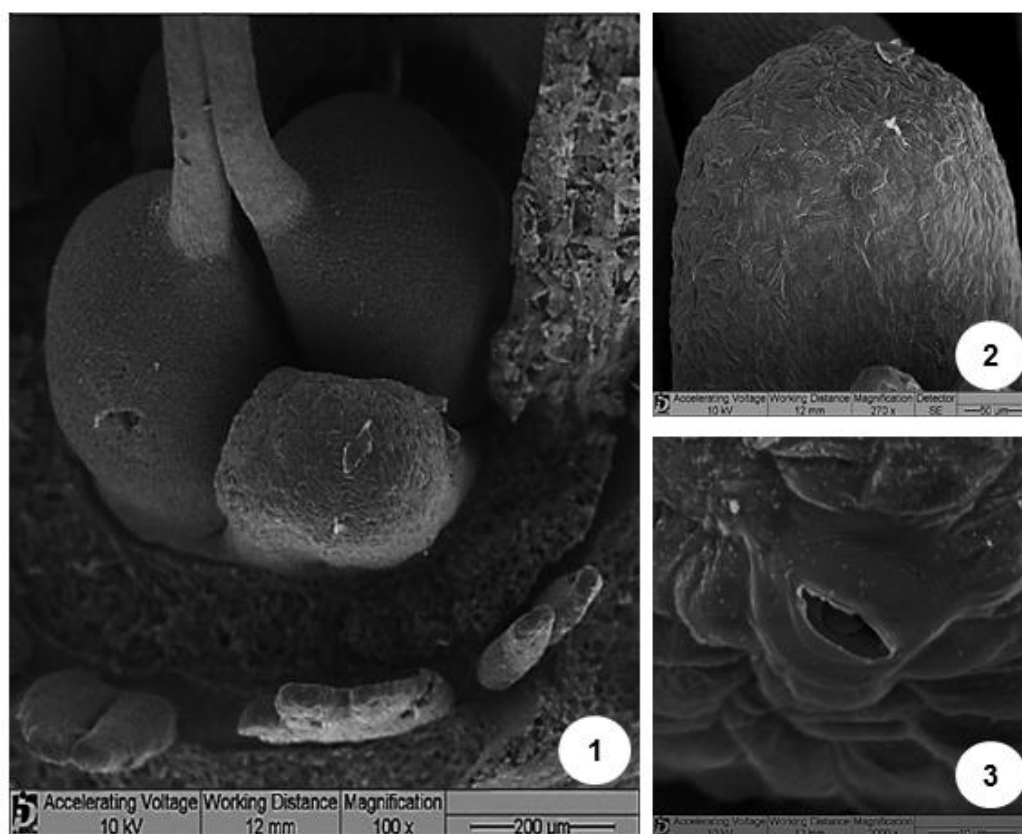


Fig. 1-3. Microscopia eletrônica de varredura. **1-3.** *Mandevilla tenuifolia* (J.C. Mikan) Woodson. **1.** Gineceu e nectário **2.** Nectário. **3.** Detalhe estômato do nectário. **Barras:** **1.** 200 µm; **2.** 50 µm; **3.** 10 µm.

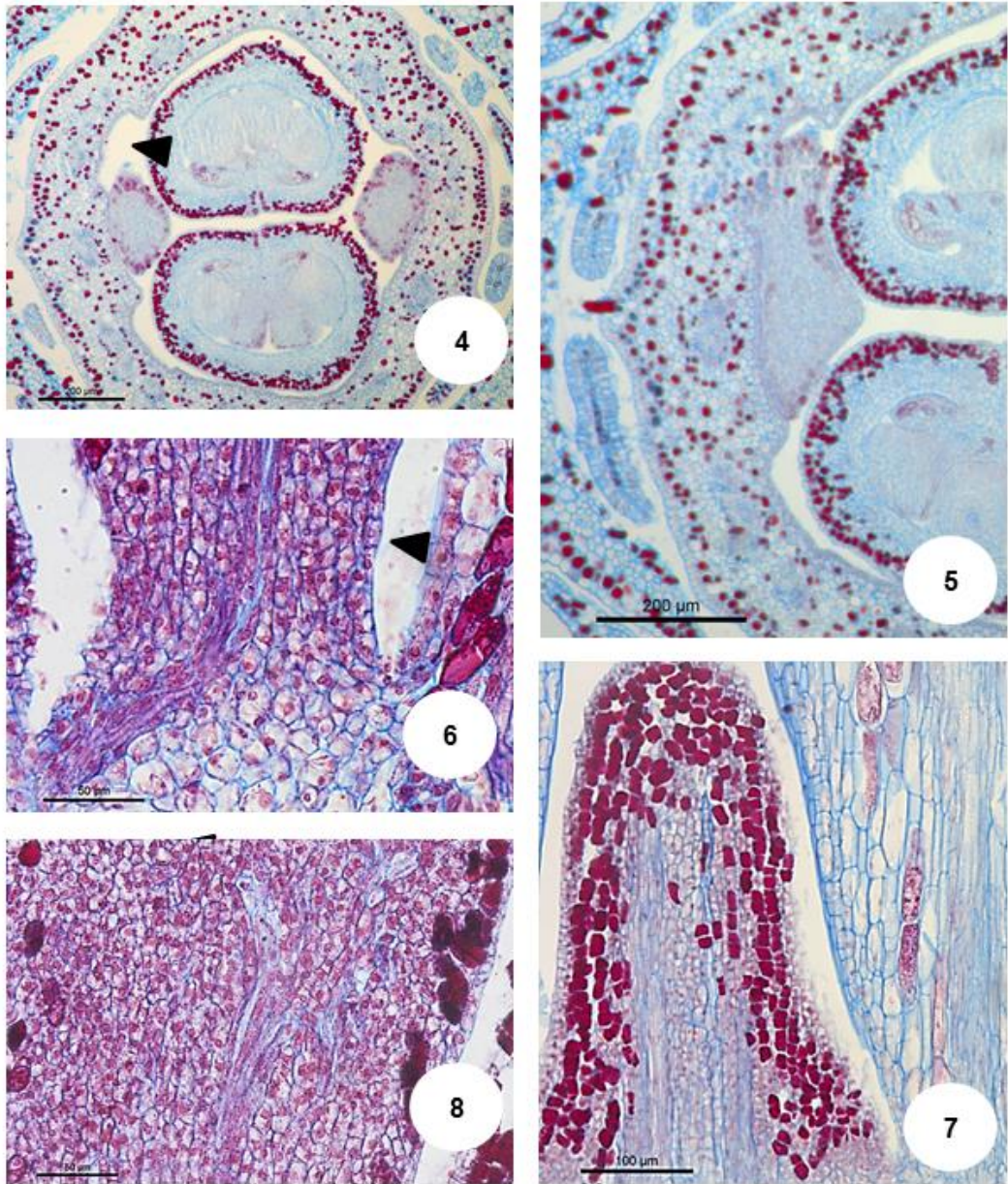


Fig. 4-7. Nectário de *Mandevilla tenuifolia* (J.C. Mikan) Woodson. **4-5.** Nectário em corte transversal. **6-8.** Nectário em corte longitudinal. **Barras:** **4-5.** 200 μm; **6,8.** 50 μm; **7.** 100 μm.

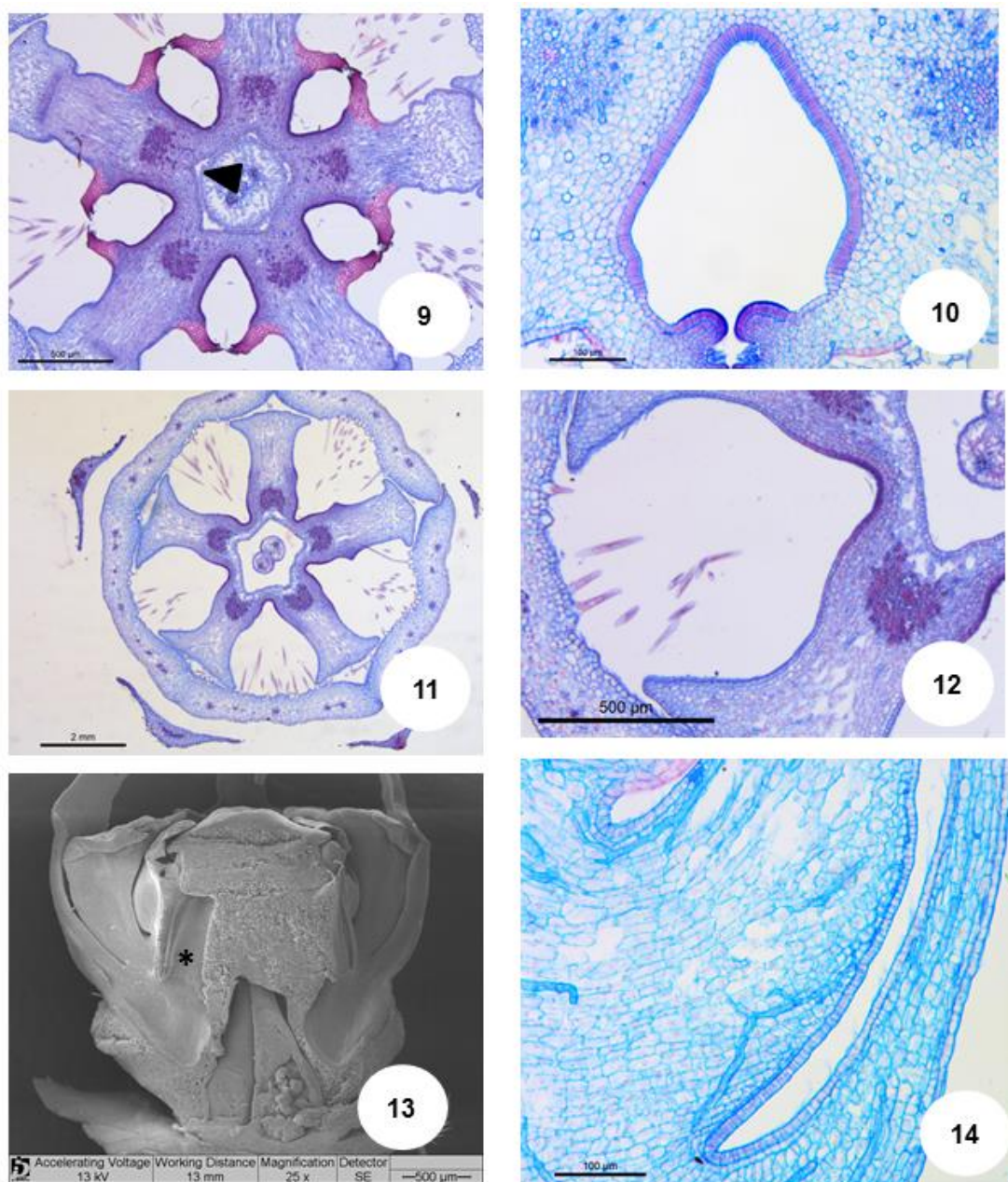


Fig. 9-14. Nectário (câmara estigmática) e fenda estaminal de *Ditassa gracilis* Hand-Mazz. **9-12.** Epiderme nectarífera na câmara estigmática. **10.** Tecido secretor na fenda estaminal. **13.** Microscopia eletrônica de varredura mostrando a câmara estigmática (asterisco) longitudinalmente. **14.** Nectário secundário na corona. **Barras: 9,12.** 500 µm; **10,14.** 100 µm; **11.** 2mm.

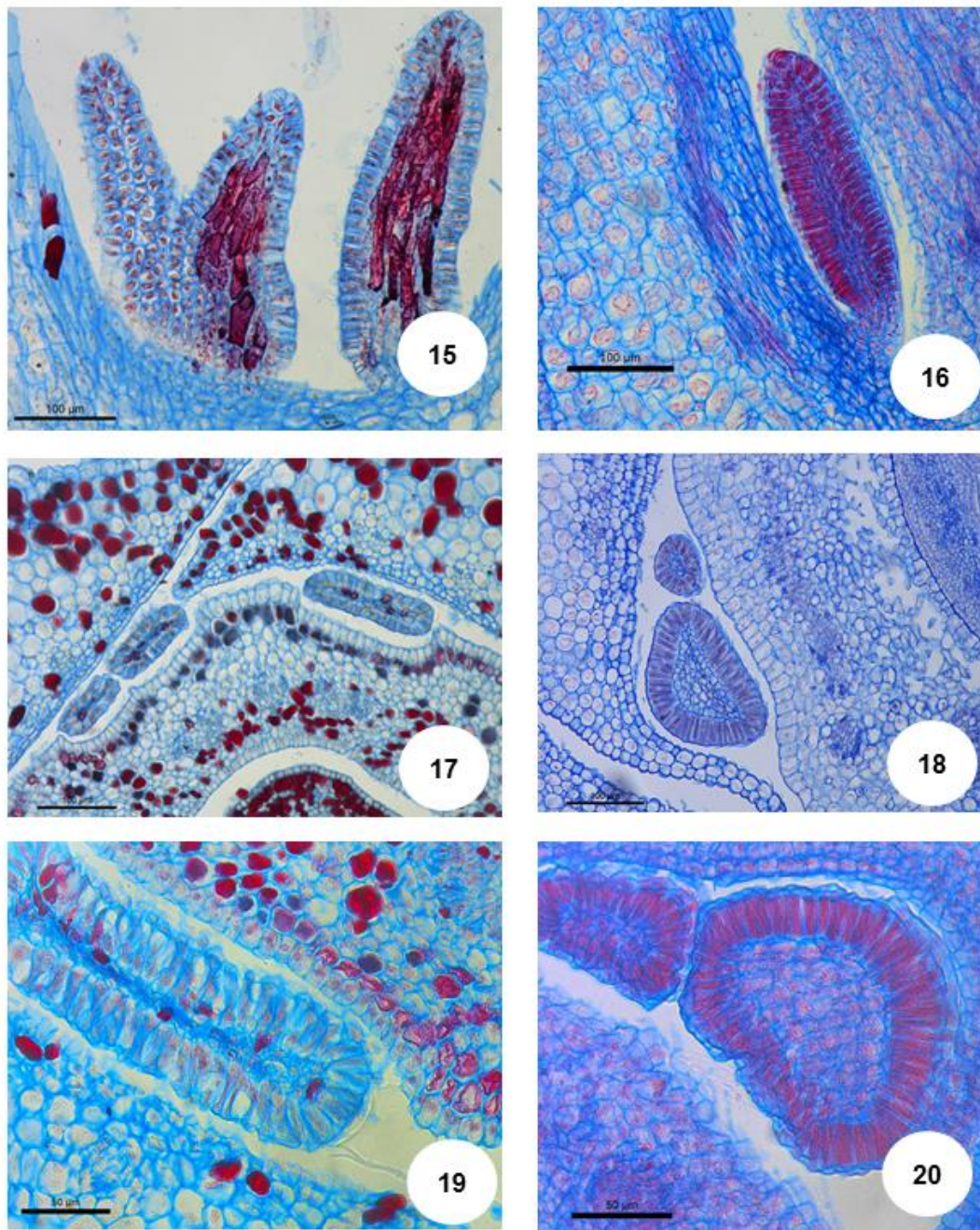


Fig. 15-20. Coléter calicinal. **15,17,19.** *Mandevilla tenuifolia* (J.C. Mikan) Woodson. **16,18,20.** *Ditassa gracilis* Hand-Mazz. **15,16.** Coléter em corte longitudinal. **17-20.** Coléter em corte transversal. **Barras:** 15-18. 100 µm; 19,20. 50 µm.

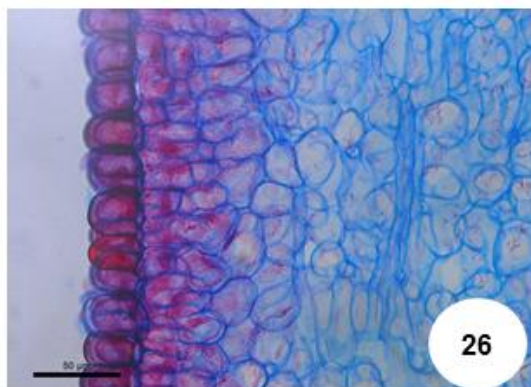
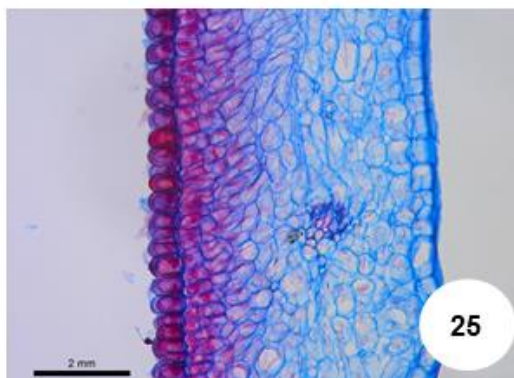
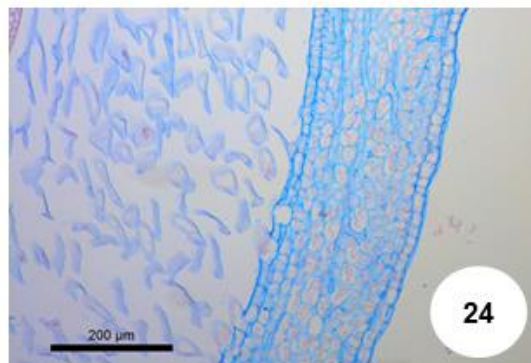
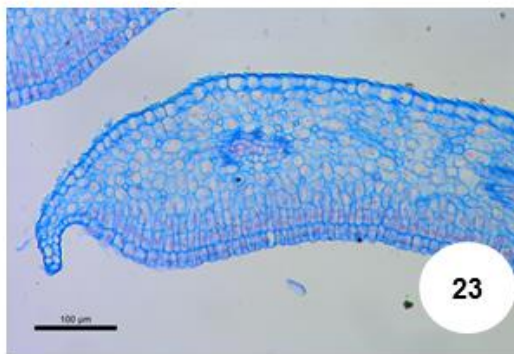


Fig. 21-26. Osmoforo de *Ditassa gracilis* Hand-Mazz. **21-22.** Teste de osmoforo com vermelho neutro. **23.** Papilas do ápice da pétala. **24.** Tricomas da base da pétala. **25-26.** Osmoforo **Barras:** **23.** 100 μm; **24.** 200 μm; **25.** 2 mm; **26.** 50 μm.

Discussão

Nectário

Os nectários podem ocorrer tanto na parte vegetativa quanto na reprodutiva da planta, são estruturas simples, que podem apresentar origens diferentes, sendo sua função relacionada com o processo de polinização. No caso dos florais, eles podem localizar-se em quase todas as partes da flor (Nicolson *et al.* 2007). Assim como, sua variada localização, a sua estrutura também é variável, sendo uma característica comum, a obtenção de alguma vantagem para a planta conferida pela visita dos consumidores, como por exemplo, defender a planta de predadores no caso de nectários extraflorais ou ser agente de polinização no caso de nectários florais, sendo essa a sua real importância ecológica, a interação da planta com o polinizador (Pacini *et al.* 2003).

A morfologia do nectário é muito variada e pode apresentar-se como uma estrutura complexa ou apenas como um tecido especializado produtor de néctar (Fahn 1979) e são divididos em dois grupos: os estruturados e os não estruturados. Nectários estruturados são facilmente localizados, histologicamente diferenciados onde o néctar é regularmente liberado; enquanto nectários não estruturados são áreas não diferenciadas que são capazes de secretar néctar esporadicamente (Fahn, 1979; Nicolson *et al.* 2007).

Os nectários também podem de exibir tendências gradativas de evolução, dentro de grupos de plantas, por serem homogêneos ou por serem muito variáveis dentro dos grupos, ou seja, os nectários podem ajudar a entender a evolução do grupo (Nicolson *et al.* 2007). Em geral, os nectários apresentam grande diversidade e essas variam conforme o tipo de polinizador, maneira pela qual pólen é carregado / descarregado e conforme o número de óvulos por ovário (Pacini *et al.* 2003).

O nectário em Apocynaceae não é considerada uma característica universal, sendo a sua ausência uma provável condição plesiomórfica, como já estudado em alguns representantes de Rauvolfioideae (Endress *et al.*, 1996).

Já *Mandevilla* e *Ditassa* apresentaram nectários, porém com morfologia, modo de liberação e localização bastante diferente.

Em *Mandevilla* foi localizada a presença de dois nectários adjacentes e alternos aos ovários. Representados por estruturas emergentes e com a presença de estômatos modificados exclusivamente na porção apical. Contrariando o já descrito na literatura que apontaram nas

Apocynoideae, a presença de nectários em forma de um anel basal contínuo ao redor do ovário, frequentemente lobado, de dois a cinco lobos, na porção apical (Woodson & Moore 1938, Marasca 2008, Martins 2008). As duas estruturas independentes são formadas por parênquima nectarífero, ocorrendo à liberação através dos estômatos modificados, sendo que este tipo de liberação já foi descrito para outras espécies de Apocynaceae (Fahn 1979, Marasca 2008, Martins 2008). A apresentação do néctar em *Mandevilla* acontece no fundo do tubo da corola, o néctar é liberado no ápice dos nectários e escoado, acumulando-se na base do tubo. O tamanho e a forma das flores são essenciais na determinação do acesso dos animais ao néctar e sua eficiência como polinizadores. Além de, como uma consequência da exposição, a concentração de néctar poder ser afetada diretamente pela profundidade da corola, uma vez que a concentração em flores com tubo da corola longo é menor do que nas flores com tubos mais curtos ou sem tubos, a partir do qual a água evapora-se rapidamente (Nicolson *et al.* 2007).

Em *Ditassa* foi localizado a presença de dois tipos de nectários: um correspondente à epiderme das câmaras estigmáticas, localizado no tubo dos filetes nas regiões alternas às anteras, e outro na corona estaminal. Nas Asclepiadoideae, o posicionamento dos nectários é controverso (Kunze 1991, 1997). A localização primária dos tecidos nectaríferos é no tubo dos filetes na região interestaminal (Kunze 1991, 1997), mas nectário na corona já foi descrito anteriormente para outras espécies de Asclepiadoideae (Demarco 2005, 2008).

Os dois tipos de nectários (primário e secundário) em *Ditassa* são compostos por tecido epidérmico secretor como já observado na literatura (Galil & Zeroni 1965; Kunze 1997; Galleto 2006; Demarco 2005, 2008).

Comumente, o néctar é liberado e permanece onde é produzido, ou seja, na superfície do nectário, sendo chamada de apresentação primária por Pacini *et al.* (2003). Por vezes, no entanto, o néctar é conduzido para outras peças florais e esta é então chamada de apresentação secundária (Pacini *et al.* 2003). Isto é geralmente realizado através de canais formados pelas estruturas florais que conduzem o néctar do seu local de produção para um local relativamente distante (Kunze 1997; Vogel 1998; Nicolson *et al.* 2007; Wiemer *et al.* 2012).

Nas Asclepiadoideae, o tecido nectarífero pode ocorrer em diversas regiões, mas sua localização primária, ou seja, que ocorre em todas as espécies da subfamília, é na região interestaminal do tubo dos filetes (Galil & Zeroni 1965; Christ & Schnepf 1985; Kunze & Liede 1991; Kunze 1991, 1995, 1997; Endress 1994; Vieira 1998; Endress & Bruyns 2000; Vieira & Shepherd 2002; Demarco 2005; Gomes 2006) e o seu néctar produzido tem dupla função: recurso para o polinizador e indução da germinação dos grãos de pólen (Kunze 1997; Wiemer *et*

al. 2012). Dentro da câmara estigmática, o néctar funciona como indutor da germinação dos grãos de pólen e o néctar que flui dos nectários para recipientes formados pela corona ou base do tubo da corola torna-se disponível para o polinizador (Kunze 1997).

Como as flores podem ser consideradas unidades de polinização, a sua estrutura funcional está intimamente relacionada aos seus mecanismos de polinização. (Nicolson *et al.* 2007). Em grande parte das Apocynaceae houve uma transferência da área de captura do pólen do gineceu para o androceu; isto parece ter iniciado nas Apocynoideae. Em *Mandevilla* e *Peltastes*, o pólen da probóscide do inseto polinizador é retirado por tricomas da face ventral da antera. Já nas Asclepiadoideae, a função de captura de pólen é exercida pela fenda estaminal que guia o inseto polinizador e retém a polínia em seu interior ou junto à câmara estigmática, cuja secreção induz a germinação do pólen (Bookman 1981; Kunze 1991; Endress 1994; Vieira 1998; Vieira & Shepherd 2002a; Demarco 2005, 2008, 2014).

Coléter

Os coléteres podem estar presentes em órgãos vegetativos e reprodutivos da planta e tratam-se de estruturas que secretam substâncias que servem para a proteção dos meristemas e órgãos em desenvolvimento, que podem estar presentes no pecíolo, lâmina foliar, bráctea, bractéola, cálice e corola (Fahn 1979; Thomas & Dave 1991, Apezato-da-Glória e Estelita 2000). Essa estrutura possui grande importância taxonômica, conforme sua posição e número (Woodson & Moore 1938), sendo essas variáveis diferentes entre os gêneros de Apocynaceae (Thomas & Dave 1991). Sua semelhança estrutural com outras estruturas secretoras levou estudiosos a confundi-los com nectários extraflorais e “escamas”, ou serem apenas definidas como “emergências glandulares” (Metcalf & Chalk 1950; Rao & Ganguli 1963; Fahn 1979). Porém tais estudos identificaram a origem dessas “projeções”, como sendo diversificada, nas diferentes espécies estudadas, sendo em alguns casos de origem do receptáculo ou de origem do cálice (Rao & Ganguli 1963).

Em Apocynaceae sua ocorrência é ampla, porém não universal (Endress & Bruyns 2000) e sua ocorrência já foi registrada nas cinco subfamílias (Endress & Bruyns 2000, Galleto 2006).

Thomas (1991) em um estudo de revisão da estrutura, função e filogenia do coléter em 40 famílias, mostrou que o coléter pode apresentar diversos formatos, além de presença ou ausência do tecido vascular. Nesse estudo o autor aponta como ocorrente a vascularização no coléter de algumas espécies de Apocynaceae, porém as duas espécies estudadas, não apresentou tal característica.

Nas duas espécies estudadas, os coléteres apresentam-se posicionados nas sépalas, assim como observado no restante da família (Endress & Bruyns 2000). Sua ocorrência pode ser em grupos ou de forma solitária entre as lacínias (Demarco 2008) e podem ser alternos, opostos ou contínuos às sépalas (Woodson & Moore 1938). Todos os coléteres calicinais observados na família até o momento são persistentes e encontrados na base do cálice (Thomas 1991; Thomas & Dave 1991,1994).

A epiderme secretora do coléter apresenta citoplasma com aparência densa e heterogênea, através da coloração vermelha da safranina, fato que demonstra grande quantidade de material de caráter ácido. Esta secreção em geral é composta exclusivamente ou em grande parte por mucilagem (Thomas 1991), além da presença de substâncias lipofílicas identificadas em muitas espécies da família (Mohan & Inamdar 1986; Kuriachen & Dave 1989; Subramanian *et al.* 1989; Thomas & Dave 1989; Apezato-da-Glória e Estelita 2000; Castro & Demarco 2008; Demarco 2008).

Os coléteres de *Mandevilla* e *Ditassa* liberam sua secreção para o meio externo sem que haja rompimento da parede celular e apenas um estudo de ultraestrutura poderá identificar especificamente o processo de liberação dessa secreção nessas espécies.

Nas duas espécies analisadas, os coléteres são persistentes, sendo observados na fase de pós-antese. Estudos realizados em 19 espécies de Apocynaceae descreveram a ocorrência de coléteres calicinais persistente inclusive durante a frutificação (Thomas e Dave 1991).

A secreção dos coléteres tem a função de proteger os meristemas, pois essa ao ser liberada, envolve todo o ápice caulinar (Thomas 1991). Aparentemente, a secreção dos coléteres no início do desenvolvimento floral tem como principal função, a de evitar o dessecamento e mais tarde a função de evitar a proliferação de microorganismos, já que sua atividade secretora ocorre durante todo o desenvolvimento floral e os coléteres estão localizados entre o cálice e a corola (Demarco 2008).

A presença de mucilagem na secreção dos coléteres, provavelmente impede o dessecamento das regiões meristemáticas florais e a ocorrência de lipídios evita a proliferação de fungos. Conforme estudo da atividade secretora dos coléteres de *Gonioanthea axillaris*, cujo exsudato apresentou-se exclusivamente mucilaginoso e com a presença de fungos nas flores em sua fase adulta (Demarco 2008).

Osmóforo

Além dos nectários e coléteres, outra estrutura secretora encontrada em *Ditassa* é o osmóforo. A ocorrência desta glândula de perfume em Apocynaceae é relativamente comum, havendo espécies com flores aromáticas em diferentes subfamílias, tais como *Aspidosperma* (Rauvolfioideae; Marcondes-Ferreira & Kinoshita 1996) e *Ceropegia* (Asclepiadoideae; Vogel 1990).

O osmóforo é uma estrutura a qual secreta substâncias voláteis de composição variável (Jürgens *et al.* 2010). Os principais componentes são terpenos e compostos fenólicos de baixo peso molecular que têm a função de atrair os polinizadores e podem ser produzidos exclusivamente pela epiderme, pela epiderme e parênquima subepidérmico ou exclusivamente pelo parênquima subepidérmico (Vogel 1990; Jürgens *et al.* 2010).

Com exceção do estudo realizado por Vogel (1990) em *Ceropegia elegans* Wall., os osmóforos de Apocynaceae foram estudados anatomicamente apenas em outras três espécies (Vogel 1990; Plachno *et al.* 2010). Nos demais representantes da família, esta estrutura é apenas citada, não havendo uma comprovação estrutural (Endress 1994; Demarco 2005; Marasca 2008). Os principais registros referem-se à descrição de perfume em trabalhos taxonômicos, além de alguns poucos estudos químicos (Stevens 1988; Vogel, 1990; Silva 1992; Marcondes-Ferreira & Kinoshita 1996; Rohrbeck *et al.* 2006; Setzer 2014).

Os osmóforos já foram amplamente estudados em Orchidaceae (Pridgeon & Stern 1985; Melo *et al.* 2010), porém ainda não sabemos se as espécies pertencentes a diferentes táxons de Apocynaceae apresentam osmóforos estruturalmente semelhantes nem a sua relação com a polinização. Alguns dados químicos foram feitos para as principais espécies comerciais (Rohrbeck *et al.* 2006; Heiduk *et al.* 2010), mas não permitem fazer qualquer relação filogenética no momento.

Em *Ceropegia*, o osmóforo foi encontrado na ponta das pétalas e é formado por epiderme e camadas subepidérmicas secretoras (Vogel 1962, 1990). Os osmóforos de *Bucerosia* consistem em uma epiderme papilosa e células subepidérmicas secretoras; por outro lado em *Orbea*, dois tipos de células secretoras epidérmicas estão presentes: as com a parede periclinal externa recoberta por estrias cuticulares e as que podem ou não ter estrias, nas quais microcanais bem desenvolvidos são observados (Plachno *et. al.* 2010).

No presente estudo, verificamos que o osmóforo possui epiderme papilosa em *Ditassa gracillis* responsável pela produção de um aroma adocicado marcante. Como sabemos, o tipo de aroma liberado pela flor está diretamente relacionado ao seu grupo de polinizadores, por isso, é necessário uma análise do período exato do dia em que os osmóforos estão ativos e a composição química das substâncias secretadas para compreender as relações ecológicas.

Algumas flores de Apocynaceae, assim como a *D. gracillis*, produzem aroma adocicado, enquanto outras produzem aroma fétido (Stevens 1988; Vogel 1990; Silva 1992; Marcondes-Ferreira & Kinoshita 1996; Setzer 2014). Sendo que os diferentes tipos de perfumes estão associados também a um tipo de coloração, como é o caso das flores das Ceropegieae sapromiiofílicas que apresentam colorações como, marrom escura, vermelha ou amarela, liberando um aroma caracteristicamente putrefato, conforme característica atrativa de seus polinizadores. Tal variação de cores pode ser devido ao fato de macrodípteras conseguirem discriminar cores e demonstrarem preferência por alguma cor específica (Meve & Liede 1994).

Em *Ditassa gracillis*, cujo aroma é intenso e adocicado e suas pétalas são brancas, o seu possível grupo polinizador deve ser *Hymenoptera*, pois na tribo Asclepiadeae, as flores são geralmente visitadas por abelhas e vespas (Jürgens *et al.* 2009). Enquanto nas Ceropegieae, em contraste, a polinização é caracteristicamente realizada por moscas (Vogel 1961, 1990; Heiduk *et al.* 2010).

Referências bibliográficas

- APEZZATO-DA-GLÓRIA B & ESTELITA, MEM 2000 Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* na *M. velutina* (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 23:113-120.
- DEMARCO, D 2005 Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon* Decne. (Apocynaceae s.l.). Tese de Mestrado. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- DEMARCO, D 2008 Glândulas de órgãos vegetativos aéreos e florais de espécies de Asclepiadeae (R.Br.) Duby (Asclepiadoideae, Apocynaceae) de Mata Atlântica do Estado de São Paulo. Campinas, Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- DEMARCO, D & CASTRO, M de M 2008 Laticíferos articulados anastomosados em espécies de Asclepiadeae (Asclepiadoideae, Apocynaceae) e suas implicações ecológicas. *Revista Brasileira de Botânica* 31:699-711.
- DEMARCO, D; KINOSHITA, LS & CASTRO, M de M 2006 Laticíferos articulados anastomosados – novos registros para Apocynaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 29:133-144.
- ENDRESS, PK 1994 *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge, University Press.
- ENDRESS, ME __, B. Sennblad, S. Nilsson, L. Civeyrel, M. W. Chase, S. Huysmans, E. Graftstroöm & B. Bremer. 1996. A phylogenetic analysis of Apocynaceae s. str. and some related taxa in Gentianales: A multidisciplinary approach. *Opera Bot. Belg.* 7: 59–102.
- ENDRESS, ME & BRUYNS, PV 2000 A Revised Classification of Apocynaceae *s.l.* *The Botanical Review* 66:1-56.
- FAHN, A 1979 *Secretory tissues in plants*. London, Academic Press Inc.
- FAHN, A 1990 *Plant anatomy*. 4th ed., Oxford, Pergamon Press.
- FALLEN, ME 1986 Floral structure in the Apocynaceae: morphological, functional and evolutionary aspects. *Botanische Jahrbücherfür Systematik* 106:245-286.

- FISHER, DB 1968 Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie* 16:92-96.
- GALETTO, L. 2006 Morfología y anatomía floral en especies de Apocynaceae-Asclepiadoidea. *Kurtziana* 32:5-11.
- GALIL, J. & ZERONI, M. 1965 Nectar system of *Asclepias curassavica*. *Botanical Gazette*. 126:144-148.
- GERLACH, D 1984 *Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung*. 3rd ed., Stuttgart, Georg Thieme.
- GREGORY, M & BAAS, P 1989 A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38: 125-174.
- HEIDUK, A.; BRAKE, I.; TOLASCH, T.; FRANK, J.; JÜRGENS, A.; MEVE, U. & DÖTTERL, S. 2010. Scent chemistry and pollinator attraction in the deceptive trap flowers of *Ceropegia dolichophylla*. *South African Journal of Botany* 76: 762-769.
- JOHANSEN, DA 1940 *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill.
- JÜRGENS A.; DÖTTERL, S.; LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2010 Floral scent composition in early diverging taxa of Asclepiadoideae, and Secamonoideae (Apocynaceae). *South African Journal of Botany* 76: 749–761.
- KUNZE, H 1997 Corona and nectar system in Asclepiadinae (Asclepiadaceae). *Flora* 192:175-183.
- LILLIE, RD 1965 *Histopathologic technic and practical histochemistry*. 3rd ed., New York, McGraw Hill.
- MARASCA, R.M. 2008 Estruturas secretoras em *Rauvolfia sellowii* Mull. Arg. (Apocynaceae, Rauvolfioideae, Vinceae). Dissertação de mestrado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- MARTINS, F.M. 2008 Glândulas foliares e florais em três espécies de Apocynaceae – Apocynoideae de cerrado. Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- McMANUS, J.F.A. 1948 Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, v. 23, p. 99-108.

- NICOLSON, SW; NEPI, M & PACINI, E 2007 Nectaries and nectar. Dordrecht, Springer.
- PEARSE, AGE 1985 Histochemistry: theoretical and applied. Vol. II, 4 ed., Edinburgh, C. Livingstone.
- RAO VS & GANGULI, A 1963 Studies in the floral anatomy of the Apocynaceae. Journal of the Indian botanical society V. 42 (3).
- SUBRAMANIAN, RB. MURUGAN, V. MOHAN, JSS. & INAMDAR, JA. 1989 Optical microscopic studies on the structure and secretion of resin glands in some Apocynaceae. Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci) 99:423-429.
- THOMAS, V 1991 Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. Annals of Botany 68:287-305.
- THOMAS, V & DAVE Y 1991 Comparative and phylogenetic significance of the colletes in the family Apocynaceae. Feddes Repertorium 102: 177-182 .
- VOGEL S. 1990 The role of scent glands in pollination. On the structure and function of osmophores. Translated by J.S. Bhatti, Amerind Publishing, New Delhi.
- WOODSON, R.E. Jr. & MOORE, J.A. 1938 The vascular anatomy and comparative morphology of Apocynaceae flowers. Bulletin of the Torrey Botanical Club 65:135-165.

Capítulo II

Cabeça do estilete e atividade secretora em Apocynaceae

Capítulo 2

Cabeça dos estiletos e atividade secretora em Apocynaceae

Introdução

Apocynaceae apresenta uma grande diversidade de estruturas secretoras, porém dentre as características anatômicas presentes na família, apenas três possuem ocorrência universal: epiderme secretora da cabeça dos estiletos, laticíferos e floema intraxilemático (Metcalf & Chalk, 1950; Fallen 1986).

O trabalho mais abrangente envolvendo a estrutura floral de espécies de Apocynaceae foi realizado por Woodson e Moore (1938), com o estudo da vascularização e da morfologia comparativa de flores de 39 gêneros e 59 espécies e posteriormente Fallen (1986) estudou a estrutura floral de 69 espécies de Apocynaceae, incluindo seu aspectos funcionais e evolutivos. Uma progressão na estrutura da cabeça dos estiletos dentro da família foi definida e quatro tipos básicos foram descritos com base na morfologia, histologia e complexidade funcional: I. cabeça indiferenciada morfologicamente e coberta por uma camada uniforme de epiderme secretora (alguns gêneros basais de Rauvolfioideae); II. um anel superior de tricomas longos, um corpo principal cilíndrico com epiderme secretora composta por células colunares curtas e uma coroa inferior de tricomas longos unidos (maioria das Rauvolfioideae); III. mesma organização do tipo II, mas com anteras adnatas à cabeça do estilete (Apocynoideae); IV. perda secundária das estruturas para captura do pólen na base da cabeça do estilete e do anel superior de tricomas, assemelhando-se superficialmente ao tipo I (demais subfamílias).

Poucos estudos anatômicos e histoquímicos desta estrutura foram realizados em espécies de Asclepiadoideae (Demarco 2014) e ainda não se conhece o mecanismo de secreção

diferencial das células secretoras em espécies de Rauvolfioideae e Apocynoideae, havendo a necessidade de estudos ontogenéticos para se analisar a atividade secretora das células deste tecido, o que possibilitará também analisar as modificações evolutivas deste tecido secretor em relação ao modo de dispersão do pólen e consequente sistema de polinização.

Esse trabalho se propõe a analisar as modificações evolutivas da cabeça do estilete na diferentes subfamílias brasileiras de Apocynaceae com base nas suas diferentes estruturas e modo de secreção.

Material e métodos

O material de estudo foi obtido na Serra do Cipó, município de Santana do Riacho/ MG e em Campinas. O material testemunha foi identificado pelo Dr. André Olmos Simões da Universidade Estadual de Campinas.

Espécies de estudo e subfamília

Tabernaemontana catharinensis A. DC. - Rauvolfioideae

Mandevilla tenuifolia (J.C. Mikan) Woodson - Apocynoideae

Ditassa gracilis Hand-Mazz. - Asclepiadoideae

Preparação das amostras para microscopia de luz e histoquímica

Para a caracterização estrutural e análise histoquímica do exsudato, o material coletado foi fixado em FAA (Johansen 1940) por 24 horas e em formalina neutra tamponada (Lillie 1965). Estes materiais foram mantidos em bomba de vácuo e estocados em etanol 70%. Botões florais e flores adultas foram isolados e desidratados em série butílica (álcool butílico terciário), incluídos em parafina e seccionados transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo. Os cortes seriados foram corados com azul de astra e safranina (Gerlach 1984).

Os cortes obtidos do material fixado serão submetidos a diferentes tratamentos para a detecção das principais classes de compostos químicos que constituem a secreção. Os testes, com a realização dos respectivos controles, serão aplicados para detecção de: lipídios (Pearse 1985), compostos fenólicos (Johansen 1940;), alcalóides, polissacarídeos (McManus 1948; Gregory & Baas 1989) e proteínas (Fisher 1968).

Resultados

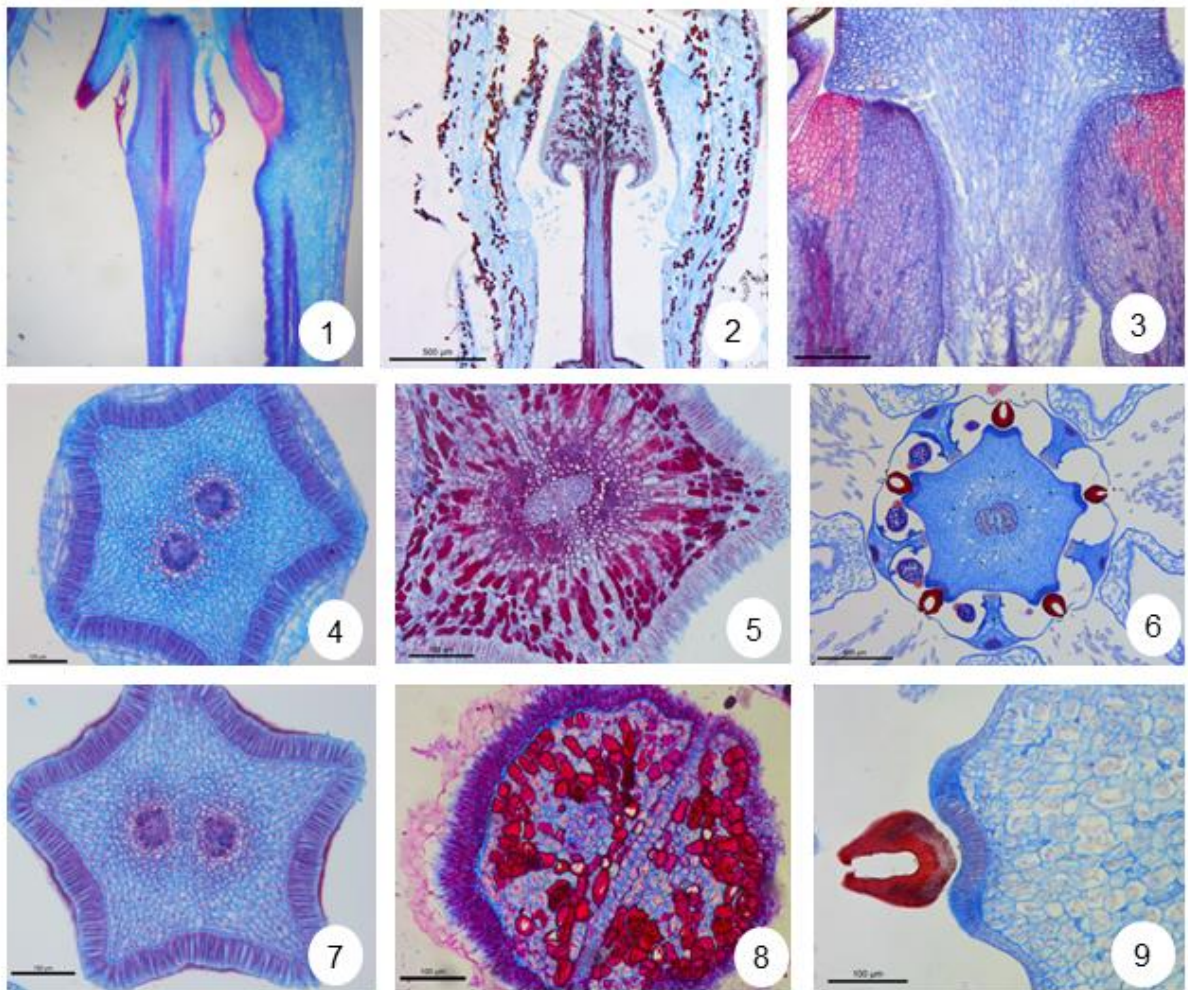
A conação entre os estiletes forma a cabeça dos estiletes em sua região mais apical, sendo que nas três espécies estudadas, a cabeça dos estiletes assume um formato cônico tendendo a esférico quando observada em secções longitudinais (Fig. 1, 2, 3) e em cortes transversais a cabeça dos estiletes apresenta-se em formato pentagonal nas três espécies investigadas (Fig. 4, 5, 6). No ápice do gineceu, acima da cabeça dos estiletes, observam-se duas projeções apicais em *Tabernaemontana* e *Mandevilla* que não se fundem (Fig. 2, 10, 14-15).

Epiderme secretora está presente na cabeça dos estiletes das três espécies e é facilmente distinguível dos demais tecidos devido às células de paredes primárias bastante finas, formato bastante longo e conteúdo citoplasmático de coloração vermelha (Fig. 7, 8, 9).

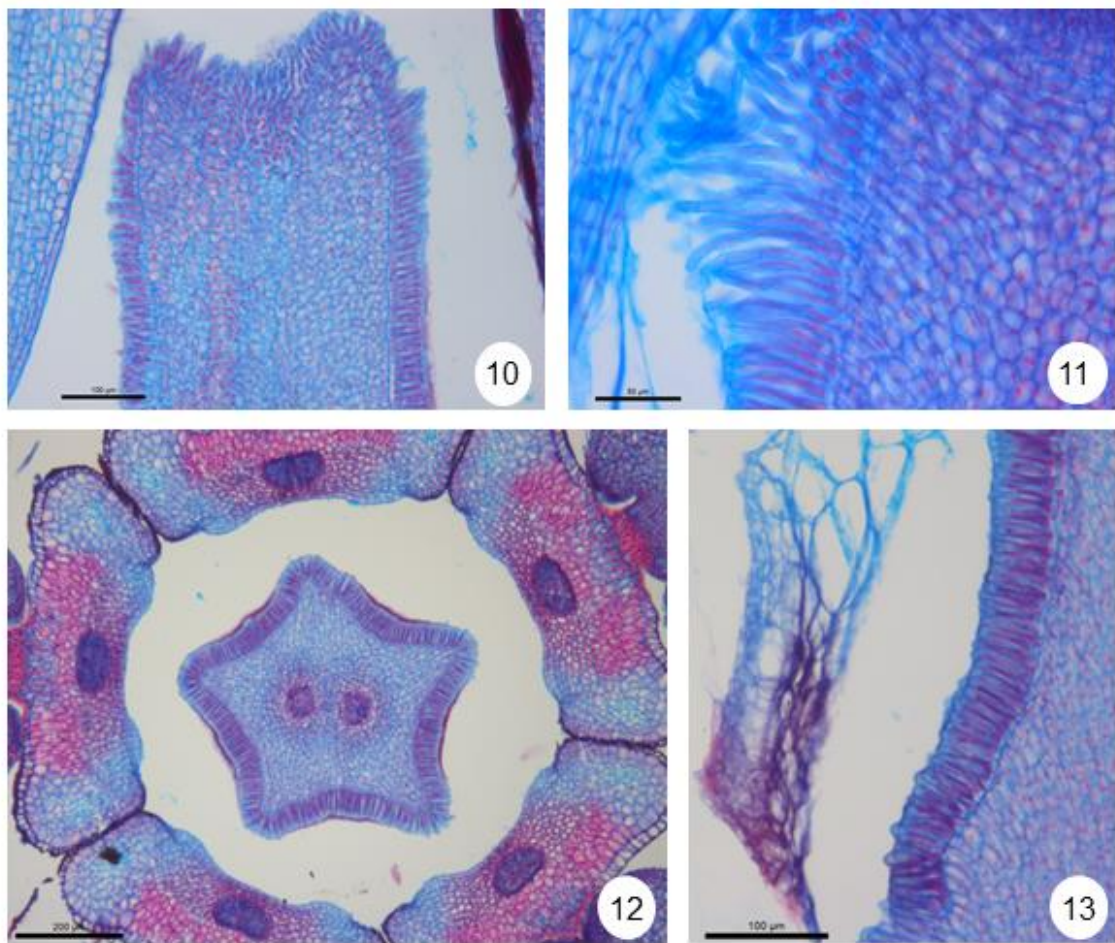
Foi observado que em *Tabernaemontana* e *Mandevilla* que a epiderme da cabeça dos estiletes é formada apenas por células alongadas, livres entre si, com paredes finas e conteúdo citoplasmático de aspecto denso com um vacúolo relativamente grande, durante toda a fase secretora, além de aparente continuidade em torno dos estiletes, com fase secretora a partir da pré-antese (Fig. 10, 11, 14, 15). A secreção é viscosa, porém fluida nas duas espécies (Fig. 12, 13, 16, 17).

Em *Ditassa*, a cabeça dos estiletos apresenta epiderme secretora formada por células em paliçada e citoplasma de aspecto bastante denso, porém não em toda a extensão, localizando-se apenas nas regiões que intercalam as anteras (Fig. 18-22). A atividade secretora da cabeça dos estiletos inicia precocemente durante o desenvolvimento do botão floral, nota-se que nos primeiros estágios do desenvolvimento floral, esta secreção possui aspecto bastante rígido e já forma o corpúsculo por completo (Fig. 19, 20). Nota-se no corpúsculo “estriações” provenientes da secreção individual de cada célula, originando o translador (Fig 20), que consiste de um corpúsculo e duas caudículas (Fig. 21, 22). Nota-se que o corpúsculo foi o primeiro a se formar e, em seguida, as caudículas que se aderem às polínias de duas anteras adjacentes (Fig. 21, 22).

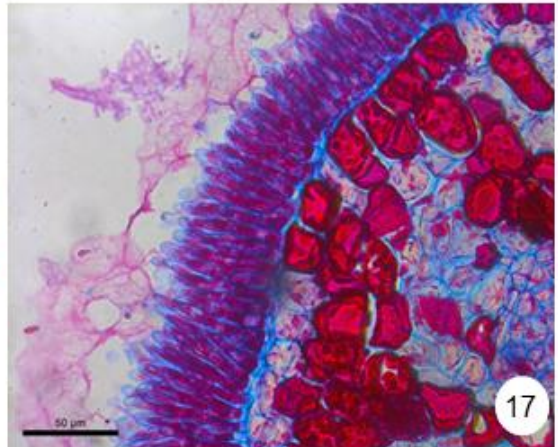
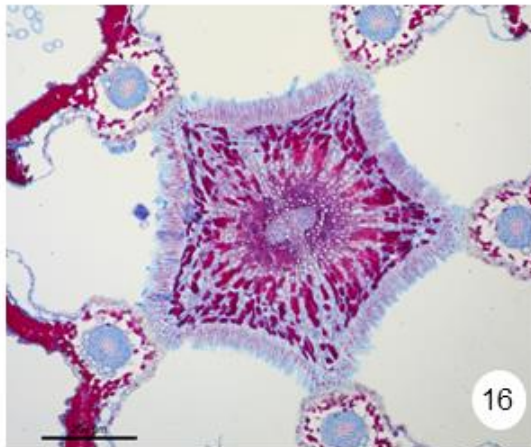
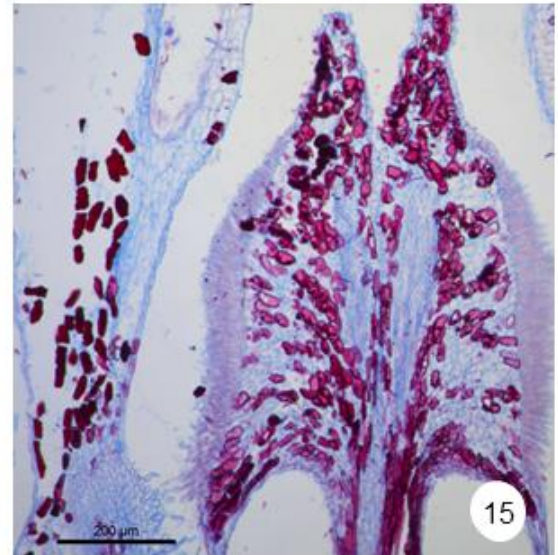
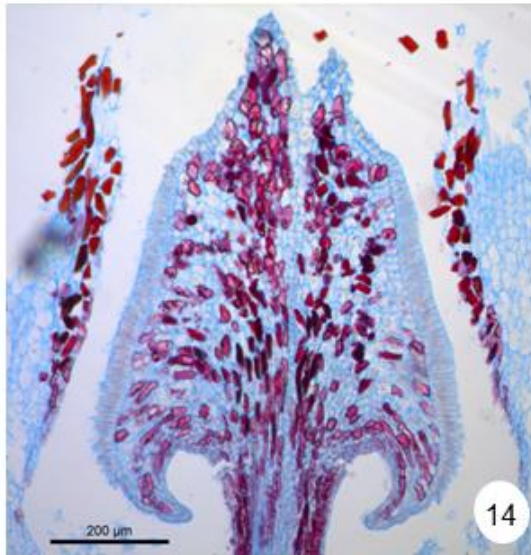
ILUSTRAÇÕES



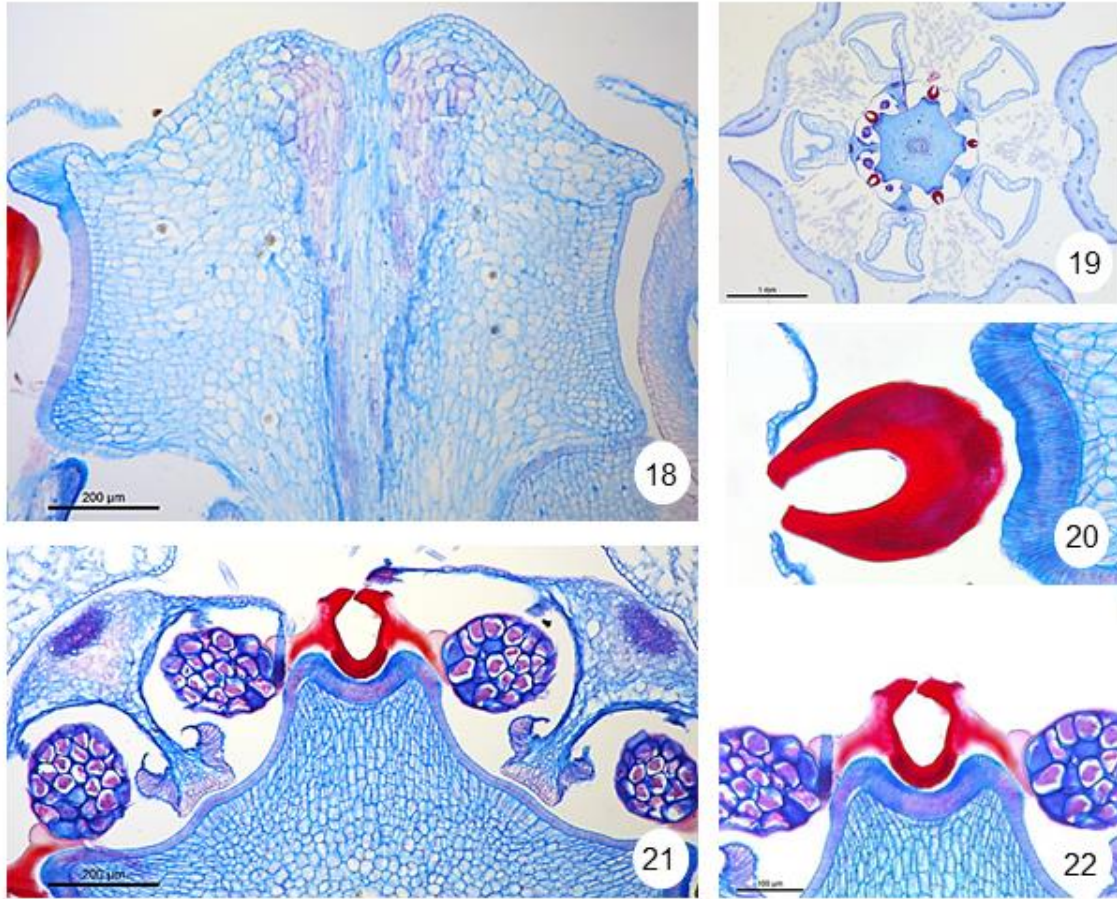
Figuras 1-9. Cabeça dos estiletos de *Tabernaemontana catharinensis* (1,4,7), *Mandevilla tenuifolia* (2, 5, 8), *Ditassa gracilis* (3, 6, 9). Secções longitudinais (1-3). Secções transversais (4-9).



Figuras 10-13. Cabeça dos estiletos de *Tabernaemontana catharinensis*. Secções longitudinais (10, 11, 13). Secção transversal (12).



Figuras 14-17. Cabeça dos estiletes de *Mandevilla tenuifolia*. Secções longitudinais (14, 15). Secções transversais (16, 17).



Figuras 18-22. Cabeça dos estiletos de *Ditassa gracilis*. Secção longitudinal (18). Secções transversais. (19-22).

Discussão

Similaridades foram observadas entre as três espécies estudadas, especialmente no que se refere à ocorrência de conação apical entre os estiletos, formando a cabeça dos estiletos que apresenta um formato pentagonal, sendo essa cabeça coberta por epiderme secretora, assim como já descrito em literatura sobre a família (Endress 1994; Kunze 1991; Demarco 2008, 2014; Marasca 2008; Martins 2008).

Essa cabeça dos estiletos é formada pela fusão posgênita dos ápices dos dois carpelos (Fallen 1986; Endress 2000), sendo o início da sua formação de um determinado gênero equivalente à sua posição filogenética, isto é, quanto mais cedo acontecer à fusão apical dos estiletos, mais derivado é o gênero (Fallen 1986).

A cabeça dos estiletos geralmente apresentam três regiões diferentes: região apical, formada por apêndices estéreis, região intermediária que geralmente possui epiderme secretora e região basal, comumente receptiva (Fallen 1986).

A porção secretora desta estrutura geralmente é composta exclusivamente por epiderme secretora unisseriada (Fallen 1986; Kunze 1993, 1994; Galetto 1997; Lin & Bernardello 1999), porém essa epiderme normalmente apresenta zonas funcionais (Fallen 1986). Em *Tabernaemontana* e *Mandevilla*, a secreção é produzida por todo o tecido na superfície lateral da cabeça dos estiletos, as células apresentam paredes primárias bastante finas, formato bastante longo e conteúdo citoplasmático corada de vermelho. Já em *Ditassa*, a secreção é produzida apenas nas regiões interestaminais da cabeça dos estiletos, formada por células em paliçada com citoplasma de aspecto denso. A localização desta região secretora apenas nas regiões que intercalam as anteras é descrita em outras espécies da família (Endress 1994, Demarco 2014).

Nas Apocynaceae pode ocorrer a presença de ginostégio, originário de uma sinorganização do androceu e gineceu (Endress 1994; Endress & Bruyns 2000). Em *Mandevilla* e *Ditassa* foi

observado tal estrutura, que através da adnação da base das anteras com a cabeça dos estiletos, como já descrito em diferentes espécies de Apocynoideae e Asclepiadoideae (Endress 1994; Kunze 1991; Demarco 2008; Wiemer *et al.* 2012). Já em *Tabernaemontana*, a cabeça dos estiletos foi observada livre de qualquer adnação com o androceu, ou seja, com ginostégio ausente, pois esse surgiu em Apocynoideae e está presente nas demais subfamílias subsequentes (Fallen 1986; Kunze 1995; Endress & Bruyns 2000; Demarco 2005; Simões *et al.* 2007).

A adnação dos verticilos acontece através de uma conexão entre as células epidérmicas ou através de uma fusão cuticular (Kunze 1995), formando assim o retináculo, esse descrito como tecido da base da antera ou conectivo por diversos autores (Pichon 1948; Rao & Ganguli 1963; Endress & Bruyns 2000; Simões *et al.* 2007). Esta adnação entre os gineceu e androceu, provavelmente possibilitou o surgimento do polinário (Endress 1994), o que também ocorreu em Orchidaceae, família que também apresenta polínias e adnação entre esses dois verticilos (Johnson & Edwards 2000).

Em *Tabernaemontana*, a cabeça dos estiletos, quando observada em corte longitudinal, apresentou um formato tubiforme. Já nas demais espécies estudadas, a cabeça dos estiletos apresenta um formato cônico em secções longitudinais em *Mandevilla* e um formato cônico tendendo ao cilíndrico em *Ditassa*, característica já observada em outras espécies da família (Fallen 1986; Endress & Bruyns 2000; Demarco 2014, Marasca 2008; Wiemer *et al.* 2012). A cabeça dos estiletos das três espécies estudadas, em visão transversal, apresenta formato pentagonal, assim como no restante da família (Simões *et al.* 2007; Demarco 2008; Marasca 2008).

De acordo com a classificação de Fallen (1986), *Tabernaemontana* apresentou cabeça dos estiletos do tipo II, *Mandevilla*, do tipo III e *Ditassa*, do tipo IV, sendo o tipo II composto por um anel superior de tricomas longos, um corpo principal cilíndrico com epiderme secretora composta por células colunares curtas e uma coroa inferior de tricomas longos unidos; o tipo III

tem a mesma organização do tipo II, mas com anteras adnatas à cabeça do estilete; e no tipo IV há uma perda secundária das estruturas para captura do pólen na base da cabeça do estilete e do anel superior de tricomas.

Na ponta da cabeça dos estiletos é possível observar os apêndices apicais que não se fundem e não possuem epiderme secretora. Em Apocynaceae, as partes superiores dos carpelos geralmente não se fundem, resultando em dois ápículos livres no topo da cabeça dos estiletos (Simões *et. al.* 2007), presente em várias Rauvolfioideae e Apocynoideae (Endress 2000). Os apêndices são livres e estéreis, e a região receptiva (estigma) da cabeça dos estiletos está tipicamente sob a cabeça dos estiletos, muitas vezes, ladeado por um flange membranoso ou coroa de filamentos longos (Endress & Bruyns 2000; Simões *et. al.* 2007).

Nas espécies estudadas, as secreções produzidas apresentam diferentes aspectos. Em *Tabernaemontana* e *Mandevilla*, o aspecto da secreção é amorfo, hialino e muito viscoso, já em *Ditassa*, a secreção é mais densa e rígida, apresentando um formato específico. Essa variação já foi descrita para outras espécies da família (Endress & Bruyns 2000), mas não existem muitos estudos sobre a razão de tal diferença em termos funcionais do tecido secretor, contudo, verificou-se que a forma do translador em Asclepiadoideae é devido à atividade diferencial das células secretoras que são espacialmente e temporariamente coordenadas, bem como a quantidade e composição da secreção produzida por cada célula e o contorno da superfície secretora (Demarco 2014).

Na espécie representante de Asclepiadoideae, o tecido secretor da cabeça dos estiletos é composto por epiderme em paliçada, mas apenas na superfície lateral das regiões alternas às anteras, responsável pela secreção, assim como nas demais espécies de Asclepiadoideae (Kunze 1994; Endress & Bruyns 2000; Demarco 2005; Gomes 2006).

A secreção rígida de *Ditassa* (translador) adere-se às polínias, formando o polinário, que é a estrutura transportada pelos insetos durante a polinização (Endress 1994; Wiemer *et. al.* 2012).

Nas Asclepiadoideae, os transladores são característicos (Kunze 1993, 1994; Endress 1994; Swarupanandan *et al.* 1996; Demarco 2005; Gomes 2006). Sendo a sua formação iniciada pela secreção das bordas do corpúsculo e posteriormente as laterais são exsudadas, seguida pela base, que irá unir as duas metades. Após a formação do corpúsculo, as caudículas são formadas, por secreção centrífuga em direção às anteras e tornando-se contínuas com ao corpúsculo (Vijayaraghavan & Cheema 1977; Schnepf *et al.* 1979; Endress 1994; Kunze 1994; Gomes 2006; Demarco 2014).

A polinização é de extrema importância para o equilíbrio do ecossistema, a sua estrutura funcional está intimamente relacionada com o polinizador e seus mecanismos de polinização. (Nicolson *et al.* 2007). Sendo a recompensa para os visitantes das flores de angiospermas as secreções florais, e não o pólen, como se acreditava em hipóteses anteriores.

As flores de Apocynaceae são descritas, como sendo complexas e especializadas nos mecanismos de polinização, como hercogamia e apresentação secundária de pólen (Schick 1980, 1982).

Apresentação secundária de pólen é a deslocação do pólen, das anteras para outro órgão floral de forma passiva ou através de um sistema de proteção e entrega especializado, sendo assim apresentado para a polinização (Howell *et al.* 1993; Yeo 1993, Lopes & Machado 1999), mas autopolinização espontânea não ocorre devido às características morfológicas das flores (Vieira *et al.* 2004). Os tipos de apresentações provavelmente derivaram de forma independente, indicando assim, que a apresentação secundária de pólen é uma vantagem seletiva (Howell *et al.* 1993).

Embora seja possível indicar similaridades observadas entre as características anatômicas da epiderme secretora da cabeça dos estiletos nas três espécies, as diferenças são mais significativas quando se compara a abundância e densidade do produto secretado, o que altera profundamente a maneira de dispersão do pólen nas subfamílias analisadas.

Referências bibliográficas

- DEMARCO, D 2005 Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon* Decne. (Apocynaceae *s.l.*). Tese de Mestrado. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- DEMARCO, D 2008 Glândulas de órgãos vegetativos aéreos e florais de espécies de Asclepiadeae (R.Br.) Duby (Asclepiadoideae, Apocynaceae) de Mata Atlântica do Estado de São Paulo. Campinas, Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- DEMARCO, D 2014 Secretory tissues and the morphogenesis and histochemistry of pollinarium in flowers of Asclepiadeae (Apocynaceae). *International Journal of Plant Sciences* 175:.
- ENDRESS, PK 1994 Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge, University Press.
- ENDRESS, ME & BRUYNS, PV 2000 A Revised Classification of Apocynaceae *s.l.* The *Botanical Review* 66:1-56.
- FAHN, A 1979 Secretory tissues in plants. London, Academic Press Inc.
- FALLEN, ME 1986 Floral structure in the Apocynaceae: morphological, functional and evolutionary aspects. *Botanische Jahrbücherfür Systematik* 106:245-286.
- FISHER, DB 1968 Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie* 16:92-96.
- GALETTO, L 1997 Flower structure and nectar chemical composition in three Argentine Apocynaceae. *Flora* 192:197-207.
- GERLACH, D 1984 *Botanische Mikrotechnik: Eine Einführung*. 3rd ed., Stuttgart, Georg Thieme.
- GOMES, SM 2006 Ontogênese floral com ênfase no estudo do gineceu em Apocynaceae *s.l.* Campinas, Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- GREGORY, M & BAAS, P 1989 A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38: 125-174.

- HOWELL, GJ, SLATER, AT & KNOX, RB 1993 Secondary Pollen Presentation in Angiosperms and Its Biological Significance. *Australian Journal of Botany* 41: 417 – 438.
- JOHANSEN, DA 1940 Plant microtechnique. New York, McGraw-Hill.
- JOHNSON, SD & EDWARDS, TJ 2000 The structure and function of orchid pollinaria. *Plant Systematics and Evolution* 222:243-269.
- KUNZE, H 1991 Structure and function in asclepiad pollination. *Plant Systematics and Evolution* 176:227-253.
- KUNZE, H 1993 Evolution of the translator in Periplocaceae and Asclepiadaceae. *Plant Systematics and Evolution* 185:99-122.
- KUNZE, H 1994 Ontogeny of the translator in Asclepiadaceae *s.str.* *Plant Systematics and Evolution* 193:223-242.
- KUNZE, H 1995 Floral morphology of some Gonolobeae (Asclepiadaceae). *Botanische Jahrbücher für Systematik* 117:211-238.
- LILLIE, RD 1965 Histopathologic technic and practical histochemistry. 3rd ed., New York, McGraw Hill.
- LIN, S & BERNARDELLO, G 1999 Flower structure and reproductive biology in *Aspidosperma quebracho-blanco* (Apocynaceae), a tree pollinated by deceit. *International Journal of Plant Science* 160:869-878.
- LOPES, AV & MACHADO, IC 1999 Pollination and reproductive biology of *Rauvolfia grandiflora* (Apocynaceae): secondary pollen presentation, herkogamy and self-incompatibility. *Plant Biology* 1:547-553.
- MARASCA, R.M. 2008 Estruturas secretoras em *Rauvolfia sellowii* Mull. Arg. (Apocynaceae, Rauvolfioideae, Vinceae). Dissertação de mestrado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
- MARTINS, F.M. 2008 Glândulas foliares e florais em três espécies de Apocynaceae – Apocynoideae de cerrado. Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.

- McMANUS, J.F.A. 1948 Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*, v. 23, p. 99-108.
- METCALFE, CR & CHALK, L 1950 *Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Vol. II, Clarendon Press, Oxford.
- NICOLSON, SW; NEPI, M & PACINI, E 2007 *Nectaries and nectar*. Dordrecht, Springer.
- PEARSE, AGE 1985 *Histochemistry: theoretical and applied*. Vol. II, 4 ed., Edinburgh, C. Livingstone.
- PICHON, M 1948 Classification des Apocynacées: XIX. Le rétinacle des Echitoïdées. *Bulletin de la Société Botanique de France* 95:211-216.
- RAO, VS & GANGULI, A 1963 The floral anatomy of some Asclepiadaceae. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences (B)* 57:15-44.
- SCHICK, B 1980 Untersuchungen über die Biotechnik der Apocynaceenblüte I. Morphologie und Funktion des Narbenkopfes. *Flora* 170:394-432.
- SCHICK, B 1982 Untersuchungen über die Biotechnik der Apocynaceenblüte. II. Bau und Funktion des Bestäubungsapparates. *Flora* 172:347-371.
- SCHNEPF, E; WITZIG, F & SCHILL, R 1979 Über Bildung und Feinstruktur des Translators der Pollinarien von *Asclepias curassavica* und *Gomphocarpus fruticosus* (Asclepiadaceae). *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* 25:1-33.
- SIMÕES, AO; RIO, MCS do; CASTRO, M de M & KINOSHITA, LS 2007 Gynostegium morphology of Mesechiteae Miers (Apocynaceae, Apocynoideae) as it pertains to the classification of the tribe. *International Journal of Plant Sciences* 168: 999-1012.
- SWARUPANANDAN, K; MANGALY, JK; SONNY, TK; KISHOREKUMAR, K & CHAND BASHA, S 1996 The subfamilial and tribal classification of the family Asclepiadaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 120:327-369.
- VIEIRA, MF; LEITE, MSO; GROSSI, JAS; ALVARENGA, EM 2004 Biologia reprodutiva de *Cryptostegia madagascariensis* Bojer ex Decne. (Periplocoideae, Apocynaceae), espécie ornamental e exótica no Brasil. *Bragantia* 63:325-334.

- VIJAYARAGHAVAN, MR & CHEEMA, K 1977 Ontogenetical and histochemical studies on the translator apparatus in *Calotropis procera* R.Br. I. The retinaculum. *Acta Histochemica* 59:15-20.
- WIEMER, A. P. SERSIC, A. N. MARINO, S SIMÕES, A. O. COCUCI, A. A. 2012 Functional morphology and wasp pollination of two South American asclepiads (Asclepiadoideae–Apocynaceae). *Annals of Botany*.
- WOODSON, R.E. Jr. & MOORE, J.A. 1938 The vascular anatomy and comparative morphology of Apocynaceae flowers. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 65:135-165.
- YEO, PF 1993 *Secondary pollen presentation: form, function and evolution*. Springer.

Conclusões finais

O estudo de flores pertencentes a gêneros de diferentes subfamílias de Apocynaceae demonstrou uma grande diversidade de estruturas secretoras relacionadas à atração do polinizador, proteção dos meristemas e estratégias para dispersão do pólen. Algumas estruturas secretoras são de importância taxonômica e filogenética e suas funções estão relacionadas à defesa floral ou relacionadas ao sistema de polinização. Entre tais estruturas estão: epiderme da cabeça dos estiletes, coléteres, tricomas, idioblastos, nectários, laticíferos e osmóforos.

Quando se compara a flor de *Mandevilla* com a de *Ditassa*, nota-se a presença de nectários estruturalmente distintos e em verticilos diferentes. Os nectários de *Mandevilla* correspondem a projeções formadas basicamente por parênquima nectarífero que liberam o néctar através de estômatos apicais. Já em *Ditassa*, o nectário é a epiderme que reveste a câmara estigmática, cujo néctar tem a função de servir de recurso para o polinizador e estimular a germinação dos grãos de pólen. Além disso, *Ditassa* possui nectários secundários na corona estaminal, demonstrando uma ampliação de possibilidades de coleta do néctar pelo visitante que podem resultar em polinização. *Ditassa* também apresentou osmóforos cujo aroma adocicado também está relacionado à atração de polinizadores.

A principal semelhança entre as espécies reside na estrutura secretora de proteção dos meristemas – coléteres – que estão presentes no cálice em *Mandevilla* e *Ditassa*. Sua atividade secretora perdura durante todo o desenvolvimento das flores e sua secreção provavelmente está relacionada à inibição da proliferação de micro-organismos e contra o dessecamento dos meristemas.

Em Apocynaceae, as diferentes estratégias para atração do polinizador e local de armazenamento do néctar estão relacionadas aos diferentes mecanismos de dispersão do pólen e a cabeça do estilete tem um papel fundamental para garantir a polinização.

Tabernaemontana e *Mandevilla* dispersam o pólen em mônades e a cabeça do estilete produz uma secreção muito viscosa. Quando o polinizador insere a probóscide no fundo do tubo floral para coletar o néctar, essa secreção ajuda a aderir o pólen sobre ela e, ao visitar uma outra flor, o pólen é retido sob a cabeça do estilete, no nível do estigma. Por outro lado, a cabeça do estilete em *Ditassa* produz uma secreção muito heterogênea e rígida que se adere às polínias e ao polinizador. A forma dessa secreção (translador) é específica para que haja a sua correta inserção na câmara estigmática de outra flor e a presença de néctar nessa câmara, assim como na corona, amplia as chances da polinização ocorrer com sucesso nessa espécie.