

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 laticifers, which are characteristic of this family. The cells are stained with a blue and pink dye, highlighting the cellular structure and the secretory canals.

*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 -**

## 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.

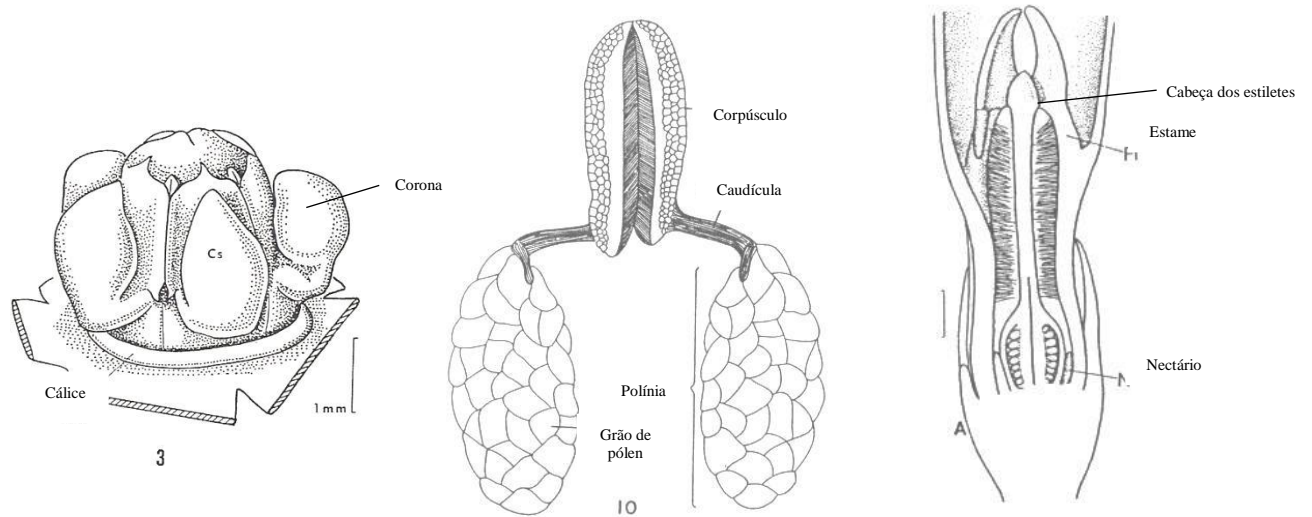
## Introdução geral

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 *Sarcolemma* 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.

## 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.