



FLÁVIO ANTÔNIO ZAGOTTA VITAL

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA FLOR E DO
DESENVOLVIMENTO DO ANDROCEU DE
Oxypetalum appendiculatum Mart.
(APOCYNACEAE, ASCLEPIADOIDEAE)**

LAVRAS – MG

2015

FLÁVIO ANTÔNIO ZAGOTTA VITAL

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA FLOR E DO DESENVOLVIMENTO
DO ANDROCEU DE *Oxypetalum appendiculatum* Mart.
(APOCYNACEAE, ASCLEPIADOIDEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração Estrutura e Funcionamento das Plantas, para obtenção do título de mestre.

Orientadora

Dra. Adriana Tiemi Nakamura

LAVRAS – MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Vital, Flávio Antônio Zagotta.

Aspectos morfológicos da flor e do desenvolvimento do
Androceu de *Oxypetalum Appendiculatum* mart. (Apocynaceae,
Asclepiadoideae) / Flávio Antônio Zagotta Vital. – Lavras : UFLA,
2015.

66 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)—Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador(a): Adriana Tiemi Nakamura.

Bibliografia.

1. Clado MOOG. 2. Ginostégio. 3. Endotécio. 4. Tradutor. 5.
Polínias. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

FLÁVIO ANTÔNIO ZAGOTTA VITAL

**ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA FLOR E DO DESENVOLVIMENTO
DO ANDROCEU DE *Oxypetalum appendiculatum* Mart.
(APOCYNACEAE, ASCLEPIADOIDEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração Estrutura e Funcionamento das Plantas, para obtenção do título de mestre.

APROVADA em 27 de Fevereiro de 2015.

Dra. Flávia de Freitas Coelho

UFLA

Dra. Daniela Guimarães Simão

UFMS

Suplente: Dra. Rita de Cássia Violin Pietrobon PUC-Campinas

Dra. Adriana Tiemi Nakamura

Orientadora

LAVRAS – MG

2015

À minha mãe Sílvia,
pelo incentivo e apoio.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Bom Senhor Deus, pela concessão de ciência e entendimento, elementos fundamentais para que eu me desvencilhasse de percalços e alcançasse meus intentos.

À Professora Dra. Adriana Tiemi Nakamura, pelos ensinamentos profissionais e, principalmente, por ter me proporcionado a convivência com sua admirável personalidade, fato este que contribuiu com a minha lapidação pessoal.

Ao Professor Dr. Alessandro Rapini, pelo aceite da parceria profissional e também pelas diretrizes concedidas.

Às Professoras, Dra. Flávia de Freitas Coelho e Dra. Rosângela Alves Tristão Borém, pelas suas diretrizes e aconselhamentos de grande valia.

À Luciana Silva, pelo auxílio na execução do trabalho e pelo apoio de grande valia.

Ao Daniel Quedes Domingos, pelos auxílios nas coletas e pelo companheirismo ao longo da execução deste trabalho.

Ao Felipe Fogaroli Correa, pela amizade e também pelo auxílio nas práticas laboratoriais.

Ao Ítalo Antônio Fernandes, pelo indispensável auxílio no preparo das amostras.

Aos companheiros do corpo discente do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, pela fraternidade e contribuição profissional.

A todo o corpo docente e funcionários vinculados ao Departamento de Botânica e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada.

À FAPEMIG pelo financiamento deste projeto de pesquisa e pela bolsa de mestrado.

À Universidade Federal de Lavras, em especial à Pró-Reitora de Pós-Graduação e de Pesquisa, e à Biblioteca Universitária.

Aos meus entes familiares, pelo apoio e incentivo nesta etapa.

O meu reconhecimento a todos que contribuíram, direta ou indiretamente, com a minha edificação moral e profissional.

“Спасибо(Боже) за вечность с тобой, спасибо за веру в любовь, спасибо за свет, за все, что есть у меня.Спасибо, что плачу, я знаю, что значу, спасибо за то, что ты есть.”

Светлана Лобода

[Obrigado (Deus) por toda a eternidade com você, obrigado por acreditar no amor, obrigado pela luz, pois é tudo o que eu tenho. Obrigado pelo choro, eu sei o que significa. Agradeço pelo que eu tenho]

Svetlana Loboda

RESUMO

Apocynaceae é monofilética, sustentada por duas sinapomorfias, presença de látex e gineceu com os dois carpelos separados no ovário, porém unidos distalmente em uma cabeça estilar. Asclepiadoideae é a subfamília mais derivada de Apocynaceae, apresentando anteras reduzidas, com apenas dois esporângios, cada qual produzindo um polínia, composto por mônades e envolto por uma película derivada da cutinização das paredes internas do tapete. Polínios de estames adjacentes são conectados entre si por um translador, formando o polinário. Aproximadamente 80% das espécies neotropicais de Asclepiadoideae, pertencem ao clado MOOG (Asclepiadeae). Este clado é bem sustentado, porém suas relações internas ainda precisam ser resolvidas. Alguns estudos indicam que o androceu, embora pouco explorado, é importante para a taxonomia de Apocynaceae. Assim, este trabalho teve como objetivo analisar a morfologia floral de uma espécie de Asclepiadoideae, *Oxypetalum appendiculatum*, de modo a retratar o desenvolvimento do seu androceu, abrangendo aspectos anatômicos importantes do desenvolvimento das anteras. Investigamos, também, a microsporogênese e a microgametogênese, além da morfologia do polinário e do grão de pólen. Com isso, este trabalho fornece subsídios à sistemática de Apocynaceae e contribui para a compreensão do desenvolvimento de suas estruturas reprodutivas. A corola de *O. appendiculatum* é vinácea, a corona apresenta cinco lobos livres circundando as anteras e o ginostégio é pentagonal, terminando em um apêndice bifido. O estame apresenta filete subséssil e anteras com alas laterais esclerificadas. A antera é bilocular, composta por seis camadas parietais: epiderme, endotécio, dois estratos de camadas médias e tapete secretor bisseriado, cujo desenvolvimento é do tipo dicotiledôneo. O endotécio não é espessado, porém a antera, como um todo, apresenta espessamento do tecido parenquimático. O tapete é secretor e bisseriado, porém multiestratificado na porção dorsal da antera. A microesporogênese é sucessiva e as tétrades lineares. Os grãos de pólen são tricelulares e inaperturados, transferidos como mônades em polínias. O translador possui retináculo expandido lateralmente, o que lhe confere o “mecanismo de clip”, e a polínia é envolta por uma película hialina. A expansão alada do retináculo é importante para a caracterização da espécie. Para o gênero, o estame subséssil e a ausência do espessamento do endotécio parecem ser caracteres constantes. A antera bilocular, o tapete bisseriado, a microsporogênese sucessiva, as tétrades lineares e os grãos de pólen inaperturados são caracteres importantes no nível de subfamília. A ausência do espessamento do endotécio indica a posição derivada de *O. appendiculatum* no “Clado MOOG”. Os filetes subsésseis garantem a posição derivada da espécie em relação aos outros indivíduos de *Oxypetalum*.

Palavras-chave: Clado MOOG.Ginostégio.Endotécio.Translador.Polínias.

ABSTRACT

Apocynaceae is monophyletic, supported by two synapomorphies, with the presence of latex and gynoeceium with two carpels separated in the ovary, but distally united in a stylar head. Asclepiadoideae is a subfamily derived from Apocynaceae, with reduced anthers and only two sporangia, each producing a pollinium, consisting of monads and surrounded by a film derived from the cutinization of the inner walls of the tapetum. Pollinia of adjacent stamens are connected together by a translator, forming the pollinarium. Approximately 80% of neotropical Asclepiadoideae species belong to the MOOG clade (Asclepiadeae). This clade is well supported; however, its internal relations have yet to be resolved. Some studies indicate that the androeceium, though little explored, is important for the taxonomy of Apocynaceae. Therefore, the objective of this study was to analyze the floral morphology of an Asclepiadoideae species, *Oxypetalum appendiculatum*, in order to show the development of its androeceium, covering important anatomical aspects of anther development. Microsporogenesis and microgametogenesis were also investigated, besides pollinarium morphology and pollen grain. Therefore, this study provides subsidies to the Apocynaceae systematics and contributes to the understanding of the development of its reproductive structures. The corolla of *O. appendiculatum* is vinaceous, the corona has five free lobes circling the anthers and the gynostegium is pentagonal, ending in a bifid appendage. The stamen presents a subsessile thread and the anthers have sclerified side wings. The anther is bilocular, with six parietal layers: epidermis, endothecium, two strata of middle layers and a biseriate secreting tapetum, whose development is dicotyledonous. The endothecium is not thickened; however, the anther, as a whole, presents a thickened parenchyma. The tapetum is secretory and biserial, but multistratified at the dorsal portion of the anther. Microsporogenesis is successive and tetrads are linear. Pollen grains are tricellular and inaperturate, transferred as monads in the pollinia. The translator has a retinaculum, which is laterally expanded, conferring it the “clip mechanism”, and the pollinium is surrounded by a hyaline film. The wing expansion in the retinaculum is important for the characterization of the species. For genus, the subsessile stamen and the absence of endothecium thickening seem to be constant characters. Bilocular anther, biseriate tapetum, successive microsporogenesis, linear tetrads and inaperturate pollen grains are important characteristics at the subfamily level. The absence of an endothecium thickening indicates the derivative position of *O. appendiculatum* in the “MOOG clade”. The subsessile threads guarantee the derived position of the species in relation to other *Oxypetalum* individuals.

Keywords: MOOG clade.Gynostegium.Endothecium.Translator. Pollinia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema da coroa, ginostégio e polinário. Barra = 250 μ m.....	22
Figura 2	Mapa da distribuição geográfica das espécies de Apocynaceae (STEVENS, 2006).....	27
Figura 3	Locais de coleta de <i>Oxypetalum appendiculatum</i> . A - Habitat de convergência entre mata e campo. B - Habitat de campo rupestre.....	34
Figura 4	<i>Oxypetalum appendiculatum</i> . A: Botão floral jovem. B: Botão floral, sem a corola, evidenciando o início da secreção do retináculo (SETA PRETA). C: Botão florão, sem a corola, em estágio de pré-antese, evidenciando o primórdio do anexo bífido do ginostégio. D e E: Flores pós-antese, sem a corola, em diferentes graus de maturação e com a corola (SETA AZUL) já evidente. Barra de escala: 1 cm.....	35
Figura 5	Aspecto da flor de <i>Oxypetalum appendiculatum</i> . A: Botão floral e flor em antese. B: Pré-floração quincucial. C: Aspecto geral do ginostégio, asas das anteras (SETA BRANCA) retináculo (SETA PRETA) e dentículo (PONTA DE SETA PRETA). D: Corona, anexo bífido e nectário. AB = anexo bífido; BO = botão floral; NE = nectário; PE = pétala; SE = sépala; * = coroa; PONTA DE SETA BRANCA = depressão localizando nectário interno. BARRAS DE ESCALA: 4 mm (A); 1 mm (D); 250 μ m (C); 200 μ m (B).....	38

- Figura 6 Secções transversais do botão e flor de *Oxypetalum appendiculatum*. A: Aspecto geral do androceu; notar tamanhos desiguais e diferentes fases de desenvolvimento das anteras. B: Primórdio de antera evidenciando tecido meristemático (arquesporial). C: Primórdio de antera evidenciando protoderme, camada parietal primária (SETA BRANCA) e tecido esporogênico em mitose (*). D: Divisão da camada parietal primária (SETA PRETA). E: Primórdio de antera com camadas parietais primárias externa e interna (*). F: Antera com cinco camadas parietais: epiderme, endotécio indiferenciado (PONTA DE SETA PRETA), duas camadas médias (PONTA DE SETA BRANCA) e tapete. Notar que endotécio e camada média externa são produto da divisão celular da camada parietal secundária externa. G: Antera em flor pré-antese, e com as “asas das anteras” ainda imaturas; H: Tapete multiestratificado (*); I: Antera madura com parede da antera lignificada e políneas já isoladas dos lóculos devido ao rompimento do estômio. J: Detalhe da abertura da antera. K: Encontro de duas asas de anteras adjacentes formando “guia de calha”. AS = asa da antera; CMM = célula mãe do micrósporo; FV = feixe vascular; GI = gineceu; MI = micrósporos; PR = protoderme. TA = tapete; BARRAS DE ESCALA: 200 µm (I); 125 µm (A, G); 100 µm (B, J, K); 50 µm (C, D, E, F, H)..... 46
- Figura 7 Microsporogênese e microgametogênese em *Oxypetalum appendiculatum*. Secções transversais das anteras, exceto K, que é longitudinal. I-J: Microscopia eletrônica de varredura. A: primórdio da antera mostrando células esporogênicas. B: Células esporogênicas em mitose (SETA PRETA). C: Vista geral do botão mostrando anteras em diferentes alturas. D: Células esporogênicas. E, F: Microsporócitos. G: Díades (*); notar formação de parede após divisão (Ponta de seta preta). H: Tétrades tardias (*). I: Grãos de pólen bicelulares. J: Grãos de pólen maduros individualizados em lojas. K: Polínea evidenciando grãos de pólen tricelulares; SETA BRANCA aponta duas células espermáticas. L: Vista geral da polínea mostrando cada grão de pólen em uma loja. M: Grão de pólen inaperturado, de formato subesferoidal. BARRAS DE ESCALA: 200 µm (C); 100 µm (F); 50 µm (A, B, D, E, H, I, K); 25 µm (G); 20 µm (L); 10 µm (M)..... 45

Figura 8 Polinário de *Oxypetalum appendiculatum*. A-C: MEV. Seções longitudinal (D) e transversal (E-F). A: Visão geral do Polinário. B: Polínia evidenciando a compartimentalização dos grãos de pólen, perceptível na sua superfície. C: Cicatriz na caudícula ocasionada pela retirada do polinário da antera/ginostégio (SETA BRANCA). D: Visão geral do polinário atrelado as antera e ao ginostégio. E: Translador, com retináculo evidenciando o “mecanismo de clip” e as duas caudículas na parte inferior. F: Invaginação da epiderme do ginostégio responsável pela fixação do translador. AN = anteras adjacentes; AS = asas das anteras adjacentes; CA = caudícula; FI = filete; PO = polínia; RE = retináculo; SETA PRETA = dentículos. BARRAS DE ESCALA: 250 μm (F); 200 μm (A, D, E); 100 μm (B); 20 μm (C)..... 48

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1	Apocynaceae: Breve Histórico	20
2.2	Peculiaridades Morfológicas de Apocynaceae	21
2.3	Distribuição Geográfica da Família Apocynaceae	27
2.4	“Clado MOOG”	28
2.5	Estames	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1	Caracterização da Espécie <i>Oxypetalum appendiculatum</i> Mart.	32
3.2	Locais de Coleta do Material Botânico	32
3.3	Exame Anatômico: Anatomia da Antera, Microsporogênese e Microgametogênese	35
3.4	Exame de Superfície do Polinário e do Grão de Pólen	36
4	RESULTADOS	37
4.1	Morfologia do Botão Floral e da Flor	37
4.2	Parede da Antera	39
4.3	Microsporogênese e Microgametogênese	43
4.4	Polinário	46
5	DISCUSSÃO	49
6	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

A família Apocynaceae (Ordem Gentianales) apresenta aproximadamente 355 gêneros e um número estimado entre 3700 a 5100 espécies, que ocorrem em todos os continentes, exceto na Antártica (RAPINI, 2012). Para este estudo adota-se Apocynaceae conforme proposto por Endress e Bruyns (2000), incluindo os representantes de Asclepiadaceae, tornando, dessa forma, Apocynaceae um grupo monofilético, a qual apresenta cinco subfamílias: Rauvolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae.

Os representantes de Apocynaceae são facilmente reconhecidos pela presença de látex e por uma cabeça estilar derivada da fusão dos dois carpelos na região apical do estilete (RAPINI, 2012). A família apresenta uma série de caracteres do androceu e do gineceu associados com o aumento na eficiência do mecanismo de polinização. Dentre estas inovações, pode-se citar a existência de uma cabeça do estilete pentagonal, com regiões funcionalmente diferenciadas, apêndice apical das anteras, a diferenciação das anteras em uma porção fértil e outra enrijecida e a presença de tricomas adesivos na cabeça do estilete e anteras (JUDD et al., 2009).

Os estudos revelam que os caracteres do androceu são taxonomicamente importantes em Apocynaceae, sendo utilizados na definição das subfamílias (CIVEYREL et al., 1998; ENDRESS; BRUYNS, 2000; VERHOEVEN; VENTER, 1998) e das tribos (VERHOEVEN; LIEDE; ENDRESS, 2003). Mais especificamente, as características dos polinários são bastante promissoras, mas ainda pouco exploradas (KUNZE, 1994).

A produção ou não de polinários foi utilizada para separar as Asclepiadaceae de Apocynaceae. Com a recircunscrição de Apocynaceae, os indivíduos de Asclepiadaceae passaram a ser tratados como subfamília

Asclepiadoideae, a qual vem sendo objeto de estudos filogenéticos, especialmente nos níveis de subtribo e gênero (ENDRESS; BRUYNS, 2000; LIEDE; ALBERS, 1994; RAPINI, 2012; VERHOEVEN; VENTER, 2001). O grupo apresenta uma grande diversidade morfológica e homoplasias são relativamente comuns, tornando difícil a detecção de sinapomorfias morfológicas úteis para definição dos táxons (RAPINI, 2012). Dessa forma, estudos biogeográficos e filogeográficos podem ajudar a elucidar as relações em Asclepiadoideae, especialmente quando associados a estudos de biologia floral e polinização.

Ainda sobre Asclepiadoideae, no Novo Mundo existem quatro linhagens pertencentes à subfamília: (1) *Marsdenia* (subtribo Marsdenieae); (2) *Cynanchum* subgen. *Mellichampia* (A. Gray ex S. Wats.) Sundell (subtribo Cynanchinae); (3) *Asclepias* (subtribo Asclepiadinae); e (4) um grande clado denominado “MOOG”, composto pelas subtribos Metastelmatinae Endl. ex Meissn., Orthosiinae Liede & Rapini, Oxypetalinae K. Schum. e Gonolobinae (G. Don) Liede, as últimas três linhagens pertencentes à tribo Asclepiadeae (LIEDE-SCHUMANN et al., 2005; RAPINI et al., 2003). O clado MOOG, embora monofilético, não se encontra completamente resolvido e a circunscrição de alguns gêneros importantes, como *Ditassa* e *Matelea*, permanece em aberto (LIEDE-SCHUMANN et al., 2014).

Oxypetalum R. Br. engloba cerca de 130 espécies neotropicais (SILVA et al., 2008), sendo este o maior gênero da subtribo Oxypetalinae. Apresenta cerca de 44 espécies no estado de Minas Gerais, o que corresponde a 47,3% das 93 espécies conhecidas no Brasil (SILVA, et al., 2008; VIEIRA; SHEPHERD, 2002). *Oxypetalum* pode ser reconhecido pelas flores com anteras providas de expansões laterais; um conectivo membranáceo que se prolonga no ápice das anteras, recebendo o nome de denticulo, podendo ser exserto ou incluso; segmentos da corona inseridos entre o tubo da corola e o tubo estaminal; e

apêndice estilar geralmente bífido, crateriforme ou aplanado (SILVA et al., 2008).

A morfologia do androceu de *Oxypetalum* foi investigada por Valente (1977) que realizou uma descrição detalhada da morfoanatomia de *Oxypetalum banksii*. Vieira e Shepherd (2002) analisaram o androceu de *O. appendiculatum* e *O. banksii*, abordando aspectos da polinização. Silva et al. (2008) analisaram a morfoanatomia de 25 espécies de *Oxypetalum*, abordando principalmente aspectos da morfologia da antera. As anteras são bitecas, biesporangiadas, cada lóculo com uma polínia pêndula. O polinário é uma estrutura bastante peculiar do grupo e funciona como unidade polínica das Asclepiadoideae (SILVA et al., 2008), necessitando do contato polinizador-polinário para que os grãos de pólen sejam transferidos entre flores (COCUCCI et al., 2014)

Contribuições notáveis para os estudos embriológicos de Apocynaceae, abordando principalmente a microesporogênese e microgametogênese, foram feitas por Fyre e Blodgett (1905), Guignard (1917), Meyer (1938) e Rau (1940). Mediante estes estudos, Maheshwari (1970) mencionou a controvérsia a respeito da natureza da divisão da célula-mãe do micrósporo e a ocorrência de diferentes tipos de embriogenia, culminando para que o grupo fosse caracterizado como heterogêneo. Como se tem conhecimento da heterogeneidade nos processos da microsporogênese em Apocynaceae, o estudo da embriologia pode ser uma ferramenta importante para elucidar relações de parentesco e auxiliar na taxonomia da família.

Oxypetalum appendiculatum Mart. foi selecionada para o presente estudo devido a sua ampla ocorrência no Brasil, em diversas formações vegetacionais, como campos, cerrados, matas ciliares e também em áreas perturbadas. Seu período de floração se estende de dezembro a maio, permitindo uma análise pormenorizada dos seus verticilos reprodutivos. A morfologia floral de *O. appendiculatum* foi observada buscando retratar principalmente o

desenvolvimento do androceu, abrangendo aspectos anatômicos do desenvolvimento da antera, bem como a microsporogênese e microgametogênese, além da morfologia do polinário e do grão de pólen. Juntas essas informações contribuirão para a compreensão do desenvolvimento das estruturas reprodutivas em Apocynaceae e poderão fornecer subsídios importantes para a sistemática da família.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Apocynaceae: Breve Histórico

Os representantes da atual família Apocynaceae sempre foram objeto de estudo sistemático, iniciados em 1789 quando Jussieu descreveu “Apocineae”, com gêneros subdivididos em três grupos, separados principalmente pelas características do fruto e da semente (RAPINI, 2012). Posteriormente, Brown, em 1810, propôs que Asclepiadeae com 36 gêneros fosse desmembrada de Apocineae. Brown justificou essa separação baseado principalmente na presença de transladores em Asclepiadeae e ausência em Apocineae. Essa classificação foi amplamente aceita e implementada, embora a delimitação dessas famílias estivesse sempre em discussão (FARINACCIO; MELLO-SILVA, 2004; NAZAR et al. 2013). Schlechter, em 1905, propôs a fragmentação de Asclepiadaceae *s.l.*, em duas famílias: Periplocaceae (com polinários espatulados) e Asclepiadaceae *s.str.* (com polínias bifurcadas) (RAPINI, 2012). Mais recentemente, em 1996, Swarupanandan tratou Apocynaceae, Periplocaceae e Asclepiadaceae como três famílias distintas. Apesar das Asclepiadaceae formarem um grupo relativamente conciso em relação à produção de polínias rígidas formadas a partir das aglutinações das mônades de pólen em uma teca (com exceção de Periplocoideae, que apresenta tétrades de pólen aglutinadas sobre um translador em forma de colher), o seu reconhecimento como uma família distinta de Apocynaceae culmina na formação de um grupo parafilético (ENDRESS; BRUYNS, 2000; FARINACCIO; MELLO-SILVA, 2004; RAPINI, 2012). Dessa forma, em 2000, Endress & Bruyns formalizaram a unificação das famílias Apocynaceae e Asclepiadaceae.

2.2 Peculiaridades Morfológicas de Apocynaceae

Apocynaceae possui ampla diversidade de hábitos, apresentando indivíduos de porte que variam do arbóreo ao trepador, com a peculiaridade de apresentar indivíduos com aspecto cactáceo. Apresenta canais laticíferos articulados e látex geralmente leitoso, podendo conter glicosídeos cardioativos, alcaloides e às vezes iridoides. As folhas são simples e, na maioria dos casos, opostas, com estípulas reduzidas ou ausentes, e com coléteres geralmente na base do pecíolo. A inflorescência apresenta arranjos cimosos ou racemosos, podendo ocorrer espécies com flores solitárias. As flores são actinomorfas, com cálice pentâmero de sépalas conatas, com coléteres adaxialmente na base e corola gamopétala, às vezes reflexa, frequentemente provida de corona internamente (JUDD et al., 2009; NAZAR et al., 2013; VINCKIER; SMETS, 2002).

As flores de Apocynaceae são consideradas por Wyatt e Broyles (1994) como as mais complexas dentre as angiospermas, ocorrendo a união entre os elementos florais de um mesmo verticilo e entre elementos de diferentes verticilos. Essa sinorganização culminou com a origem de novas estruturas florais: a corona, o ginostégio e o polinário, que, em conjunto, estão ausentes em outras angiospermas (ENDRESS, 1994; VIEIRA; FONSECA; SHEPHERD, 2012) (Figura 1). Cada uma destas estruturas tem sido considerada uma característica exclusiva da subfamília Asclepiadoideae, embora estruturas homólogas (particularmente a cabeça estilar e a corona) sejam encontradas em algumas espécies de Apocynaceae (ENDRESS; BRUYNS 2000; KUNZE, 1994; LIEDE; KUNZE, 1993; VALENTE; COSTA, 2005).

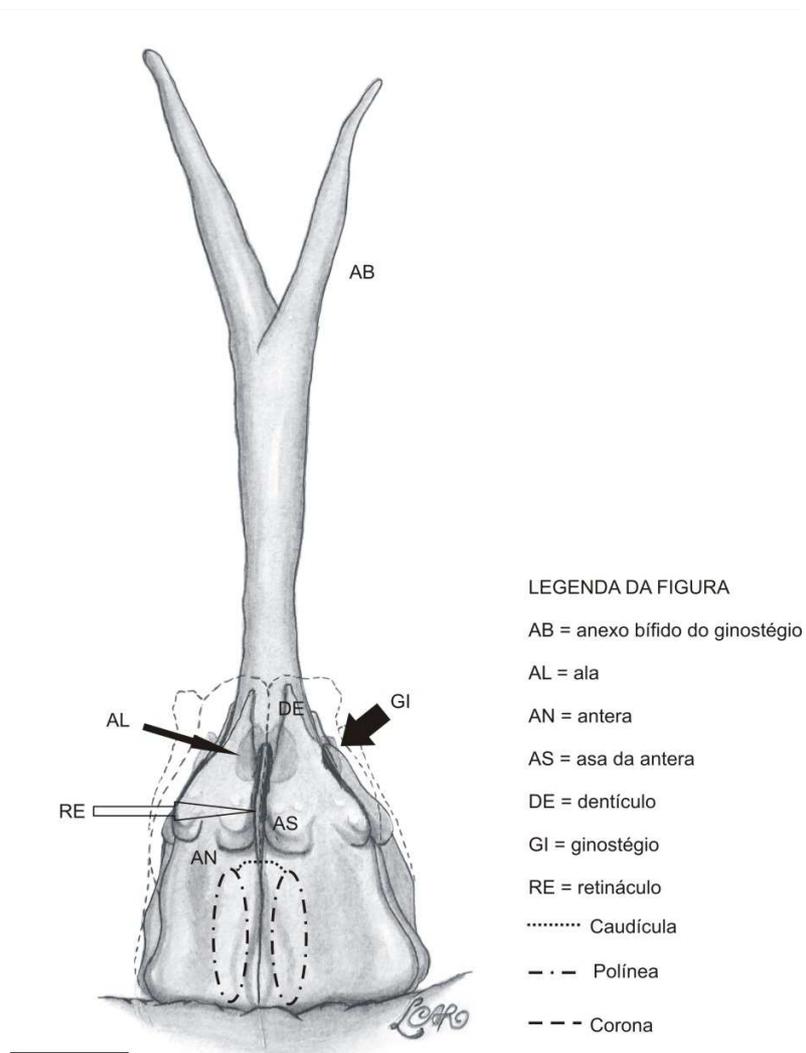


Figura 1 Esquema da corona, ginostégio e polinário. Barra = 250 μ m.

A corona (figura 1), que é um anexo formado pelos apêndices das anteras ou da corola, em alguns casos por ambos (LIEDE, 1996), tem como função a reserva de néctar (VALENTE; COSTA, 2005). É uma estrutura composta por cinco seguimentos, com ou sem ornamentações, que podem estar

total ou parcialmente exsertos em relação ao tubo da corola (KUNZE, 1996). Na subtribo *Oxypetalinae*, Silva et al. (2008) relatam uma peculiaridade morfológica das coronas: os segmentos da corola são presos ao tubo estaminal, porém livres em relação à corola, e no nível das anteras os segmentos encontram-se completamente individualizados.

Liede e Kunze (1993) classificaram as coronas de *Asclepiadoideae* em quatro tipos: (1) corolina (derivada da corola); (2) estaminal; (3) interestaminal; e (4) anular. Segundo Sennblad, Endress e Bremer (1998), a presença de corola foi relatada no “Clado das *Apocynoideae Superiores*”, composto pelos gêneros *Baijsea*, *Motandra*, *Prestonia* e *Cycladenia*, e estes possuem corola do tipo corolina. Logo, pressupõe-se que a corola de *Asclepiadoideae* tem a mesma origem das coronas de *Apocynoideae*, sendo considerada, portanto, como uma sinapomorfia desses grupos (ENDRESS; BRUYNS, 2000; LIEDE; KUNZE, 1993).

O gineceu possui dois carpelos com ovários livres, conatos apenas pelo estilete, cuja porção apical é expandida e pode ser muito modificada, formando uma estrutura pentagonal junto com as anteras, denominada ginostégio (figura 1 - GI) (ENDRESS; BRUYNS, 2000; LIEDE, 1996). Nas anteras há uma extremidade estéril denominada “alas ou asas das anteras” (figura 1 - AS). O encontro de duas asas adjacentes forma um trilho que conduz o inseto polinizador a se prender ao retináculo, direcionando a polinização em *Asclepiadoideae* (KUNZE, 1996; LIEDE, 1996).

A cabeça estilar é visualizada acima da inserção dos estames, cujos ângulos progressivamente se projetam, pela atividade meristemática das células subepidérmicas, dando origem a uma protuberância (VALENTE; COSTA, 2005). No ginostégio há um revestimento de tecido secretor, que fica entre as anteras, logo acima do trilho das anteras, onde ocorre a secreção que leva à formação dos transladores (SILVA et al., 2008). As cinco superfícies

estigmáticas receptivas estão escondidas atrás dos trilhos, na parte basal da cabeça estilar (KUNZE, 1994; LIEDE, 1996).

Em *Oxypeyalum* é comum um alongamento do ginostégio, geralmente bifurcado no ápice, formando o apêndice estilar: o anexo bífido do ginostégio (figura 1 - AB) (SILVA et al., 2008). Segundo Valente e Costa (2005), a cabeça estilar pentagonal caracteriza Apocynaceae. O ginostégio rudimentar surgiu primeiramente em Apocynoideae, onde as anteras lignificadas são adnatas à cabeça do estilete (ENDRESS; BRUYNS, 2000).

O polinário é uma estrutura especializada que garante o sucesso da polinização das Asclepiadoideae (SILVA et al., 2008). Cada flor apresenta cinco polinários, e estes são formados por uma parte apical, o retináculo, e por duas polínias laterais, ao qual se ligam ao retináculo pelas caudículas (figura 1 - RE) (VALENTE; COSTA, 2005). O conjunto formado pelo retináculo e pelas caudículas é denominado translador, o qual garante o transporte das polínias (KUNZE, 1993).

O translador é constituído por deposições sucessivas de uma substância secretada pelo ginostégio. Esta substância semifluida inicialmente se solidifica adquirindo uma consistência córnea (SILVA et al., 2008). O polinário é de origem heterogênea, ou seja, o translador é secretado na cabeça estilar, e as polínias são formadas nos lóculos das anteras, sendo estes dois componentes unidos mediante a fusão progênita entre anteras e cabeça estilar (KUNZE, 1993; KUNZE, 1994). A polínia é recoberta por uma camada de esporopolenina (SINHA; MONDAL, 2011), e sua morfologia é variável entre os gêneros e espécies de Apocynaceae (SCHILL; JAKEL, 1978).

O translador das Apocynaceae surgiu pela primeira vez na subfamília Periplocoideae (KUNZE, 1994; VERHOEVEN; VENTER, 2001), sendo caracterizado como um corpúsculo rudimentar que porta um disco adesivo na sua extremidade. Kunze (1993) afirma que os transladores em Periplocoideae e

Asclepiadoideae são caracteres apomórficos. O translador é originado a partir de secreções viscosas oriundas do ginostégio, e que nas subfamílias Rauvolfioideae e Apocynoideae tais substâncias viscosas agiam como adesivo líquido para o grão de pólen. Em Asclepiadoideae, o translador sólido é visto como uma sinapomorfia (KUNZE, 1993; KUNZE, 1994).

Três tribos são reconhecidas para a subfamília Asclepiadoideae: Marsdenieae, Ceropegieae e Asclepiadeae (ENDRESS; LIEDE-SCHUMANN; MEVE, 2007; ENDRESS; LIEDE-SCHUMANN; MEVE, 2014). O “Clado Fockea”, que pertence a tribo Marsdenieae, é composto pelos gêneros *Fockea* Endl. e *Cibirhiza* Bruyns, e estes indivíduos apresentam a polínia sem revestimento de esporopolenina e translador sem caudícula, garantindo uma proximidade deste clado com a subfamília Secamonoideae (VERHOEVEN; LIEDE; ENDRESS2003).

Transladores em Secamonoideae são semelhantes aos do Asclepiadoideae, exceto pela caudícula, que em muitas vezes são ausentes ou subdesenvolvidas, de modo que a polínia é geralmente mais ou menos fixa no corpúsculo (CIVEYREL et al., 1998). Na maioria dos indivíduos pertencentes à Secamonoideae, para cada translador, estão anexas quatro polínias (VERHOEVEN; VENTER, 2001). No gênero *Secamonopsis* (Secamonoideae), no entanto, estão presentes caudículas bem desenvolvidas (CIVEYREL et al., 1998; CIVEYREL; ROWE, 2001; OMLOR, 1996).

Transladores em Periplocoideae, em contraste, consistem de uma estrutura firme, porém flexível, em forma de colher, que pode ser dividido em três regiões morfológicas: o receptáculo de pólen forrado com adesivo no lado abaxial, um talo e um disco pegajoso, forrado com um adesivo composto por viscidium no lado adaxial, pelo qual o translador se prende ao polinizador (DEMETER, 1922; ENDRESS, 2001; ENDRESS; BRUYNS, 2000; FAHN, 1974; SCHICK, 1982; SCHILL; JAKEL, 1978). Nos indivíduos dos gêneros

Forsteronia e *Apocynum*, pertencentes à Apocynoideae (subfamília de grãos de pólen livres), uma estrutura anexa ao androceu é homologa ao translador e justifica a maior proximidade evolutiva de Periplocoideae e Apocynoideae (SCHICK, 1982; VERHOEVEN; VENTER, 1998).

Para todas as subfamílias de Apocynaceae que apresentam polinário, esta estrutura só é liberada da antera após haver contato com o polinizador (VERHOEVEN; VENTER, 2001). Em Orchidaceae, polínias são formadas, mas em certos gêneros a polínia é menos compacta e isto inclui pequenos grupos de grãos de pólen, sendo denominada *mássula*, as quais são dispersas juntas, normalmente por fios de viscina que formam uma espécie de união do grupo (FAHN, 1974). Em Periplocoideae também há o registro de mássulas (VERHOEVEN; VENTER, 1998).

Os polinários de Asclepiadoideae podem se associar através da caudícula formando a corrente de polinários, que auxilia no processo de dispersão desta estrutura. Embora o valor adaptativo desta corrente permaneça desconhecido, tem sido sugerida como um meio para aumentar a quantidade de pólen removido por polinizadores (COCUCCI et al., 2014). Espécies do gênero *Oxypetalum* possuem estruturas nos polinários às quais não possuem função biológica específica, mas sugerem que são propícios a evitar união dos polinários. Relacionado a isto, sabe-se também que a capacidade de formar correntes de polinários não é restrita apenas a polinários da subtribo Oxypetalinae, pois também há ocorrência desta associação em *Asclepias* L. (subtribo Asclepiadinae) (COCUCCI et al., 2014; VIEIRA; SHEPHERD, 1999a; WIEMER et al., 2011).

A dependência de insetos para a polinização é devida a hercogamia, que é uma “barreira física” criada através da disposição dos verticilos florais e que impede a autopolinização (VIEIRA; GRABALOS, 2003). Estudos têm demonstrado que espécies de *Oxypetalum* apresentam autocompatibilidade,

porém produzem híbridos viáveis entre espécies distintas (VIEIRA; SHEPHERD, 1999b). Analisando a reprodução de espécies de Apocynaceae, Vieira e Shepherd (1999a) concluíram que existe conhecimento da biologia reprodutiva de apenas 6% das espécies de Asclepiadoideae, sendo que a maioria dele se concentra a cerca do gênero *Asclepias* L.

2.3 Distribuição Geográfica da Família Apocynaceae

A família Apocynaceae detém 415 gêneros que englobam 4555 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicais, principalmente na América do Sul e África, com menor incidência nas regiões temperadas. O único continente onde não há relatos de Apocynaceae é o Antártico. (RAPINI, 2012; STEVENS, 2006) (FIGURA 1). A morfologia externa e a distribuição geográfica se apresentam como os parâmetros determinantes para a delimitação dos táxons (RAPINI, 2000). Alguns grupos de Apocynaceae do Velho Mundo, principalmente em Asclepiadoideae, apresentam delimitação incerta e posição sistemática discutível, porém este problema não se aplica ao continente Americano, pois grãos de pólen bem formados e polinários verdadeiros permitem a fácil distinção do grupo (RAPINI et al., 2001).

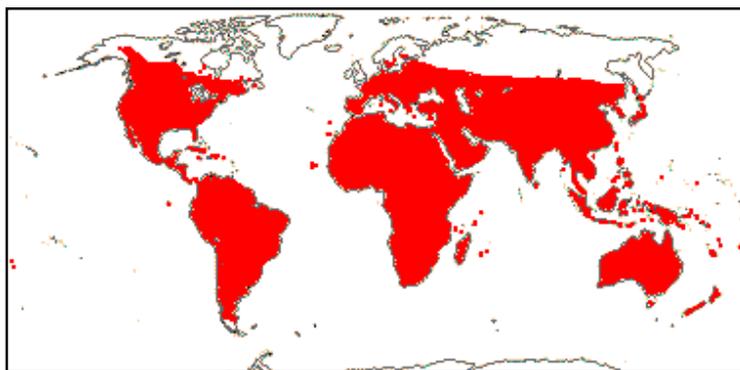


Figura 2 Mapa da distribuição geográfica das espécies de Apocynaceae (STEVENS, 2006).

No Brasil se tem o conhecimento da ocorrência de 767 espécies da família Apocynaceae, ocorrentes em todos os estados nacionais e nos mais variados habitats: caatinga *s. str.*, campo rupestre, carrasco, cerrado *s.l.*, floresta ciliar ou galeria, floresta de terra firme, floresta estacional decidual, floresta estacional semidecidual, restinga e também em locais de vegetação antropizada (KOCH et al., 2014). Em Minas Gerais há o registro de 290 espécies, localizadas e identificadas, principalmente, em complexos vegetacionais, como em Serra Negra (MATOZINHOS; KONNO, 2011), no Parque Nacional da Serra da Canastra (MOROKAWA; SIMÕES; KINOSHITA, 2013) e Cadeia do Espinhaço (RAPINI, 2010), sendo este último complexo vegetacional como um dos centros de diversidade da subfamília Asclepiadoideae na América do Sul (RAPINI, 2000). A subtribo Oxypetalinae K. Schum (Asclepiadoideae) é o terceiro grupo mais representativo, com 200 espécies neotropicais (RAPINI, 2010; RAPINI; FONTELLA-PEREIRA; GOYDER, 2011; RAPINI; MELLO-SILVA; KAWASAKI, 2001; SILVA et al., 2012).

2.4“Clado MOOG”

Os 214 gêneros reconhecidos para Asclepiadoideae se encontram distribuídos nas três tribos: Marsdenieae Benth, Ceropegieae Orb. e Asclepiadeae (R. Br.) Duby (ENDRESS; BRUYNS, 2000), que são distintas entre si através de características referentes à filotaxia, coloração do látex, anatomia da antera e, principalmente, quanto à morfologia do polinário (ENDRESS; BRUYNS, 2000; LIEDE; ALBERS, 1994).

As subtribos Metastelmatinae, Orthosiinae, Oxypetalinae, Gonolobinae e outros dois gêneros adicionais - *Pentacyphus* Schltr. e *Diplolepis* R.Br. - que não pertencem a nenhuma destas subtribos formam um grupo denominado “Clado MOOG” (LIEDE-SCHUMANN et al., 2005; LIEDE-SCHUMANN et

al., 2014; SILVA et al., 2012). Apesar dos dados filogenéticos referentes ao Clado MOOG indicarem que este grupo é monofilético, padrões de relações intergenéricos ainda são pouco compreendidos como, por exemplo, a delimitação de grandes gêneros como *Ditassa*, *Matelea* e *Oxypetalum*, onde o caráter monofilético ainda não é bem elucidado (LIEDE-SCHUMANN et al., 2005; RAPINI; FONTELLA-PEREIRA; GOYDER, 2011).

Um grande contingente dos gêneros originalmente pertencentes à subtribo *Metastelmatinae* Endl. ex Meisn. foi segregado para compor a subtribo *Cynanchinae*, restando apenas 13 gêneros distribuídos exclusivamente no continente americano. As espécies pertencentes à *Metastelmatinae* geralmente apresentam uma corola composta apenas de partes estaminais, e sua flor tende a ser pequena e esbranquiçada, adornada com tricomas nos lóbulos da corola (LIEDE-SCHUMANN et al., 2005; SILVA et al., 2012).

Orthosiinae Liede & Rapini possui três gêneros e aproximadamente 80 espécies, sendo a menor subtribo, em número específico, do clado “MOOG”. A tribo *Orthosieae* foi negligenciada durante muito tempo, sendo atualmente conhecida como a subtribo *Orthosiinae* (LIEDE-SCHUMANN et al., 2005).

Oxypetalinae K. Schum é a terceira subtribo em número de espécies do clado MOOG, sendo dividida em dois subtipos principais, um que compreende a grande gênero *Oxypetalum*, e o outro incluindo *Philibertia* e *Tweedia brunonis* (RAPINI; FONTELLA-PEREIRA; GOYDER, 2011). Os indivíduos de *Oxypetalinae* podem ser caracterizados pela fusão da corola em pelo menos metade do comprimento das pétalas, tornando visível a cabeça do estilete (LIEDE-SCHUMANN et al., 2005; RAPINI; FONTELLA-PEREIRA; GOYDER, 2011; SILVA et al., 2012).

Gonolobinae (G. Don) Liede é a subtribo mais numerosa, com um total de 300 espécies. O reconhecimento destas espécies comumente pode ser feita pela divergência da extremidade dos sacos da antera, resultando tanto na posição

horizontal das polínias quanto na esterilidade apical das polínias (LIEDE-SCHUMANN et al., 2005; SILVA et al., 2012).

2.5 Estames

Na tribo Asclepiadeae (Aclepiadoideae), na porção superior das anteras, observam-se apêndices membranáceos que são prolongamentos do conectivo no ápice da antera, sendo denominado “dentículo” ou “membrana hialina”(Figura 1 - DE) (KUNZE, 1996; SILVA et al., 2008). Em Asclepiadaceae, a epiderme externa das anteras é membranosa, formando amplo bordo saliente, constituindo as chamadas "asas das anteras". As asas das anteras associadas ao gineceu formam invaginações que geram cavidades amplas, que são denominadas câmaras nectaríferas ou criptas nectaríferas. Tais criptas nectaríferas são revestidas por um tecido secretor característico das Asclepiadoideae (KUNZE, 1993; KUNZE, 1994).

Segundo Liede (1996), o androceu, bem como seus anexos, exhibe morfologia específica para a separação de táxons de Apocynaceae. O número de lóculos nas anteras dos indivíduos de Apocynaceae é um parâmetro evolutivo observado dentro das cinco subfamílias, pois todas são tetrasporangiadas, apenas Asclepiadoideae, subfamília que apresenta um elevado grau de derivação, possui anteras bisporangiadas (ENDRESS; BRUYNS, 2000; VERHOEVEN; LIEDE; ENDRESS, 2003; VERHOEVEN; VENTER, 2001).

As peculiaridades morfológicas dos estames sustentam a premissa de que o androceu, bem como seu anexos, são bons parâmetros para a taxonomia de Apocynaceae (ENDRESS; BRUYNS, 2000; ENDRESS; LIEDE-SCHUMANN; MEVE, 2007). Rauvolfioideae compreende as linhagens mais basais em Apocynaceae e é caracterizada pelos estratos parietais das anteras sem lignificação especializada (KOTOVSKY, 2013). A subfamília Apocynoideae

apresenta uma antera dividida em dois segmentos: ápice fértil e porção basal estéril (SIMÕES; CASTRO; KINOSHITA, 2006). Exteriormente, as anteras são cuidadosamente ornamentadas com tricomas, posicionados abaixo da parte fértil da antera, com função de barreira física impedindo que o pólen da própria flor seja deslocado para a região receptiva, conferindo autoincompatibilidade, presente em Apocynoideae e também em todas as Apocynaceae (KOTOVSKY, 2013).

O padrão de divisão das células durante a microsporogênese da família Apocynaceae é variante com o tipo de arranjo do grão de pólen: (1) Rauvolfioideae e Apocynoideae que apresentam grãos de pólen livres, possuem microsporogênese simultânea; (2) Periplocoideae, que possui uma polínia rudimentar, possui divisão simultânea também; e (3) Secamonoideae e Asclepiadoideae, que apresentam seus pólenes aglutinados em densas polínias, possuem divisão sucessiva (ENDRESS; BRUYNS, 2000; DICKO-ZAFIMAHOVA, 1982; AKSOYA; KIZILIRMAKA; AKDENIZA, 2013).

Verhoeven e Venter (2001) utilizam os caracteres do grão de pólen, especialmente a morfologia da exina, para segregar as subfamílias detentoras de polínia: (1) Periplocoideae, duas camadas de exina, com tectum e extrato granular; (2) Secamonoideae, três camadas de exina, com tectum, uma camada granular bem desenvolvida e uma camada basipetal; (3) Asclepiadoideae, três camadas de exina, com tectum, uma fina camada granular e uma camada basipetal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da Espécie *Oxypetalum appendiculatum* Mart.

A espécie *Oxypetalum appendiculatum* Mart. pertence a Asclepiadoideae, Asclepiadeae, Oxypetalinae. Morfologicamente, pode ser reconhecida como sendo uma trepadeira coberta por tricomas esbranquiçados, folhas discolors, sendo a face abaxial hialina, flores de corola e corona creme-esverdeadas, frequentemente vináceas para a base, lacínias da corola eretas a recurvadas, lobos da corona escamiformes e apêndice do ginostégio vináceo, bífido acima da porção mediana; retináculo linear provido de uma expansão membranácea cordiforme no ápice; diagnosticada pela presença de polinários com apêndices hialinos no ápice do retináculo (MONGUILHOTT; MELLO-SILVA, 2008; RAPINI, 2010; VIEIRA; SHEPHERD, 1999a). Pode ser encontrado em cerradão, cerrado, campo limpo, rupestre e de altitude, mata ciliar, áreas brejosas, pastos e beiras de estradas; nos Estados do sul e sudeste brasileiro, no Paraguai, na Argentina e na Bolívia (RAPINI, 2010).

3.2 Locais de Coleta do Material Botânico

Os exemplares de *O. appendiculatum* foram coletados no município de Lavras, Campos das Vertentes de Minas Gerais, em duas formações vegetacionais distintas. A primeira coleta (figura 3A) em formação vegetacional de transição, onde habitats de mata e campo se encontram [Coordenadas Geográficas: 050382/ 7640849], solo do tipo Latossolo Vermelho Distroférico e o estágio de desenvolvimento vegetativo do espécime é relativamente jovem. A segunda coleta (figura 3B) foi em campo rupestre, com uma considerável agregação vegetacional [Coordenadas Geográficas: 0503282/ 7640849], solo do

tipo Neossolo e o estágio de desenvolvimento vegetativo do espécime é avançado, evidenciado pela lignificação na base do caule.

O material testemunho foi incorporado ao acervo do Herbário-ESAL, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil [Número do Registro: 27.511; Dezembro 2013].

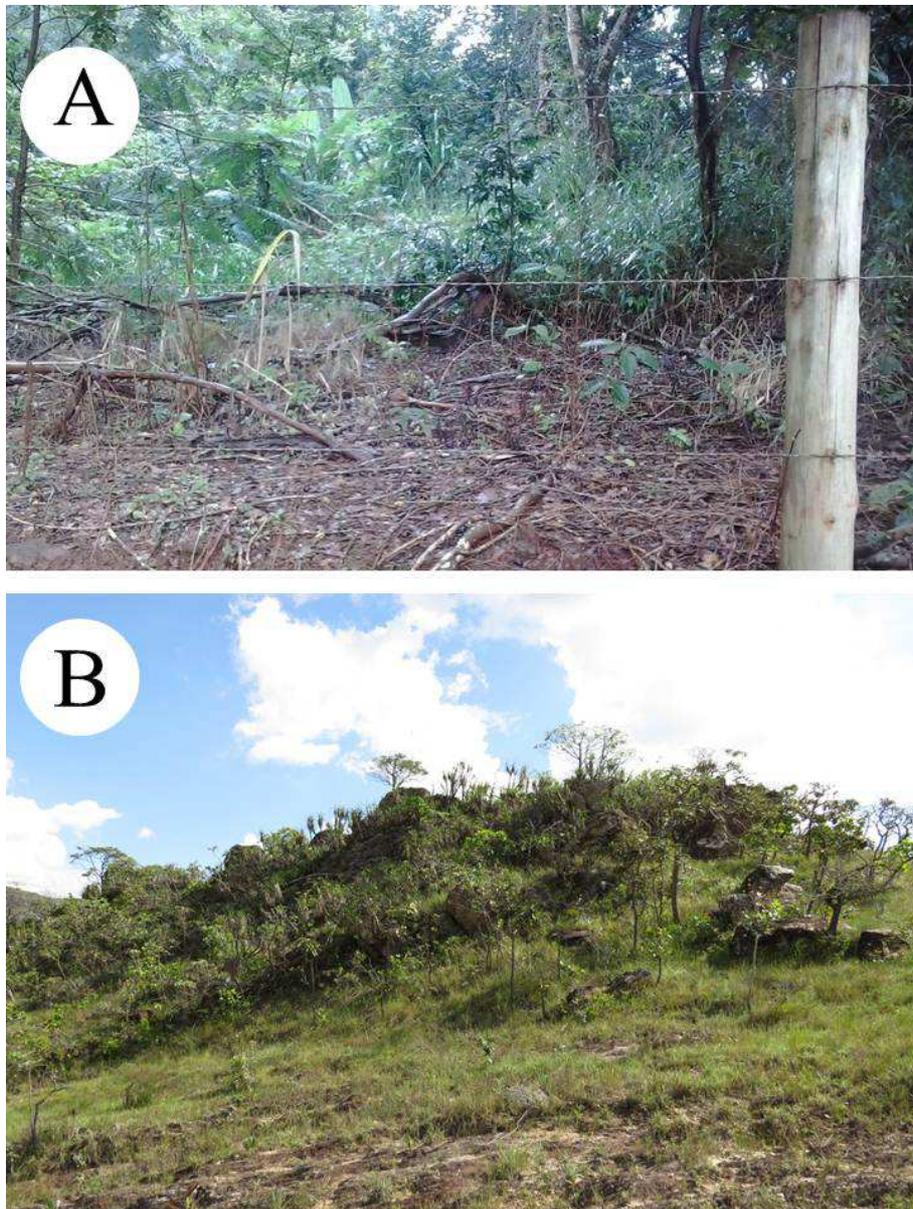


Figura 3 Locais de coleta de *Oxypetalum appendiculatum*. A - Habitat de convergência entre mata e campo. B - Habitat de campo rupestre.

**3.3 Exame Anatômico:
Anatomia da Antera, Microsporogênese e Microgametogênese**

O material coletado constou de botões florais, flores em pré-antese, antese e pós-antese (Figura 4). Na maioria dos casos, os botões e flores tiveram seus verticilos estéreis retirados manualmente seccionados, quando necessário. Posteriormente, o material foi fixado em solução de Karnovsky em tampão fosfato 0,075 M (pH 7,2-7,4) por 24 horas, lavados em tampão fosfato 0,075 M (pH 7,2-7,4) (KARNOVSKY, 1965), desidratados gradativamente em etanol 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% e conservados em etanol 70%.

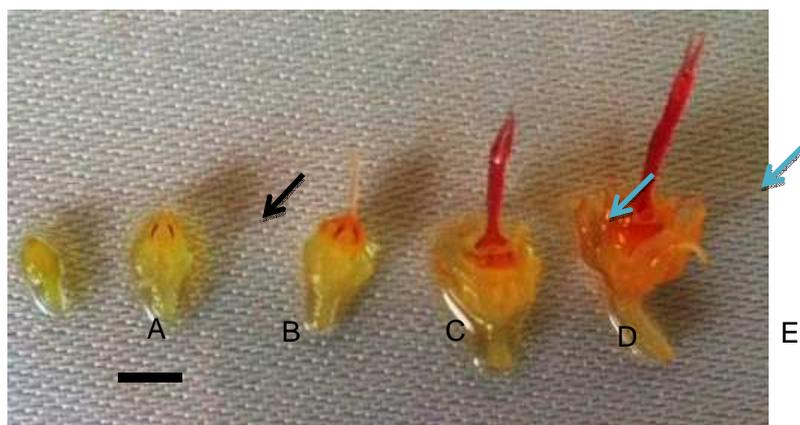


Figura 4 *Oxyptalum appendiculatum*. A: Botão floral jovem. B: Botão floral, sem a corola, evidenciando o início da secreção do retináculo (SETA PRETA). C: Botão florão, sem a corola, em estágio de pré-antese, evidenciando o primórdio do anexo bífido do ginostégio. D e E: Flores pós-antese, sem a corola, em diferentes graus de maturação e com a coroa (SETA AZUL) já evidente. Barra de escala: 1 cm.

Para confecção do laminário permanente, as amostras foram desidratadas em série etílica, na concentração de 90% e 100%, infiltradas e incluídas em hidroxietilmetaacrilato Leica®. Durante a desidratação, infiltração e inclusão, o material foi submetido a vácuo afim de otimizar o processo. As amostras foram

seccionadas em micrótomo rotativo transversal e longitudinalmente, com cerca de 3-5 μm , coradas com azul de toluidina (pH 4,7) (O'BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1964) e montadas em resina sintética Permount®, Bálsamo do Canadá e/ou Verniz Vitral Incolor 500® (PAIVA et al., 2006). Todo o laminário foi analisado em microscópio óptico e estereomicroscópio e registrado por meio de captura de imagens em fotomicroscópio ou fotoestereomicroscópio trinocularos quais tiveram as escalas devidamente preparadas sob as mesmas condições ópticas.

3.4 Exame de Superfície do Polinário e do Grão de Pólen

Foram retirados os polinários das flores em antese, e estes passaram pela fixação em solução de Karnovsky em tampão cacodilato de sódio 0,05 M (pH 7,2) (KARNOVSKY, 1965). As amostras foram lavadas em tampão cacodilato de sódio 0,05M e fixadas em tetróxido de ósmio a 1%, de 1-4 horas, em temperatura ambiente. Posteriormente, foram desidratadas gradativamente em solução de acetona, submetidas ao ponto crítico de dessecação de CO_2 em equipamento BAL-TEC, CPD-030, fixadas em suporte metálico com cola de prata e recobertas com ouro metálico (10 nm) em aparelho BAL-TEC, SCD-050. O material preparado foi observado e eletromicrografado em microscópio eletrônico de varredura LEO-EVO 40, XVP.

Para a visualização dos grãos de pólen, a parede de cada polínia foi seccionada transversalmente em três regiões (apical, mediana e basal), a fim de permitir a análise do seu conteúdo interior. Os polinários foram fixados no suporte metálico em duas posições, ventral e dorsal, para que fossem detectados possíveis parâmetros promissores para a taxonomia do táxon.

4 RESULTADOS

4.1 Morfologia do Botão Floral e da Flor

Oxypetalum appendiculatum apresenta botões florais (figura 5A) dispostos em cimeiras corimbiformes, com prefloração quincucial (ou espiralada), onde as duas primeiras peças florais são inteiramente externas e as duas últimas inteiramente internas, a peça mediana é coberta pela segunda e cobre a quarta (figura 5B). É perceptível nas pétalas do botão floral em estágio avançado de desenvolvimento, dez depressões em sua região proximal projetadas radialmente, que formam recipientes para o acúmulo de néctar (figura 5A - Ponta de seta branca).

As flores são pentâmeras. As cinco sépalas se alternam às cinco pétalas que, por sua vez, se alternam aos cinco elementos de corola e cinco estames; o cálice é dialissépalo e com sépalas verdes; a corola é gamopétala, apenas a porção basal e mediana fundidas, e lobadas na extremidade, as pétalas são discocolores, sendo a face abaxial verde amarelada e a face adaxial verde amarelada com tons vináceos predominantes (Figura 5A); as coronas são creme esverdeadas (Figura 5A - *), com lobos arredondados e estão situadas ao redor do ginostégio, sendo fundidas na base e com ápice livre (Figura 5A, D - *).

O ginostégio pentagonal se apresenta composto pela fusão das anteras ao estigma e estilete (Figura 5C); na extremidade apical do ginostégio há um prolongamento do ginostégio, o anexo bífido, de cor vinácea e ramificado acima da porção mediana (Figura 5D). Cada uma das cinco anteras do androceu se encontra coberta por um anexo, o denticulo (ou apêndice membranáceo (Figura 5C - Ponta de seta preta); o filete é subséssil (Figura 8D); as anteras apresentam uma expansão alada e suboblunga nas laterais, as asas da antera (Figura 5C -

Seta branca). O local de encontro de duas asas adjacentes forma a guia de calha (trilho) (Figura 5C).

O gineceu é composto por dois carpelos, fundidos pelo estilete e estigma, e com ovários livres. Os estiletes unem-se na sua região distal, formando a cabeça dos estiletes. O estigma possui cinco porções receptivas localizadas no ginostégio, mais precisamente atrás dos transladores (ver retináculo - de coloração acastanhada) (Figura 5C - Seta preta).

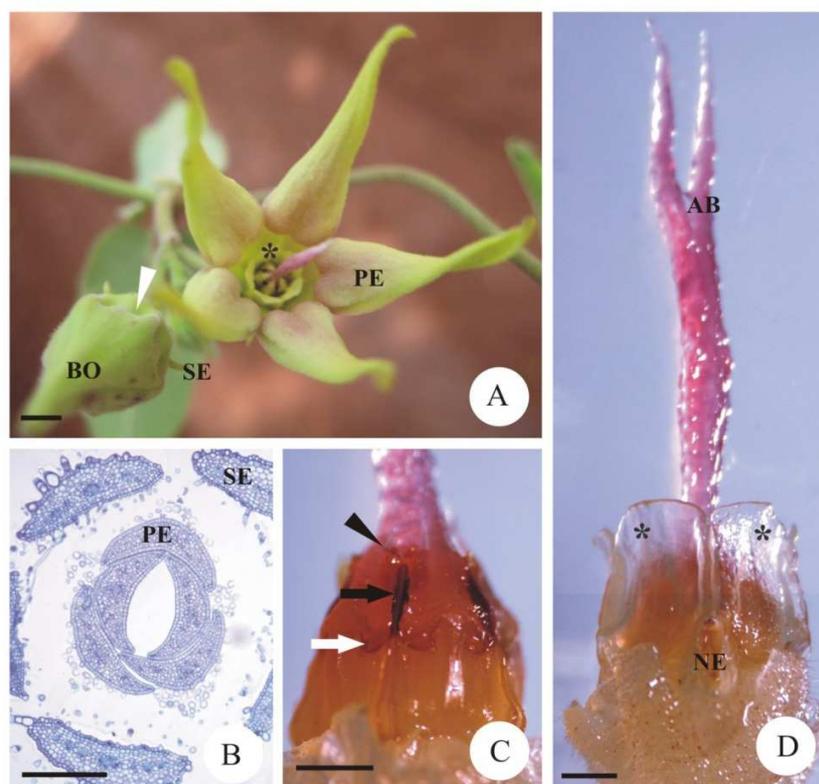


Figura 5 Aspecto da flor de *Oxypetalum appendiculatum*. A: Botão floral e flor em antese. B: Pré-floração quincucial. C: Aspecto geral do ginostégio, asas das anteras (SETA BRANCA) retináculo (SETA PRETA) e denticulo (PONTA DE SETA PRETA). D: Corona, anexo bífido e nectário. AB = anexo bífido; BO = botão floral; NE = nectário; PE = pétala; SE = sépala; * = corona; PONTA DE SETA BRANCA = depressão localizando nectário interno. BARRAS DE ESCALA: 4 mm (A); 1 mm (D); 250 μ m (C); 200 μ m (B).

4.2 Parede da Antera

Em *Oxypetalum appendiculatum* Mart., mediante análise de um corte transversal, são identificadas cinco anteras bitecas e bisporangiadas (figura 6), as quais ocupam uma posição convexa na superfície do ginostégio (Figura 6A). As anteras podem ser classificadas em três diferentes grupos, de acordo com a posição que elas ocupam no botão floral: (1) duas anteras inferiores, de maior tamanho; (2) duas anteras medianas, de tamanho intermediário; e (3) uma antera superior, com o menor tamanho (Figura 6 A).

Com relação ao desenvolvimento da parede da antera, este é do tipo dicotiledônio. Embora as anteras inicialmente apresentem tamanhos diferentes, o desenvolvimento da parede da antera, bem como a microsporogênese e a microgametogênese ocorrem da mesma forma, contudo, não concomitantemente entre as anteras, nem tão pouco entre os microsporângios da mesma antera (Figura 6A, 7C).

O desenvolvimento dos lóculos se inicia nas duas anteras basais. Nestas lóculos próximos se desenvolvem primeiro, uma vez que esse conteúdo adjacente unido forma um polinário. Após isto, simultaneamente, os lóculos adjacentes das anteras basais e das anteras medianas se desenvolvem. Por fim, os lóculos das anteras adjacentes das anteras medianas e da antera superior terminam o desenvolvimento. Outra observação constatada é que os lóculos de cada antera estão situados na metade inferior de cada antera e a altura dos lóculos nas cinco anteras são diferentes entre si, uma vez que as anteras tem tamanhos diferentes (Figura 6A).

Anatomicamente, o primórdio da antera do primeiro estágio do botão floral de *O. appendiculatum* apresenta protoderme unisseriada, cujas células são cuboides e com núcleo evidente. O tecido meristemático (arquesporial) da antera diferencia-se em duas porções e apresenta células isodiamétricas com citoplasma

denso e núcleo central conspícuo (Figura 6B). Num segundo estágio de desenvolvimento do botão observa-se a camada parietal primária alongada radialmente (Figura 6C - Seta branca) e passando por divisão periclinal (Figura 6D - Seta preta), originando as camadas parietais primárias externa e interna (Figuras 6D, E). A camada subjacente à camada parietal primária também se alonga radialmente e entra em divisão periclinal e origina as células esporogênicas externamente e células meristemáticas internamente (Figura 6C, D - *).

A camada parietal primária externa se divide originando a camada parietal secundária, que origina o endotécio. A secundária interna origina a camada média. A camada parietal primária interna não passa por divisão mitótica e diferencia-se diretamente em tapete. As células meristemáticas da região interna do lóculo da antera (região dorsal da antera) dividem-se periclinal e anticlinalmente formando um tecido cujas células apresentam paredes finas, conteúdo denso e núcleo conspícuo (Figura 6E - *).

Numa fase posterior do botão floral, a camada média e o tapete dividem-se periclinalmente, formando, cada um, dois estratos de suas respectivas camadas (Figura 6F). Portanto, nessa fase, a antera apresenta seis estratos parietais: a epiderme, o endotécio sem espessamentos, dois estratos de camadas médias parenquimáticas e dois estratos de tapete. É importante ressaltar que as células adjacentes ao lóculo na região dorsal da antera, que iniciaram sua diferenciação no estágio anterior, diferenciam-se em tapete (Figura 6F - *). Portanto, o tapete é bisseriado na porção ventral e multisseriado na região dorsal do lóculo, voltada para o feixe vascular. O tapete da porção ventral apresenta células cuboides e de paredes bem definidas e um núcleo conspícuo, situado na porção central da célula (Figura 6F). Já na porção dorsal o tapete tem formato alongado radialmente a cuboide. Em *O. appendiculatum* o tapete é secretor (ou glandular) e circundante ao lóculo (Figura 6F).

Na fase pré-antese observa-se a epiderme unisseriada composta por células de formato cuboide a levemente convexo, cujo tamanho é variável (Figuras 6G, H). Nas extremidades laterais, a antera desenvolve um bordo saliente, a “asa da antera”, caracterizando-a com uma sessão triangular (Figura 6G). Na região distal das asas a epiderme alonga-se radialmente, entretanto permanece uniestratificada com paredes finas e revestida por uma cutícula delgada (Figura 6G). A epiderme, o endotécio e as camadas médias se tornam mais delgadas radialmente, sendo comprimidos na região do estômio, e algumas células do tapete podem se tornar binucleadas (Figura 6G).

No estágio correspondente ao grau máximo de maturação da flor, quando ocorre a antese, a epiderme, o endotécio e as camadas médias são obliterados na região do estômio, que fica voltado para a parte interna, em contato com o ginostégio (Figura 6I). Nesta fase, o tapete já está degenerado (Figura 6I, J). As asas das anteras aumentam ainda mais seu comprimento; e o parênquima da antera exibe depósito de parede secundária e lignifica-se. Na porção ventral da antera, na região de separação das tecas, a epiderme e parte do septo também se lignificam (Figura 6J). Permanecem sem lignificação o restante da epiderme, o feixe vascular e a região que circunda o lóculo, cerca de seis camadas de células, inclusive parte do septo que separa as tecas (Figura 6I, J). Na porção distal das asas anteras verifica-se a formação das guias de calhas (Figura 6K).

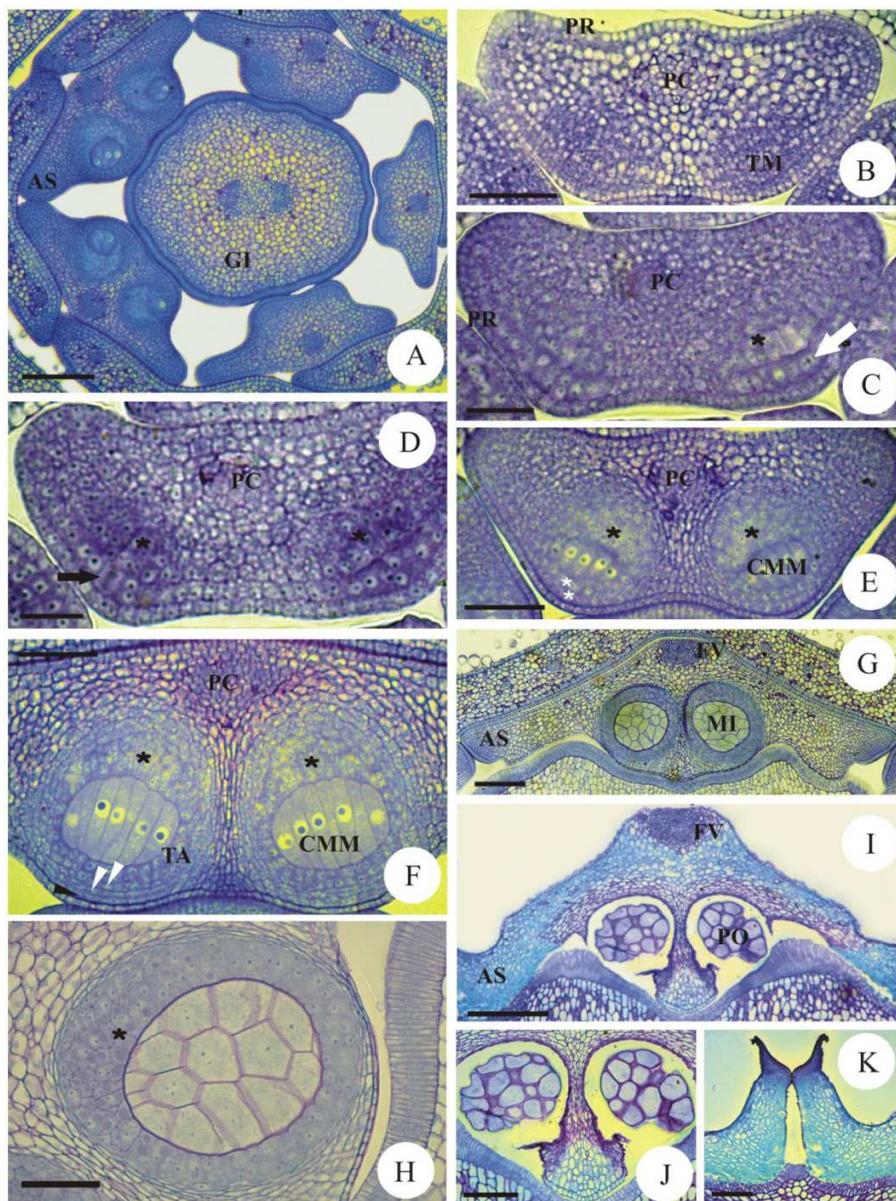


Figura 6 Secções transversais do botão e flor de *Oxypetalum appendiculatum*. A: Aspecto geral do androceu; notar tamanhos desiguais e diferentes fases de desenvolvimento das anteras. B: Primórdio de antera evidenciando tecido meristemático (arquesporial). C: Primórdio de antera evidenciando protoderme, camada parietal primária (SETA BRANCA) e

tecidoesporogênico em mitose (*). D: Divisão da camada parietal primária (SETA PRETA). E: Primórdio de antera com camadas parietais primárias externa e interna (*). F: Antera com cinco camadas parietais: epiderme, endotécio indiferenciado (PONTA DE SETA PRETA), duas camadas médias (PONTA DE SETA BRANCA) e tapete. Notar que endotécio e camada média externa são produto da divisão celular da camada parietal secundária externa. G: Antera em flor pré-antese, e com as “asas das anteras” ainda imaturas; H: Tapete multiestratificado (*); I: Antera madura com parede da antera lignificada e políneas já isoladas dos lóculos devido ao rompimento do estômio. J: Detalhe da abertura da antera. K: Encontro de duas asas de anteras adjacentes formando “guia de calha”. AS = asa da antera; CMM = célula mãe do micrósporo; FV = feixe vascular; GI = gineceu; MI = micrósporos; PR = protoderme. TA = tapete; BARRAS DE ESCALA: 200 μm (I); 125 μm (A, G); 100 μm (B, J, K); 50 μm (C, D, E, F, H).

4.3 Microsporogênese e Microgametogênese

O desenvolvimento do micrósporo inicia-se no primórdio da antera com a protoderme envolvendo o tecido meristemático em diferenciação em cada um dos dois microsporângios da antera, os quais são separados por células vacuoladas que formam o septo, evidenciando as células iniciais do esporângio, as quais são isodiamétricas e apresentam citoplasma denso (Figura 7A). Conforme já relatado, a microsporogênese e a microgametogênese não ocorrem concomitantemente entre as anteras, nem tão pouco entre os microsporângios da mesma antera (Figura 7C), contudo as fases são semelhantes.

As células esporogênicas começam sua diferenciação, quando quatro células abaixo da camada parietal primária alongam-se e dividem-se periclinalmente formando também as células meristemáticas que formarão o tapete multisseriado (Figura 7B, Seta preta). As quatro células esporogênicas tornam-se mais evidentes que as demais células do microsporângio (Figura 7D) e passam por uma mitose radial, formando oito células-mãe dos micrósporos ou os microsporócitos (Figura 7C, E, F). Cabe ressaltar que as células esporogênicas formam quatro colunas de células e que passam por mitoses transversais preenchendo a metade inferior do lóculo da antera de células-mãe

dos micrósporos, as quais estão dispostas inclinadamente nesse lóculo (Figura 7F).

Cada célula-mãe do micrósporo sofre uma meiose, formando uma díade de micrósporos (Figura 7C) e, logo após, uma tétrade de micrósporos com formação de parede após cada divisão (Figura 7G), caracterizando uma microsporogênese sucessiva. A tétrade de micrósporos originada é linear (Figura 7H). Ao final desta fase ocorre a citocinese com deposição de calose, separando os micrósporos (Figura 7H). Nesta fase já se inicia a deposição da esporoderme.

A partir deste estágio ocorre o início da microgametogênese, período em que a célula entra em mitose assimétrica, dando origem ao grão de pólen bicelular (Figura 7I). A célula vegetativa se encontra na porção central e com núcleo esférico central, ocupando a maior parte do volume do gametófito jovem. Já a célula generativa encontra-se na periferia da célula vegetativa (Figura 7I). A primeira sofre uma divisão, originando duas células espermáticas (Figura 7K, Seta branca). O grão de pólen maduro é tricelular e inaperturado (Figuras 7J, K, L, M). A esporoderme é lisa e sem ornamentação na exina (Figuras 7L, M).

Nesta espécie, os grãos de pólen estão dispostos como grãos individualizados, separados por uma parede (Figura 7J, K, L, M), porém aglutinados em uma polínia (Figuras 7K, L, M; 8 A-D) e envoltos por uma camada amórfica (Figuras 7L, M) e hialina (Figura 7K).

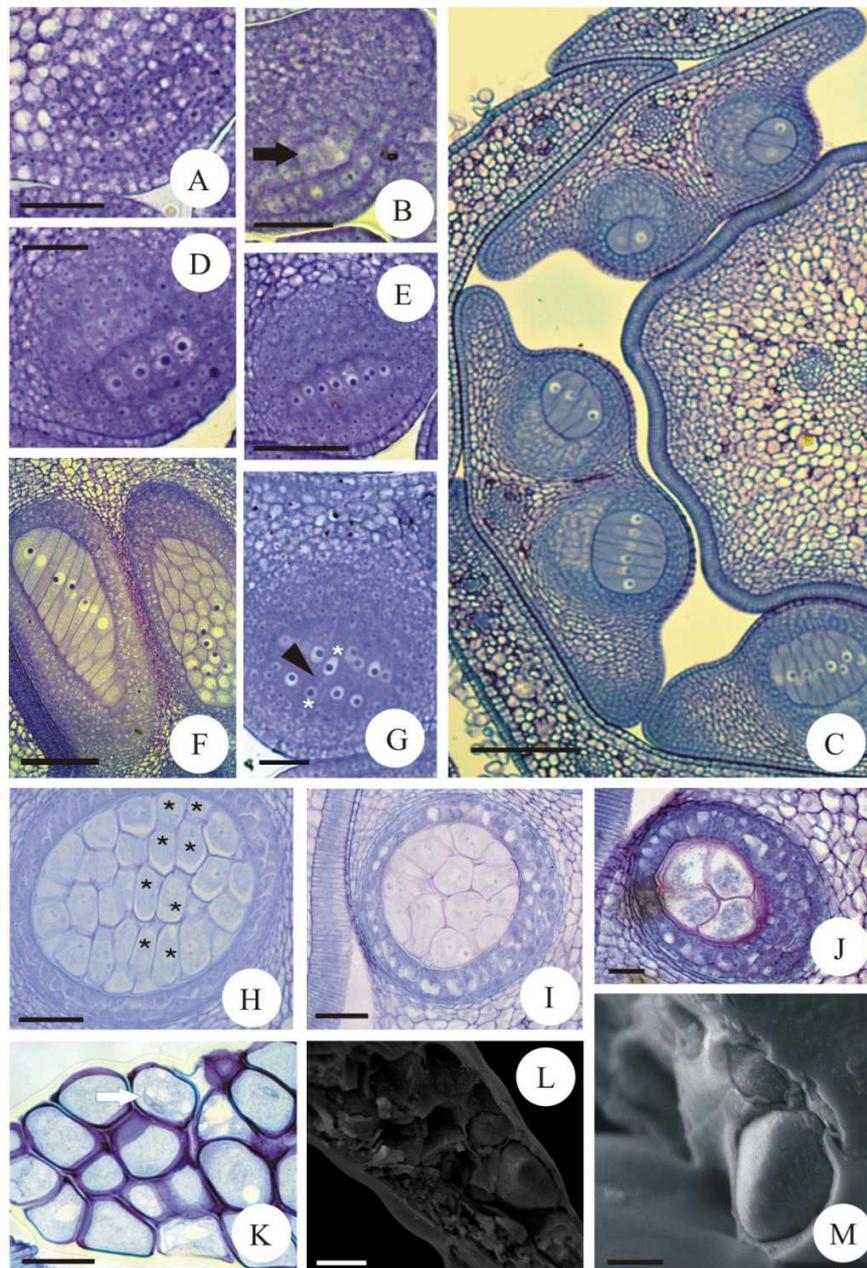


Figura 7 Microsporogênese e microgametogênese em *Oxypetalum appendiculatum*. Secções transversais das anteras, exceto K, que é longitudinal. I-J: Microscopia eletrônica de varredura. A: primórdio da antera mostrando

células esporogênicas. B: Células esporogênicas em mitose (SETA PRETA). C: Vista geral do botão mostrando anteras em diferentes alturas. D: Células esporogênicas. E, F: Microsporócitos. G: Díades (*); notar formação de parede após divisão (Ponta de seta preta). H: Tétrades tardias (*). I: Grãos de pólen bicelulares. J: Grãos de pólen maduros individualizados em lojas. K: Polínea evidenciando grãos de pólen tricolulares; SETA BRANCA aponta duas células espermáticas. L: Vista geral da polínea mostrando cada grão de pólen em uma loja. M: Grão de pólen inaperturado, de formato subesferoidal. BARRAS DE ESCALA: 200 μm (C); 100 μm (F); 50 μm (A, B, D, E, H, I, K); 25 μm (G); 20 μm (L); 10 μm (M).

4.4 Polinário

Na espécie *Oxypetalum appendiculatum* a epiderme secretora da cabeça dos estiletos é responsável pela secreção do translador, que é formado pelo retináculo e caudículas (Figura 8A). Esta secreção da cabeça dos estiletos é fluida e depositada nas fendas criadas pela junção de asas de anteras adjacentes (Figuras 6A, 7C). Quando ocorre a antese, este fluido entra em contato com a polínia, alojada no interior do lóculo da antera, formando o polinário, conjunto formado de polínia (porção reprodutiva) e translador (porção estéril) (Figuras 8A-D).

As caudículas, segmentos do translador que estão diretamente em contato com as polínias, apresentam expansões em sua porção apical (Figuras 8A) e lesões visíveis quando o polinário é retirado da flor, evidenciando a íntima associação do translador com a epiderme externa da antera (Figura 8B, C - Seta branca).

O translador apresenta uma expansão alada no ápice do retináculo (Figura 8A) e na região apical e ventral do retináculo, uma projeção de ambas as faces, que cria um conjunto de dois ganchos, direcionados em regiões opostas e que são responsáveis pela fixação no agente polinizador, o mecanismo de clip, culminando com a dispersão de todo o polinário (Figuras 8A, D, E). Na porção apical do retináculo, os dentículos apicais da antera participam ativamente da

morfologia do “mecanismo de clip”(Figura 8E). Na porção basal do retináculo existe uma projeção da epiderme do ginostégio que fixa o translador e, conseqüentemente, o polinário (Figuras 8E,F).

Já a outra parte do polinário, a polínea, verifica-se que apresenta uma película envolvendo-a (Figuras 8 A-C). Ao se observar a polínea exteriormente é possível visualizar as depressões que delimitam a câmara onde cada grão de pólen se encontra alojado (Figuras 8A, B). Em microscopia óptica, essa película é cristalina (Figura 7H) e envolve tanto a polínea quanto cada um dos grãos de pólen, isolando-os em lojas (Figuras 6 I, J).

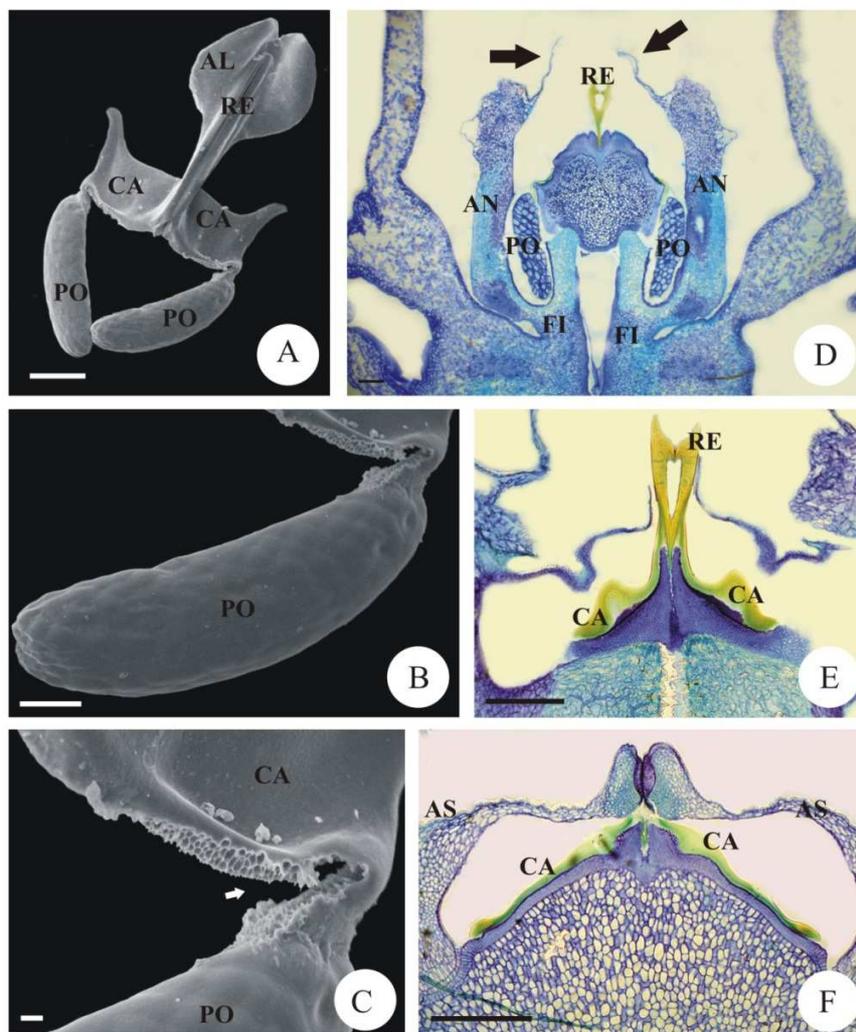


Figura 8 Polinário de *Oxypetalum appendiculatum*. A-C: MEV. Seções longitudinal (D) e transversal (E-F). A: Visão geral do Polinário. B: Polínia evidenciando a compartimentalização dos grãos de pólen, perceptível na sua superfície. C: Cicatriz na caudícula ocasionada pela retirada do polinário da antera/ginostégio (SETA BRANCA). D: Visão geral do polinário atrelado as antera e ao ginostégio. E: Tradutor, com retináculo evidenciando o “mecanismo de clip” e as duas caudículas na parte inferior. F: Invaginação da epiderme do ginostégio responsável pela fixação do tradutor. AN = anteras adjacentes; AS = asas das anteras adjacentes; CA = caudícula; FI = filete; PO = polínia; RE = retináculo; SETA PRETA = dentículos. BARRAS DE ESCALA: 250 μ m (F); 200 μ m (A, D, E); 100 μ m (B); 20 μ m (C).

5 DISCUSSÃO

A morfologia floral de *Oxypetalum appendiculatum* fornece características importantes para a taxonomia. A corola, por exemplo, com tonalidade vinácea na base interna é uma característica para a determinação da espécie. O anexo bífido do ginostégio é outro caráter que auxilia na identificação da espécie em questão. Ao analisar a morfoanatomia de 25 espécies nativas de *Oxypetalum*, Silva et al. (2008) se referiram à morfologia do ginostégio como bom parâmetro para a segregação de espécies. Outro caráter relevante é a corona, que se encontra unida ao tubo da corola e também à base dos estames, porém estão fundidas entre si somente na base, apresentando os lobos levemente arredondados e livres. A morfologia e a vascularização da corona são únicas para cada espécie e são apontadas como bons artifícios para a identificação de indivíduos. Em *O. appendiculatum* os feixes vasculares às vezes se dirigem aos segmentos da corona, mas não penetram nos mesmos (VIEIRA; SHEPHERD, 1999a; SILVA et al., 2008).

Na maioria das espécies da subtribo Oxypetalinaea a união dos filetes forma um tubo, porém esta característica não foi observada em *O. appendiculatum*, a qual apresenta estame subséssil, nem tão pouco em *O. banksii* subsp. *banksii* e subsp. *corymbiferum* e no grupo e *O. insigne* (KUNZE, 1996; LIEDE, 1996; SILVA et al., 2008). Sugere-se que a ausência dessa união dos filetes formando um tubo pode ser uma apomorfia compartilhada entre as espécies de *Oxypetalum* de posição derivada dentro do gênero, conforme Liede-Schumann et al. (2005) retrataram em seus estudos.

Com relação às anteras, a espécie *Oxypetalum appendiculatum* apresentou antera bilocular com desenvolvimento do tipo dicotiledôneo, sendo constituída por seis camadas parietais: a epiderme, endotécio, duas camadas médias e tapete bisseriado do tipo secretor, se assemelhando à descrição de

Oxypetalum banksii Roem. et Schult. subsp. *banksii* (VALENTE, 1977). A antera bilocular é inerente e exclusiva aos indivíduos de Asclepiadoideae e indica estado de caráter sinapomórfico, pois as demais subfamílias de Apocynaceae apresentam anteras tetraloculares (ENDRESS; BRUYNS, 2000), com exceção de uma única espécie, *Trachelospermum fragrans* (Apocynoideae), que também é bisporagiada (SUD, 1984).

Analisando o padrão de formação da antera de *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex Kurz, Ghimire, Ghimire e Heo (2011) concluíram que esta espécie também apresenta seis camadas parietais, tapete secretor e desenvolvimento da antera do tipo dicotiledônio, conferindo uma semelhança anatômica das anteras entre as subfamílias Rauvolfioideae Kostel (*Rauvolfia* L.) e Asclepiadoideae R. Br. ex Burnett (*Oxypetalum* R. Br.), mesmo estas estando em extremos opostos do grau de derivação evolutiva de Apocynaceae.

Por outro lado, para *Vallaris foetida* (L.) Raf., outra espécie de Rauvolfioideae, a antera apresenta um extrato parietal variante entre 10 e 14 camadas (MAHESHWARI, 1970), com o mesmo padrão de desenvolvimento da antera, ou seja, dicotiledônio. Portanto, o desenvolvimento da antera do tipo dicotiledônio pode ser considerado constante para a família Apocynaceae, embora o número de camadas parietais varie entre membros da própria subfamília. O número de camadas parietais talvez possa representar um caráter constante entre espécies do mesmo gênero, conforme observado para as espécies de *Oxypetalum*, mas parece ter evoluído mais de uma vez independentemente.

Ainda com relação às camadas parietais, Manning (1996), ao analisar 125 famílias de Angiospermas, constatou que a parede do endotécio possui espessamento do endotécio característico. Na família Apocynaceae, o endotécio é constituído por células alongadas, cujas paredes apresentam espessamento secundário lignificado em forma de trabécula, mas este parâmetro não é constante em todas as subfamílias (KOTOVSKI, 2013; SIMÕES; CASTRO;

KINOSHITA, 2006). Kotovski (2013) utilizou o padrão de lignificação do endotécio de *Allamanda* L. como ferramenta para a taxonomia, justificando que a lignificação homogênea do endotécio é um parâmetro para a manutenção do gênero em Rauvolfioideae.

Em *O. appendiculatum*, entretanto, não há evidência de espessamento do endotécio, o qual exibe células parenquimáticas pouco destacadas na antera. A lignificação da antera, no entanto, é maciça como um todo e a porção distal das asas exibe um trilho. Simões, Castro e Kinoshita (2006) relataram que a formação de trilhos que direcionam o aparato bucal do polinizador também é encontrada no espessamento endotecial na tribo Mesechiteae Miers (Apocynoideae).

Em Rauvolfioideae (exceto em gêneros de Tabernaemontaneae G. Don) e Periplocoideae R. Br. ex Endl também não ocorre lignificação especializada na antera, enquanto que nas demais subfamílias a lignificação está presente, podendo ocorrer em diferentes regiões da antera, como na parte apical, basal ou em toda a sua extensão (ENDRESS; BRUYNS, 2000). Valente e Costa (2005) comprovaram a presença de barras de espessamento do endotécio subjacente aos lóculos nas anteras de *Marsdenia loniceroides* E. Fournier.

Filogeneticamente *M. loniceroides* está inserida na tribo Marsdenieae, já *O. appendiculatum* inserido na tribo Asclepiadeae do “Clado MOOG” (LIEDE-SCHUMANN et al., 2005) e não apresenta espessamento endotecial, nos levando a concluir que o espessamento do endotécio pode ser um caráter inerente apenas a tribos ancestrais desse clado. Sugere-se que para *O. appendiculatum*, na ausência do espessamento do endotécio sua função de auxiliar na abertura da antera é perfeitamente cumprida pelo tecido lignificado da antera, justificando a ausência da lignificação desse tecido. Ademais, o espessamento secundário da antera auxilia no processo de polinização, aprisionando o polinizador (KOTOVSKI, 2013).

O tapete secretor, bisseriado na região ventral e multisseriado na dorsal da espécie estudada, tem inúmeras funções, dentre elas nutrição dos micrósporos e desenvolvimento dos grãos de pólen, produção do fluido locular, calase, polissacarídeos, precursores da exina, ligamentos de viscina, orbículos, proteínas, enzimas e “polenkitt”/trifina (DEMARCO, 2015; PACINI, 1997). O tapete do tipo secretor com anteras volumosas e muitos micrósporos/grãos de pólen é uma característica inerente às Apocynaceae (DEMARCO, 2014; PACINI; FRANCHI; HESSE, 1985).

O tapete bisseriado foi reportado na subfamília Asclepiadoideae para as espécies *Cynanchum callialata*, *Pergularia daemia* e *Tylophora indica* (MAHESWARI, 1964), porém não ocorre multiplicação dessas camadas na região dorsal da antera como visto em *O. appendiculatum*. O tapete multisseriado que ocorre em *O. appendiculatum* pode ser uma autapomorfia da espécie, embora mais estudos ainda sejam necessários para comprovação dessa afirmação. Ao analisar estruturas secretoras na tribo Asclepiadeae (Asclepiadoideae), Demarco (2015) concluiu que as células do tapete glandular secretam uma substância lipídica que reveste toda a polínia e, ainda, é percussora da exina.

Foi encontrada uma película hialina que reveste a polínia em *O. appendiculatum*, segundo Demarco (2015), que é composta de esporopolenina, a qual é secretada pelo tapete e é também responsável por revestir a polínia e criar compartimentos que isolam os grãos de pólen uns dos outros (DEMARCO, 2015), e sem poros de interconexão entre os compartimentos (VERHOEVEN; VENTER, 2001). Em *Matelea denticulata* (Vahl) Fontella & E.A. Schwarz também foi encontrada esta película hialina semelhante à encontrada nas espécies de *Oxypetalum* (SCHILL; JAKEL, 1978). A presença dessa película hialina nessas espécies pode ser explicada pela proximidade das subtribos

Gonolobinae (*Matelea*) e Oxypetalinae (*Oxypetalum*) no “Clado MOOG” (DEMARCO, 2015; LIEDE-SCHUMANN et al., 2005).

A polínia em Periplocoideae e Secamonoideae não é revestida pela película hialina, como ocorre Asclepiadoideae (VERHOEVEN; VENTER, 2001). Na tribo Fockeeae (Asclepiadoideae) há uma redução da parede da polínia bastante semelhante ao padrão da subfamília Secamonoideae, garantindo sustento para esta tribo ser a mais basal dentre as Asclepiadoideae (POTGIETER; ALBERT, 2001).

No que se refere à microsporogênese, os resultados indicaram em *O. appendiculatum* tipo sucessivo. As espécies *Calotropis procera* (Aiton) Dryand. e *Asclepias* L., ambas pertencentes à tribo Asclepiadeae, apresentaram padrão de microsporogênese semelhante a *O. appendiculatum*, indicando que o padrão de desenvolvimento é compartilhado pelos integrantes da tribo (CORRY, 1882; DICKO-ZAFIMAHOVA, 1882; ENDRESS; BRUYNS, 2000). A microsporogênese sucessiva pode ser considerada, inclusive, uma sinapomorfia de Secamonoideae e Asclepiadoideae, cujas espécies apresentam polínias verdadeiras (ENDRESS; BRUYNS, 2000). A tetrade produzida por este tipo de microsporogênese é linear, conforme observado na espécie estudada e também comumente encontrada em espécies que possuem grãos de pólen aglutinados em polínias (DEMARCO, 2015; DICKO-ZAFIMAHOVA, 1882).

Oxypetalumappendiculatum apresenta cinco polinários, cada um consistindo de: um par de polínias pêndulas; duas caudículas; e um corpúsculo central, o retináculo, que possui uma expansão alada lateral. A orientação da polínia em relação ao translador foi utilizada para classificar Asclepiadoideae em três tribos: (1) Marsdenieae, com polínias eretas; (2) Gonolobeae, polínias horizontais; e (3) Asclepiadeae, com as polínias pêndulas (SWARUPANANDAN et al., 1996). Devido ao fato de possuir polínias pêndulas, *O. appendiculatum* é inserido na tribo Asclepiadeae.

O tamanho, a forma, a orientação das polínias, a posição das caudículas e do retináculo são utilizados principalmente para a determinação de espécies (SINHA; MONDAL, 2011; SCHUMANN, 1895; SILVA et al., 2008; FOURNIER, 1885). A expansão alada no ápice do retináculo de *O. appendiculatum* é um caráter que auxilia na identificação da espécie (SILVA et al., 2008). O retináculo, assim como as caudículas, tem superfície brilhante e consistência córnea, mas o retináculo distingue-se das caudículas por sua cor castanho-avermelhada, e a cor escura das caudículas caracteriza o gênero *Oxypetalum* (SILVA et al., 2008).

Por fim, o grão de pólen tricelular de *O. appendiculatum* é um caráter compartilhado com a maioria das espécies de Apocynaceae. Apesar disso, grãos de pólen bicelulares já foram relatados para *Catharanthus pusillus* L. e *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth ex Kurz (LAMBA, 1976). Com relação à abertura do pólen na família Apocynaceae há três segmentos filogenéticos de desenvolvimento, as quais são refletidas na estrutura do pólen: (1) Rauvolfioideae, apresenta pólen colporado ou porado; (2) Apocynoideae e Periplocoideae, possuem pólen porado; (3) Secamonoideae e Asclepiadoideae (*Oxypetalum*), detentoras de polínia verdadeira, possuem pólen inaperturado (ENDRESS; BRUYNS, 2000). O pólen inaperturado ratifica a presença de *O. appendiculatum* em Asclepiadoideae.

6 CONCLUSÃO

A morfologia da corola bem como a sua coloração vinácea, a presença do anexo bífido na porção distal do ginostégio, a corona cuja porção distal é livre e lobada e a expansão alado do retináculo são caracteres exclusivos da espécie *Oxypetalum appendiculatum*.

O estame subséssil e ausência de espessamento do endotécio são característicos do gênero *Oxypetalum* R.Br. A disposição dos filetes das anteras, não formando um tubo, reforça a posição de *O. appendiculatum* como pertencente ao grupo de espécies mais derivadas do gênero. Já a ausência do espessamento do endotécio é um caráter compartilhado apenas pelas espécies da tribo Asclepiadeae.

A antera bilocular, o tapete bisseriado, a microsporogênese sucessiva, as tétrades lineares e o grão de pólen inaperturado são reportados como inerentes às espécies de Asclepiadoideae, subfamília em que *O. appendiculatum* está inserida.

Caracteres como desenvolvimento da parede da antera do tipo dicotiledôneo, tapete secretor, presença de políneas e grão de pólen tricelular ratificam as características taxonômicas da família Apocynaceae.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, S.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; KINOSHITA, L. S. Ontogenia e estrutura do pericarpo de *Prestonia riedelii* (Müll. Arg.) Markgr. (Apocynaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 23, n. 3, p. 729-737, set. 2009.
- AKSOYA, O.; KIZILIRMAKA, S.; AKDENIZA, G. B. Investigation of mitosis, microsporogenesis and pollen germination in the critically endangered plant *Amsonia orientalis* (Apocynaceae). **Caryologia: international journal of cytology, cytosystematics and cytogenetics**, Firenze, v. 66, n. 3, p. 282-288, Nov. 2013.
- ARDITTI, J. **Fundamentals of orchid biology**. New York: John Wiley & Sons, 1992.
- BARROSO, G. M. et al. **Sistemática de angiospermas do Brasil: volume 1**. 2. ed. Viçosa: Editora da UFV, 1986.
- BATYGINA, T. B. **Embryology of flowering plants: terminology and concepts: volume 1**. Oxford: CRC Press, 2002.
- BOKE, N. H. Developmental of the perianth in *Vinca rosea* L. **American Journal of Botany**, Columbus, v.35, n. 7, p. 413-423, July 1948.
- CANRIGHT, J. E. The comparative morphology and relationships of the Magnoliaceae, I. trends of specialization in they stamens. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 39, n. 7, p. 484-497, July 1952.
- CHRISTENSEN, J. E.; HORNER, H. T.; LERSTEN, N. R. Pollen wall and tapetal orbicular wall development in *Sorghum bicolor* (Gramineae). **American Journal Botany**, Columbus, v. 59, n. 1, p. 43-58, Jan. 1972.
- CIVEYREL, L. et al. Critical reexamination of palynological characters used to delimit Asclepiadaceae in comparison to the molecular phylogeny obtained from plastid *matK* sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 9, n. 3, p. 517-527, June 1998.
- CIVEYREL, L.; ROWE, N. Phylogenetic relationships of Secamonoideae based on the plastid gene *matK*, morphology, and biomechanics. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 88, n. 4, p. 583-602, 2001.

COCUCCI, A. A. et al. The buck in the milkweed: evidence of male-male interference among pollinaria on pollinators. **New Phytologist**, Cambridge, v. 203, n. 1, p. 280–286, July 2014.

CORRY, T. H. On the mode of development of the pollinium in *Asclepias cornuti*, Decaisne. **Transactions of the Linnean Society of London**, London, v. 2, n. 4, p. 75-84, Apr. 1882.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. New York: Houghton Mifflin, 1968.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2. ed. New York: Botanical Garden, 1988.

DAFNI, A.; PACINI, E.; NEPI, M. Pollen and stigma biology. In: DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. **Practical pollination biology**. Ontario: Enviroquest, 2005. p. 83-146.

D'ARCY, W. G. Anthers and stamens and what they do. In: D'ARCY W. G.; KEATING, R. C. (Ed.) **The anther**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. p. 1-24.

DEMARCO, D.; CASTRO, M. M. Laticíferos articulados anastomosados em espécies de Asclepiadeae (Asclepiadoideae, Apocynaceae) e suas implicações ecológicas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 701-713, out./dez. 2008.

DEMARCO, D. Micromorphology and histochemistry of the laticifers from vegetative organs of asclepiadoideae species (Apocynaceae). **Acta Biológica Colombiana**, Bogotá, v. 20, n. 1, p. 57-65, Apr./June 2015.

DEMETER, K. Vergleichende Asclepiadeenstudien. **Flora**, London, v. 115, p. 130-176, 1922.

DICKO-ZAFIMAHOVA, L. Etude ontogenique de la pollinie de *Calotropis procera* (Asclepiadaceae): apport de la microscopie photonique. **Grana**, Stockholm, v. 19, p. 85-98, 1882.

- ENDRESS, M. E. Apocynaceae and asclepiadaceae: united they stand. **Haseltonia**, The Hague, v. 8, p. 2-9, 2001.
- ENDRESS, M. E.; BRUYNS, P. V.A revised classification of the Apocynaceae s.l. **The Botanical Review**, Bronx, v. 66, n. 1, p. 1-56, Jan./Mar. 2000.
- ENDRESS, M. E.; LIEDE-SCHUMANN, S.; MEVE, U. Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 94, n. 2, p. 259-267, 2007.
- ENDRESS, M. E.; LIEDE-SCHUMANN, S.; MEVE, U. An updated classification for Apocynaceae. **Phytoaxa**, Elmsford, v. 159, n. 3, p. 175-194, 2014.
- ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.
- ENDRESS, P. K. Syncarpy and alternative modes of escaping disadvantages of apocarpy in primitive angiosperms. **Taxon**, Utrecht, v. 31, n. 3, p. 48-52, Feb. 1982.
- ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy-angiosperms: an introduction to palynology- I**. Stockholm: Almqvist and Wiksell, 1952.
- EYDE, R. H. The foliar theory of the flower. **American Scientist**, New Haven, v. 63, n. 4, p. 430-437, July/Aug. 1975.
- FAHN, A. **Plant anatomy**. 2. ed. Michigan: Pergamon Press, 1974.
- FARINACCIO, M. A.; MELLO-SILVA, R. Asclepiadoideae (Apocynaceae) do parque nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 53-92, 2004.
- FONTELLA-PEREIRA, J. F.; MARQUETE, N. F. S. Estudos em Asclepiadaceae, II. sobre a identidade de *Bustelma warmingii* Fourn. **Museu Botânico Municipal Curitiba**, Curitiba, v. 1, p. 1-6, 1971.
- FOURNIER, E. Asclepiadaceae in martius. **Flora Brasiliensis**, São Paulo, v. 6, n. 4, p. 189-332, 1885.
- FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Microsporogenesis in monocotyledons. **Annals of Botany**, London, v. 84, n. 4, p. 475-499, 1999.

- FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J.; SAMPSON, F. B. Evolution of microsporogenesis in angiosperms. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 163, n. 2, p. 235-260, 2002.
- FYRE, T. C.; BLODGETT, E. B. A contribution to the life history of *Apocynum androsamifolium*. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 40, p. 49-53, 1905.
- GHIMIRE, B.; GHIMIRE, B. K.; HEO, K. Microsporogenesis in *Rauwolfia serpentina* (L.) Benth ex Kurz (Apocynaceae): an evidence for dual cytokinesis in microspore mother cells. **Journal of Medicinal Plants Research**, Amsterdam, v. 5, n. 3, p. 432-438, Feb. 2011.
- GOMES, S. M. Morfoanatomia de frutos secos em espécies de Apocynaceae: significado ecológico e evolutivo. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 521-534, abr./jun. 2008.
- GUIGNARD, L. The egg in Apocynaceae and Asclepiadaceae. **Review of Scientific Instruments**, Rochester, v. 55, p. 1-34, 1917.
- HESSE, M. et al. **Pollen terminology: an illustrated handbook**. New York: Springer Wien, 2009.
- HUBER, H. Asclepiadaceae. In: DASSANAYAKE, M. D. (Ed.). **A revised handbook to the flora of Ceylon**: volume 4. Rotterdam: Balkema, 1983. p. 73-124.
- HULTÉN, E. **Flora of Alaska and neighboring territories**: a manual of the vascular plants. Stanford: Stanford University Press, 1968.
- JUDD, W. S. et al. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. São Paulo: Artmed, 2009.
- KARNOVSKY, M. J. A. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, p. 137-138, 1965.
- KEIJKER, C. J. The processes of anther dehiscence and pollen dispersal. I. The opening mechanism of longitudinally dehiscing anthers. **New Phytologist**, Cambridge, v. 105, n. 3, p. 487-497, Mar. 1987.

KOCH, I. et al. **Apocynaceae** in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014.
Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB48>>. Acesso em: 16 fev. 2014.

KOTOVSKY, E. R. **Morfoanatomia floral em Allamanda L. (Apocynaceae, Rauvolfioideae)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia Florestal) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2013.

KUNZE, H. Evolution of translator in Periplocoideae and Asclepiadoideae. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 185, n. 1, p. 99-122, Jan. 1993.

KUNZE, H. Morphology of the stamen in the Asclepiadaceae and its systematic relevance. **Botanische Jahrbucher fur Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie**, Stuttgart, v. 118, n. 4, p. 547-579, 1996.

KUNZE, H. Ontogeny of the translator in the Asclepiadaceae *s. str.* **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 193, n. 1-4, p. 223-242, 1994.

LAMBA, L. C. Microsporogenesis and male gametophyte in *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. ex. Kurz. **Current Science**, Columbus, v. 45, n. 10, p. 387-388, 1976.

LENS, F. et al. Wood anatomy of Rauvolfioideae (Apocynaceae): as search for meaningful non-dna characters at the tribal level. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 95, n. 10, p. 1199-1215, Oct. 2008.

LIEDE, S. Anther differentiation in the Asclepiadaceae-Asclepiadeae form and function. In D'ARCY, W. G.; KEANTING, R. C. (Ed.). **The anther: form, function and phylogeny**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. p. 221-235.

LIEDE, S.; ALBERS, F. Tribal disposition of Asclepiadaceae genera. **Taxon**, Utrecht, v. 43, n. 2, p. 201-231, May 1994.

LIEDE, S.; KUNZE, H. A descriptive system for corona analysis in the Asclepiadaceae. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 185, n. 3-4, p. 99-284, 1993.

LIEDE-SCHUMANN, S. et al. Phylogenetics and biogeography of the genus *Metastelma* (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Asclepiadeae: Metastelmatinae). **Systematic Botany**, Kent, v. 39, n. 2, p. 594-612, 2014.

- LIEDE-SCHUMANN, S. et al. Phylogenetics of the new world subtribes of Asclepiadeae (Apocynaceae-Asclepiadoideae): metastelmatinae, oxypetalinae, and gonolobinae. **Systematic Botany**, Kent, v. 30, n. 1, p. 183–194, Jan./Mar. 2005.
- MAHESWARI, D. H. Embryological studies in Asclepadaceae. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences**, Bangalore, v. 60, p. 52-65, 1964.
- MAHESWARI, D. H. Embryology of *Rauvolfia serpentina* and *Catharanthus roseus*. **Current Science**, Bangalore, v. 39, n. 16, p. 376-377, 1970.
- MANNING, J. C. Diversity of endothelial patterns in the angiosperms. In: D'ARCY, W.G.; KEATING, R. C. **The anther: form, function and phylogeny**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. p. 136-158.
- MATOZINHOS, C. N.; KONNO, T. U. P. New Species of *Macroditassa* (Apocynaceae-Asclepiadoideae) from Minas Gerais, Brazil. **Systematic Botany**, Kent, v. 36, p. 137-140, 2011.
- MAUSETH, J. D. **Plant anatomy**. Califórnia: Editora Benjamin, 1988.
- MEDEIROS, J. F. et al. Primeiro registro de simuliidae (Diptera) com polinários de asclepiadoideae (Apocynaceae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 37, n. 3, p. 338-341, maio/jun. 2008.
- MEYER, S. Studies in the family Apocynaceae. **Journal of Department Science Calcutta University**, Calcutá, v. 1, p. 131-158, 1938.
- MONGUILHOTT, L.; MELLO-SILVA, R. Apocynaceae do parque estadual de Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 93-130, 2008.
- MOROKAWA, R.; SIMÕES, A. O.; KINOSHITA, L. S. Apocynaceae s. str. do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 64, n. 1, p. 179-199, jan./mar. 2013.
- NAZAR, N. et al. The taxonomy and systematics of Apocynaceae: where we stand in 2012. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 171, n. 3, p. 482-490, Mar. 2013.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, New York, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

OMLOR, R. Do *Menabea venenata* and *Secamonopsis madagascariensis* represent missing links between Periplocaceae, Secamonoideae and Marsdenieae (Asclepiadaceae)? **Kew Bulletin**, London, v. 51, n. 4, p. 695-715, 1996.

PACINI, E. Relationship between tepetum, loculus, an pollen during development. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 171, n. 1, p. 1-11, Jan. 2010.

PACINI, E.; FRANCHI, G. G.; HESSE, M. The tapetum: its form, function, and possible phylogeny in Embryophyta. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 149, n. 3-4, p. 155-185, 1985.

PACINI, E.; GUARNIERI, M.; NEPI, M. Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. **Protoplasma**, New York, v. 228, n. 1-3, p. 73-77, Aug. 2006.

PACINI, E.; HESSE, M. Pollenkitt-its composition, forms and functions. **Flora**, London, v. 200, n. 5, p. 399-415, 2005.

PACINI, E. Tapetum character states: analytical keys for tapetum types and activities. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 75, n. 9, p. 1448-1459, Sept. 1997.

PAIVA, J. G. A. et al. Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 257-264, jun./abr. 2006.

PARKIN, B. F. The basis of angiosperm phylogeny: embryology. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 62, n. 3, p. 621-646, 1951.

POTGIETER, K.; ALBERT, V. A. Phylogenetic relationships within Apocynaceae s.l. based on trnL intron and trnL-F spacer sequences and propagule characters. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 88, n. 4, p. 523-549, 2001.

RAPINI, A. et al. Asclepiadeae classification: evaluating the phylogenetic relationships of New World Asclepiadoideae (Apocynaceae). **Taxon**, Utrecht, v. 52, p. 33-50, 2003.

- RAPINI, A. Combinação de *Macroditassa* Malme (Apocynaceae, Asclepiadoideae). **Bradea**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 32, p. 201, 2000.
- RAPINI, A. Revisitando as Asclepiadoideae (Apocynaceae) da Cadeia do Espinhaço. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 97-123, 2010.
- RAPINI, A. Taxonomy “under construction”: advances in the systematics of Apocynaceae, with emphasis on the Brazilian Asclepiadoideae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 1, p. 75-88, jan./mar. 2012.
- RAPINI, A.; FONTELLA-PEREIRA, J.; GOYDER, D. J. Towards a stable generic circumscription in Oxypetalinae (Apocynaceae). **Phytoaxa**, Elmsford, v. 26, p. 9-16, 2011.
- RAPINI, A.; MELLO-SILVA, R.; KAWASAKI, M. L. Asclepiadoideae (Apocynaceae) da Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 19, p. 55-169, 2001.
- RAU, M. A. Studies in Apocynaceae. **Journal of the Indian Botanical Society**, Madras, v. 19, p. 33-44, 1940.
- REIS, A. R. S.; POTIGUARA, R. C. V.; REIS, L. P. Anatomia foliar de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae). **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 3206-3227, 2013.
- RIO, M. C. S. et al. Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 713-726, out./dez. 2005.
- RUDALL, P. J. et al. Microsporogenesis and pollen sulcus type in Asparagales (Lilianaes). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 75, n. 3, p. 408-430, 1997.
- SAMPSON, F. B. Cytokinesis in pollen mother cells of angiosperms with emphasis on *Laurelia novae-zelandiae* (Monimiaceae). **Cytologia**, Tokyo, v. 34, p. 627-634, 1969.
- SATTLER, R. A dynamic multidimensional approach to floral development. In: LEINS, P.; TUCKER, S. C.; ENDRESS, P. K. (Ed.). **Aspects of floral development**. Berlin: Borntraeger & J. Cramer, 1988. p. 1-6.

SCHICK, B. Zur morphologie, entwicklung, feinstruktur und funktion des translators von *Periploca* L. (Asclepiadaceae). Steiner: Tropisch Subtropisch Pflanzenwelt, 1982.

SCHILL, R.; JAKEL, U. **Beitrag zur kenntnis der asclepiadaceen-pollinarien**. Steiner: Tropisch Subtropisch Pflanzenwelt, 1978.

SHUMANN, K. Asclepiadaceae. In: ENGLER; H. G. A.; PRANTL, K. A. E. (Ed.). **Die natürlichen pflanzenfamilien**: volume 4. Leipzig: Wilhemlm Engelmann, 1985. p. 189-306.

SCHWARZ, E. A.; FURLAN, A. Coléteres foliares de *Oxypetalum* R.Br. (Asclepiadoideae, Apocynaceae) - aspectos ultraestruturais e anatômicos úteis à taxonomia das espécies do Paraná (Brasil). **Acta Biologica Paranaense**, Curitiba, v. 31, n. 1-4, p. 79-97, 2002.

SENNBLAD, B.; ENDRESS, M. E.; BREMER, B. Morphology and molecular data in phylogenetic fraternity: the tribe Wrightieae (Apocynaceae) revisited. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 85, p. 1143-1158, 1998.

SHARAWY, S.M. Taxonomic relationships of some taxa of subfamily Asclepiadoideae (Apocynaceae) as reflected by morphological variations and polymorphism in seed protein and RAPD electrophoretic profile. **International Journal of Botany**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 18-29, 2013.

SHAW, G. The chemistry of sporopollenin. In: BROOKS, J. et al. (Ed.). **Sporopollenin**. London: Academic Press, 1971. P. 305-348.

SILVA, N. M. F. et al. Morfoanatomia de espécies brasileiras de *Oxypetalum* (Asclepiadoideae-Apocynaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 4, p. 915-948, 2008.

SILVA, U. C. S. et al. Taxonomic considerations on Metastelmatinae (Apocynaceae) based on plastid and nuclear DNA. **Systematic Botany**, Kent, v. 37, n. 3, p. 795-806, 2012.

SIMÕES, A. O.; CASTRO, M. de M.; KINOSHITA, L. S. Calycine colleters of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 152, n. 3, p. 387-398, Nov. 2006.

SINHA, S.; MONDAL, A. K. The morphological diversification of pollinia of some members of Asclepiadaceae. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n. 41, p. 7981-7986, 2011.

STEVENS, P. F. Phylogeny and evolution of angiosperms. **Internatinal Journal of Plant Science**, Oxford, v. 167, p. 607-611, 2006.

SUD, K.

C. A contribution to the embryology of *Trachelospermum fragrans* Hook. F. (Apocynaceae). **Plant Science**, Limerick, v. 93, n. 4, p. 495-501, Sept. 1984.

SWARUPANANDAN, K. et al. The subfamilial and tribal classification of the family asclepiadaceae. **Botanical Journal of the Linean Society**, Oxford, v. 1220, p. 327-369, 1996.

VALENTE, M. da C. A flor de *Oxypetalum banksii* Roem. Et Schult. subsp. *Banksii*: estudo da anatomia e vascularização (Asclepiadoideae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 43, p. 161-283, 1977.

VALENTE, M. da C.; COSTA, C. G. Estudo anatômico da flor de *Marsdenia loniceroides* E. Fournier (Asclepiadoideae-Apocynaceae). **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 56, p. 51-66, 2005.

VERHOEVEN, R. L.; LIEDE, S.; ENDRESS, M. E. The tribal position of *Fockea* and *Cibirhiza* (Apocynaceae: Asclepiadoideae): evidence from pollinium structure and cpDNA sequence data. **Grana**, Stockholm, v. 42, p. 70-81, 2003.

VERHOEVEN, R. L.; VENTER, H. J. T. Pollen morphology of the Periplocoideae, Secamonoideae and Asclepiadoideae (Apocynaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 88, n. 4, p. 569-582, 2001.

VERHOEVEN, R. L.; VENTER, H. J. T. Pollinium structure in Periplocoideae (Apocynaceae). **Grana**, Stockholm, v. 37, n. 1, p. 1-14, 1998.

VIEIRA, M. F.; FONSECA, R. S.; SHEPHERD, G. J. Morfologia floral e mecanismos de polinização em espécies de *Oxypetalum* R. Br. (Apocynaceae, Asclepiadoideae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 10, n. 3, p. 314-321, jul./set. 2012.

VIEIRA, M. F.; GRABALOS, R. Sistema reprodutivo de *Oxypetalum mexiae* Malme (Asclepiadaceae), espécie endêmica de Viçosa, MG, Brasil, em perigo de extinção. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 137-145, jan./mar. 2003.

VIEIRA, M. F.; SHEPHERD, G. J. *Oxypetalum banksii* subsp. *banksii*: a taxon of Asclepiadaceae with an extra gynoeical compitum. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 233, p. 199-206, 2002.

VIEIRA, M. F.; SHEPHERD, G. J. Pollinators of *Oxypetalum* (Asclepiadaceae) in southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 59, n. 4, p. 693-704, nov. 1999a.

VIEIRA, M. F.; SHEPHERD, G. J. Sistema reprodutivo de *Oxypetalum appendiculatum* Mart. e *Oxypetalum banksii* Roem. & Schult. subsp. *banksii* (Asclepiadaceae). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 13, n. 3, p. 237-241, set./dez. 1999b.

VINCKIER, S.; SMETS, E. Morphological and ultrastructural diversity of orbicules in relation to evolutionary tendencies in Apocynaceae. I. **Annals of Botany**, London, v. 90, n. 5, p. 647, Nov. 2002.

VINCKIER, V.; CADOT, P.; SMETS, E. The manifold characters of orbicules: structural diversity, systematic significance, and vectors for allergens. **Grana**, Stockholm, v. 44, p. 300-307, 2005.

WIEMER, A. P. et al. Functional morphology and wasp pollination of two South American Asclepiads (Asclepiadoideae-Apocynaceae). **Annals of Botany**, London, v. 109, n. 1, p. 77-93, Jan. 2011.

WYATT, R.; BROYLES, S. B. Ecology and evolution of reproduction in milkweeds. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 25, p. 423-441, Nov. 1994.