

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Sabrina Maiháve Barbosa Ramos

Biologia e estrutura floral em acessos de *Adenium obesum*

Montes Claros

2020

Sabrina Maiháve Barbosa Ramos

Biologia e estrutura floral em acessos de *Adenium obesum*

Versão final

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Silvia Nietsche

Coorientadora: Clivia Carolina Fiorilo
Possobom

Montes Claros
Fevereiro de 2020

Ramos, Sabrina Maiháve Barbosa.

R175b
2020

Biologia e estrutura floral em acessos de *Adenium Obesum* / Sabrina Maiháve Barbosa Ramos. Montes Claros, 2020.

47 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador(a): Silvia Nietzsche.

Banca examinadora: Clivia Carolina Fiorilo Possobom Elka Fabiana Aparecida Almeida, Maria Olívia Mercadante Simões, Silvia Nietzsche.

Inclui referências.

1. Apocynaceae. 2. Rosa do deserto. 3. Plantas ornamentais. 4. Botânica. 5. Anatomia vegetal. I. Nietzsche, Silvia. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 581.4

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

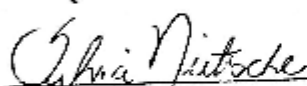
Aos 16 dias do mês de fevereiro de 2020, às 08:00 horas, sob a Presidência da Professora Sílvia Nietzsche, D. Sc. (Orientadora / ICA-UFMG) e com a participação das Professoras Clívia Carolina Fiorilo Possobom, D. Sc. (Coorientadora / ICA-UFMG), Elka Fabiana Aparecida Almeida, D. Sc. (ICA-UFMG), Maria Olívia Mercadante Simões, D. Sc. (Unimontes) e Claudinéia Ferreira Nunes, D. Sc. (ICA-UFMG), reuniu-se a Banca de defesa de dissertação de **SABRINA MAIHAVE BARBOSA RAMOS**, aluna do Curso de Mestrado em Produção Vegetal. O resultado da defesa de dissertação intitulada: "Biologia e Estrutura Floral em *Azorella de Adenium obtusum*".

sendo a aluna considerada (aprovada/reprovada) aprovada. E, para constar, eu, Professora Sílvia Nietzsche, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

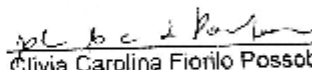
OBS.: A aluna somente receberá o título após cumprir as exigências do ARTIGO 68 do regulamento do Curso de Mestrado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

Art. 68 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, no mínimo 3 (três) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, 4 (quatro) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Montes Claros, 18 de fevereiro de 2020.



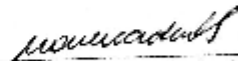
Sílvia Nietzsche
Orientadora



Clívia Carolina Fiorilo Possobom
Coorientadora



Elka Fabiana Aparecida Almeida
Membro



Maria Olívia Mercadante Simões
Membro

Claudinéia Ferreira Nunes
Suplente

Dedico a Deus pelo dom da vida e pela concessão da força e perseverança necessária para realização do trabalho. Ao meu pai Paulo Roberto (*in memoriam*), minha mãe Terezinha, minha irmã Larissa e ao meu companheiro César pelo amor apoio e incentivo em todas as etapas em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus que sempre esteve me iluminando em todos os momentos da minha vida por ter me proporcionado oportunidades de realizar sonhos e ir além deles.

Às minhas queridas mãe e irmã e ao meu pai (*in memoriam*), que sempre foram fonte de apoio, incentivo e amor em todos os momentos.

Ao meu companheiro César que, com sua paciência, carinho e ajuda, foi fundamental para essa conquista.

Agradeço à querida orientadora Professora Dra. Sílvia Nietzsche pela oportunidade de desenvolver o trabalho, orientação, ensinamentos, paciência e incentivo em todas as etapas.

À minha querida coorientadora Professora Dra. Clívia pela companhia no dia a dia do laboratório, pelos ensinamentos, apoio e paciência.

À professora Claudineia pelas instruções relacionadas aos procedimentos experimentais, carinho e atenção de sempre.

À professora Elka pelas instruções relacionadas ao manejo nutricional da cultura e a atenção desde a graduação.

À Professora Maria Olívia pela concessão de material experimental e esclarecimentos sobre os procedimentos experimentais, além da atenção e simpatia.

À Maria Antônia pelo auxílio na realização das atividades experimentais e apoio.

À Universidade Federal de Minas Gerais/Instituto de Ciências Agrárias, e a todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

A toda minha família que sempre me apoiou desde o início dessa caminhada, pelo apoio e compreensão da ausência na busca da realização de mais um sonho.

Aos amigos por todo carinho e companheirismo que foram fundamentais para me manter motivada durante todo esse percurso.

Obrigada!

“Fica sempre um pouco de perfume nas mãos que oferecem rosa, nas mãos que sabem ser generosas. Dar o pouco que se tem a quem tem menos ainda. Enriquece o doador, faz sua alma ainda mais linda. Dar ao próximo alegria parece coisa tão singela. Aos olhos de Deus, porém, é das artes a mais bela”.

(Judith Junqueira)

BIOLOGIA E ESTRUTURA FLORAL EM ACESSOS DE *ADENIUM OBESUM*

RESUMO

Adenium obesum, conhecida popularmente como rosa do deserto, tornou-se opção valiosa para o setor de plantas ornamentais. Na floricultura, a produção de híbridos é priorizada, para isso, o conhecimento da biologia floral da espécie é fundamental. Considerando a carência de dados científicos relativos à espécie, principalmente em ambientes semiáridos brasileiros, objetivou-se com o presente estudo relacionar o potencial ornamental da espécie com (1) os eventos florais e a morfologia; (2) a anatomia das flores e (3) viabilidade dos grãos de pólen e receptividade estigmática em três acessos de *Adenium obesum*. O delineamento utilizado para os experimentos foi o inteiramente casualizado. Para a análise da viabilidade polínica e receptividade estigmática foi utilizado esquema fatorial 3x3, sendo três fases de coleta da flor (pré- antese, antese e pós-antese) e três acessos (ICA-rs, ICA-bd e ICA-vt), com quatro repetições para viabilidade polínica e cinco repetições para receptividade estigmática. *A. obesum* floresce o ano todo e as flores de abrem pela manhã. O acesso ICA-vt apresentou maior período (32,29 dias) de desenvolvimento entre a fase inicial do botão floral e a antese em comparação com ICA-rs e ICA-bd, que não diferiram estatisticamente. Observou-se uma variação significativa entre os materiais indicando uma grande diversidade fenotípica para *Adenium obesum*. As flores dos três acessos de *A. obesum* estudados apresentaram-se organizadas em inflorescência terminais e são, geralmente, levemente zigomorfas, pentâmeras e bissexuais. Esterilidade total e parcial do androceu e as modificações nos seus apêndices são aspectos até então desconhecidos. O acesso ICA-vt apresentou as maiores dimensões de comprimento e diâmetro de tubo floral e diâmetro da corola aberta. Constatou-se no acesso ICA-vt o surgimento de uma camada adicional de pétalas, pequenas e mais interna aos três verticilos observadas em geral. Revelou-se potencial do acesso ICA-vt pelos aspectos morfológicos, morfométricos e de longevidade floral para a floricultura. Os acessos ICA-rs e ICA-bd assemelham-se quanto aos aspectos do gineceu. Divergências foram constatadas com relação ao gineceu do acesso ICA-vt, quanto a sua vascularização, ao número de estames e o surgimento de estrutura com porção secretora no acesso ICA-vt. A análise anatômica revelou diversidade fenotípica em *A. obesum*, principalmente no que diz respeito aos órgãos reprodutivos. Variação morfológica na cabeça do estilete de amostras de ICA-vt foi constatada. Diferentes níveis e tipos de esterilidade masculina foram registrados, bem como uma tendência à redução da fertilidade feminina em algumas amostras de ICA-vt. Determinaram-se marcadores morfológicos associados com os diferentes estágios dos processos de esporogênese e gametogênese. O acesso ICA-bd destacou-se e pode ser considerado como doador de pólen em polinizações artificiais. A taxa de germinação dos grãos de pólen foi significativamente superior para ICA-bd em todas as fases analisadas. O estigma das flores de *A. obesum* encontrou-se receptivo desde um dia antes da abertura das flores até três dias após a flor abrir, não sendo observada diferença entre os acessos. Esses resultados poderão subsidiar diversos novos estudos nas áreas da botânica aplicada, genética e melhoramento de plantas visando o desenvolvimento de novos materiais que atendam às exigências de produtores e consumidores.

Palavras-chave: Rosa do deserto; biologia floral; anatomia.

BIOLOGY AND FLORAL STRUCTURE IN *ADENIUM OBESUM* ACCESSIONS

ABSTRACT

Adenium obesum, popularly known as desert rose, has become a valuable option for the ornamental plants sector. In floriculture, the production of hybrids is prioritized, for this, knowledge of the floral biology of the species is essential. Considering the lack of scientific data related to the species, mainly in Brazilian semi-arid environments, the objective of this study was to relate the ornamental potential of the species with (1) the floral events and the morphology; (2) the anatomy of flowers and (3) viability of pollen grains and stigmatic receptivity in three accessions of *Adenium obesum*. The design used for the experiments was completely randomized. For the analysis of pollen viability and stigmatic receptivity, a 3x3 factorial scheme was used, with three stages of flower collection (pre-anthesis, anthesis and post anthesis) and three accesses (ICA-rs, ICA-bd and ICA-vt), with four repetitions for pollen viability and five repetitions for stigmatic receptivity. *A. obesum* blooms all year and the flowers open in the morning. The ICA-vt access showed a longer development period (32.29 days) between the initial phase of the flower bud and anthesis compared to ICA-rs and ICA-bd, which did not differ statistically. There was a significant variation between the materials, indicating a great phenotypic diversity for *Adenium obesum*. The flowers of the three accessions of *A. obesum* studied were organized in terminal inflorescences and are generally slightly zygomorphic, pentamerous and bisexual. Total and partial sterility of androceum and the changes in its appendages are aspects previously unknown. The ICA-vt access presented the largest dimensions of length and diameter of the floral tube and diameter of the open corolla. An additional layer of petals, small and more internal to the three whorls observed in general, appeared in the ICA-vt access. The potential of ICA-vt access was revealed by the morphological, morphometric, and floral longevity aspects for floriculture. The accesses ICA-rs and ICA-bd are similar in terms of gynecium aspects. Divergences were found in relation to the gynecium of the ICA-vt access, as to its vascularization, the number of stamens and the appearance of a structure with secretory portion in the ICA-vt access. Anatomical analysis revealed phenotypic diversity in *A. obesum*, mainly regarding reproductive organs. Morphological variation in the stylus head of ICA-vt samples was found. Different levels and types of male sterility were recorded, as well as a tendency to decrease female fertility in some samples of ICA-vt. Morphological markers associated with the different stages of the sporogenesis and gametogenesis processes were determined. The access ICA-bd stood out and can be considered as a pollen donor in artificial pollinations. The germination rate of pollen grains was significantly higher for ICA-bd in all analyzed phases. The stigma of *A. obesum* flowers were receptive from one day before the opening of the flowers to three days after the flower opened, with no difference between accessions. These results may support several new studies in the fields of applied botany, genetics and plant breeding aiming at the development of new materials that meet the requirements of producers and consumers.

Keywords: Desert rose; floral biology; anatomy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figure 1 – Growth stages (1 to 9) of the flower buds (without sepals) in *Adenium obesum*, accession ICA-wd, (scale bar = 1cm)..... 38
- Figure 2 – Flowers of *Adenium obesum* ICA-ps (A, D, G), ICA-wd (B, E, H) and ICA-rt (C, F, I) accessions. A, B and C - Pre-anthesis. Note the spiral shape of the corolla; D, E and F – Anthesis; G, H and I - Post-anthesis and senescence. Montes Claros, Brazil 39
- Figure 3 – Morphological aspects of the flowers of three *Adenium obesum* accessions (Montes Claros, Minas Gerais). A-B: flower calyx and corolla of accessions ICA-ps (A) and ICA-wd (B); C-E: Corolla lobes and arrangement of petal cycles of all accessions; F-G: Floral tube with petaloid appendages indicated by arrows. Note the androecium (an) forming a cone over the style head (sh) and stamen appendages (sa) of the three accessions. st = style; sh = style head; arrows = petaloid appendages on the corolla; sa = staminal appendages..... 40
- Figure 4 – Morphological aspects of androecium and gynoecium of *Adenium obesum* flowers. A: androecium (an) with five fertile, epipetalous and hairy stamens and triangular anthers around the style head (sh). B-D: changes observed in the stamen appendages (sa). E: gynoecium position on the flower indicating the style head (sh), style (ts) and ovary (ov). F: Style head shape and portion indications, with bifurcated appendix (ba), apical portion (ap), median portion (mp) and basal collar (bc). G: Secretion on the style head indicated by an asterisk. H: style head covered with pollen grains in the apical portion and hyaline secretion. I: bifurcation of the style head. Asterisk = secretion on the style head; bc = basal collar; mp = median portion; ap = apical portion; ba = bifurcate apex, sa (petaloid staminal appendage) sh = style head; sa = staminal appendages 41
- Figure 5 – Anatomy of *A. obesum* flowers (Montes Claros, MG). A. Cross section: basal third of young flower buds, exemplified here by accession ICA-wd. Note the elements of the already individualized cup (se) alternating with the elements of the outermost corolla cycle (pe). The petals of the innermost cycle and the stamens can be identified by their respective vascular features indicated by arrows and the two carpels (ca). B. The epidermis of the three accessions was uniseriate, the mesophyll homogeneous and each petal had five vascular bundles (pe). Stamens adnate to the innermost petal cycle by the filament base (fi). Anthers (an) not attached to young buds, partially located above the style head (sh). C. Longitudinal section: structural individualization of the parts of the different corolla cycles (pe) and androecium elements (an) in successive planes of the receptacle (re). D- F. Cross section: the region of the middle third of young flower buds, with total structural individualization in the corolla whorls (pe), androecium (an) and gynoecium and the stamens in a single cycle around the gynoecium. G-H. Cross-section: tetralobed anthers, bithecal, tetrasporangiate and fertile. Stomium region (sto) located between two pollen sacs of the same theca. The connective (co) formed by epidermis, parenchymal cells and a central vascular bundle (vb) and style head (sh). I. Cross section of accession ICA-rt - presence of a staminode (sd) consisting of secretory epidermis, parenchyma and a central vascular bundle. J. Anthers from buds in pre-anthesis (phase 8), strongly lobed, with a larger groove in the stomium region. K. Anther in anthesis (phase 9) - dehiscent anthers..... 42
- Figure 6 A-B – Anther with endothecium (en), middle layer (cm) and secretory tapetum (ta). Note the tetrahedral microspore tetrads still surrounded by callose. C. Note the microspores still in tetrahedral clusters, but already individualized and surrounded by a thin sinuous exine layer. D-E. Cross-section: anthers of flower buds in phase 4, with endothelial cells and bulkier middle layer, and changes in tapetum cells. Note totally free and irregularly shaped microspores and vacuolization (va). F. Free microspores with irregular shape and vacuolization phase. Note young microgametophytes consisting of two cells: a generative (cg), smaller and more peripheral and a vegetative (cv), bulkier. G-H. Anthers with variable amount of unviable pollen grains, empty, aside from pollen grains differentiated by a greater volume. I. Dispersed one- and two-cell pollen grains 44
- Figure 7 A – Folded carpel margins corresponding to the placenta with several ovules in an early stage of development. B. Asymmetry between the two carpels or presence of only one in ICA-rt. C-D. Ovules characterized as anatropous and unitegmic. E. Note epidermis, mesophyll and vascularization. Megatophyte still visible in phase 8 samples. F. Outer epidermis formed by a layer of cubic cells, clearly delimiting each carpel. Mesophyll consisting of parenchymal cells with variable shapes, and vascularization based on one larger dorsal bundle, two ventral and several lateral bundles. G-H. Cross section: style formed by the fusion of the two carpels with two vascular bundles in most samples and an epidermis-covered, hollow central region, I-J. Longitudinal section: specialized style head with an enlarged, claviform region. K. Sample of accession ICA-rt in which the style head is more elongated

and narrower, bifurcated as of the median portion. L. Note the presence of common cells covering part of the style head. M. Cross section: region above the style head, note the two apical appendages..... 45

LISTA DE TABELAS

Table 1 – Mean sizes (length/diameter) of floral buds in different developmental stages of the accessions ICA-ps, ICA-wd and ICA-rt of <i>Adenium obesum</i> . Montes Claros, Brazil.....	38
---	----

LISTAS DE ABREVIATURA E SIGLAS

IBRAFLOR	–	INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA
PIB	–	Produto Interno Bruto
SEBRAE	–	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo Geral.....	15
2.2	Objetivos Específicos	15
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1	Importância econômica das flores.....	16
3.2	Aspectos botânicos.....	17
3.3	Biologia floral	19
3.4	Referências.....	21
4	ARTIGO	25
4.1	Artigo – Biology and structure of flowers in <i>Adenium obesum</i> accessions with notes on the significance of these features for floriculture	25
5	CONCLUSÕES	47

1 INTRODUÇÃO

Adenium obesum (Forssk.) Roem. & Schult, conhecida popularmente como rosa do deserto, tem se tornado uma opção valiosa para o setor de plantas ornamentais (McBRIDE *et al.*, 2014). Disseminada em várias partes do mundo (OYEN, 2008), a espécie pertence à família Apocynaceae e é nativa da África tropical e da Arábia. O interesse por essas plantas é crescente devido à possibilidade de uso no paisagismo e decoração de interiores (WANNAKRAIROJ, 2008). Avaliações dos metabólitos da planta têm apontado seu potencial de uso em tratamentos cardiológicos e de prevenção de câncer (ARAI *et al.*, 2011; NAKAMURA *et al.*, 2000). Ainda possui efeito antimicrobiano (ADAMU *et al.*, 2005; HOSSAIN, *et al.*, 2014; OYEN, 2008), ação no combate ao vírus da gripe (KIYOHARA, *et al.*, 2012) e elevado potencial antioxidante (ALSEINI, 2014).

Na floricultura, a produção de híbridos que tenham características paisagísticas, fitotécnicas e de resistência a patógenos é de grande interesse. Para isso, o conhecimento da biologia floral, do sistema reprodutivo e de métodos de hibridação são necessários (FERREIRA *et al.*, 2004). Zen; Acra (2005) definiram a biologia floral como o estudo de todas as manifestações de vida da flor, incluindo a fertilização, mesclando-se com a biologia reprodutiva das plantas, que consiste no entendimento de como o sistema reprodutivo acontece.

A espécie apresenta grande variabilidade no tamanho, número e formato das flores, bem como no número e disposição das pétalas, variando de simples até triplas. Todas essas características definem o valor ornamental da planta para o consumidor. A floração com elevada divergência é ideal para o setor da floricultura, uma vez que se trata de um mercado exigente em novidades (SINGH *et al.*, 2019). Além dos aspectos mencionados acima, esses estudos poderão ser utilizados para a gestão e conservação dessa espécie, fornecendo suporte aos programas de melhoramento genético e para o manejo adequado.

Considerando a carência de dados científicos relativos a espécie, principalmente em ambientes semiáridos brasileiros, objetivou-se com o presente estudo relacionar o potencial ornamental da espécie com (i) os eventos florais e a morfologia; (ii) viabilidade dos grão de pólen e receptividade estigmática; e (iii) a anatomia das flores de três acessos de *Adenium obesum*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Relacionar o potencial ornamental com os aspectos da biologia e estrutura floral de três acessos de *Adenium obesum*.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar os eventos florais em *Adenium obesum*;
- Caracterizar as principais fases do desenvolvimento floral;
- Avaliar a viabilidade polínica;
- Avaliar a receptividade estigmática das flores;
- Caracterizar anatomicamente as flores.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância econômica das flores

A floricultura é uma atividade intensiva que exige conhecimento e mão de obra qualificada com habilidade e domínio das técnicas produtivas, a qual destaca-se dentre as atividades agrícolas do ramo da horticultura. Consiste na produção de flores de corte, plantas envasadas, sementes e propágulos, grama e mudas de plantas de grande porte. Este setor sofre constantes mudanças a fim de se adaptar ao mercado consumidor cada vez mais exigente e ávido por novidades (PONTES, 2007). De acordo com Junqueira; Peetz (2008) em comparação com a fruticultura o setor apresenta lucros três vezes maiores, dez vezes a produção de grãos, e ainda se caracteriza pelo rápido retorno econômico.

Segundo Rikken (2010), o mercado mundial de flores cresce e torna-se cada vez mais dinâmico. A partir de 1990, o cultivo dessas plantas ornamentais avançou de países do hemisfério norte para países em desenvolvimento como Colômbia, Equador e Quênia. Para o autor, essa mudança foi favorável às condições produtivas, pois, há nesses locais mão de obra abundante e de baixo custo, além de disponibilidade de terras. O autor descreve ainda que a Colômbia é o maior exportador de flores da América do Sul e o segundo do mundo, perdendo para a Holanda. Na África, o Quênia é o maior produtor, seguido à distância pela Etiópia. O consumo de flores global é estimado em 30 milhões de euros por ano, sendo os principais mercados consumidores Europa e América do Norte.

No Brasil, a atividade teve início com os imigrantes holandeses e japoneses em 1950 no estado de São Paulo, sendo também pelo trabalho de alemães e poloneses em Santa Catarina e Rio Grande do Sul (SEBRAE, 2015). Em 2014, a cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais proporcionou um Produto Interno Bruto (PIB) de R\$ 4,51 bilhões no país. Considerando as exportações de todos os países produtores e os que reexportam, o valor superou US\$ 21 bilhões em 2013. As plantas vivas e as flores de corte são responsáveis por 86% de todas as exportações, enquanto as folhagens, gramíneas, bulbos e tubérculos tem menor representatividade no total, em torno de 20%. Nesse período, o maior crescimento foi da categoria de mudas de plantas ornamentais e plantas vivas, com aumento de 162,7%, passando de US\$ 3,475 bilhões, para US\$ 9,131 bilhões. Entretanto, o domínio do mercado internacional ainda é das flores e botões cortados para buquês. Entre 1999 e 2013, o avanço foi de 144,7%. Essas evoluções gradativas do setor podem ser atribuídas às facilidades de logística adquiridas com o tempo. No Brasil, 97% da produção de flores e plantas ornamentais têm como principal destino o mercado interno. Em 2014, os valores das importações chegaram a 5,7 bilhões (IBRAFLO, 2015).

No período 2008-2011 houve acréscimo de aproximadamente 8% a 10% ao ano nas quantidades ofertadas no mercado de flores e plantas ornamentais e entre 12% a 15% ao ano, em valor de vendas. Em 2012, o mercado cresceu entre 7% e 8% em quantidade e entre 12% a 15% em valor comercializado. Em 2013, as plantas ornamentais para paisagismo e jardinagem foram responsáveis por 41,55% do total da movimentação financeira na cadeia produtiva de flores e plantas ornamentais, o que revelou a predominância desses produtos no país. O segundo lugar foi ocupado

pelo segmento de flores e folhagens de corte e o terceiro pelo de flores e plantas envasadas (SEBRAE, 2015).

O mercado brasileiro de flores possui mais de 22.000 pontos de venda, movimentando em torno de R\$ 6,1 bilhão por ano, com um consumo per capita de R\$ 26,00. O consumo per capita varia entre os estados brasileiros, sendo os da região sudeste de maior expressão. O consumo pelo mercado no Brasil ainda é incipiente, o que pode ser explicado pela baixa renda per capita. Segundo Junqueira; Peetz (2008), além da questão econômica há também o aspecto cultural interferindo na aquisição desses produtos, fazendo com que as datas comemorativas sejam extremamente necessárias para promover o consumo. Em países desenvolvidos há maior facilidade de compra, em função do maior poder aquisitivo dos indivíduos e do hábito cultural de comprar flores para consumo nas casas (IBRAFLORES, 2015).

A região Sudeste destaca-se como principal produtora no setor de plantas ornamentais para paisagismo e jardinagem, com participação percentual relativa de 60,41% para, bem como para os demais segmentos (SEBRAE, 2015). De acordo com o levantamento realizado por Junqueira e Peetz (2014), no Brasil há 7.800 produtores de flores e plantas ornamentais responsáveis por cultivar uma área total de 13.468 hectares. Nesse quesito, a região Sudeste permanece em destaque, uma vez que concentrou 53,3% do total contabilizado. Ainda nesse estudo, os autores apontam que a escolha crescente das flores e plantas envasadas em detrimento dos demais produtos é determinada pelas vantagens de durabilidade, melhor custo benefício e praticidade para os diversos fins. Nesse sentido, plantas com características de resistência ao estresse hídrico, facilidade na manutenção e longa duração como a rosa do deserto (*Adenium obesum*) têm se destacado no cenário do comércio florícola (VARELLA *et al.*, 2015).

3.2 Aspectos botânicos

A rosa do deserto (*Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult) pertence à Apocynaceae, uma das dez maiores famílias de angiospermas, com mais de 4500 espécies e 400 gêneros com ampla distribuição geográfica, especialmente em regiões tropicais e subtropicais (FISHBEIN *et al.*, 2018). No Brasil, essa família é representada por mais de 780 espécies e 78 gêneros (FLORA DO BRASIL, 2020). Apocynaceae possui representantes com diferentes formas de crescimento, incluindo árvores emergentes no dossel, lianas, trepadeiras, suculentas cactóides, epífitas mirmecófilas e ervas perenes, o que resulta na ocupação de uma grande diversidade de habitats e nichos (FISHBEIN *et al.*, 2018). A família abriga plantas com diversas utilidades como medicinal, frutífera, uso na construção civil, móveis de madeira ou produção de látex (JUDD *et al.*, 2009), e que tem proporcionado vantagens econômicas, como exemplo *Adenium*, que vem sendo utilizada como planta de flores envasadas na comercialização de plantas ornamentais (McBRIDE *et al.*, 2014). Conforme relatado por Souza e Lorenzi (2012), nessa família há outras representantes ornamentais, como a alamanda (*Allamanda* spp.), a flor de cera (*Hoya* spp.), o jasmim manga (*Plumeria rubra* L.) e a espirradeira (*Nerium oleander* L.), além das espécies *Mandevilla* spp., *Nerium* spp. e *Plumeria* spp. (COLOMBO *et al.*, 2015).

Adenium obesum é uma planta de ocorrência natural na África subsaariana, do Sudão para o Quênia, para o oeste até o Senegal e para o sul para Natal e Suazilândia. Alguns ocorrem no canto sudoeste da península da Arábia (Iêmen), entretanto, como ornamental é cultivada em todo o mundo (OYEN, 2008). De acordo com McLaughlin e Garofalo (2002), o gênero *Adenium* contempla apenas uma espécie que se desmembra em subespécies ou variedades botânicas. As plantas desse gênero caracterizam-se pela produção de quantidades variadas de seiva leitosa e são consideradas tolerantes e resistentes a climas semiáridos. Para Hastuti, Suranto e Setyono (2009), essa última característica confere o nome popular de *Adenium obesum*. Para os autores, a rosa do deserto é amplamente utilizada como planta ornamental por se de fácil manutenção, resistente à seca e por possuir ampla variabilidade na forma e coloração das flores. Também pelo arranjo floral atraente a presença da estrutura denominada caudex esculpido e inchado (ROWLEY, 1987). E essa elevada variabilidade permitiu popularização e comercialização globalmente (McBRIDE, 2014).

O cultivo da rosa do deserto é mundialmente difundido para fins ornamentais, porém, o látex da planta é tradicionalmente utilizado como veneno para caça de animais na África, apresentando também importância na medicina tradicional, além da utilização da sua madeira como combustível (OYEN, 2008). Recentemente, avaliações dos metabólitos da planta têm apontado seu potencial de uso em tratamentos cardiológicos e de prevenção de câncer (ARAI *et al.*, 2011; NAKAMURA *et al.*, 2000). Ainda possui efeito antimicrobiano (ADAMU *et al.*, 2005; HOSSAIN, *et al.*, 2014; OYEN, 2008), ação no combate ao vírus da gripe (KIYOHARA *et al.*, 2012), alto potencial antioxidante (ALSEINI, 2014).

Oyen (2008) e Kanchanapoom, Sunheem e Kanchanapoom (2010) classificaram a espécie como um arbusto suculento, uma planta “paquicaule” por possuir um caule de formato globoso ou cônico, que permite armazenar água e nutrientes (caudex). Essa estrutura, que pode ocorrer acima ou abaixo do solo, estreita-se para a formação das ramificações. Os galhos são lisos, de cor verde acinzentado a marrom, com folhas verdes brilhantes, pequenas, espiraladas e terminais. Suas flores são hermafroditas, tubulares e variam na cor desde o vermelho purpúreo profundo, passando pelo rosa ao branco. Conforme descrito por Dimmitt, Joseph e Palzkill (2009) no interior das pétalas tem cinco ou quinze linhas vermelhas referidas como linha de néctar, cinco estames centrados em um cone, estigma encontra-se dentro da estrutura diferenciada em formato de cone, abaixo da antera. Porém, segundo McLaughlin e Garofalo (2002) as muitas cultivares que surgiram têm flores de várias cores, formas e tamanhos, possuindo ainda algumas delas a vantagem adicional de uma fragrância atraente. Nelas podem ser formados pequenos aglomerados terminais de flores que são produzidos durante a maior parte do ano, embora em algumas cultivares a floração seja mais restrita.

De acordo com Oyen (2008), as flores têm sépalas oblongas a ovaladas com 6 a 12 mm de comprimento, corola com tubo em forma de funil com pilosidade ou glabro do lado de fora, ovário superior, composto de dois carpelos livres, estiletos fundidos e delgados. Os estames têm filetes fortes e curtos e as cinco longas anteras triangulares inclinam-se para dentro de um cone fechado sobre o estigma. A única entrada para a câmara interna é através de cinco fendas estreitas entre anteras adjacentes (ROWLEY, 1980).

A descrição do fruto foi realizada por McLaughlin e Garofalo (2002), os quais classificam-no como folículo, que se divide lateralmente para liberar as sementes, abundantemente pilosas facilitando a dispersão. A polinização muitas vezes não é bem-sucedida e a produção de sementes

fica comprometida. As suas sementes são lineares oblongas, podem medir de 10 a 14 mm de comprimento, possuem coloração marrom claro e são ligeiramente ásperas (OYEN, 2008). A planta pode ser propagada por sementes ou estacas e geralmente apresentam crescimento lento e vida longa, sobrevivendo por centenas de anos. Em áreas com invernos frio e seco ocorre um período de dormência incluindo uma perda associada de folhagem (McLAUGHLIN; GAROFALO, 2002, p. 66).

O mercado mundial cresce e com ele a exigência dos consumidores por produtos de elevada qualidade e constantes novidades. Nesse sentido cresce também a produção de híbridos buscando durabilidade e longevidade, cores diferenciadas e bem definidas, adequação de porte, florescimento uniforme, maior adaptabilidade e outros quesitos para manejar a planta conforme necessidade do mercado (SOUZA, 2013). Contudo, para realização desses trabalhos de melhoramento de plantas o conhecimento da biologia floral, do sistema reprodutivo e de métodos de hibridação são necessários (FERREIRA *et al.*, 2004).

3.3 Biologia floral

Escobar, Zárate e Bastidas (1986) relataram que o funcionamento de todo o sistema reprodutivo de uma planta pode variar em função das condições climáticas a qual é submetida. Conhecer a biologia reprodutiva das espécies é primordial para a permanência de uma espécie de planta (PRATHAMA, 2009). Porém, conforme relataram Chan, Lim e Saw (2011) esse sistema ainda é pouco compreendido em diversas plantas, mesmo sendo a base para os programas de melhoramento genético (ZEN; ACRA, 2005, p.59). Para Faegri e Pijl (1979), a biologia floral pode ser entendida, portanto, como o estudo de todas as manifestações de vida da flor, incluindo a fertilização, combinando-se com a biologia reprodutiva e com a ecologia da polinização, resulta no entendimento de como a reprodução das plantas acontece.

Comumente em estudos de biologia floral são realizadas avaliações de tamanho do botão floral, forma, cor, disposição dos elementos florais, horário e sequência da antese floral, bem como a posição e receptividade do estigma, número e viabilidade de grãos de pólen (ACRA; CARVALHO; CERVI, 2012, p.47; COSTA, 2012; FARIA; STEHMANN, 2010, p. 263); (KRAHL, 2013; KRIECK *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2011).

Tais mensurações atuam como subsídios para programas de melhoramento genético, objetivando selecionar indivíduos mais promissores (CHAGAS *et al.*, 2010), além de terem relação com o hábito de crescimento e a biologia de polinização (BRAUM, 2008). Além disso, a análise da viabilidade polínica pode gerar conhecimento útil para a criação de tecnologias de armazenamento de pólen, sendo uma grande ferramenta para superação da falta de sincronismo de floração ou para plantas que se encontram em regiões distintas, viabilizando hibridação de plantas e aumento da variabilidade genética (SAKHANOKHO; RAJASEKARAN, 2010, p.130).

Esses estudos sobre o grão de pólen são úteis para direcionar o melhor momento para realização de cruzamentos (SOARES *et al.*, 2011), conservação de recursos genéticos (CHAUDHURY; MALIK; RAJAN, 2010, p. 269) e indicação de potencial de viabilidade, relação com modo de dispersão e sistemas de autoincompatibilidade (BREWBAKER, 1967). Nesse sentido, para melhor compreensão do sistema reprodutivo das espécies de plantas, são realizados diversos estudos

voltados à avaliação de viabilidade polínica (BOYLE, 2001; DOUGLAS; FREYRE, 2010; SAKHANOKHO; RAJASEKARAN, 2010, p. 130; SOARES *et al.*, 2011; SOARES *et al.*, 2015; WANG; JIA; WANG; ZHANG, 2010, p. 260). Para avaliação do desempenho e viabilidade polínica a técnica mais efetiva na simulação das condições *in vivo* é a germinação *in vitro*, devendo, portanto, ser ajustada a cada espécie (SOARES *et al.*, 2011).

A avaliação da receptividade estigmática permite escolha da melhor fenofase para realização de cruzamentos entre plantas (MENEZES; OLIVEIRA, 2011, p. 30). Para melhor investigar esse parâmetro esses autores ainda sugerem que o teste que explora a atividade da catalase é mais eficiente, sinalizando com maior precocidade, se o estigma já se encontra receptivo para polinizações controladas.

Além disso, as características de tamanho da flor são relacionadas por Ortiz *et al.* (2006) com sistemas de autoincompatibilidade de plantas, demonstrando assim implicação prática do conhecimento da estrutura floral das plantas. Para os autores, plantas autocompatíveis têm em geral flores menores e permanecem na antese por um tempo menor do que aquelas autoincompatíveis.

Estudos sobre a biologia floral, sistema reprodutivo e biologia da polinização desta espécie são quase inexistentes, podendo encontrar algumas informações em Rowley (1980) e McLaughlin; Garofalo (2002). Informações sobre a morfoanatomia do sistema reprodutivo também são inexpressivas, encontradas em Colombo *et al.*, 2015; Colombo *et al.* (2018), Hastutti *et al.* (2009). Porém, conhecer esses aspectos é fundamental para o entendimento dos mecanismos relacionados à reprodução e à adaptação da espécie às condições ambientais. Para o setor da floricultura, dados básicos sobre a diversidade morfoanatômica, biologia reprodutiva e do desenvolvimento da espécie são importantes para embasar e orientar futuros programas de melhoramento genético visando à produção comercial em maior escala dessas plantas.

3.4 Referências

- ACRA, L. A.; CARVALHO, S. M.; CERVI, A. C. Biologia da polinização e da reprodução de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) matos (Bignoniaceae Juss.). **Estudos de Biologia**, [Curitiba], v. 34, n. 82, 2012.
- ADAMU, H. M., ABAYEH, O. J., AGHO, M. O., ABDULLAHI, A. L., UBA, A., DUKKU, H. U.; WUFEM, B. M. An ethnobotanical survey of Bauchi State herbal plants and their antimicrobial activity. **Journal of ethnopharmacology**, [Holanda], v. 99, n. 1, p. 1-4, 2005.
- AKHTAR, M. S.; HOSSAIN, M. A.; SAID, S. A. Isolation and characterization of antimicrobial compound from stem bark of the traditionally used medicinal plant *Adenium obesum*. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, [Taiwan], v. 1, n. 2, p. 1-5, 2016.
- ALSEINI, A. I. H. Total phenolic, total flavonoid contents and radical scavenging activities of 10 Arabian herbs and spices. **Unique Journal Pharmaceutical and Biological Sciences**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 5-11, 2014.
- ARAI, M. A.; TATENO, C.; KOYANO, T.; KOWITHAYAKORN, T.; KAWABED, S.; ISHIBASHI, M. New hedgehog/GLI-signaling from *Adenium obesum*. **Organic & Biomolecular Chemistry**, [s. l.], v. 9, p. 1133- 1139, 2011.
- BAKRY, F. A.; MOHAMED, R. T.; HASHEESH, W. S. Impact of methanol extract of *Adenium obesum* plant on some biochemical and biological parameters of *Bulinus truncatus* snails. **Journal of Evolutionary Biology Research**, [s. l.], v. 3, p. 87-94, 2011.
- BENZING, D.H. **Bromeliaceae: profile an adaptive radiation**. Cambridge: Cambridge University, 2006. 690p.
- BOYLE, T. H. Environmental control of moisture content and viability in *Schlumbergera truncata* (Cactaceae) pollen. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [s. l.], v. 126, n. 5, p. 625-630, 2001.
- BRAUM, A. F. **Morfologia, Anatomia e Imunocitoquímica da interação pólene estigma em duas espécies de *Passiflora* (Passifloraceae)**. 2008. 117 f. Dissertação (Mestrado em Pós-graduação em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- BREWBAKER, J. L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. **American journal of botany**, [s. l.], v. 54, n. 9, p. 1069-1083, 1967.
- CHAGAS, E. A.; PIO, R.; CHAGAS, P. C.; PASQUAL, M.; BETTIOL NETO, J. E. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 261-266, 2010.
- CHAN, Y. M.; LIM, A. L.; SAW, L. G. Reproductive biology of the endangered and endemic palm *Johannesteijsmannia lanceolata* (Arecaceae). **Journal of Tropical Forest Science**, [s. l.], p. 213-221, 2011.
- CHAUDHURY, R.; MALIK, S. K.; RAJAN, S. An improved pollen collection and cryopreservation method for highly recalcitrant tropical fruit species of mango (*Mangifera indica* L.) and litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). **CryoLetters**, [s. l.], v. 31, p.268-278, 2010.
- COLOMBO, R. C.; FAVETTA, V.; YAMAMOTO, L. Y.; ALVES, G. A. C.; ABATI, J.; TAKAHASHI, L. S. A.; FARIA, R. T. D. Biometric description of fruits and seeds, germination and imbibition pattern of desert rose [*Adenium obesum* (Forssk.), Roem. & Schult.]. **Journal of Seed Science** [Brasil], v. 37, n. 4, p. 206-213, 2015.
- COLOMBO, R. C.; CRUZ, M. A. D.; CARVALHO, D. U. D.; HOSHINO, R. T.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. D. *Adenium obesum* as a new potted flower: growth management. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 197-205, 2018.

COOPER, R. L.; OSBORN, J. M.; PHILBRICK, C. Thomas. Comparative pollen morphology and ultrastructure of the Callitrichaceae. **American Journal of Botany**, [s. l.], v. 87, n. 2, p. 161-175, 2000.

COSTA, L. C. **Biologia floral de espécies do gênero *Arachis* L. (Fabaceae-Papilionoideae), com ênfase em aspectos da morfologia floral e na anatomia de ovários**. 2012. Tese (Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Botânica) – Instituto de Ciências biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

DIMMITT, M.; JOSEPH, G.; PALZKILL, D. **Adenium**: elegância escultural, extravagância floral. Tucson: Scathingly Brilliant Idea, 2009.

DOUGLAS, A. C.; FREYRE, R. Floral development, stigma receptivity and pollen viability in eight *Nolana* (Solanaceae) species. **Euphytica** [Holanda], v. 174, n. 1, p. 105-117, 2010.

ESCOBAR, W.; ZÁRATE, R. D.; BASTIDAS, A. Biología floral y polinización artificial del guanábano *Annona muricata* L. en condiciones del valle del Cauca, Colombia. **Acta agrônômica** [Colombia], v. 36, n. 1, p. 7-20, 1986.

FAEGRI, K.; PIJL, V. D. L. **Princípios de ecologia da polinização**. 4. ed. [s. l.]: [s. n.], 1979. 926p.

FARIA, F. S.; STEHMANN, J. R. Reproductive biology of *Passiflora capsularis* L. e *P. pohlii* Mast. (Decaloba, Passifloraceae). **Acta Botanica Brasilica**, [São Paulo], v. 24, n. 1, p. 262-269, 2010.

FERREIRA, M. A. J. F.; QUEIROZ, M. A.; VENCOVSKY, R.; BRAZ, L. T.; VIEIRA, M. L. C. Implicações da expressão sexual e do sistema reprodutivo de melancia em programas de pré-melhoramento. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento/Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília, v. 65, p. 9-24, 2004.

FISHBEIN, M.; LIVSHULTZ, T.; STRAUB, S. C.; SIMÕES, A. O.; BOUTTE, J.; MCDONNELL, A.; FOOTE, A. Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers, and fruits. **American Journal of Botany** [Estados Unidos], v. 105, n. 3, p. 495-513, 2018.

FLORA DO BRASIL. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 2020.

HASTUTI, D.; SURANTO, S; SETYONO, P. V. Variation of morphology, karyotype and protein band pattern of *Adenium obesum* varieties. **Nusantara Bioscience** [Indonesia], v. 1, n. 2, 2009.

HOSSAIN, M. A.; AL-MUSALAMI, A. H. S.; AKHTAR, M. S.; SAID, S. A comparison of the antimicrobial effectiveness of different polarities crude extracts from the leaves of *Adenium obesum* used in Omani traditional medicine for the treatment of microbial infections. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, [Hong Kong], v. 4, p. S934-S937, 2014.

IBRAFLOR. INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA. **Mapeamento e Quantificação da Cadeia de Flores e Plantas Ornamentais do Brasil**. São Paulo: OCESP, 2015.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais do Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socioeconômica recente. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v.14, p. 37-52, 2008.

KANCHANAPOOM, K.; SUNHEEM, S.; KANCHANAPOOM, K. In vitro Propagation of *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. and Schult. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, Cluj-Napoca, v. 38, n. 3, p. 209-213, 2010.

KIYOHARA, H.; ICHINO, C.; KAWAMURA, Y.; NAGAI, T.; SATO, N.; YAMADA, H.; ABDEL-SATTAR, E. In vitro anti-influenza virus activity of a cardiotonic glycoside from *Adenium obesum* (Forssk.). **Phytomedicine** [Alemanha], v. 19, n. 2, p. 111-114, 2012.

KRAHL, A. H. **Biologia reprodutiva e polinização de quatro espécies de Orchidaceae em uma campina e campinarana da Amazônia Central**. 2013. 146 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade, Conservação e Uso da Flora Amazônica) – Instituto Nacional Pesquisas Amazônica, Manaus, 2013.

KRIECK, C.; FINATTO, T.; MÜLLER, T. S.; GUERRA, M. P.; ORTH, A. I. Biologia reprodutiva de *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt & RM Sm. (Zingiberaceae) em Florianópolis, Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [Paulínia], v. 10, n. 2, p. 103-110, 2008.

McBRIDE, K.; HENNY, R. J.; CHEN, J.; MELLICH, T. A. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. **HortScience** [Estados Unidos], v. 49, n. 4, p. 430-433, 2014.

McLAUGHLIN, J.; GAROFALO, J. **The Desert Rose (*Adenium obesum*)**. Miami-Dade: Miami-Dade County/University of Florida cooperative extension service, 2002. 66p.

MENEZES, S. P.; OLIVEIRA, A. C. Biologia floral, sistema reprodutivo e métodos artificiais de hibridação de *Hemerocallis hybrida*. **Ciência e Agrotecnologia**, [Lavras], v. 35, n. 1, p. 28-34, 2011.

NAKAMURA, M.; ISHIBASHI, M.; OKUYAMA, E.; KOYANO, T.; KOWITHAYAKORN, T.; HAYASHI, C. M.; KOMIYAMAD, K. Cytotoxic pregnanes from leaves of *Adenium obesum*. **Natural Medicines**, Boulder, v. 54, n. 3, p. 158-159, 2000.

ORTIZ, M. Á.; TALAVERA, S.; GARCIA-CASTAÑO, J. L.; TREMETSBERGER, K.; STUESSY, T.; BALAO, F.; CASIMIRO-SORIGUER, R. Self-incompatibility and floral parameters in *Hypochaeris* sect. *Hypochaeris* (Asteraceae). **American Journal of Botany**, v. 93, p. 234-244, 2006.

OSBORN, J. M.; EL-GHAZALY, G.; COOPER, R. L. Development of the exineless pollen wall in *Callitriche truncata* (Callitrichaceae) and the evolution of underwater pollination. **Plant Systematics and Evolution** [AUSTRIA], v. 228, n. 1-2, p. 81-87, 2001.

OYEN, L. P. A. *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult. In: Schmelzer G. H, GURIB FAKIM, A. (Eds). **Plant resources of tropical Africa** [Holanda], v.11, n. 1, p. 45-49, 2008.

PONTES, F. S. S. **Principais pragas e nível tecnológico do seu manejo na floricultura cearense: um estudo de caso para a cultura da roseira**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

PRATHAMA, M. **Fenologi dan biologi pembungaan *Adenium Obesum***. 2009. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, 2009.

RIKKEN, M. **The European market for fair and sustainable flowers and plants**. Belgica: Belgian Development Agency, 2010.

ROWLEY, G. D. The pollination mechanism of *Adenium* (Apocynaceae). **The National Cactus and Succulent Journal** [Reino Unido], v. 35, n. 1, p. 2-5, 1980.

ROWLEY, K. M.; FEATHER, N. T. The impact of unemployment in relation to age and length of unemployment. **Journal of occupational psychology**, v. 60, n. 4, p. 323-332, 1987.

SAKHANOKHO, H. F.; RAJASEKARAN, K. Pollen biology of ornamental ginger (*Hedychium* spp. J. Koenig). **Scientia horticultrae** [Holanda], v. 125, n. 2, p. 129-135, 2010.

SEBRAE. SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Flores e plantas ornamentais do Brasil**. Brasília: SEBRAE, 2015. (Séries e estudos mercadológicos, v. 1).

SILVA, M. E. P.; MUSSURY, R. M.; VIEIRA, M. D. C.; ALVES JUNIOR, V. V.; PEREIRA, Z. V.; SCALON, S. P. Floral biology of *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae) and its relation with *Astylus variegatus* activity (Germar 1824) (Coleoptera: Melyridae). In: ACADEMIA BRASILEIRA DE

CIÊNCIAS, 2011, Rio de Janeiro. **Anais** [...]. Rio de Janeiro: Acad Bras Cienc, 2011. v. 83, n. 4, p. 1251-1258.

SINGH, A.; CHAVAN, S.; BHANDARI, A. J.; PAREKH, V.; SHAH, H. P.; PATEL, B. N. New Multipetalous Variety G. Ad. 1 of *Adenium obesum*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [India] v. 8, n. 7, p. 197-203, 2019.

SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SOUZA, E. H.; OLIVEIRA, E. J. Reproductive biology, and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, [Holanda], v. 197, p. 339-349, 2015.

SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. D.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, 2011.

SOUZA, E. H. **Reprodução e hibridação interespecífica e intergenérica em bromeliáceas com potencial ornamental**. 2013. 256 f. Tese (Doutorado no Programa de Pós-Graduação em ciências, Biologia na Agricultura e Ambiente) – Centro de energia nuclear da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012. 768 p.

VARELLA, T. L.; SILVA, G. M.; CRUZ, K. Z. C. M. da; MIKOVSKI, A. I.; NUNES, J. R.; CARVALHO, I. F.; SILVA, M. L. In vitro germination of desert rose varieties. **Ornamental Horticulture**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 227-234, 2015.

WANG, R.; JIA, H.; WANG, J.; ZHANG, Z. Flowering, and pollination patterns of *Magnolia denudata* with emphasis on anatomical changes in ovule and seed development. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, [s. l.], v. 205, n. 4, p. 259-265, 2010.

WANNAKRAIROJ, S. Status of ornamental plants in Thailand. **Acta Horticulturae**, Eslováquia, v. 1, n. 788, p. 29-36, 2008.

ZEN, D. M.; ACRA, L. A. Biologia floral e reprodutiva de *Agapanthus africanus* (L.) Hoffmans (Liliaceae). **Estudos de Biologia**, Curitiba, v. 27, n. 59, 2005.

4 ARTIGO

4.1 Artigo – Biology and structure of flowers in *Adenium obesum* accessions with notes on the significance of these features for floriculture

Este artigo foi elaborado conforme normas da Revista Scientia Agricola.

Sabrina M. B. Ramos, Maria A. S. Carvalho, Clivia C. F. Possobom, Elka F. A. Almeida, Silvia Nietsche*
 Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, 39404-547, Montes Claros, MG, Brazil. E-mail: sabrina.maihave@gmail.com, silvia.nietsche@gmail.com
 * Corresponding author

Abstract

Adenium obesum is an important plant for the floriculture sector. Detailed information on aspects of flowering and floral structure is scarce and important for breeding programs, especially considering the great phenotypic variability. So, the objective of this study was to investigate and describe the floral events, morphology and anatomy of three *Adenium obesum* accessions, relating these traits to the ornamental value and to species propagation. All the accessions bloom all year long and they have diurnal and slow anthesis. The time elapsed between the development of initial bud and anthesis stage (32.29 days), as well as the floral longevity (26,57 days) were longest for ICA-rt accession. The morphological and anatomical analysis detected phenotypic diversity in *A. obesum*, mainly regarding the reproductive organs. Different levels and types of male sterility were recorded, as well as a tendency of reduced female fertility in some ICA-rt samples. Hermogamy and functional dioecy were registered. The high floricultural potential of ICA-rt accession was identified, in view of its morphological, morphometric, and floral longevity features. These results may inspire several new studies on *A. obesum* in the fields of applied botany, genetics, physiology and plant breeding, with a view to the development of new genotypes that meet the requirements of producers/consumers and collectors.

Keywords: Desert rose, Floral biology, Breeding, Ornamental plants, Anatomy.

1 Introduction

Adenium obesum (Forssk.) Roem. & Schult is popularly known as desert rose and has become a valuable option in the ornamental plant sector (McBride et al., 2014). The species belongs to Apocynaceae, is native to tropical Africa and the regions of Saudi Arabia, Oman, and Yemen (Plaizier, 1980) and nowadays spreads widely throughout the world (Oyen, 2008).

This species has great morphological variability, mainly in relation to the flower size, number, and shape, as well as the petal number and arrangement, ranging from simple to quadruple. All these characteristics define the ornamental value of a plant for consumers and novelties in these parameters are of great interest to the ornamental plant industry (Singh et al., 2019).

In general, the flowers are bisexual, pentamerous, slightly zygomorphic and vary in color from deep purplish red to pink and even white (Plaizier, 1980). The sepals are oblong to ovate, the funnel-form corolla is hairy or glabrous on the outside and has five to 15 red lines called nectar guides on the inside (Oyen, 2008; Colombo et al., 2018). The androecium has five epipetalous stamens with short filaments, sagittate anthers forming a cone on the stigma, as is common for the family, and filamentous appendages in the terminal region (Plaizier, 1980). The ovary is superior, has two free

carpels and the style head is sticky and has long trichomes (Endress and Bruyns, 2000).

Studies on the floral biology of *A. obesum* are almost nonexistent, but some information about the plant was provided by Rowley (1980) and Dimmit et al. (2009). According to Rowley (1980), the flowers are odorless and last two to three days. Cross-pollination is essentially mediated by specialized floral visitors with a long proboscis, attracted by the visual stimuli and floral resources.

Artificial pollination is indispensable for sexual reproduction of the desert roses, since their natural pollinators are absent in most cultivation places. Thus, it is important to understand the reproductive biology of *A. obesum*, including details and the possible variations in relation to the flowering period, anthesis, as well as the morphoanatomy and the functioning of floral organs.

Considering the importance of the basic knowledge such as reproductive biology and phenotypic variation for genetic improvement programs, the objective of this study was to describe and record the diversity with regard to the flowering, floral functioning and morphology in three accessions of *Adenium obesum*. The findings were discussed on the basis of the ornamental value and the species propagation.

2 Material And Methods

2.1 Plant material and cultivation conditions

This study was carried out in the county of Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. The climate was classified as tropical savannah (Aw), according to Köppen, with a mean annual rainfall of > 1060 mm, dry winters and rainy summers (16° 41' S, 43° 50' W; 646.29 m asl). *Adenium obesum* accessions were purchased at commercial nurseries (Italo Braga: <https://italobraga.com.br/> and Estância Vitória: <http://estanciavitoria.com/>). The studied accessions were named as follows: ICA-ps (purple flowers, simple petal arrangement); ICA-wd (white flowers, double petal arrangement); and ICA-rt (red flowers, triple petal arrangement). Seven clones per accession were selected for the study. The plants were maintained in a plastic-covered greenhouse (80% shade) in 4-liter pots containing the substrate Bioplant® (Ponte Nova, Brazil). The analyses were performed when the plants had a height of around 30 cm and at least two branches, in the second flowering.

2.2 Evaluation of floral biology and morphometry

The flowering period and floral longevity of each accessions were recorded in weekly visual observations from August 2018 to November 2019. The total number of flowers and buds of each plant was counted. The growth and morphological changes of the flowers, from the young bud to senescence, were monitored daily. Flower buds were evaluated as of 7 am, recording the time of anthesis and any modifications. To determine the main stages of growth, floral buds were collected and classified for their size and main morphological characteristics.

2.3 Evaluation of the floral anatomy

Anatomical analyzes were performed with samples belonging to the growth stages with more

striking visual morphological differences (stages 1, 4, 8 and 9; Fig. 1).

The samples were fixed in FAA 70 solution (Johansen, 1940), dehydrated in an ascending ethanol series (alcohol 70%, 80%, 90% and 99.5%) and embedded in glycol methacrylate (Historesin, Leica®). Subsequently, longitudinal and transversal thin sections (thickness 5 µm) were cut with a rotating microtome (Yidi- YD-315), stained with 0.05% toluidine blue at pH 4.7 (O'Brien et al., 1964, modified) and fixed between glass slides and coverslips with colorless varnish (Acrilex®). Photomicrographs were obtained with an AxioCam Erc5s digital camera coupled to a primo star microscope (Zeiss®).

3 Results

3.1 Floral events

Under the climatic conditions described above, the three accessions *Adenium obesum* bloomed throughout most of the year. The plants of accession ICA-ps produced a mean of 4.48 ± 0.7 floral structures, requiring 23.57 days until complete development of anthesis and another 13.14 days from flower opening to senescence. Accession ICA-wd produced a mean of 9.38 ± 1.16 floral structures per plant, which took 24.14 days until full anthesis and another 17.43 days, in the mean, until flower drop. In the mean, accession ICA-rt had 4.92 ± 0.98 floral structures per plant and the period from the initial floral bud stage until anthesis and from anthesis to flower drop lasted 32.29 and 26.57 days, respectively.

The morphological changes occurred during floral development, exemplified here by accession ICA-wd, are illustrated in Figure 1. The mean sizes (length/diameter) of flower buds of each stage are shown in Table 1.

Anthesis occurred in the morning, between 09h00 am and 10h00 for accessions ICA-wd and ICA-ps and around 11h40 am for accession ICA-rt. Flower opening of all three accessions was marked by a loosening of the spiral-shaped petals (Fig. 2A-C). At the time of opening, the flowers of the three accessions were odorless for human beings. The five flower petals of accession ICA-ps unwound at the same time (Fig. 2D). The outer petals of accession ICA-wd were unwound first, while the inner petals remained in a vertical position for a mean of eight days (Fig. 2E). The opening of the external and internal petals of the flowers of accession ICA-rt occurred within two days (Fig. 2F).

The beginning of flower senescence can be observed by a loss of shininess of the petals and decreasing intensity of the purple color of accession ICA-ps (Fig. 2G). The tips of the filamentous appendages of the stamens, which appeared close to the corolla mouth, also turned yellowish to brown and lost turgidity (Fig. 2G). In some flowers of accession ICA-wd (Fig. 2H), yellowing of the petal edges and tips of the membranous appendages, as well as turgidity loss were observed. In some ICA-rt flowers (Fig. 2I), the petals withered, and color and brightness were strongly reduced.

3.2 Morphological Aspects

The flowers of the three studied *A. obesum* accessions are organized in terminal inflorescences and are generally slightly zygomorphic, pentamerous and bisexual (Fig. 3).

The dialysepalic calyx has quincuncial prefloration (two external, two internal sepals and one semi-internal) and is formed by triangular, greenish, and pubescent sepals alternating with the corolla lobes (Fig. 3A, 3B).

The gamopetalous and infundibuliform corolla has free lobes of dextrorse imbricate prefloration (Fig. 3). It consisted of five petals in a single cycle in ICA-ps (Fig. 3A, 3C, 3F), 10 petals in two cycles in ICA-wd (Fig. 3B, 3D, 3G) and of 15 petals in three cycles in ICA-rt (Fig. 3E, 3H). The corolla lobes were symmetrical and rounded in ICA-ps and ICA-wd (Fig. 3C, 3D) and triangular in ICA-rt (Fig. 3E). The floral tube of the three accessions was pubescent and had five pairs of petaloid appendages on the inside (Fig. 3C-D, 3F-H). In the three accessions there were linear areas differentiated from the rest of the tube due to staining and/or higher trichome density (Fig. 3C-D, 3F-H).

The androecium, in general, consisted of five epipetalous and inserted pollen-bearing stamens, which were densely hairy throughout their length (Fig. 3F-H, Fig. 5A). The filaments were adnate to the petals at the narrowest portion of the floral tube (Fig. 3F-H). The free portion of the filaments and the anthers were located in the wide region of corolla forming a cone around the style apex (Fig. 3F-H, Fig. 5A). The dehiscence of the basifixed and sagittate anthers was longitudinal (Fig. 5A). In the apical region, the anthers had filamentous appendages, which were purple in ICA-ps, white in ICA-wd and red in ICA-rt (Fig. 3F-H). These appendages were twirled together in newly-opened flowers or free in some senescent flowers; they had variable length, normally longer in ICA-wd flowers, in which they frequently reached the “throat” of the floral tube (Fig. 3F-H).

Some flower samples of accession ICA-wd and ICA-rt had no androecium or a reduced number of pollen-bearing stamens (1 - 3). In addition, in these accessions, modifications in the stamen appendages were also observed, which were petaloid, shorter or had attached terminal portions (Fig. 4B). In all accessions, flowers with one to five petaloid staminodes, (Fig. 4C) or with other shape modifications (Fig. 4D) could also be observed.

In all three accessions, the bicarpellate gynoecium was apocarpic in the region of the superior ovary, with many ovules per locule, marginal placentation and a single style, which had a specialized head (Fig. 4E). The style apex was classified as bifid and had long trichomes which were absent in some samples (Fig. 4F-I). The spool-shaped style head was located in the subterminal region and was differentiated in three regions (apical, median and basal collar) based on their morphological aspects (Fig. 4F-I). In general, the median portion was shorter than the apical portion and the basal collar (Fig. 4F, H), although elongated median portion and less prominent basal collar were observed in some specimens (Fig. 4G, I). Moreover, bifurcated style head was observed in some cases (Fig. 4I). Style samples from pre-anthesis flowers showed a hyaline secretion mainly over the median portion, in addition to pollen grains which were frequently observed over the entire bifurcated apex of the style head (Fig. 4H).

3.3 Anatomical Aspects

A cross section of the basal third of young flower buds (exemplified here by accession ICA-wd) shows the elements of the already distinguished calyx alternating with elements of the corolla of the adjacent (more external) cycle (Fig. 5A). In a longitudinal section (exemplified by accessions ICA-

ps and ICA-rt), the structural individualization of the parts of the different corolla cycles (when present) and the androecium elements occurred in successive receptacle planes, and were in a more basal position for the outermost elements (Fig. 5B-C).

A cross-section of the middle third region of young floral buds showed complete structural individualization of the corolla, androecium and gynoecium whorls (Fig. 5D-F). In this plane, the region of separation of the corolla lobes from the innermost cycles was visible in accessions ICA-wd and ICA-rt (Fig. 5E-F).

In all three accessions, the sepals were characterized by the presence of uniseriate epidermis, homogeneous mesophyll and numerous scattered vascular bundles. The epidermis consisted of common quadrangular cells, aside from stomata and non-glandular trichomes on the dorsal surface (Fig. 5A).

The floral tube, consisting of one (ICA-ps), two (ICA-wd) or three (ICA-rt) petal cycles, had a ventral surface with a regular contour and a slightly wavy dorsal surface, due to a contraction of the fusion regions between the petals (Fig. 5D-F). The three accessions had a uniseriate epidermis, homogeneous mesophyll and five vascular bundles per petal (Fig. 5B-F). The common epidermal cells were cube-shaped and were interspersed with some stomata on the dorsal surface and non-glandular trichomes on either side and were larger and concentrated in the region of the vascular bundles on the ventral surface.

The stamens had similar sizes and shapes, in a single cycle around the gynoecium (Fig. 5D-F) and were adnate to the innermost petal cycle by the filament base (Fig. 5B). The anthers were totally free and, in young buds, were partially located above the style head (Fig. 5B, D-I). In a sample of ICA-rt accession, a staminode consisting of secretory epidermis, parenchyma and a central vascular bundle was observed (Fig. 5I).

A cross-section of young anthers (stage 1) showed that they have a tetralobate shape, and are bithecal, tetrasporangiate and fertile (Fig. 5D-I). Anthers removed from the buds in pre-anthesis (stage 8) were more strongly lobed, clearly showing the gap between the two thecae by the widening of the indentation in the ventral portion (Fig. 5J). At anthesis (stage 9), the anthers were dehiscent (Fig. 5K).

The anther wall in young flower buds (stage 1) consisted of epidermis, endothecium, a middle layer and secretory tapetum (Figs. 5G-I, 7). The epidermis was composed of quadrangular cells with a thin cuticle and unicellular trichomes restricted to the dorsal region (Fig. 5G-I). The endothecium varied from one to two layers in ICA-ps and ICA-wds accessions and from two to three layers in ICA-rt accession (Figs. 5G-I, 6A-B). The secretory tapetum consisted of a layer of elongated cells, with very thin cell walls, dense cell content and a very evident nucleus (Figs. 5G-I, 6A-B). In this stage, the tetrahedral arrangement of the microspore tetrads were visible, still surrounded by callose (Fig. 6A-B). In some samples of this same stage, the microspores were still in tetrahedral arrangement, but already individualized and surrounded by a thin sinuous exine layer (Fig. 6C).

In flower buds in a more advanced stage of development (stage 4), bulkier cells of the endothecium and of the middle layer were observed (Fig. 6D-E). The microspores were totally free and their irregular shape and vacuolization could be observed (Fig. 6D-F). In some samples, young microgametophytes could be seen, constituted by two cells - a generative, smaller, in a more

peripheral position and the vegetative, which was bulkier (Fig. 6F).

In anthers from pre-anthesis buds (stage 8), the epidermis was intact, the walls of the endothecium and subepidermal cells of the connective became thicker, the middle layer was rather flattened, and the tapetum was almost completely dissolved (Fig. 5J, 6G-H). The walls of the cells in the stomium region and those adjacent to the vascular bundle remained thin (Fig. 5J). The pollen grains (microgametophytes) had a regular shape and a dense and granular cytoplasmic content, due to the accumulation of reserve substances (Fig. 6G-H).

In dehiscent anther (stage 9) samples, the rupture in the stomium region was stated where the cell walls were not thickened, and some few pollen grains were within the locule (Fig. 5K). In the anther wall, only the epidermis and endothecium persisted, with dispersed one- and two-cell pollen grains (Fig. 6I).

Cross and longitudinal sections of young flower buds (stage 1) showed that the ovary was partially immersed in the receptacle (Fig. 5A-B). The carpel margins corresponding to the placenta were folded where several ovules at an early developmental stage were observed (Fig. 7A). Some samples of ICA-rt accession indicated asymmetry between the two carpels or the presence of only one of them (Fig. 7B). In all studied development stages, each carpel consisted of the epidermis and vascularized mesophyll, with minor differences throughout the development (Fig. 7A, E, F). The epidermis on the external surface was conspicuous, formed by a layer of cubic cells (Fig. 7A, E, F). The epidermis delimiting the locule region consisted of more rectangular, shorter and wider cells (Fig. 7A, E, F). The mesophyll was formed by parenchyma cells with variable shapes, and vascularization was ensured by a larger sized dorsal bundle and two ventral and several lateral bundles (Fig. 7A, E, F).

The ovules were characterized as anatropous and unitegmic (Fig. 7C, D) and in samples of the phases 1 and 4, megasporogenesis in different phases was observed. The megagametophyte (embryonic sac) was visible in samples of pre-anthesis (phase 8) and anthesis buds (phase 9) (Fig. 7E, F).

A cross-section of the style, which was formed by the fusion of two carpels, showed uniseriate epidermis, parenchyma, two vascular bundles in most samples and a central, epidermis-covered hollow region (Fig. 7G, H). In some samples of ICA-rt accession, a style with only one vascular bundle was observed. In a longitudinal section, the style head was seen, with an enlarged, claviform region, characterized by secretory epidermal cells with a rather dense cytoplasm (Fig. 7I, J). In some ICA-rt samples, the style head was more elongated and narrower and bifurcated from the median portion upwards (Fig. 7K). In the collar region, a projection of fundamental tissue in the form of an inverted cup was formed, covered by rectangular, shorter and wider epidermal cells (Fig. 7K). In the median and apical portion, the epidermis consisted of narrow, gradually longer unicellular trichomes towards the apex, and secretion accumulation could be seen in this region as of pre-anthesis (phase 4) (Fig. 7I). The trichomes of the apical region had sinuous walls interspersed with a rather bulky secretion in samples of flowers in anthesis (phase 9) (Fig. 7J).

A cross-section of the median portion of the style head showed the vascularization in normally two bundles (Fig. 5D-E). The presence of common cells covering part of the surface of the style head suggested that only one carpel contributes to the formation of this structure in this sample (Fig. 7L). A

cross section of the region above the style head showed the two apical appendages, consisting of papillary epidermal cells and non-vascularized parenchymatic tissue (Fig. 7M).

4. Discussion

4.1 Floral events and morphology

Corroborating the results of Dimmitt and Hanson (1991) the flowers of *A. obesum* evaluated in the present study bloomed during most of the year, which is a very promising floristic performance for landscape purposes. The flowers took a mean of 27 days from the beginning until flower opening and the opening process was considered slow. Besides, the longevity of accession ICA-rt, with red flowers and triple petal arrangement, was highest (on average 26 days).

There are no studies indicating whether there is any genetic correlation between the number of floral layers and floral longevity, but if we look physiologically, flowers with more petals and larger sizes can become more efficient drains. Variations between genotypes with different numbers of petals and durability of flowers were also reported by Singh et al. (2019).

The flowers of *A. obesum* opened in the morning, as in several other Apocynaceae species, and the process lasted longer in flowers with double (ICA-wd) or triple corolla (ICA-rt). Examples of species with floral opening between 5 am and 11h30 am are: *Allamanda blanchetti* (Araújo et al., 2011) and *Angadenia berteroi* (Barrios and Koptur, 2011).

Regarding the flower morphometry, the sizes of the accessions ICA-ps, ICA-wd and ICA-rt corroborate the results of Singh et al. (2019), for genotypes with similar petal arrangement and color characteristics. In varieties of *Adenium obesum* assessed by Hastuti et al. (2009) a similar morphometry to that of this study was reported. Flower sizes, number of petals and longevity define the ornamental value of a potted plant (Singh et al., 2019).

The general flower architecture of *A. obesum* is typical of Apocynaceae, with an arrangement of sepals, petals, androecium and gynoecium similar to that described in several other studies (Livshultz et al., 2018; Parashuram et al., 2018). Floral morphology is important for taxonomy and the peculiarities are fundamental elements for an accurate plant classification (Vital and Nakamura, 2018).

The petaloid appendages observed at the base of the lobes between the petals of all accessions constitute the corona, an important element of Apocynaceae flowers, with different characteristics and functions (Endress, 2016). According to Kunze (2005), in *A. obesum*, the corona elements have the function of guiding pollinators to the stamens, also located between the petals. In addition to the corona, variations were observed in the lines within the tube of the accessions described here, known as nectar guides, as also reported by Colombo et al. (2018) for *A. obesum*.

Although Rowley (1980) reported the presence of a nectary in *A. obesum*, no nectar secretion was observed in this study. Therefore, the nectar guides may serve as an orientation for floral visitors in search of the only resource, which is the pollen grain, or even to involve them in a pollination mechanism by mistake, without any floral reward.

Regarding the androecium, a variation observed in the length of stamen appendages between the samples analyzed is worth mentioning. This means that the appendages may be visible or hidden

within the tube, also affecting the appearance of the flowers from the ornamental point of view. All these characteristics can be considered relevant in the context of developing new combinations, depending on consumer preferences in the floricultural sector.

In the anthers of the accessions evaluated here, longitudinal dehiscence and pollen grains released before anthesis were observed, as described for other apocynaceous species, e.g., *Allamanda blanchetii* (Araújo et al., 2011), *Cryptostegia madagascariensis* (Vieira et al., 2004) and *Nerium oleander* (Parashuram et al., 2018). Pollen grain deposition on the style head can be interpreted as a secondary pollen presentation, as similarly described by other authors (Araújo et al., 2011; Barrios and Koptur, 2011).

Aside from secondary pollen presentation, herkogamy is also frequently mentioned in Apocynaceae species (Araújo et al., 2011; Pugas et al., 2018), as a mechanism that can prevent self-pollination. Some authors also report cases of protandry (Parashuram et al., 2018) and dioecy (Koch et al., 2002). Although anther dehiscence occurred during pre-anthesis, the accessions evaluated here cannot be classified as protandric, since stigma receptivity also starts before flower opening. In general, our results indicate the occurrence of herkogamy in *A. obesum*, in addition to dioecy, considering the existence of some pistillate or functionally pistillate flowers (functional dioecy).

The partial or total male sterility of plants observed in this study, sometimes despite well-developed anthers, may indicate a gender decline (Koch et al., 2002). This phenomenon occurs when not all members of a population are regularly hermaphroditic and, according to Richards (1997), gynodioecy and dioecy are the most common reproductive forms.

The style head is quite variable between Apocynaceae species and reflects evolutionary trends in relation to the degree of flower specialization, as suggested by Fallen (1986). In *A. obesum*, three morphologically distinct regions were identified, similar to type 2 described by Fallen (1986).

According to Fallen (1986), from the functional point of view, the apical region forms the surface for secondary pollen presentation, the middle portion is related to the secretion of a sticky substance and the basal collar has the function of scraping exogenous pollen from the visitor's body for deposition on the receptive surface, located under this small "collar". Although there is evidence that the median portion of the style head can also be receptive to other Apocynaceae species (Koch et al. 2002), artificial pollination of *A. obesum* was successful when pollen grains were deposited in the basal region of the style head.

4.2 Floral anatomy

The anatomical study of all floral whorls of *A. obesum* described here is new and confirmed constancy among the accessions in relation to most observed characteristics, although some variations in androecium and gynoecium were registered.

The calyx was the first structurally individualized whorl and its five lobes were already separated in the receptacle region. This confirmed an observation of Woodson and Moore (1938), saying that gamosepaly is little pronounced in most Apocynaceae species. The corolla was individualized in a higher plane than the gynoecium and petals, having, as the sepals, a similar

anatomical organization to that reported for other representative of Apocynaceae, e.g., specie of *Oxypetalum* (Silva et al., 2008).

Tetrasporangiate anthers with pollen grains released in monads are characteristic of the subfamily Apocynoideae (Endress and Bruyns, 2000), which *A. obesum* belongs to. Anther walls with a similar pattern to that described in this study were also reported for two tetrasporangiate species of *Rauvolfia* (Koch et al., 2018) and for *Oxypetalum appendiculatum*, which has two sporangia per anther (Vital and Nakamura, 2018).

In the *A. obesum* plants evaluated here, flowers with pollen-bearing stamens were observed, but with variable amounts of unviable or deformed pollen grains, corresponding to pollen sterility, apart from petaloid or secretory staminodes corresponding to structural sterility. Further studies related to the pollen grain development in *A. obesum* are required to understand the ways and reasons of the expression of male sterility (Lasa and Bosemark, 1993).

The microsporogenesis, although not recorded in detail in this study, was completed in buds with a diameter of up to 2 mm. During this process, tetrahedral tetrads were formed, indicating the occurrence of simultaneous cytokinesis, as similarly reported by Koch et al. (2018) for two species of *Rauvolfia*. The first signs of tapetum degeneration were observed in buds with a diameter of approximately 3.6 mm. From this phase onwards, pollen grain maturation began, which was completed in pre-anthesis buds with a diameter of up to 10 mm.

Although pollen grains in Apocynaceae are commonly released in a tricellular phase (Vital and Nakamura, 2018), the pollen grains dispersed in the samples analyzed here were in a bicellular phase, as similarly observed in *Rauvolfia vomitoria* and *R. weddelliana* (Koch et al., 2018).

Knowledge about processes of pollen grain formation can have practical applications from the point of view of floriculture. In addition to deepening the understanding of the causes of sterility, in the context of tissue culture, it can contribute to the development of androgenetic techniques, which consist of embryo formation *in vitro*, without involving female organs (Pechan and Smykal, 2001).

The characteristics of gynoecium reported here, such as the presence of free carpels with marginal placentation and numerous anatropous and unitegmic ovules are common to other Apocynaceae (Endress and Bruyns, 2000; Silva et al., 2008). The ovary of the family representatives is commonly classified as “superior”, although, as found for *A. obesum* in this study, several species have ovaries with different degrees of immersion in the receptacle (Pugas et al., 2018), and can be classified as semi-inferior or median.

Our results showed that megasporogenesis was completed in buds with a diameter of > 3.6 mm, when megagametogenesis was initiated. The analysis of bud samples in the stages chosen in this study was insufficient to record details of the processes of megaesporogenesis and megagametogenesis. On the other hand, it was possible to establish some reference values associated with the bud sizes, which may be useful in future studies on the development of the female gamete and embryonic sac of these plants.

In ICA-rt samples, styles with a single bundle were observed, probably due to carpel reduction or asymmetry. In the same accession, a longer and narrower style head was also recorded, sometimes bifurcated as of the median portion, reflecting a lower degree of carpel fusion. This morphological

variation may have some effect on fertilization, since in the case of self-compatibility, a smaller size of the basal collar can allow self-pollination, exceeding the limits imposed by herkogamy and fertilization.

The structural differences observed along the extension of the style head, associated with the confirmation of pollen deposition in the apical region and secretion in the median portion, confirm the different topographically defined functions in this specialized structure, as reported by several other authors (Koch et al., 2002; Lopes and Machado, 1999).

5 Conclusions

Studies on morphometry and floral biology addressing three accessions of *A. obesum* demonstrated significant variations between the genotypes, indicating high phenotypic diversity. The total and partial androecium sterility and changes in its appendages revealed previously unknown aspects. The morphological, morphometric and floral longevity features of accession ICA-rt indicated its higher potential for floriculture.

Morphological variations were observed in the style head of ICA-rt samples and different levels and types of male sterility, as well as a tendency of decreasing female fertility in some samples of ICA-rt were recorded. In addition, morphological markers associated with the different phases of the sporogenesis and gametogenesis processes could be determined.

References

- Araújo, L.D.A.; Quirino, Z.G. M.; Machado, I.C. 2011. Reproductive phenology, floral biology and pollination of *Allamanda blanchetii*, an Apocynaceae endemic to the Caatinga - Brazil. *Brazilian Journal of Botany* 34: 211-222 (in Portuguese, with abstract in English).
- Barrios, B.; Koptur, S. 2011. Floral biology and breeding system of *Angadenia berteroi* (apocynaceae): why do flowers of the pineland golden Trumpet produce few fruits? *International Journal of Plant Sciences* 172: 378-385.
- Colombo, R.C.; Cruz, M.A.D.; Carvalho, D.U.D.; Hoshino, R.T.; Alves, G.A.C.; Faria, R.T.D. 2018. *Adenium obesum* as a new potted flower: growth management. *Ornamental Horticulture* 24: 197-205.
- Dimmitt, M.A.; Hanson, C. 1991. The genus *Adenium* in cultivation, part 1: *A. obesum* and *A. multiflorum*. *Cactus and Succulent Journal* 63: 223-225.
- Dimmitt, M.; Joseph, G.; Palzkill, D. 2009. *Adenium - Sculptural Elegance, Floral Extravagance*. Idea Scathingly Brilliant, Tucson, AZ, USA.
- Endress, M.E.; Bruyns, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae sl. *The Botanical Review* 66: 1-56.
- Endress, P.K. 2016. Development and evolution of extreme synorganization in angiosperm flowers and diversity: a comparison of Apocynaceae and Orchidaceae. *Annals of Botany* 117: 749-767.
- Fallen, M.E. 1986. Floral structure in the Apocynaceae: morphological, functional, and evolutionary aspects. *Botanische Jahrbucher fur Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 106: 245-286.
- Hastuti, D.; Suranto, S.; Setyono, P.V. 2009. Variation of morphology, karyotype and protein band pattern of *Adenium obesum* varieties. *Nusantara Bioscience* 1: 78-83.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, London.

- Koch, I.; Bittrich, V.; Kinoshita, L.S. 2002. Reproductive biology and functional aspects of the floral morphology of *Rauvolfia sellowii* Müll. Arg. (Apocynaceae; Rauvolfioideae)-a report of dioecy in Apocynaceae. *Botanische Jahrbücher* 124: 83-104.
- Koch, L.; Alves, D.M.; Souto, L. 2018. Anther wall and pollen development in two species of *Rauvolfia* L. (Apocynaceae). *Brazilian Journal of Botany* 41: 175-184.
- Kunze, H. 2005. Morphology and evolution of the corolla and corona in the Apocynaceae sl. *Botanische Jahrbücher* 126: 347-383.
- Lasa J.M.; Bosemark N.O.; 1993. Male sterility. p. 213-228. In: Hayward, M.D; Bosemark, N.O; Ramagosa, T. eds. *Plant Breeding*. Springer Science + Business Media, Dordrecht, South Holland, Netherlands.
- Livshultz, T.; Hochleitner, S.; Lakata, E. 2018. Pollen transfer efficiency of *Apocynum cannabinum* (Apocynaceae): a comparative perspective. *Journal of Pollination Ecology* 22: 35-48.
- Lopes, A.V.; Machado, I.C. 1999. Pollination and reproductive biology of *Rauvolfia grandiflora* (Apocynaceae): Secondary pollen presentation, herkogamy and self-incompatibility. *Plant Biology* 1: 547-553.
- McBride K.; Henny, R. J.; Chen, J.; Mellich, T.A. 2014. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. *HortScience* 49: 430-433.
- O'brien, T. P.; Feder, N.; Mccully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Oyen, L.P.A. 2008. *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. and Schult. p. 46-49. In: Schmelzer, G. H.; Gurib Fakim, A., eds. *Medicinal plants 1*. Backhuys Publishers, Wageningen, Gelderland, Netherlands.
- Parashuram, M.; Rajadurai, K. R.; Haripriya, S. 2018. Evaluation of nerium cultivars for physiological and biochemical parameters under Coimbatore conditions Tamil Nadu India (*Nerium oleander* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 7: 2746-2749.
- Pechan, P.M.; Smykal, P. 2001. Androgenesis: affecting the fate of the male gametophyte. *Physiologia Plantarum* 111: 1-8.
- Plaizier, A.C. 1980. A revision of *Adenium* Roem. and Schult. and of *Diplorhynchus* Welw. ex Foc. and Hiern (Apocynaceae). Veenman, Wageningen. <https://edepot.wur.nl/287586> (acessado em: 20 abril de 2019).
- Pugas, R.M.; Paz, J.R.L.D.; Neves, E.L.D.; Pigozzo, C.M. 2018. *Himatanthus bracteatus* (A. DC.) Woodson (Apocynaceae): phenology, morphology, and floral biology of a species endemic to the Atlantic Forest. *Hoehnea* 45: 405-412.
- Richards, A.J. 1997. *Plant breeding systems*. Garland Science, London, England.
- Rowley, G.D. 1980. The pollination mechanism of *Adenium* (Apocynaceae). *The National Cactus and Succulent Journal* 35: 2-5.
- Silva, N.M.F.; Valente, M.D.C.; Pereira, J.F.; Amado Filho, G.M.; Andrade, L.R. 2008. Morpho-anatomy of Brazilian species of *Oxypetalum* (Asclepiadoideae-Apocynaceae). *Rodriguésia* 59: 915-948.
- Singh, A.; Chavan, S.; Bhandari, A.J.; Parekh, V.B.N. 2019. New Multipetalous Variety G. Ad. 1 of *Adenium obesum*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8: 197-203.
- Vieira, M.F.; Leite, M.S.D.O.; Grossi, J.A.S.; Alvarenga, E.M. 2004. Reproductive biology of *Cryptostegia madagascariensis* Bojer ex Decne. (Periplocoideae, Apocynaceae), ornamental and exotic species in Brazil - Brazil. *Bragantia* 63: 325-334 (in Portuguese, with abstract in English).
- Vital, F.A.Z.; Nakamura, A.T. 2018. Androecium development of *Oxypetalum appendiculatum* Mart. (Apocynaceae): A Taxonomic Approach. *Scientific Electronic Archives* 11: 130-139.

Woodson, R.E.; Moore, J.A. 1938. The vascular anatomy and comparative morphology of apocynaceous flowers. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 65: 135-166.

Table 1 – Mean sizes (length/diameter) of floral buds in different developmental stages of the accessions ICA-ps, ICA-wd and ICA-rt of *Adenium obesum*. Montes Claros, Brazil

Stages	Accession		
	ICA-ps	ICA-wd	ICA-rt
1	9.13/2 mm	9.25/ 2 mm	10.36/2 mm
2	12.6 /2.5 mm	13.2/2.5 mm	13 /2.5 mm
3	15 /3 mm	16 /3 mm	20.5 /3 mm
4	23 /3.5 mm	24 /3.5 mm	23 /3.6 mm
5	25 /3.6 mm	29 /3.7 mm	27.8 /4 mm
6	36.8 /5.8 mm	37 /6.1 mm	36.8 /7.27 mm
7	44 /7.5 mm	46.8 /8 mm	62 /10 mm
8	52 /8 mm	53 /9 mm	71.5 /12 mm



Figure 1 – Growth stages (1 to 9) of the flower buds (without sepals) in *Adenium obesum*, accession ICA-wd, (scale bar = 1cm)



Figure 2 – Flowers of *Adenium obesum* ICA-ps (A, D, G), ICA-wd (B, E, H) and ICA-rt (C, F, I) accessions. A, B and C - Pre-anthesis. Note the spiral shape of the corolla; D, E and F – Anthesis; G, H and I - Post-anthesis and senescence. Montes Claros, Brazil

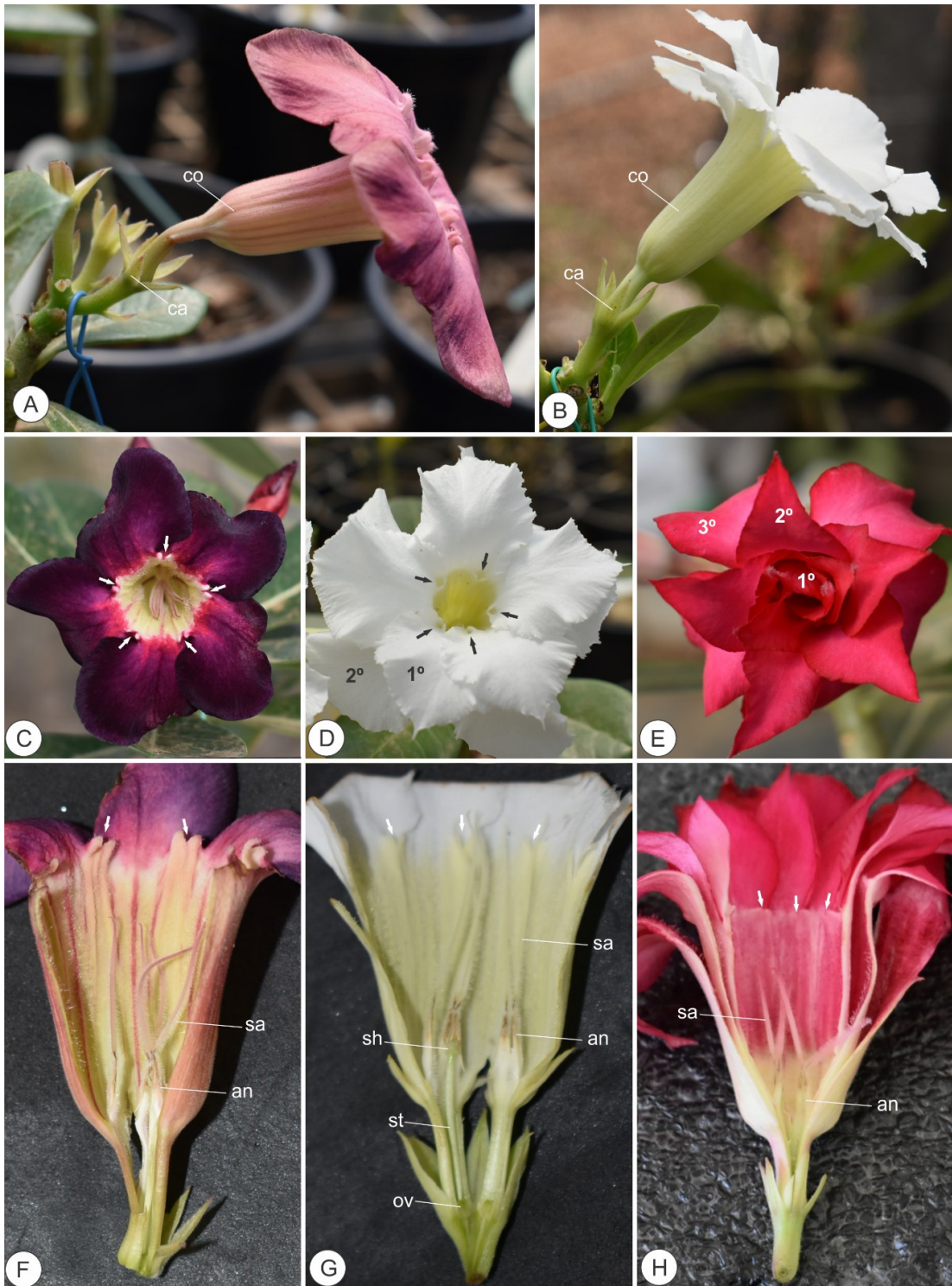


Figure 3 – Morphological aspects of the flowers of three *Adenium obesum* accessions (Montes Claros, Minas Gerais). A-B: flower calyx and corolla of accessions ICA-ps (A) and ICA-wd (B); C-E: Corolla lobes and arrangement of petal cycles of all accessions; F-G: Floral tube with petaloid appendages indicated by arrows. Note the androecium (an) forming a cone over the style head (sh) and stamen appendages (sa) of the three accessions. st = style; sh = style head; arrows = petaloid appendages on the corolla; sa = staminal appendages

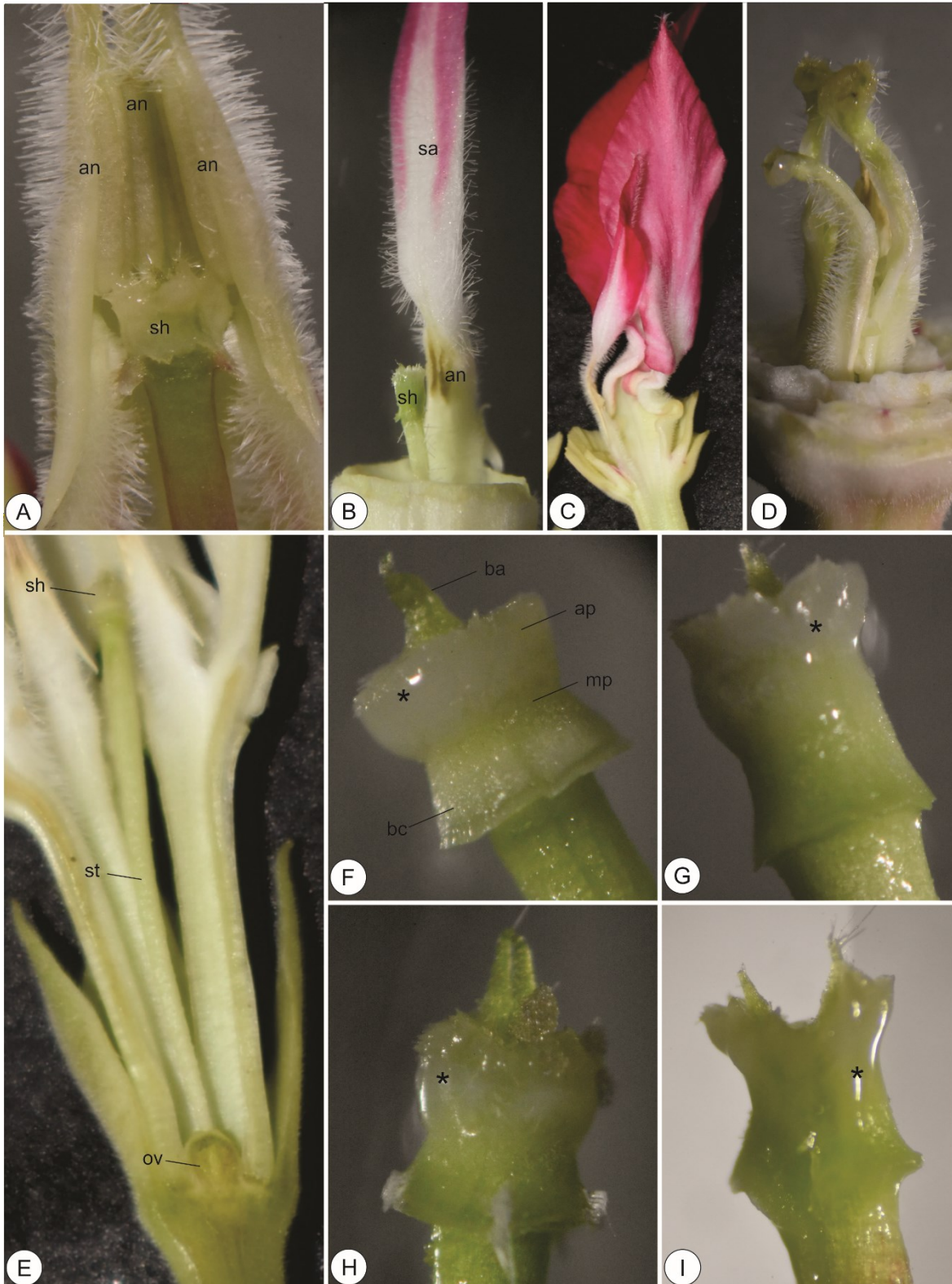


Figure 4 – Morphological aspects of androecium and gynoecium of *Adenium obesum* flowers. A: androecium (an) with five fertile, epipetalous and hairy stamens and triangular anthers around the style head (sh). B-D: changes observed in the stamen appendages (sa). E: gynoecium position on the flower indicating the style head (sh), style (ts) and ovary (ov). F: Style head shape and portion indications, with bifurcated appendix (ba), apical portion (ap), median portion (mp) and basal collar (bc). G: Secretion on the style head indicated by an asterisk. H: style head covered with pollen grains in the apical portion and hyaline secretion. I: bifurcation of the style head. Asterisk = secretion on the

style head; bc = basal collar; mp = median portion; ap = apical portion; ba = bifurcate apex, sa (petaloid staminal appendage) sh = style head; sa = staminal appendages

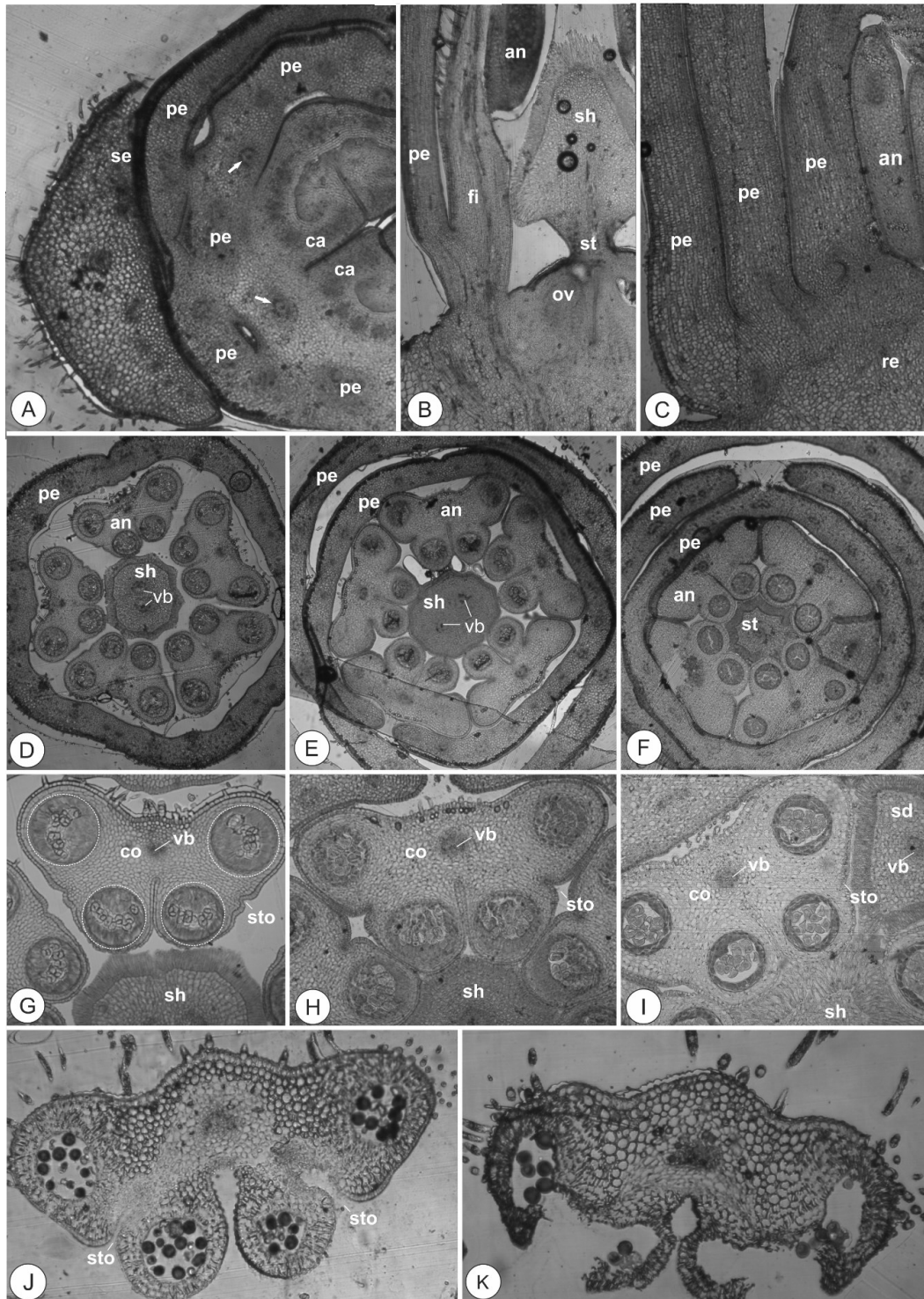


Figure 5 – Anatomy of *A. obesum* flowers (Montes Claros, MG). **A.** Cross section: basal third of young flower buds, exemplified here by accession ICA-wd. Note the elements of the already individualized cup (se) alternating with the elements of the outermost corolla cycle (pe). The petals of the innermost cycle and the stamens can be identified by their respective vascular features indicated by arrows and the two carpels (ca). **B.** The epidermis of the three accessions was uniseriate, the mesophyll homogeneous and each petal had five vascular bundles (pe). Stamens adnate to the

innermost petal cycle by the filament base (fi). Anthers (an) not attached to young buds, partially located above the style head (sh). **C.** Longitudinal section: structural individualization of the parts of the different corolla cycles (pe) and androecium elements (an) in successive planes of the receptacle (re). **D- F.** Cross section: the region of the middle third of young flower buds, with total structural individualization in the corolla whorls (pe), androecium (an) and gynoecium and the stamens in a single cycle around the gynoecium. **G-H.** Cross-section: tetralobed anthers, bithecal, tetrasporangiate and fertile. Stomium region (sto) located between two pollen sacs of the same theca. The connective (co) formed by epidermis, parenchymal cells and a central vascular bundle (vb) and style head (sh). **I.** Cross section of accession ICA-rt - presence of a staminode (sd) consisting of secretory epidermis, parenchyma and a central vascular bundle. **J.** Anthers from buds in pre-anthesis (phase 8), strongly lobed, with a larger groove in the stomium region. **K.** Anther in anthesis (phase 9) - dehiscent anthers

ie = internal epidermis; pl = placenta; eo = external epidermis; ov = ovule; in = integument; mi = micropyle; fu = funiculi; mg = megatophyte; vb = vascular bundle; ap = apical portion; mp = median portion; bc = basal collar; cc = common cells; tr = trichomes.

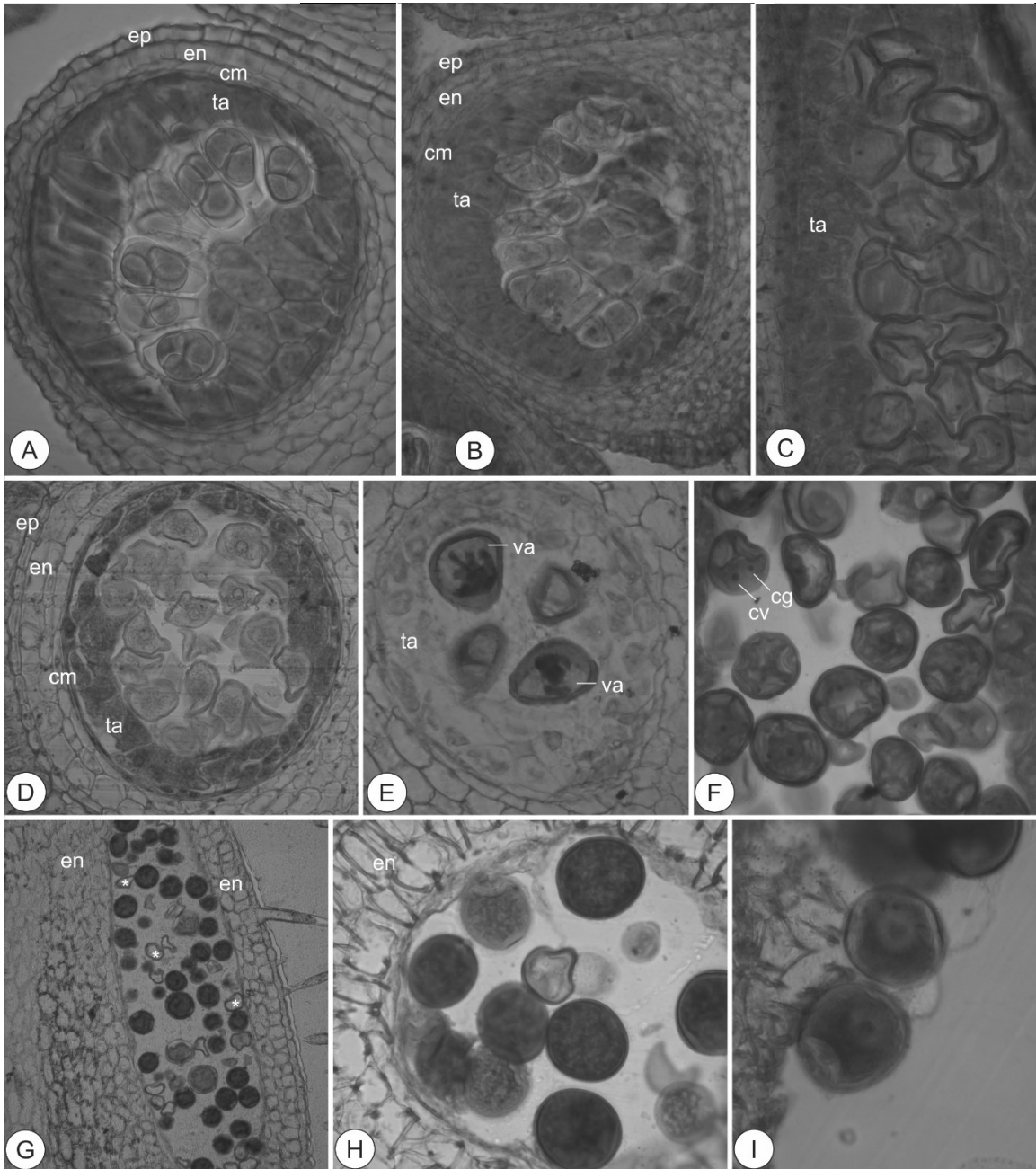


Figure 6 A-B – Anther with endothecium (en), middle layer (cm) and secretory tapetum (ta). Note the tetrahedral microspore tetrads still surrounded by callose. **C**. Note the microspores still in tetrahedral clusters, but already individualized and surrounded by a thin sinuous exine layer. **D-E**. Cross-section: anthers of flower buds in phase 4, with endothelial cells and bulkier middle layer, and changes in tapetum cells. Note totally free and irregularly shaped microspores and vacuolization (va). **F**. Free microspores with irregular shape and vacuolization phase. Note young microgametophytes consisting of two cells: a generative (cg), smaller and more peripheral and a vegetative (cv), bulkier. **G-H**. Anthers with variable amount of unviable pollen grains, empty, aside from pollen grains differentiated by a greater volume. **I**. Dispersed one- and two-cell pollen grains

me = mesophyll; ie = internal epidermis; pl = placenta; eo = external epidermis; ov = ovule; in = integument; mi = micropyle; fu = funiculi; mg = megatophyte; vb = vascular bundle; ap = apical portion; mp = median portion; bc = basal collar; cc = common cells; tr = trichomes.

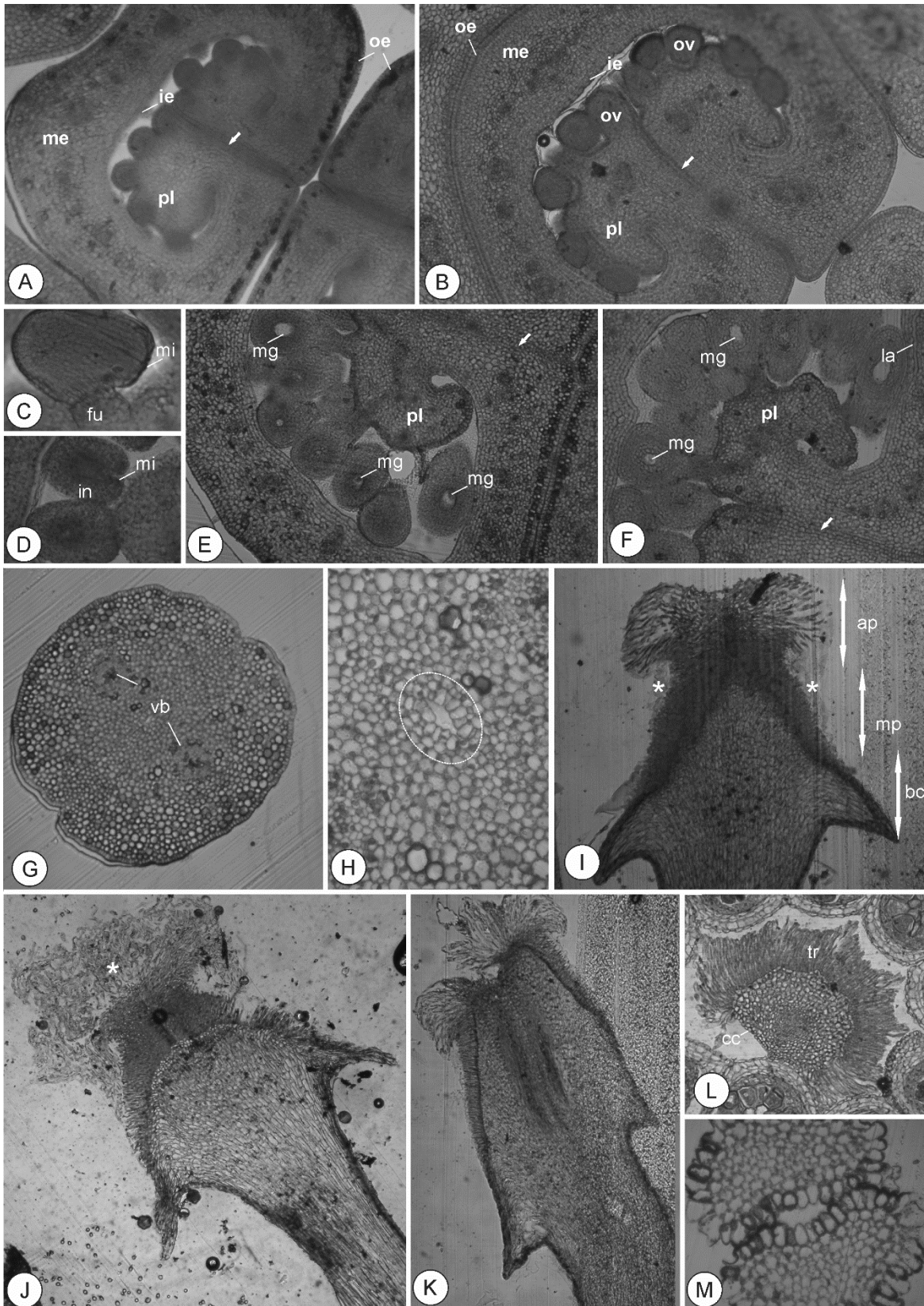


Figure 7 **A** – Folded carpel margins corresponding to the placenta with several ovules in an early stage of development. **B**. Asymmetry between the two carpels or presence of only one in ICA-rt. **C-D**. Ovules characterized as anatropous and unitegmic. **E**. Note epidermis, mesophyll and vascularization. Megatophyte still visible in phase 8 samples. **F**. Outer epidermis formed by a layer of cubic cells, clearly delimiting each carpel. Mesophyll consisting of parenchymal cells with variable

shapes, and vascularization based on one larger dorsal bundle, two ventral and several lateral bundles. **G-H**. Cross section: style formed by the fusion of the two carpels with two vascular bundles in most samples and an epidermis-covered, hollow central region, **I-J**. Longitudinal section: specialized style head with an enlarged, claviform region. **K**. Sample of accession ICA-rt in which the style head is more elongated and narrower, bifurcated as of the median portion. **L**. Note the presence of common cells covering part of the style head. **M**. Cross section: region above the style head, note the two apical appendages

ie = internal epidermis; pl = placenta; eo = external epidermis; ov = ovule; in = integument; mi = micropyle; fu = funiculi; mg = megatophyte; vb = vascular bundle; ap = apical portion; mp = median portion; bc = basal collar; cc = common cells; tr = trichomes.

5 CONCLUSÕES

Os aspectos da fenologia, morfometria e biologia floral revelados nesse estudo com os três acessos de *A. obesum* demonstraram variações significativas entre os materiais indicando uma grande diversidade fenotípica. O acesso ICA-vt apresenta corola em três ciclos, maiores dimensões da corola e maior durabilidade da flor após a antese. Revelou-se o seu potencial pelos aspectos morfológicos, morfométricos e de longevidade floral para a floricultura. Com relação à viabilidade polínica, o acesso ICA-bd destacou-se e pode ser considerado como doador de pólen em polinizações artificiais. A receptividade estigmática se mantém elevada até 72 horas após a antese, o que pode facilitar a polinização artificial. Esses resultados da receptividade estigmática confirmam as informações de produtores de rosa do deserto que conduzem as polinizações no terceiro dia após abertura da flor, momento de maior receptividade. Os resultados do presente estudo poderão subsidiar diversos novos estudos nas áreas da botânica aplicada, genética, fisiologia e melhoramento de plantas visando o desenvolvimento de novos materiais que atendam às exigências de produtores/consumidores e colecionadores.