



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
Departamento de Botânica  
Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal



JENNY OLGA ARREA PAUCAR

**MORFOLOGIA E ANATOMIA DOS APÊNDICES  
PETALARES NA TRIBO  
SCHWENCKIEAE (SOLANACEAE).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Botânica – Morfologia, Sistemática e Diversidade Vegetal

BELO HORIZONTE – MG

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
Departamento de Botânica  
Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal



JENNY OLGA ARREA PAUCAR

**MORFOLOGIA E ANATOMIA DOS APÊNDICES  
PETALARES NA TRIBO  
SCHWENCKIEAE (SOLANACEAE).**

**Orientador: Prof. Dr. João Renato Stehmann**

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

**Coorientador: Profa. Dra. Rosy Mary Isaias Dos Santos**

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal

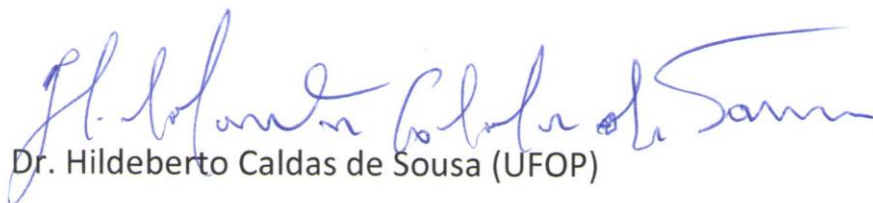
BELO HORIZONTE – MG

2017

**Dissertação defendida e aprovada, em 14 de julho de 2017, pela banca examinadora constituída pelos professores:**



Dr. João Renato Stehmann (UFMG)



Dr. Hildeberto Caldas de Sousa (UFOP)



Dr. Fernando Henrique Aguiar Vale (UFMG)

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por me deixar viver cada experiência e guiar meus passos.

Agradeço a minha família que são a maior motivação nesta caminhada, auxiliando-me nesses momentos difíceis. A Alessandra e Manuel por me permitir fazer o que mais desejava, quicá perdendo esses momentos planejados, assumindo responsabilidades e acompanhando à mamãe nos laboratórios da UFMG. A Alejandro, meu “parceiro”, por acreditar sempre em mim. Os amo!.

A minha mãe Olga Paucar e meus irmãos Arturo, Mauricio e Milagros, que mesmo longe de mim, uma mensagem era suficiente para me fazer sentir bem.

Ao Prof. João Renato Stehmann, pela disposição, orientação e paciência a cada passo, sempre escutando, aconselhando, aliviando minhas ansiedades, transmitindo-me confiança e tirando de mim todo o melhor que eu mesma não conhecia, **MUITO OBRIGADA!**

À Profa. Rosy Mary dos Santos Isaias, sempre disposta, paciente, resolvendo minhas dúvidas e contribuindo com meu desenvolvimento profissional.

Aos colegas do laboratório de Sistemática pelas conversas, pelos cafés do mês, pelas dicas..., por tudo. A Gustavo Silva e Thamyris Bragioni, “irmãos” de orientação, pelos momentos de convivência, Gustavo por me acolher e me ensinar nos primeiros meses na minha estância em Brasil e me mostrar o mundo do Herbário, Thamyris por estar sempre disposta a me acompanhar ao campo e coletar minhas amostras no momento que eu estive impossibilitada; a “Ju” Juliana Souza e “Fifo” Filipe Souza, sempre espalhando confiança, paz e amor; a Marco Pivari “Mocoto” pela disposição sempre que precisei, a David Sanin socorrendo-me nos momentos de dificuldade, aos professores Alexandre Salino, Leandro Asis, e à profa. Adáises Silva; a Yuri Gouvêa, Luiz Neto, Barbara Oliveira, Luiza Azevedo, Gabriel Peñaloza, Indridy Moura, Lucas Lima, Carolina Leroy, Ariadne Lopes, Romario Tabosa, Raquel Stauffer, Suzana Moreira, Talita Mota e Fernanda Freitas.

A todo o pessoal do laboratório de Anatomia pelos momentos compartilhados, onde curti muito as conversas e ensinamentos. Ao Prof. Fernandinho pelas gratas conversas, ao Wagner pela disposição, à Cibele Bedetti, por me iniciar nos procedimentos do

laboratório, ao Bruno Garcia, pela ajuda sempre oportuna, à Mariana Duarte e Igor Campos pelo companheirismo, por escutar e responder a todas minhas dúvidas, sempre dispostos e me ensinando a enfrentar meus medos. A “Graci” Gracielle Bragança e Elaine Costa pela confiança, a Nayara Trevisani, Leticia Figueredo, Andrea Lanna, Deborah Soares, Nina Castro, Aryane Nunes, Stephani Bonifacio, Sarah Reis, Daniela Boanares,

Aos colegas do programa de pós-graduação em Biologia Vegetal, pelas conversas gratas em espanhol e português: Gabriela Cruz por sempre estar prestes a coletar às *Schwenckia*, Cecilia Fiorini, Leandro Dos Reis, Samuel Oliveira, Bruna Costa, Felipe Torre, Debora Brandão, Aurea Cordeiro, Daniele Pianetti.

A Lubia Guedes, pelos momentos compartilhados de diálogo e cafés.

A Cliciana, de Sá, pessoa maravilhosa, por aqueles momentos de conversa muito enriquecedores, sempre disposta, paciente e conselheira.

A Rubens Mota, por apresentar-me às *Schwenckia* em campo e fornecer material para os estudos.

À Denise, secretaria do Programa de pós-graduação de Biologia Vegetal, por estar sempre prestes a resolver minhas dúvidas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, ao Instituto de Ciências Biológicas e à Universidade Federal de Minas Gerais, por me permitir a realização deste trabalho.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFMG.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio financeiro.

A todos os que participaram direta ou indiretamente com este trabalho, **MUCHAS GRACIAS!**

## SUMÁRIO

Resumo .....	6
Abstract .....	7
Introdução geral .....	9
Referências Bibliográficas .....	10
 <b>Morfologia e anatomia dos apêndices petalares na tribo Schwenckieae (Solanaceae)</b>	
Resumo .....	14
Abstract.....	15
Introdução .....	17
Material e métodos.....	19
Resultados .....	21
Discussão .....	34
Referências .....	40

## RESUMO

Schwenckieae (Solanaceae) é uma pequena tribo com distribuição neotropical, representada por três gêneros, *Schwenckia*, *Melananthus* e *Heteranthia*, e cerca de 31 espécies. É a única tribo da família caracterizada morfológicamente pela presença de apêndices na corola. As flores da maioria das espécies da tribo apresentam tipicamente pétalas com limbo emarginado, com dois lóbulos laterais e um lóbulo mediano aqui denominado apêndice, que varia em tamanho e forma. A presença dos apêndices da corola é considerada uma característica taxonômica importante, mas sua função é ainda desconhecida. As características da flor, como a forma da corola tubulosa, a abertura da flor durante a noite e a presença do odor sugerem a polinização realizada por mariposas e que os apêndices estejam envolvidos no processo, atuando como estruturas secretoras de perfume (osmóforos), hipótese aqui testada. Para esse estudo investigamos a micromorfologia e a anatomia de quatro espécies de *Schwenckia*, *S. americana* (e duas variedades), *S. angustifolia*, *S. curviflora* e *S. novaveneciana*, e uma espécie de *Melananthus*, *M. fasciculatus*. Os apêndices apresentam características secretoras, com epiderme glandular unisseriada, rugosa, ausência de estômatos, feixe vascular anficrival, com porção floemática mais desenvolvida do que a porção xilemática, e tecido parenquimático com grãos de amido, que são consumidos no início da antese. O teste sensorial indicou odor forte e adocicado. A análise anatômica evidenciou ser este odor oriundo não só dos apêndices, mas também dos lóbulos laterais da corola que têm superfície glandular papilosa. *S. americana* var. *americana* foi o único táxon que não apresentou odor pelo teste sensorial, mas manteve atividade metabólica nos apêndices, evidenciada pelo vermelho neutro. A presença de óleos essenciais (compostos voláteis) e fenólicos, descritos como sendo relacionados à composição do buquê floral, além do acúmulo de reservas lipídicas no estágio de pré-antese e seu consumo em pós-antese,

indicam que os apêndices desenvolvidos dos gêneros *Schwenckia* e *Melananthus* são osmóforos com identidade morfológica definida. Esses resultados confirmam ter, os apêndices presentes na tribo Schwenckieae, uma função osmogênica e voltados à atração dos polinizadores.

**Palavras chave:** *Schwenckia*, *Melananthus*, osmóforos, micromorfologia, anatomia.

## **ABSTRACT**

Schwenckieae (Solanaceae) is a small tribe with neotropical distribution, represented by three genera, *Schwenckia*, *Melananthus* and *Heteranthia*, group containing approximately 31 species. It is the only tribe of Solanaceae characterized morphologically by appendices in the corolla. The flowers of most species of this tribe typically have petals with emarginated limbo, with two lateral lobules and a central lobule here called appendix, which varies in size and shape. The presence of the appendices of the corolla is considered an important taxonomic characteristic, but its function is still unknown. The floral feature, such as tube-shaped corolla, flower opening at night and odor, suggest the pollination performed by moths and that the appendices are involved in the process, acting as perfume-secreting structures (osmophores), hypothesis tested here. Currently, we investigated the micromorphology and anatomy of four species of *Schwenckia*, *S. americana* (and two varieties), *S. angustifolia*, *S. curviflora* and *S. novaveneciana*, and one species of *Melananthus*, *M. fasciculatus*. The appendices have secretory characteristics, with uniseriate rough glandular epidermis, absence of stomata, anficrival vascular bundle, with more developed phloematic than xylematic portion, and parenchymatic tissue with starch grains, which are consumed in the anthesis stage. The sensorial test indicated a strong and sweet odor. The anatomical analysis evidenced that this odor originated not only from the appendices, but also from the corolla lateral lobules that have papillary



glandular surface. *S. americana* var. *americana* is the only taxa without odor, which nevertheless maintained the metabolic activity in the appendices, evidenced by neutral red. The presence of volatile compounds, such as essential oils and phenolic compounds, are being reported as part of floral bouquet, and the accumulation of lipid reserves in the pre-anthesis stage and their consumption in post-anthesis indicate that the appendices are osmophores with defined morphological identity. These results confirm that the appendices present in the Schwenckieae tribe have an osmogenic function and must be involved in the mechanism of attracting pollinators.

Key words: *Schwenckia*, *Melananthus*, osmophores, micromorphology, anatomy.

## Introdução geral

As flores são estruturas típicas das angiospermas, apresentando geralmente verticilos florais vegetativos, o perianto, e reprodutivos, o androceu e o gineceu. Na história evolutiva das flores das angiospermas, o perianto desempenha funções associadas à proteção e à polinização, nesse caso atraindo ou fornecendo recursos aos agentes polinizadores (Friis et al., 2011). Já o androceu e o gineceu estão primariamente relacionados ao processo da reprodução sexuada, sustentando o processo de androsporogênese e ginosporogênese, respectivamente. Secundariamente, eles podem estar envolvidos no processo de polinização, atraindo ou fornecendo recursos aos polinizadores, como os nectários septais em Monocotiledôneas (Fahn, 1982) ou nectários ou osmóforos derivados de estames em grupos de Eudicotiledôneas (Ronse de Craene & Brockington, 2013).

Nas Solanaceae, as flores são geralmente diclamídeas, pentâmeras, bissexuadas, exceto em *Solanum* L. e outros poucos gêneros, onde a andromonoiccia e a dioiccia podem ser encontradas em algumas linhagens (Anderson & Symon, 1989; Bohs, 2005). A corola é em geral polissimétrica, mas a monossimetria também é encontrada em alguns gêneros, como *Calibrachoa* Cerv., *Nicotiana* L., *Petunia* Juss. e *Schizanthus* Ruiz & Pav. (Hunziker, 2001). O androceu possui cinco estames, podendo sofrer redução para quatro (*Brunfelsia* L., *Schwenckia* L.) ou dois (*Heteranthia* Nees & Mart., *Melananthus* Walp., *Schwenckia*). Modificações nos verticilos podem ser encontrados em diversos gêneros, decorrentes de especializações que podem estar associadas aos mecanismos de polinização (Knapp, 2002a, 2010) ou dispersão (Knapp, 2002b). O cálice pode estar ampliado, como em *Nicandra* Adans. e *Physalis* L, ou possuir apêndices, como aqueles encontrados em *Capsicum* L. e *Lycianthes* (Dunal) Hassl. (D'Arcy, 1986; Hunziker, 2001). A forma da corola, em geral, relaciona-se com a polinização, podendo ser tubulosa, infundibuliforme ou rotada, possuindo lobos desenvolvidos ou não. Elaióforos podem ser encontrados revestindo o limbo de espécies do gênero *Nierembergia* Ruiz & Pav., polinizadas por abelhas coletoras de óleo (Cocucci, 1999). O androceu, além da redução do número, pode ter o conectivo transformado em osmóforos encontrados em espécies de *Solanum* clado *Cyphomandra* (Sazima et al., 1993; Falcão, 2015). Estudos sobre biologia de polinização e odores como principal atrativo em Solanaceae são escassos, mas foram reportadas regiões glandulares de superfície papilosa (osmóforos) no conectivo espessado de espécies de

*Solanum*. Os perfumes liberados atraem machos de abelhas da tribo Euglossini (Apidae) que raspam a superfície glandular para coletar as essências (Soares et al., 1989; Gracie, 1993; Sazima et al., 1993, Falcão et al., 2016).

Apêndices na corola nas Solanaceae são encontrados apenas na tribo neotropical Schwenckieae, nos gêneros *Schwenckia* e *Melananthus*, mas estão ausentes em *Heteranthia* (Hunziker, 2001; Olmstead et al., 2008; Barboza et al., 2016). *Schwenckia* possui aproximadamente 25 espécies (Carvalho, 1978), *Melananthus* está representado por cinco espécies (Carvalho, 1966) e *Heteranthia*, é monotípico, raro e endêmico do Brasil (Carvalho, 1999). Diferentemente dos apêndices descritos para outros grupos de angiospermas, que são proliferações de tecidos da face ventral das pétalas (Ronse de Craene, 2010), os apêndices nesses gêneros são localizados na porção mediana apical de cada lobo da corola.

Apesar de ser uma característica taxonômica importante (Carvalho, 1978; Benítez, 1993; Hunziker, 2001; Barboza et al. 2016), a estrutura e função dos apêndices da corola em Schwenckieae é ainda desconhecida. Em *Schwenckia angustifolia* e *S. novaveneciana*, os apêndices fecham a boca do tubo da corola durante o dia, e se abrem à noite, quando as flores liberam um perfume adocicado (Stehmann JR, comunicação pessoal). Essas observações sugerem um possível papel dos apêndices no mecanismo de polinização, devido a presença de estruturas secretoras (osmóforos) de perfumes (compostos voláteis).

Nesse trabalho, descrevemos a estrutura morfológica e anatômica dos apêndices de algumas espécies de diferentes gêneros da tribo Schwenckieae, contribuindo para o entendimento da evolução dos caracteres morfológicos das Solanaceae neotropicais.

## **Referências Bibliográficas**

- Anderson G.J., Symon, D.E. (1989) Functional dioecy and andromonoecy in *Solanum*. *Evolution*, **43**, 204-219.
- Barboza G.E., Hunziker A.T., Bernardello G., Cocucci A.A., Moscone E.A., Carrizo García C., Fuentes V., Dillon M.O., Bittrich V., Cosa M.T., Subils R., Romanutti A., Arroyo S., Anton A. (2016) Solanaceae. In: Kadereit J.W., Bittrich V. (Eds)

- Flowering Plants. Eudicots, The Families and Genera of Vascular Plants 14*, Springer International Publishing, pp 295-357.
- Benitez R.C. (1993) *La Tribu Schwenckieae A. Hunz (Solanaceae) en Venezuela*. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, pp 80.
- Bohs L. (2001) Revision of *Solanum* section *Cyphomandropsis* (Solanaceae). *Systematic Botany Monographs*, **61**, 1-85.
- Bohs L. (2005) Major clades in *Solanum* based on ndhF sequence data. In: Keating R.C., Hollowell V.C., Croat T.B. (Eds), *A Festschrift for William G. D'Arcy: The Legacy of a Taxonomist*. Missouri Botanical Garden Press, St. Louis, Missouri, 27–49.
- Carvalho L.d'A.F. (1966) O gênero *Melananthus* no Brasil (Solanaceae). *Sellowia*, **18**, 51-66.
- Carvalho L.d'A.F. (1978) O gênero *Schwenkia* D. van Rooyen ex Linnaeus no Brasil (Solanaceae). *Rodriguésia* **44**, 307-524.
- Carvalho L.d'A.F. (1999) *Heteranthia decipiens* Nees & Martius (Solanaceae), uma espécie rara, exclusiva da flora brasileira. *Rodriguésia*, **50**, 77-83.
- Cocucci A.A. (1999) Evolutionary radiation in Neotropical Solanaceae. In: Nee M., Symon D.E., Lester R.N., Jessop J.P. (Eds). *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. Kew: The Royal Botanic Gardens, Kew, 9-22.
- D'Arcy W.G. (1986) The calyx in *Lycianthes* and some other genera. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **73**, 117-127.
- Fahn A. (1952) On the structure of floral nectaries. *Botanical Gazette*, **113**, 464-470

- Falcão B.F., Schlindwein C., Stehmann J.R. (2016) Pollen release mechanisms and androecium structure in *Solanum* (Solanaceae): Does anther morphology predict pollination strategy? *Flora*, **224**, 211–217.
- Friis E.M., Crane R.R., Pedersen K.R. (2011). *Early flowers and angiosperm evolution*. Cambridge. Cambridge University Press, New York, USA, pp 285.
- Gracie C. (1993) Pollination of *Cyphomandra endopogon* var. *endopogon* (Solanaceae) by *Eufriesea* spp. (Euglossini) in French Guiana. *Brittonia*, **45(1)**, 39-46.
- Hunziker A. T. (2001) *The Genera of Solanaceae*, A.R.G. Gantner Verlag, Royal Botanical Garden, Kew, London, pp 512.
- Knapp S. (2002a) Tobacco to tomatoes: A phylogenetic perspective on fruit diversity in the Solanaceae. *Journal of Experimental Botany*, **53**, 2001–2022
- Knapp S. (2002b) Floral diversity and evolution in the Solanaceae. In: Cronk. Q.C.B., Bateman R.M., Hawkins J.A. (Eds) *Developmental Genetics and Plant Evolution* Taylor & Francis, London, 267–297.
- Knapp, S. 2010. On "various contrivances": pollination, phylogeny and flower form in the Solanaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **365**, 449-460.
- Olmstead R.G., Bohs L., Migid H.A., Santiago-Valentin E., Garcia V.F., Collier S.M. (2008) A molecular phylogeny of the Solanaceae. *Taxon*, **57**, 1159–1181.
- Ronse De Craene P.L. (2010). *Floral diagrams. An aid to understanding flower morphology and evolution*. Cambridge University Press. Cambridge, UK, pp 441.
- Ronse De Craene P. L., Brockington F.S. (2013). Origin and evolution of petals in angiosperms. *Plant Ecology and Evolution*, **146**, 5–25.

Sazima M., Vogel S., Cocucci A., Hausner G. (1993) The perfume flowers of *Cyphomandra* (Solanaceae): pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores, and volatiles. *Plant Systematics and Evolution*, **187**, 51–88.

Soares A.A., De Campos O., Vieira M.F., De Melo G.R. (1989) Relações entre *Euglossa* (Euglossella) *mandibularis* Friese 1899 (Hymen. Apidae, Euglossini) e *Cyphomandra calycina* (Solanaceae). *Ciência e Cultura*, **41**, 903-905.

## **Morfologia e anatomia dos apêndices petalares na tribo Schwenckieae (Solanaceae)**

**Jenny Olga Arrea Paucar<sup>1</sup>, Rosy Mary dos Santos Isaias<sup>1</sup> e Joao Renato Sthemann<sup>1</sup>**

1 – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Caixa Postal 486 – Belo Horizonte, MG, Brasil.

### **Resumo**

A presença de apêndices nos lobos da corola é uma característica única da tribo Schwenckieae (Solanaceae). Estes apêndices estão presentes em *Melananthus* e *Schwenckia*, onde aparecem como uma projeção mediana distal do lobo emarginado da pétala. No intuito de verificar se os apêndices estão envolvidos na produção de voláteis, atuando como estrutura secretora de perfumes (osmóforos), investigamos a micromorfologia e a estrutura anatômica, de quatro espécies de *Schwenckia*, *S. americana* (e duas variedades), *S. angustifolia*, *S. curviflora* e *S. novaveneciana*, e de uma espécie de *Melananthus*, *M. fasciculatus*, além de realizarmos testes histoquímicos. Os apêndices desenvolvidos atuaram como estruturas secretoras de perfumes evidenciado pelo  $\alpha$ -naftol *p*-fenilenodiamina (NADI) que indica a presença de compostos voláteis em *S. americana* var. *americana* e *S. americana* var. *angustifolia* e pelo consumo rápido de amido durante a antese em todas as demais espécies aqui estudadas. Os osmóforos apresentaram epiderme unisseriada que recobre a superfície do apêndice, e armazena fenólicos e lipídios, o parênquima é rico em grãos de amido nos estádios precedentes à antese. O teste sensorial e a análise anatômica identificaram tecidos secretores de perfumes não só nos apêndices, mas também nos lobos laterais, com células papilosas com superfície esculpida. Os apêndices em geral apresentaram epiderme sinuosa recoberta por cutícula de espessura variável. *Schwenckia americana* var. *americana* não apresentou odor perceptível pelo teste sensorial, mas osmóforos similares foram evidenciados nas duas espécies pela análise anatômica. Seus apêndices

dentiformes possuem epiderme papilosa e estriada, com presença de amido na fase de pré-antese. A investigação dos compostos produzidos pelos apêndices, junto com a observações dos polinizadores, são etapas ainda necessárias para a elucidação das estratégias reprodutivas dentro dessa enigmática linhagem de Solanaceae.

Palavras chaves: *Schwenckia*, *Melananthus*, osmóforos, estruturas secretoras, perfume floral.

### **Abstract**

The presence of appendices in the corolla lobules is a feature unique of the Schwenckieae (Solanaceae). They occur in *Heteranthia* and *Schwenckia*, as a median distal projection of the emarginated lobe of the petal. In order to verify if the appendices are involved in the production of volatiles, acting as a fragrance structure (osmophores), we investigate the micromorphology, anatomical structure of four species of *Schwenckia*, *S. americana*, *S. angustifolia*, *S. curviflora* and *S. novaveneciana*, and a species of *Melananthus*, *M. fasciculatus*, besides performing histochemical tests. The appendices acted as perfume-secreting structures evidenced by  $\alpha$ -naphthol *p*-phenylenediamine (NADI), which indicated the presence of volatile compounds, and by the rapid consumption of starch during anthesis. The osmophores presented uniseriate epidermis covering the surface of the appendix, and a parenchyma rich in starch grains in the stages preceding anthesis. Sensory testing and anatomical analysis identified fragrance-secreting tissues not only in the appendices, but also in the lateral lobules, with piled and papillary cells with sculpted surface. The appendices, in general, had rough surface covered by cuticle of variable thickness. Even though *S. angustifolia*, and *S. americana* var. *americana* have osmophores, the neutral red test was not effective for *S. angustifolia*, and *S. americana* var. *americana* had no perceptible odor. The



investigation of the compounds produced by the appendices and the observation of pollinators are still necessary steps for the elucidation of reproductive strategies within this enigmatic lineage of Solanaceae.

Key words: *Schwenckia*, *Melananthus*, osmophores, secretory structures, floral perfume.

## Introdução

Solanaceae é uma das mais importantes famílias das angiospermas, tanto em importância econômica, quanto em diversidade (Hawkes, 1999). Pertencem à família a batata (*Solanum tuberosum* L.), o tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e a pimenta (espécies de *Capsicum* L.), plantas cultivadas em todo o mundo. Outras espécies são utilizadas como medicinais (como *Atropa beladonna* L., *Datura stramonium* L. e *Hioscyamus niger* L.) ou ornamentais, como *Brunfelsia uniflora* (Pohl) D.Don, *Petunia hybrida* Vilm. e *Brugmansia suaveolens* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Sweet). As Solanaceae compreendem cerca de 100 gêneros e 2700 espécies, com maior riqueza encontrada na região neotropical, especialmente junto à região andina, onde ocorrem vários endemismos genéricos (Hunziker, 2001; Olmstead et al., 2008; Sarkinen et al., 2013; Dupin et al., 2016).

A diversidade floral das Solanaceae é enorme, tanto na forma como no tamanho. As flores são diclamídeas, geralmente pentâmeras e haplostêmones, apresentando uma torção no eixo floral, que constitui uma sinapomorfia para a família (Cocucci, 1989; Rose de Craene, 2010). O padrão morfológico apresentado pelas flores de *Solanum* L., com corola actinomorfa, rotada e cinco estames com anteras poricidas, é geralmente associado como característico da família, por ser este gênero o mais rico em espécies (Knapp, 2010). Contudo, apenas dois dos cerca de cem gêneros possuem essa morfologia. Os demais apresentam corola variável em forma e tamanho, refletindo a radiação adaptativa ocorrida no passado para diferentes agentes polinizadores (Cocucci, 1999; Knapp, 2002b; 2010).

Corolas tubulosas, estreitas, são comuns nas Solanaceae, podendo ser encontradas na maioria das linhagens e em geral são adaptações morfológicas relacionadas às polinizações realizadas por mariposas ou aves (Cocucci, 1999; Knapp,

2010). Entre os grupos de corola tubulosa, a tribo Schwenckieae se diferencia pela corola bastante distintas, cujas pétalas têm dois lóbulos laterais e um lóbulo mediano ou apêndice. Estes apêndices, diferentemente daqueles descritos para outros grupos de angiospermas como proliferações de tecidos da face ventral das pétalas (Ronse de Craene, 2010), estão localizados na porção mediana apical de cada lobo da corola. São reconhecidos três gêneros na tribo, *Heteranthia* Nees & Mart., *Melananthus* Walp. e *Schwenckia* L., estando os apêndices ausentes no primeiro. Nos outros dois, as pétalas são trilobuladas com dois lóbulos laterais e um lóbulo mediano que pode ser dentiforme, menor que os lóbulos laterais, linear ou claviforme, nesses dois últimos casos sendo maiores que os lóbulos laterais (Carvalho, 1966; Benitez, 1993; Hunziker, 2001).

Em duas espécies do gênero *Schwenckia*, *S. angustifolia* Benth. e *S. novaveneciana* Carvalho, foi observada antese noturna, com liberação de perfume adocicado pelas flores (João Stehmann, comunicação pessoal). Tais observações sugerem que os apêndices possam estar envolvidos na produção de perfume, atuando como osmóforos com identidade definida. Nas Solanaceae, osmóforos foram reportados em espécies de *Solanum* na região do conectivo que se apresenta como superfície papilosa. Os perfumes liberados (não percebidos diretamente pelo olfato humano) atraem machos de abelhas da tribo Euglossini (Apidae) que realizam a polinização enquanto raspam a superfície da glândula para coletar as essências (Soares et al., 1989; Gracie, 1993; Sazima et al., 1993, Falcão et al., 2016). Contudo, em outros gêneros, como em *Nicotiana* L. e *Petunia* Juss., a produção de perfumes não está localizada num órgão especializado distinto, mas nos tecidos das pétalas (Raguso et al., 2003; Effmert et al., 2006).

Os osmóforos (tecidos secretores de perfumes) possuem células com núcleo grande, citoplasma denso, cutícula reduzida e vascularização rica, além de apresentarem atividade fisiológica intensa (Dafni, 1992; Vogel, 1990). Os perfumes secretados, compostos voláteis orgânicos (VOCs), emitem buquês de aromas que contêm de alguns a mais de cem compostos diferentes em quantidades variáveis (Dudareva & Pichersky, 2000). Em sua maioria são terpenóides, fenilpropanóides/benzenóides, derivados de ácidos graxos e derivados de aminoácidos (Fahn, 1979; Vogel 1990, Dudareva et. al. 2006). No intuito de verificar se os apêndices encontrados na tribo *Schwenckiae* têm estrutura capaz de produzir voláteis e, portanto, atuar como estrutura secretora de perfumes (osmóforos), investigamos a micromorfologia e a anatomia desses apêndices. Pretendemos responder as seguintes perguntas: (1) os apêndices petalares presentes nas espécies da tribo *Schwenckiae* (Solanaceae) têm caracteres estruturais comuns às estruturas secretoras? E (2) qual o perfil histoquímico dos compostos localizados nos sítios potencialmente secretores?

## **Material e métodos**

### *Material vegetal*

Plantas de *Schwenckia americana* L. var. *americana*, *S. americana* L. var. *angustifolia*, *S. angustifolia* e *S. curviflora* Bentham foram coletadas em estado vegetativo no habitat natural (Tabela 1) e aclimatadas em casa de vegetação na Universidade Federal de Minas Gerais (19°53'32"S, 43°58'14"O) para aguardar o período de floração. Flores de *S. novaveneciana* e *Melananthus fasciculatus* (Benth.) Soler. foram coletadas e fixadas em campo. Espécimes testemunhos de todos os táxons foram depositados no herbário BHCB do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (Tabela 1). As flores foram coletadas em duas fases: (1) flores em pré-antese, em estágio de botão floral com 72 h (3 mm) e 24 h (10 – 12 mm), e (2) flores em pós-

antese. As coletas foram realizadas em dois horários diferentes: de manhã entre 7:00 e 9:00 h, quando as flores encontravam-se “fechadas” (apêndices em posição contínua ao tubo floral) e à noite entre 19:00h e 21:00h, quando as flores estavam “abertas” (apêndices perpendiculares ao tubo floral ou recurvados). As fotografias das plantas foram tomadas com câmera Nikon D90 (Nikon Corporation), utilizando-se uma lente Macro 60 mm. Observações durante o dia e a noite foram feitas para registrar o desenvolvimento e a duração da antese.

### *Teste Sensorial*

As flores de *S. americana* var. *americana*, *S. americana* var. *angustifolia*, *S. angustifolia* e *S. curviflora* foram analisadas quanto à presença de odores perceptíveis ao olfato humano durante o dia e à noite, o que chamamos de teste sensorial. Para determinar se o apêndice é a estrutura que produz perfume, cinco flores foram coletadas no primeiro e no terceiro dia de antese. Os apêndices foram separados do tubo floral e transferidos para recipientes hermeticamente fechados e guardados por duas horas. Após esse período, os recipientes foram abertos para detecção da presença ou ausência de fragrância (Dafni, 1992).

### *Microscopia de luz*

Flores frescas de *S. angustifolia*, *S. americana* var. *americana* e *S. americana* var. *angustifolia* foram submersas por 1h em solução de vermelho neutro 0,1 % (teste específico para glândulas lipofílicas) (Vogel, 1990, Dafni, 1992), com a finalidade de identificar regiões metabolicamente ativas.

Para análise histológica, flores frescas e fixadas em solução de Karnovsky (paraformaldeído 4%, glutaraldeído 5% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2) (Karnovsky, 1965) por 48h, foram desidratadas em série etílica e incluídas em resina (2-hidroxi-etil)-

metacrilato Leica®. Para seccionamento transversal (5µm a 6µm), utilizou-se micrótomo rotativo (Zeis Hyrax M40). A coloração foi feita com azul de toluidina (0,1%, pH 4,7) (O'Brien et al., 1964) e as lâminas foram montadas em resina sintética Entellan®. Os cortes obtidos foram submetidos a testes histoquímicos utilizando solução de Lugol para detectar amido (Johansen, 1940) e Sudan red b, para detecção de substâncias lipofílicas (Brundrett et al., 1991). Para detecção de compostos fenólicos foi utilizado o cloreto férrico (Johansen, 1940) e para detecção de óleos essenciais ou oleoresinas (terpenos) foi utilizado o  $\alpha$ -naftol *p*-fenilenodiamina (NADI) (David & Carde 1964). As imagens digitais foram obtidas com ajuda do microscópio de luz com câmera acoplada (Leica ICC50 HD), utilizando o programa Leica Application Suite LAS EZ).

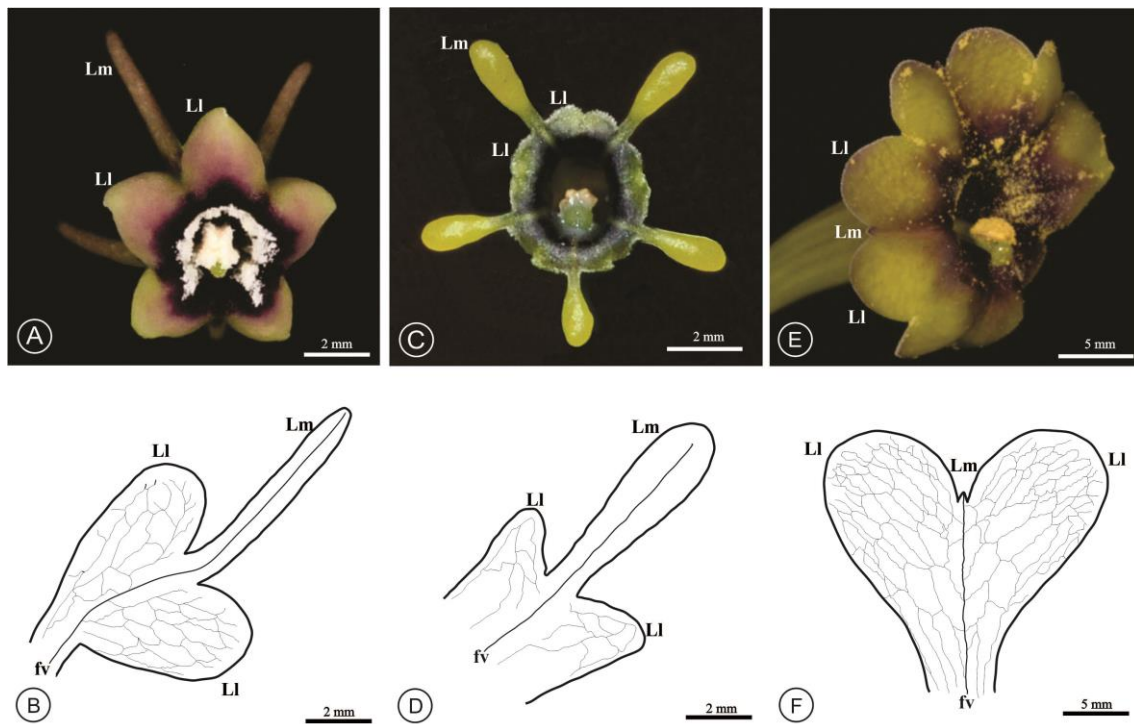
#### *Microscopia eletrônica de varredura*

Para observação ao microscópio eletrônico de varredura, quatro amostras (flor de 2º dia de antese com lobos abertos e com lobos fechados) foram fixadas em solução de Karnovsky (paraformaldeído 4%, glutaraldeído 5% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2) por 48h, desidratadas em série etílica seguida de ponto crítico de CO<sub>2</sub>. Em seguida, as amostras foram montadas em stubs de alumínio utilizando fita dupla face de carbono, metalizadas com 10 nm de Ouro/Paládio (Robards, 1978). As amostras foram examinadas ao microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM – 6360LV, a 10 kV, com captura digital de imagens.

### **Resultados**

Os apêndices estão localizados na porção distal da flor, fazendo parte da pétala, são vascularizados e possuem consistência membranácea (Fig. 1, 2 G-H, 3B). As cores variam entre verde, amarelo, creme e arroxeado (Fig. 2), podendo ocorrer mudanças ao

longo dos períodos de pré e pós-antese. Em *S. americana* var. *angustifolia*, caso mais notável, a cor dos apêndices muda de verde na pré-antese para amarelo claro até amarelo forte em pós-antese. Os apêndices são variados em tamanho, com duas formas predominantes: 1) maiores que os lóbulos laterais, lineares em *S. angustifolia* (Fig. 1A-B, Fig. 2A-B, G) ou claviformes em *S. americana* var. *americana* (Fig. 2C), *S. americana* var. *angustifolia* (Fig. 2D), *S. novaveneciana* (Fig. 2E) e em *M. fasciculatus*, (Fig. 5A); 2) menores que os lóbulos laterais, dentiformes, como no caso de *S. curviflora* (Fig. 2F-H).



**Figura 1:** Pétalas trilobuladas de flores da tribo Schwenckieae formada por um lóbulo mediano ou apêndice e dois lóbulos laterais que podem ser maiores ou menores que os apêndices: (A-D) Lóbulos laterais menores que o lóbulo mediano ou apêndice. O lóbulo mediano pode ser linear como em *S. angustifolia* (A-B), ou claviforme como em *S. americana* var. *americana* (C-D). Lóbulos laterais maiores que o lóbulo mediano ou apêndice como em *S. curviflora* (E-F). LI – lóbulo lateral; Lm – Lóbulo mediano ou apêndice; fv – feixe vascular.

**Tabela 1:** Lista das espécies estudadas da tribo Schwenckieae, com informações sobre o substrato/habitat, tipo de apêndice, cheiro, antese/ duração da flor, local de coleta e exsicata de referência (sigla do herbário). \* A flor abre à noite, permanecendo aberta até o final da antese.

<b>Espécie</b>	<b>Substrato Hábitat</b>	<b>Tipo de apêndice</b>	<b>Cheiro</b>	<b>Antese e duração</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>Coletor e nº.</b>
<i>Schwenckia americana</i> var. <i>americana</i>	Terrícola Ambientes variados	Claviforme (desenvolvido)	Não perceptível	Noturna 3 dias	Belo Horizonte MG	J.O. Paucar 59 (BHCB)
<i>Schwenckia americana</i> var. <i>angustifolia</i>	Rupícola Campo Rupestre	Claviforme (desenvolvido)	Presente	Noturna 5 dias	Catas Altas MG	J. O. Paucar 12 (BHCB)
<i>Schwenckia angustifolia</i>	Aquática Lagoa sazonal	Linear (desenvolvido)	Presente	Noturna 6 dias	Alvorada, TO	J. O. Paucar 60 (BHCB)
<i>Schwenckia curviflora</i>	Aquática Lagoa sazonal ou perene	Dentiforme (reduzido)	Presente	*Noturna 5 dias	Catas Altas, MG	J. O. Paucar 10 BHCB
<i>Schwenckia</i> <i>novaveneciana</i>	Rupícola Inselberg	Claviforme (desenvolvido)	Presente	Noturna SR	Teófilo Otoni, MG	L.F.A. Paula 675 BHCB
<i>Melananthus fasciculatus</i>	Rupícola Inselberg	Claviforme (desenvolvido)	Sem registro	Sem registro	Rio de Janeiro RJ	L.O. Azevedo 393 RB

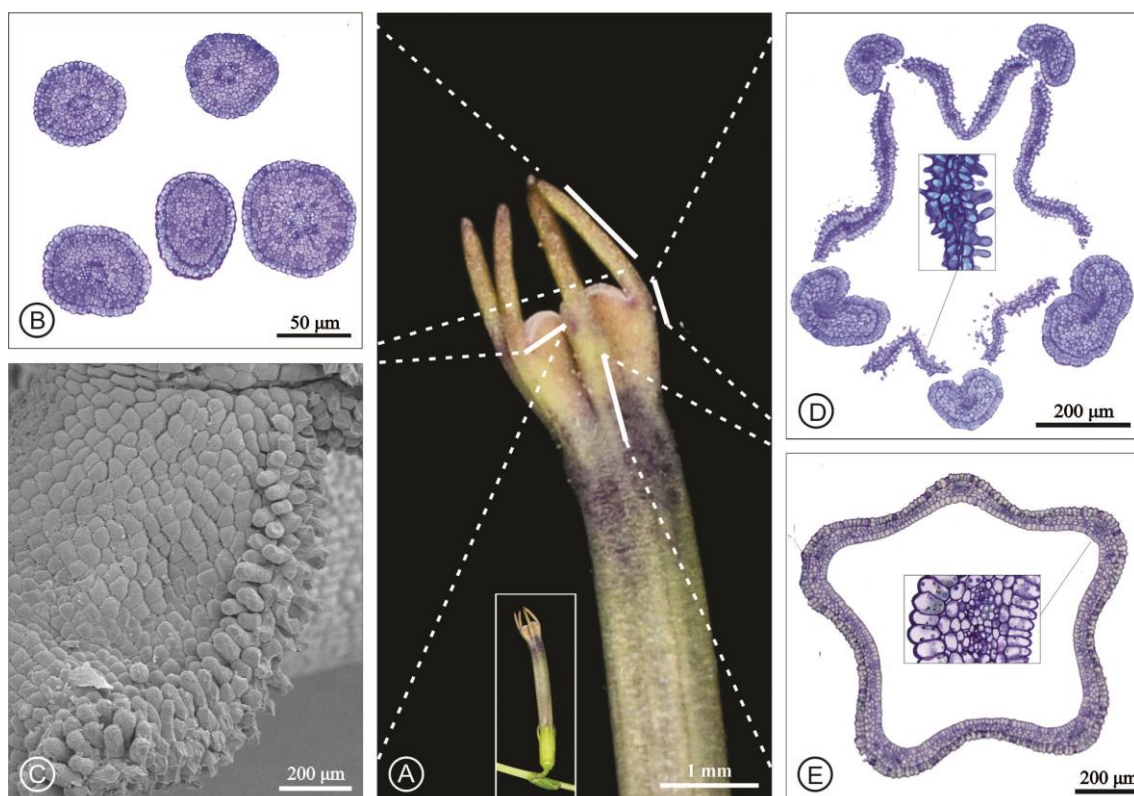




**Figura 2:** Flores com apêndices (lóbulos medianos) desenvolvidos ou reduzidos em *Schwenckia*: (A-E) Espécies com apêndice desenvolvido, (A) *S. angustifolia* em fase pós-antese, com os lobos (lóculo mediano ou apêndice e lóbulos laterais) da corola fechando o tubo da flor. (B-G) A noite em fase pós-antese com os lobos da corola abertos expondo o gineceu e o androceu, (B) *S. angustifolia* com apêndice linear e com apêndices claviformes: (C) *S. americana* var. *americana*, (D) *S. americana* var. *angustifolia* e (E) *S. novaveneciana*. Espécie com apêndice reduzido dentiforme (cabeça de seta branca) em *S. curviflora* (K). Pétalas diafanizadas (G-H) mostrando o lobo dividido em 3 lóbulos vascularizados com

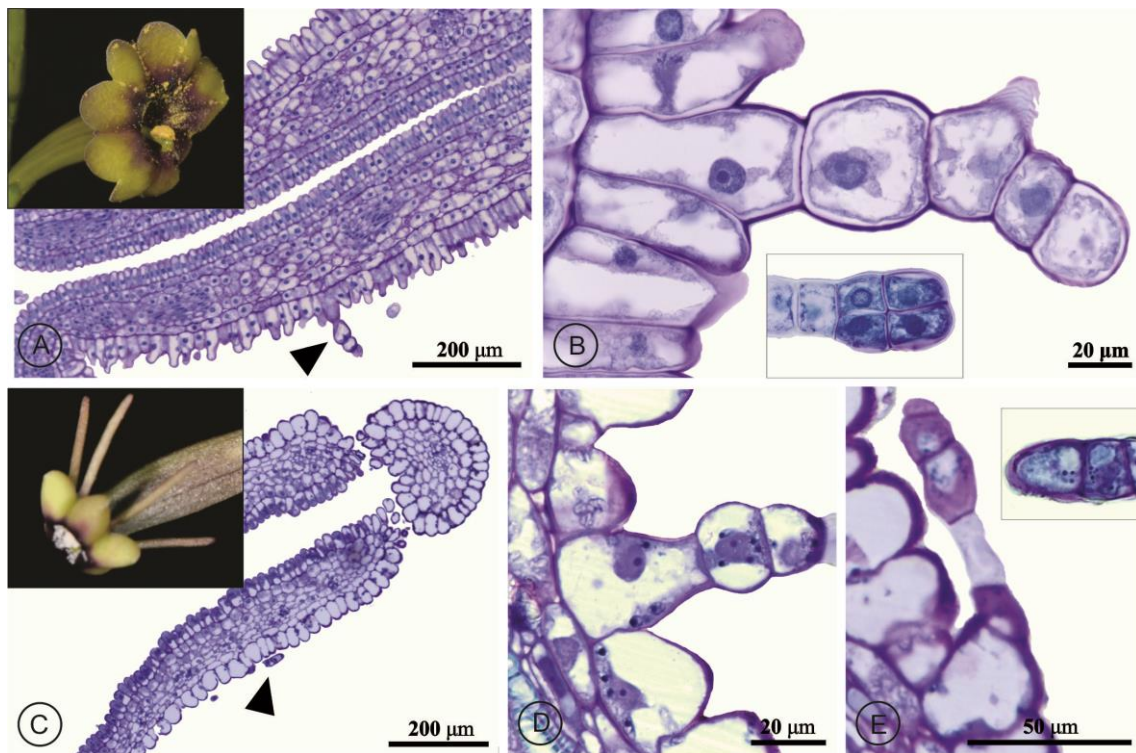
dois lóbulos laterais e um lóbulo mediano ou apêndice que pode se apresentar (G) desenvolvido (linear) e (H) (reduzido) dentiforme. Cabeça de setas indicam os apêndices.

A antese nas espécies da tribo Schwenckieae aqui estudadas é noturna, e dura em média cinco dias, exceto em *S. americana* var. *americana*, que é de três dias, em *S. novaveneciana* não se tem registro dos dias de antese. Os lobos da corola abrem à noite (Fig. 2B) e fecham de dia (Fig. 2A). No caso de *S. curviflora*, com apêndice dentiforme, a antese é noturna, e a flor abre à noite, permanecendo aberta até a senescência. No teste sensorial, odor foi percebido quando a flor abre à noite, padrão observado na maioria das espécies de *Schwenckia*. No caso de *M. fasciculatus*, não se tem registro de odor tampouco do tipo e dias de antese. As demais espécies têm odor em geral forte, adocicado com variações. No caso de *S. americana* var. *americana* (Fig. 2C), não foi percebido odor pelo teste sensorial.



**Figura 3:** Localização de estruturas secretoras em flores da tribo Schwenckieae. (A) Flor de *S. angustifolia*, com áreas delimitadas por linhas brancas e linhas pontilhadas onde há evidência de estruturas secretoras também em outras espécies. (B-C) *S. americana* var. *americana*: (B) Corte transversal dos lóbulos medianos ou apêndices no botão floral. (C) Micrografia eletrônica de varredura do lóbulo lateral com borda papilosa. (D-E) Corte transversal da corola de *S. novaveneciana* (D), onde nascem os apêndices e confluem com as papilas na borda da corola. (E) Tubo floral próximo aos apêndices de *S. americana* var. *angustifolia*, detalhe presença de compostos fenólicos.

Na caracterização anatômica, confirmou-se a presença de osmóforos nos apêndices (lóbulo mediano) (Fig. 3B, D; 6B-E) de todas as flores estudadas de *Schwenckia* e *Melananthus*. Estruturas secretoras também foram identificadas nos lóbulos laterais da corola (Fig. 3D), na borda dos lóbulos laterais (Fig. 3C) da corola e na parte distal do tubo floral (Fig. 3E) próximo aos apêndices. Embora o odor não tenha sido percebido em *S. americana* var. *americana* (Fig. 2C), estruturas secretoras similares às das outras espécies foram observadas. A análise micromorfológica (Fig. 5) revelou superfície papilosa na face abaxial e adaxial dos lóbulos laterais da corola e na borda dos lobos onde as papilas diferem em tamanho e forma (Fig. 3C, Fig. 5 G-I).



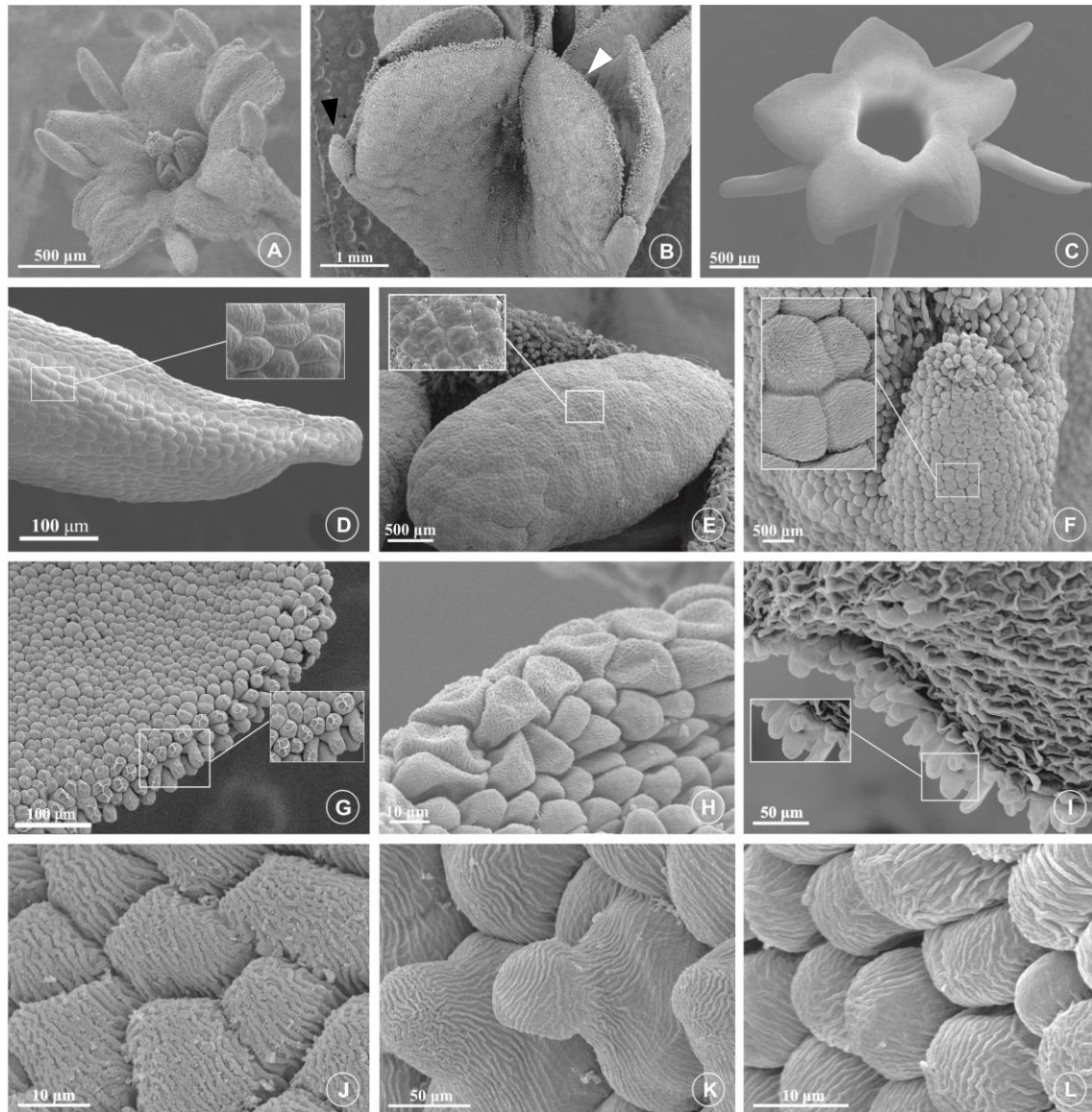
**Figura 4:** Tricomas na face abaxial do lóbulo lateral (cabeça de seta) (A, C). Em *S. curviflora* (A-B), tricoma com base pedunculada e detalhe mostrando a cabeça secretora formada por 4 células (B). Em *S. angustifolia* (C-E), célula da base ligeiramente mais alongada que as células adjacentes (D) e tricoma glandular mostrando em detalhe a cabeça unicelular (E).

Tricomas glandulares (Fig. 4), com pedúnculo multicelular e cabeça formada por quatro células secretoras (Fig. 4B), foram observados em *S. curviflora*. Tricomas com

cabeça com uma única célula secretora (Fig. 4E) foram observados na parte distal do tubo floral, na face abaxial dos lóbulos laterais em *S. angustifolia*. A densidade dos tricomas nessa região é baixa. A coloração com azul de toluidina evidenciou a secreção como gotícula coradas de verde, o que indica composição fenólica.

A maioria dos apêndices não apresentou diferenças morfológicas (Fig. 5) e anatômicas marcantes entre as espécies, apenas na forma, podendo ter terminações lineares como em *S. angustifolia* (Fig. 5C-D) ou claviforme nas demais espécies, como em *Melananthus fasciculatus* (Fig. 5A) e em *S. novaveneciana* (Fig. 5E). A análise micromorfológica dos apêndices (lóbulos medianos) desenvolvidos (Fig. 5D-E) mostrou parede periclinal externa levemente convexa, que varia relativamente entre espécies, apresentando ou não cutícula evidente (Fig. 5E), bem como ausência de estômatos.

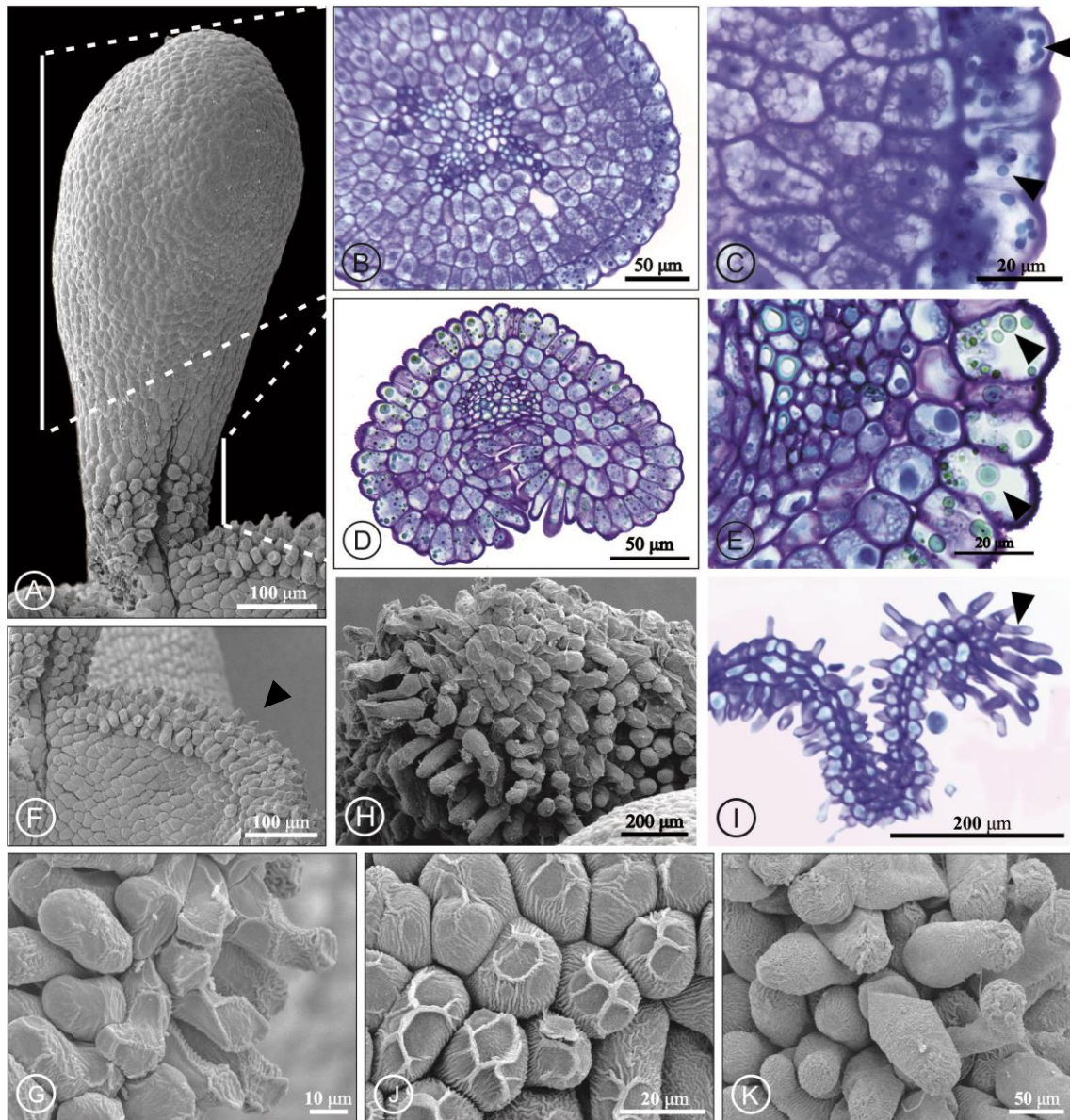
No caso do apêndice dentiforme (reduzido) de *S. curviflora* (Fig. 5B), diferentemente dos apêndices desenvolvidos, papilas recobrem todo o apêndice com parede periclinal plana e recoberta por cutícula de superfície esculpida ou ornamentada (Fig. 5F). Na borda dos lóbulos laterais, as papilas são consideravelmente maiores (Fig. 5 G-I). Nos lóbulos laterais adjacentes a borda da corola, podemos observar papilas quadrangulares, com parede periclinal plana (Fig. 5J), papilas arredondadas (Fig. 5L) e papilas mamiliformes (Fig. 5K), todas mostrando projeções externas uniformes. Não foram observados estômatos.



**Figura 5:** (A-C) Micrografias eletrônicas de varredura (MEV) em flores da tribo Schwenckieae que variam em tamanho e forma. (A) Flor aberta de *M. fasciculatus* com apêndices ou lóbulos medianos claviformes e lóbulos laterais emarginados. (B) *S. curviflora*, botão floral com 12 h antes da antese, mostrando apêndices dentiformes (cabeça de seta preta) e papilas na borda da corola (cabeça de seta branca). (C) Flor aberta de *S. angustifolia*, no segundo dia de antese, com apêndice linear, os lobos são projetados na direção do tubo floral. (D) Apêndice de *S. angustifolia* com superfície sinuosa. (E) *S. novaveneciana* com apêndice claviforme. (F) Apêndice dentiforme com superfície papilosa e cutícula estriada. (G-I) Papilas na borda dos lóbulos laterais da corola de (G) *S. angustifolia* apresentando papilas com cutícula de superfície esculpida. (H) *M. fasciculatus* com diferença tênue no tamanho das papilas nos lóbulos laterais e na borda da corola. (I) *S. americana* var. *angustifolia* com bordas elevadas e uniformes. (J-L) Papilas da face adaxial dos lóbulos laterais adjacentes a borda das pétalas: (J) *M. fasciculatus* apresenta papilas quadrangulares com cutícula estriada densa. (K) Papilas mamiliformes de *S. curviflora* com cutícula estriada. (L) *S. angustifolia* apresenta papilas com superfície arredondada e cutícula estriada.

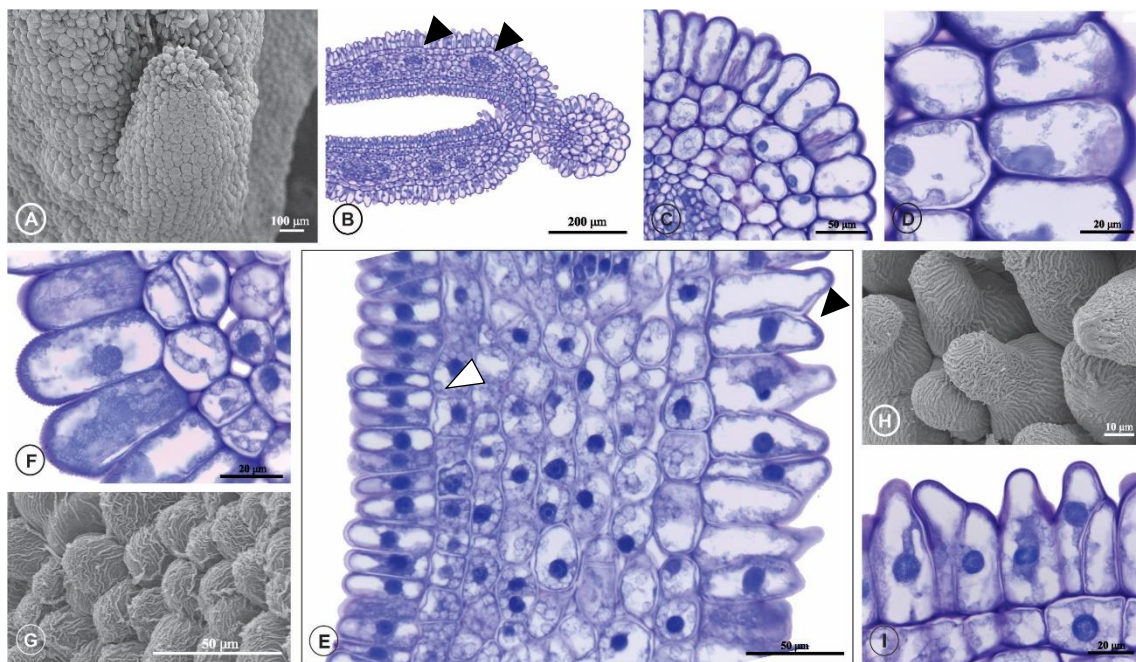
No corte transversal, os apêndices claviformes apresentam epiderme unisseriada, córtex parenquimático (Fig. 6B-D) e feixe vascular anficrival com porção floemática mais desenvolvida do que a xilemática (Fig. 6E). As células epidérmicas bem como as parenquimáticas são isodiamétricas (Fig. 6B-E). O córtex é homogêneo com células de paredes delgadas, podendo ter espaços intercelulares evidentes como em *S. angustifolia*, e *S. curviflora* e menos evidentes em *S. americana* var. *angustifolia*, *S. novaveneciana*, *M. fasciculatus* e *S. americana* var. *americana* (Fig. 6E). Drusas acham-se espalhadas ao longo do apêndice (Fig. 8C). Na fase de pré-antese (botão floral, 12h antes da antese), os apêndices apresentam epiderme caracteristicamente secretora, com células de citoplasma denso, núcleo conspícuo, e vacúolos que armazenam compostos fenólicos (Fig. 6C, E).

A borda dos lóbulos laterais da corola, apresenta quatro a cinco camadas de papilas que se diferenciam das papilas adjacentes a estas em tamanho, forma e ornamentações. As papilas têm superfície plana, como no caso de *M. fasciculatus* (Fig. 5H), papilas longas e arredondadas em *S. novaveneciana* (Fig. 6H-I) e *S. curviflora* (Fig. 6K), e com bordas elevadas uniformes em *S. americana* var. *americana* (Fig. 6F), mamiliformes com projeções quadrangulares em *S. angustifolia* (Fig. 6J) e em *S. americana* var. *americana* (Fig. 6G).



**Figura 6:** (A, F-H, J-K) Micrografias eletrônicas de varredura (MEV), (B-E) cortes transversais do apêndice claviforme e das papilas da borda da corola (I) das espécies de *Schwentkia*. (A) MEV do apêndice claviforme de *S. americana* var. *americana*. As linhas pontilhadas indicam regiões dos cortes anatômicos transversais observados em diferentes espécies. (B-E) Osmóforos em corte transversal: (B) parte mediana e (D) base do apêndice. Observa-se a organização anatômica da estrutura secretora, com epiderme unisseriada, parênquima com células globosas e feixe vascular. (C, E) Detalhe das células do parênquima e epiderme, com características secretoras apresentando compostos fenólicos (cabeça de seta preta). (D) Apêndice com entrância, onde se observam poucas papilas. (E) Feixe vascular anficrival com floema desenvolvido. (F) Lóbulo lateral de *S. americana* var. *americana* (cabeça de seta preta), (G) apresentando 3 a 5 fileiras de papilas diferenciadas. (H-I) Papilas alongadas e (I) corte anatômico das papilas de *S. novaveneciana* onde observa-se a diferença em tamanho (cabeça de seta preta). (J) Papilas mamiliformes de *S. angustifolia* com projeções quadrangulares na cutícula. (K) Papilas de *S. curviflora* alongadas com cutícula densamente estriada.

O apêndice dentiforme de *S. curviflora* (Fig. 7) difere dos apêndices desenvolvidos (de superfície periclinal sinuosa convexa) pela presença de papilas de superfície plana na face abaxial, com cutícula estriada que cobre todo o apêndice (Fig. 7A, C-D). Cortes transversais em pré-antese mostraram epiderme unisseriada arredondada (Fig. 7C) com núcleo grande, citoplasma denso, cutícula reduzida e vascularizada (Fig. 7D). Os lóbulos laterais da corola (Fig. 7E) apresentam epiderme (abaxial e adaxial), mesofilo de características secretoras e feixes vasculares distribuídos uniformemente (Fig. 7B). Na face abaxial (cabeça de seta preta), (Fig. 7E, H-I) a epiderme é unisseriada com papilas mamiliformes (Fig. 7I) de superfície estriada (Fig. 7H). Na face adaxial (Fig. 7E-G), a epiderme é papilosa arredondada (Fig. 7F) e com superfície densamente estriada (Fig. 7G).

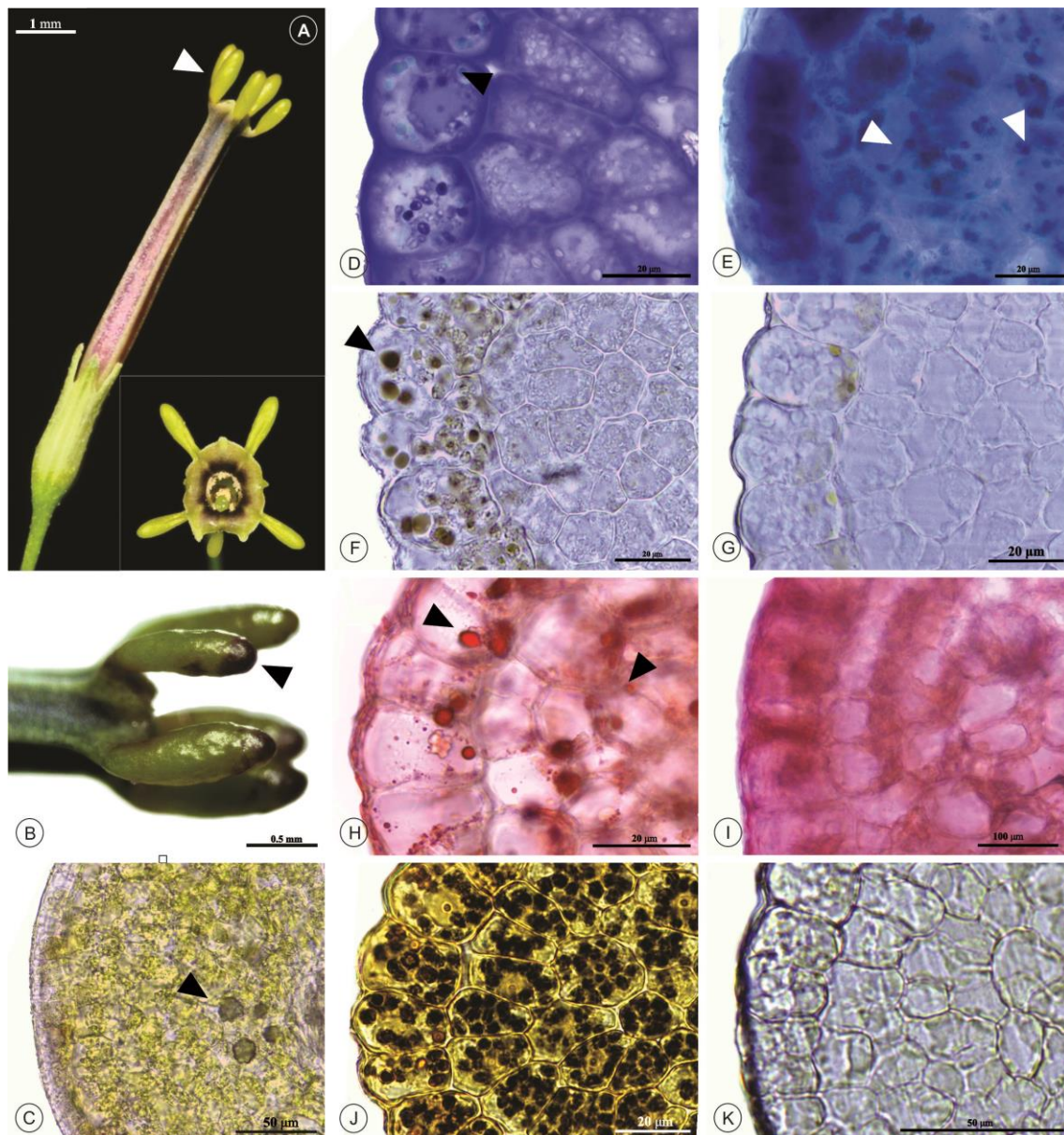


**Figura 7:** Micrografias eletrônicas de varredura (MEV) e corte transversal do apêndice (lóbulo mediano) e do lobo lateral de *S. curviflora*: (A) apêndice dentiforme não ultrapassando os lóbulos laterais com superfície papilosa. (B) Corte transversal do lóbulo lateral e apêndice 12 h antes do início da antese com feixes vasculares (cabeça de seta preta). (C-D) Apêndice dentiforme com epiderme unisseriada e parênquima com características secretoras. (E) Lóbulo lateral da corola com papilas mamiliformes na epiderme na face abaxial (cabeça de seta preta) e epiderme arredondada na face adaxial (seta branca) com características secretoras. (F-G) Papilas arredondadas na face adaxial: (F) Epiderme unisseriada em detalhe evidenciando célula com núcleo grande, citoplasma denso e cutícula reduzida. (G) (MEV) onde observa-se cutícula densamente estriada. (H-I) Papilas mamiliformes na face abaxial, (H) (MEV) papilas mamiliformes com cutícula estriada de núcleo grande e citoplasma denso (I).

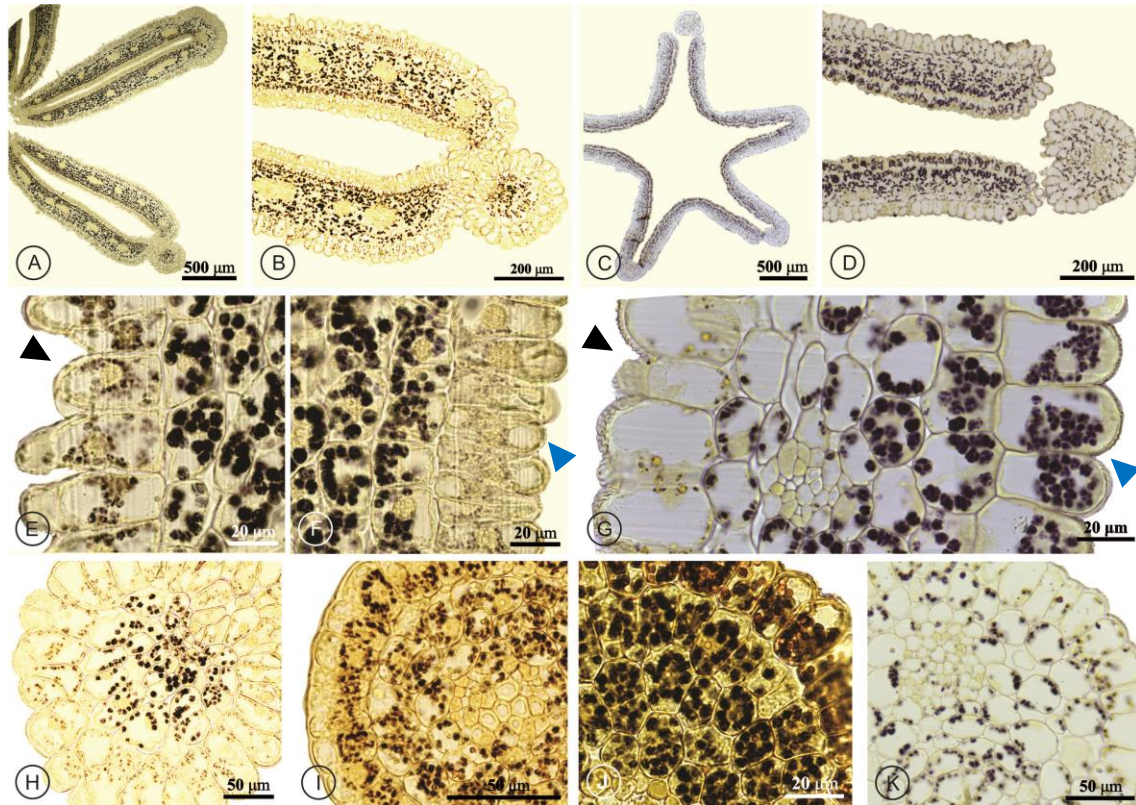


As análises histoquímicas demonstraram resultados similares para as espécies e foram ilustradas em *S. americana* var. *angustifolia* (Fig. 8). A região metabolicamente ativa foi confirmada pela reação ao vermelho neutro nos apêndices de *S. americana* var. *americana* e var. *angustifolia* (Fig. 8B). A coloração pelo azul de toluidina evidenciou pequenos precipitados fenólicos em verde nas células parenquimáticas cujos núcleos são conspícuos e o citoplasma é denso (Fig. 8D). A natureza fenólica destes precipitados foi confirmada pelo teste com cloreto férrico, com resultado positivo na fase de pré-antese (Fig. 8F). Ainda nesta fase, óleos essenciais reativos ao teste com NADI (Fig. 8E), lipídios reativos ao Sudan red b (Fig. 8H) e amido com reação positiva ao reagente de Lugol (Fig. 8J) foram detectados na epiderme e no parênquima cortical. Na fase pós-antese, estes compostos (Fig. 8G, I, K) não foram detectados.

Amido foi detectado em estádios pré-antese nos lóbulos laterais da corola e nos apêndices (lóbulo mediano) (Fig. 9), nos lóbulos laterais de *S. curviflora* (Fig. 9A-B, E-F) e de *S. angustifolia* (Fig. 9 C-D, G). A presença de amido é marcadamente evidente no parênquima (Fig. 9E-G), na epiderme unisseriada da face abaxial (cabeça de seta preta) e adaxial (cabeça de seta azul). Os grãos de amido se apresentam pequenos e em pouca quantidade. Na face adaxial de *S. angustifolia* (Fig. 9G), a concentração de amido é maior na epiderme (Fig. 9G seta azul), e nas células adjacentes vão diminuindo. Nos apêndices dentiformes de *S. curviflora* (Fig. 9H) e de *S. angustifolia* (Fig. 9K), a presença de amido é concentrada no parênquima, já na epiderme unisseriada é mais dispersa. Em *M. fasciculatus* (Fig. 9I), amido foi detectado na epiderme e no parênquima em quantidade relativamente maior que nas espécies descritas anteriormente, assim também observado para *S. americana* var. *americana* (Fig. 9J).

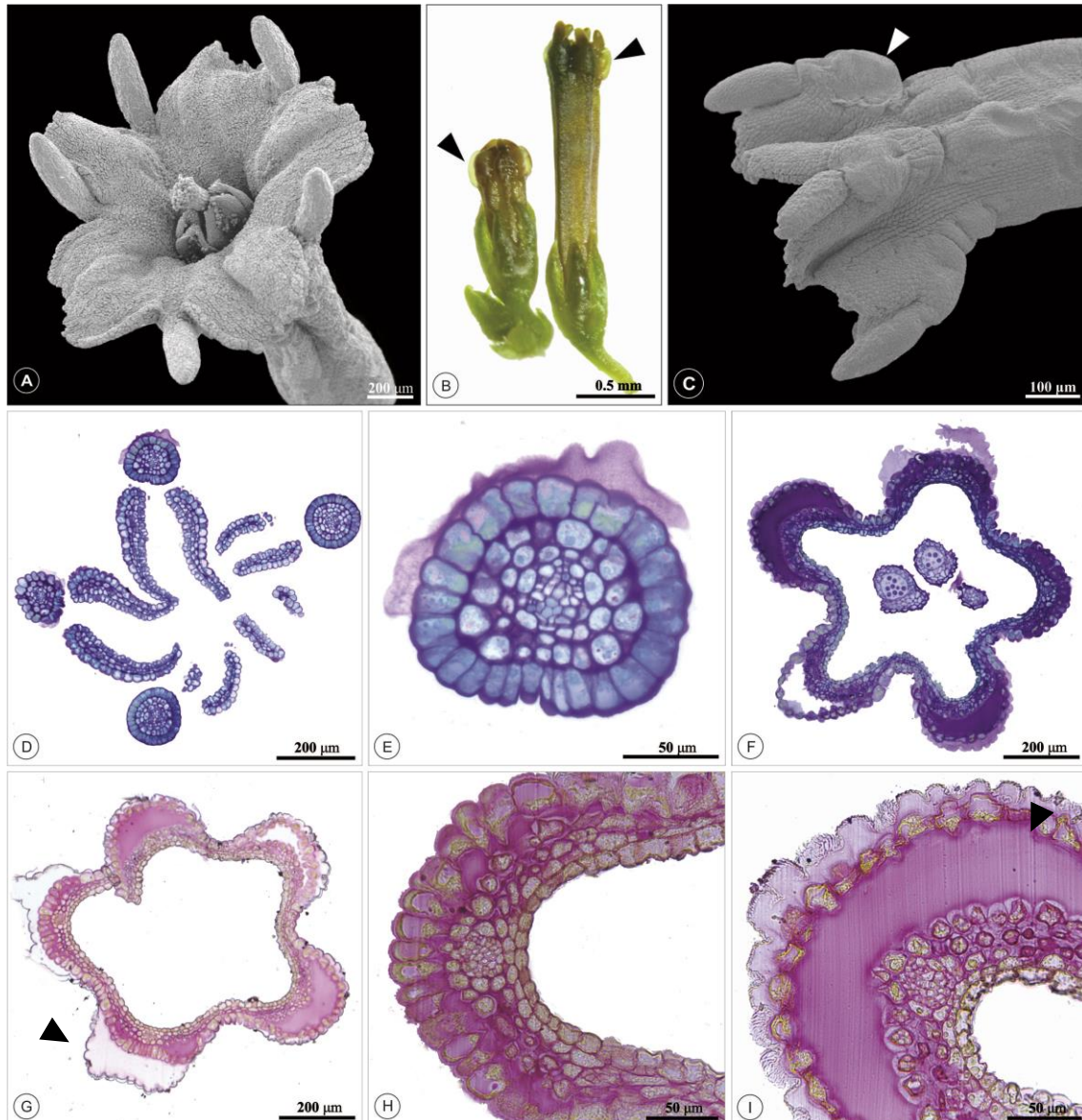


**Figura 8:** Análise histoquímica em cortes transversais dos apêndices de *S. americana* var. *angustifolia*: (A) aspecto geral da flor fechada e detalhe dos apêndices quando a flor está aberta. (B) Ponta dos apêndices corados com vermelho neutro em estágio de pré-antese. (C) Corte branco feito em material fresco. Epiderme unisseriada, células de parênquima com coloração amarela e drusas (cabeça de seta preta). (D) Compostos fenólicos precipitados nas células da epiderme, revelados com azul de toluidina em material incluído (seta preta). (E) Teste com NADI em material fresco, evidenciando gotículas de óleos essenciais que foram marcados de azul (setas brancas). (F-G) Teste com cloreto férrico em material incluído em resina apresentando (F) fenólicos em estágio pré-antese, (G) na fase de pós-antese, não foram observados compostos fenólicos. (H-I) Teste com Sudan red b em material fresco: (H) evidenciou gotículas de lipídios na pré-antese, (I) em pós-antese gotículas ausentes. (J-K) Teste com Lugol em material incluído em resina, evidenciando presença de amido na epiderme e parênquima, (K) amido ausente na fase de pós-antese.



**Figura 9:** Teste com Lugol em cortes transversais (material incluído em resina) dos lóbulos da corola, na fase de pré-antese. (A-D) Lóbulos laterais e medianos (apêndice) com amido em *S. curviflora* (A-B) e em *S. angustifolia* (C-D). (E-F) Lóbulos laterais da corola de *S. curviflora*, com células do mesofilo contendo amido. A detecção de amido na epiderme é maior na face abaxial (E) (cabeça de seta preta) do que na face adaxial (F) (cabeça de seta azul). (G) Lóbulo lateral da corola de *S. angustifolia*, a concentração de amido decresce na epiderme da face adaxial (cabeça de seta azul) para as camadas de células adjacentes. (H-K) Amido presente nos apêndices (lóbulos medianos); apêndice dentiforme de *S. curviflora* (H), apêndice claviforme de *Melananthus fasciculatus* (I) e de *S. americana* var. *americana* (J), apêndice linear de *S. angustifolia* (K).

*Melananthus fasciculatus* (Fig. 10A), apresenta compostos fenólicos e protuberância (Fig. 10B-C) na face abaxial dos lóbulos medianos da corola na base dos apêndices (Fig. 10C) em todos os estádios (pré e pós-antese). A coloração com azul de toluidina revelou mucilagem no apêndice (Fig. 10E) e no tubo da corola (Fig. 10F), o que foi confirmado pelo teste com o vermelho de rutênio (Fig. 10G-I), estando a maior concentração da mucilagem localizada na camada subepicuticular (cabeça de seta preta) (Fig. 10G) e subepidérmica (cabeça de seta preta) (Fig. 10H-I).



**Figura10:** *Melananthus fasciculatus*: (A) Micrografia eletrônica de varredura (MEV) da flor com apêndices claviformes. (B) Flores observadas em estereomicroscópio, evidenciando protuberância na base dos apêndices (cabeça de seta preta). (C) MEV da flor fechada evidenciando as saliências na base dos apêndices (cabeça de seta branca). (D-I) Cortes transversais de flores incluídas em resina e coradas (D-F) com azul de toluidina: (D) lóbulos laterais (cabeça de seta preta) e lóbulos medianos ou apêndice (cabeça de seta branca); (E) apêndice (lóbulo mediano) e (F) tubo floral com presença de mucilagem. (G-I) Cortes corados com vermelho de rutênio: (G) tubo floral com acúmulo de mucilagem subcuticular. (H) Parte do tubo floral com células subepidérmicas preenchidas de mucilagem. (I) Tubo floral com acúmulo de mucilagem formando uma cavidade entre as células epidérmicas e as células parenquimáticas.

## Discussão

O teste sensorial associado à análise anatômica indica que os apêndices ou lóbulos medianos são estruturas secretoras de perfume, podendo ser considerados osmóforos com estrutura definida. Estes osmóforos estão localizados na porção mais distal do perianto e se comportam como irradiadores de odor, mesmo que às vezes sejam fracamente perceptíveis, como em *S. americana* var. *americana*. Tais estruturas estão relacionadas ao acúmulo de fotoassimilados (Vogel, 1990) e atuam associadas à atração de polinizadores. Embora não haja estudos, a forma e o tamanho do tubo, o néctar como recompensa, a cor da flor e a antese noturna são caracteres que podem ser associados à falenofilia, ou seja, polinização realizada por mariposas (Faegri & Pijl 1980; Vogel 1983; Knudsen, 1993; Proctor et al., 1996; Cocucci, 1999; Jurgens et al., 2006).

Os apêndices possuem tecidos osmogênicos com epiderme evidentemente secretora cujas células têm núcleo grande (possivelmente polinucleadas), citoplasma denso e vacúolos numerosos. Os feixes vasculares apresentam floema desenvolvido e o parênquima tem espaços intercelulares, além de armazenar grande quantidade de amido geralmente nos estádios pré-antese, caracteres já relatados na literatura (Fahn, 1988; Vogel, 1990). Osmóforos também foram evidenciados em flores sem odor, que produzem compostos voláteis não perceptíveis pelo olfato humano (García et al, 2007, Knudsem et al., 2004), como aqui observado em *S. americana* var. *americana*. A perda da emissão de odores relacionada à atração de polinizadores, caso venha ser comprovada nessa variedade, pode ser decorrente da estratégia reprodutiva autogâmica nela encontrada. Experimentos preliminares permitiram observar a produção de frutos mesmo em flores ensacadas, que não foram visitadas por potenciais polinizadores. A economia na produção de voláteis, associada à anualidade, redução do tamanho das

flores e dos apêndices encontradas nessa variedade, pode indicar uma mudança do sistema de cruzamentos, resultando numa economia energética, algo vantajoso e já documentado para diversos grupos taxonômicos de angiospermas, incluindo Solanaceae (Richards 1997; Charlesworth, 2006).

A epiderme unisseriada e as camadas subepidérmicas estão envolvidas na produção, estocagem e liberação de compostos voláteis (Vogel, 1990). A produção noturna de compostos voláteis, com cheiros agradáveis, fortes e adocicados, pelas flores da tribo Schwenckieae foi confirmada pela histolocalização de terpenos e compostos fenólicos nas cinco espécies estudadas. A presença de terpenos, principalmente óleos essenciais, nas fases de pré- e pós-antese, foi confirmada pelo teste histoquímico com NADI. Além dos terpenos, o buquê floral apresenta compostos fenólicos em sua composição, os quais já foram detectados em osmóforos e relatados como parte de buquês florais (conteúdo misto de terpenos e fenólicos) (Castro & Demarco, 2008; Curry, 1987; Marinho et al., 2014). Os compostos fenólicos são em geral associados à defesa do vegetal contra herbivoria e aos danos causados pela radiação, mas a função de atração de polinizadores não pode ser descartada.

Além dos compostos relacionados à emissão de odor, o acúmulo de reservas na forma de grãos de amido foi detectado pela reação com Lugol nos osmóforos dos apêndices e nos lóbulos laterais da corola. O amido é apontado como fonte de carbono e energia para a produção de fragrâncias (Stern et al. 1987), e foi detectado na epiderme e em maior quantidade no parênquima dos lóbulos laterais da corola, em quantidade variável entre as espécies. A detecção de amido na pré-antese (botão floral) e seu consumo rápido após 24h de iniciada a antese (García, et al., 2007) é um indicativo de uso desta reserva como uma característica marcante de tecidos envolvidos na emissão

de odor (Vogel, 1990), e já tendo sido descrita para osmóforos (Fahn, 1979; Stern, 1987; Vogel, 1990; Curry, 1991; Melo, 2010; Marinho et al., 2014; Falcão, 2015)

Com relação à área para dispersão das fragrâncias, a superfície convexa dos apêndices claviformes pode oferecer uma área menor para dispersão de fragrâncias do que as superfícies papilosas com cutícula estriada e tricomas (Curry, 1991). Este tipo de superfície foi observado na borda e nos lóbulos laterais da corola das cinco espécies estudadas, podendo a cutícula estriada funcionar como canais microscópicos para o transporte de substâncias. Tal proposta se baseia na similaridade da observação de exsudatos no final dos microcanais na cutícula em *Bulbophyllum wendlandianum*, Orchidaceae (Kowalkowska et al., 2015). A diversidade de dobras ou elevações irregulares, e a forma das células epidérmicas podem estar relacionados a um gradiente na produção de perfume (Plachno, 2010). Terpenos de baixo peso molecular podem ser volatilizados por difusão cuticular após terem atravessado as paredes celulares (Vogel, 1990) ou ainda por estômatos, como em espécies de orquídeas do gênero *Acianthera* (Melo et al., 2010)

Poucos são os estudos que descrevem tricomas e sua função na produção de perfumes em pétalas, tendo em vista que tricomas glandulares, em sua maioria, são descritos em partes vegetativas (Ascensão et al., 1998, 1999). Tricomas similares aos observados neste estudo foram descritos na face abaxial das pétalas em outras Solanaceae, tais como *Nicotiana alata* Link & Otto e *N. suaveolens* Lehm. (Solanaceae) (Effmert et al., 2006). A função de secreção observada nas cinco espécies aqui estudadas parece ser compartilhada por outros grupos, considerando que análises histoquímicas em tricomas glandulares do cálice e corola das flores de *Plectranthus ornatos* Codd. (Lamiaceae) indicaram a presença de compostos lipofílicos e terpenoides (Ascensão et al., 1999). Tricomas multicelulares unisseriados na borda dos lobos da

pétala de *Phragmipedium x grande* (Rchb. f.) Rolfe (Orchidaceae) foram reportados como estrutura secretora de perfume envolvido na atração de dípteros (Vogel 1990).

Outro tipo de secreção observada em flores é a mucilagem, documentada em células especializadas com parede interna mucilaginosa e engrossada, a qual foi usada como característica floral para delimitar grupos taxonômicos (Matthews & Endress, 2006). Em flores de *M. fasciculatus*, a mucilagem pode ser atribuída à proteção de estruturas ou órgãos em desenvolvimento, retendo água, reduzindo transpiração, protegendo contra radiação e dispersando ou refletindo a luz incidente, além de evitar a herbivoria (Fahn 1979; Roshchina & Roshchina 1993). A espécie cresce em afloramentos graníticos, ambientes sujeitos a condições de grande estresse hídrico, altos níveis de radiação solar e com pouca disponibilidade de substrato.

Os perfumes produzidos pelos osmóforos em *Schwenckia*, embora não analisados quimicamente neste trabalho, parecem ser diferentes de espécie para espécie. Já foi reportado diferenças de odores em quantidade e qualidade em espécies de *Petunia* (Hoballah, et.al., 2005) e *Nicotiana* (Raguso, et.al., 2003), polinizadas por mariposas. As essências florais são sinais que direcionam polinizadores a flores de uma espécie em particular e atuam principalmente como atrativos à longa distância (Brito et.al., 2014).

Além dos perfumes evidenciados nas flores pelo teste sensorial, com papel potencial como agentes de atração, é interessante ressaltar que a diversidade das cores nos apêndices pode atuar como atrativo visual secundário, favorecer o reconhecimento rápido e a memorização da fonte de recursos pelos animais, contribuindo para a constância floral dos visitantes, como visto em estudos com abelhas (Chitka, et al., 2001; Kunze & Gumbert, 2001) e mariposas (Raguso & Willis 2002). Sabe-se que esfingídeos noturnos podem distinguir cores para achar e reconhecer as flores



forrageadas, inclusive quando há mudança na intensidade da iluminação (Kelber et al., 2002)

Osmóforos em Solanaceae foram anteriormente reportados nos conectivos das anteras poricidas de *Cyphomandra sciadostylis* Sendtn. [=*Solanum sciadostylis* (Sendtn.) Bohs], *C. diploconos* (Mart.) Sendtn. [=*Solanum diploconos* (Mart.) Bohs] e *C. hartwegii* (Miers) Walp. [=*Solanum circinatum* Bohs] (Sazima et al., 1993, Coccuci, 1996) e em *Solanum luridifuscescens* (Falcão, 2015). Estes osmóforos não apresentam estômatos como vias de saída das secreções, conforme indicado em outros estudos (Vogel 1990, Melo et al., 2010). Coccuci (1996) observou que a secreção nestas espécies é armazenada em câmaras subcuticulares, como visto nas papilas da borda dos lóbulos laterais da corola de *S. angustifolia*, sendo liberadas espontaneamente, no caso das espécies de *Solanum* (tratadas como pertencentes ao gênero *Cyphomandra*), ou também por ação das abelhas quando coletam os compostos.

Os osmóforos como estruturas morfológicamente diferenciadas na corola são pela primeira vez reportados para as Solanaceae. Até o momento, os osmóforos haviam sido descritos para determinadas regiões das pétalas, como ocorre para a maioria das angiospermas (Raguso et al., 2003; Effmert et al., 2006). Nas cinco espécies da tribo *Schwenckieae* estudadas, evidenciaram-se a estrutura e função destes apêndices, como sendo compostos por tecido secretor produtor de perfumes, mostrando uma forte evidência de que a origem e a diversificação da tribo *Schwenckieae* está intimamente ligada à relação com seus polinizadores, possivelmente mariposas. Investigações procurando elucidar aspectos ultraestruturais das células secretoras, a identificação e quantificação dos compostos voláteis presentes nos diferentes buquês florais, assim como estudos de biologia da polinização são necessários.

Estudos filogenéticos utilizando dados moleculares indicam que a tribo Schwenckieae é monofilética e que *Melananthus* e *Heteranthia* são grupos irmãos, formando um clado irmão de *Schwenckia* (Särkinen et al., 2013). Isso permite hipotetizar que a presença de apêndices pode ser considerada uma sinapomorfia para a tribo e que possivelmente *Heteranthia* os tenha perdido. É possível que isso também tenha ocorrido internamente em *Schwenckia*, onde encontramos muitas espécies com apêndices desenvolvidos, lineares ou claviformes, e poucas com apêndices reduzidos, dentiformes (Carvalho, 1978). Contudo, apenas quatro espécies (pouco mais de 10% do total) foram incluídas em estudos filogenéticos. Entender a diversificação desse enigmático grupo, ocorrida cedo nas Solanaceae, é etapa fundamental para se recontar a história evolutiva da família.

### Referências bibliográficas

- Ascensão L., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., Schripsema J., Deans S.G., and Scheffer J.C.J. (1998) *Plectranthus madagascariensis*: morphology of the glandular trichomes, essential oil composition, and its biological activity. *Journal of Plant Science*, **159**, 31-38.
- Ascensão L., Mota L., Castro, M de M. (1999) Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry, *Annals of Botany*, **84**, 437-447.
- Benitez R.C. (1993) *La Tribu Schwenckieae A. Hunz (Solanaceae) en Venezuela*. Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, pp 80.
- Brito V., Telles F., Lunau K. (2014) Ecologia cognitiva da polinização. In: Rech A.R., Agostini K., Oliveira P.E., Machado I.C. (Eds). *Biologia da Polinização*. Rio de Janeiro. Edit. Projeto Cultural, 417-438.

- Brundrett M.C., Kendrick B., Peterson C.A. (1991) Efficient lipid staining in plant material with sudan red B or fluoral yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic & Histochemistry*, **66**, 111-116.
- Carvalho L.d'A.F. (1966) O gênero *Melananthus* no Brasil (Solanaceae). *Sellowia*, **18**, 51-66.
- Carvalho L.d'A.F. (1978) O gênero *Schwenkia* D. van Rooyen ex Linnaeus no Brasil (Solanaceae). *Rodriguésia* **44**, 307-524.
- Carvalho L.d'A.F. (1999) *Heteranthia decipiens* Nees & Martius (Solanaceae), uma espécie rara, exclusiva da flora brasileira. *Rodriguésia*, **50**, 77-83.
- Castro M., Demarco D. (2008) Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: a brief review. *Natural Product Communications*, **3**, 1273–1284.
- Charlesworth D. (2006) Evolution of Plant Breeding Systems. *Current Biology*, **16**, 726–735.
- Chittka L., Spaethe J., Schmidt A., Hickelsberger A. (2001) Adaptation, constraint, and chance in the evolution of flower color and pollinator color vision. In: Chittka L., Thomson J.D. (Eds.), *Cognitive ecology of pollination: animal behaviour and floral evolution*. Cambridge University Press, 106-126.
- Cocucci A. (1989) Sobre el diagrama floral de *Schizanthus* (Solanaceae) y su interpretacion. *Kurtziana*, **20**, 133-137.
- Cocucci A.A. (1996) El osmóforo de *Cyphomandra* (Solanaceae): estudio con microscopio electrónico de barrido. *Darwiniana*, **34**, 145-150.

- Cocucci A.A. (1999) Evolutionary radiation in Neotropical Solanaceae. In: Nee M., Symon D.E., Lester R.N., Jessop J.P. (Eds). *Solanaceae IV: advances in biology and utilization*. Kew: The Royal Botanic Gardens, Kew, 9-22.
- Curry K.J. (1987) Initiation of terpenoid synthesis in osmophores of *Stanhopea anfracta* (Orchidaceae): a cytochemical study. *American Journal of Botany*, **74**, 1332-1338.
- Curry K.J., McDowell L.M., Judd W.S., Stern W.L. (1991) Osmophores, floral features, and systematics of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **78**, 610–623.
- Dafni A. (1992) *Pollination Ecology: a practical approach*. Oxford University Press. New York, USA, pp 249.
- David R., Carde J.P. (1964) Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime au moyen du reactif Nadi*. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l' Academie des Sciences Paris*, **D258**, 1338–1340.
- Dudareva N., Pichersky E. (2000) Biochemical and molecular aspects of floral scents. *Plant Physiology* **122**, 627-634
- Dudareva N., Negre F., Nagegowda D.A., Orlova I. (2006) Plant Volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **25**, 417-440.
- Dupin J., Matzke N., Särkinen T., Knapp S., Olmstead R., Bohs L., Smith S. (2016) Bayesian estimation of the global biogeographic history of the Solanaceae. *Journal of Biogeography*, **44**, 887–899.

- Effmert U., Buss D., Rohrbeck D., Piechulla B. (2006). Localization of the Synthesis and Emission of Scent Compounds within the Flower. In: Dudareva N., Pichersky E. (Eds), *Biology of floral scent*. Taylor & Francis, Boca Raton, London, 105-124.
- Faegri K. van der Pijl L. (1979) *The principles of pollination ecology*, 3rd edition. Pergamon Press, Oxford, UK, pp.244.
- Falcão B.F., Schlindwein C., Stehmann J.R. (2016) Pollen release mechanisms and androecium structure in *Solanum* (Solanaceae): Does anther morphology predict pollination strategy?. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **224**, 211-217.
- Falcão B. (2015) Dissertação: *Polinização e estrutura do androceu em Solanum luridifuscescens Bitter (clado Cyphomandra – (Solanaceae): a morfologia da antera prediz a estratégia de polinização?*. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. MG.
- Fahn A. (1979) *Secretory tissues in plants*. Academic Press, London, UK, pp 302
- Fahn A. (1988) Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist*, **108**, 229-257.
- García M.T.A., Galati B.G., Hoc P.S. (2007) Ultrastructure of the corona of scented and scentless flowers of *Passiflora* spp. (Passifloraceae). *Flora*, **202**, 302-315.
- Gracie C. (1993) Pollination of *Cyphomandra endopogon* var. *endopogon* (Solanaceae) by *Eufriesea* spp. (Euglossini) in French Guiana. *Brittonia*, **45(1)**, 39-46.
- Hawkes J. (1999) The economic importance of the family Solanaceae. In: Nee M., Symon D., Lester R., Jessop J. (Eds). *Solanaceae IV. Advances in botany and utilization*. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew, pp 1-8.

- Hunziker A.T. (2001) *The Genera of Solanaceae*, A.R.G. Gantner Verlag, Royal Botanical Garden, Kew, London, pp 512.
- Hoballah M.E., Stuurman E.J., Turlings T.C.J., Guerin P.M., Connétable S., Kuhlemeier C. (2005) The composition and timing of flower odour emission by wild *Petunia axillaris* coincide with the antennal perception and nocturnal activity of the pollinator *Manduca sexta*. *Planta*, **222**, 141–150.
- Hunziker, A.T. 2001. *The Genera of Solanaceae*, A.R.G. Gantner Verlag. Royal Botanical Garden, Kew, London.
- Johansen D.A. (1940) *Plant microtechnique*. McGraw, New York, USA.
- Jürgens A., Dötterl S., Meve U., (2006) The chemical nature of fetid floral odours in stapeliads (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae). *New Phytologist*, **172**, 452–468.
- Knapp S. (2002b) Floral diversity and evolution in the Solanaceae. In: Cronk. Q.C.B., Bateman R.M., Hawkins J.A. (Eds) *Developmental Genetics and Plant Evolution Taylor & Francis*, London, 267–297.
- Knapp, S. 2010. On "various contrivances": pollination, phylogeny and flower form in the Solanaceae. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B: Biological Sciences*, **365**, 449-460.
- Karnovsky M.J. (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of light osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, **27**, 137-138.
- Kelber A., Balkenius A., Warrant E.J. (2002) Scotopic colour vision in nocturnal hawkmoths. *Nature*, **419**, 922–925.

- Knudsen J.T., Tollsten L. (1993) Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **113**, 263–284.
- Knudsen J.T., Tollsten L., Groth Y., Bergstrom G., Raguso R.A. (2004) Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in hummingbird-pollinated taxa. *Botanical Journal of the Linnean Society*. **146**, 191–199.
- Kowalkowska A.K., Kiszkurno M.K., Turzynski S. (2015). Morphological, histological and ultrastructural features of osmophores and nectary of *Bulbophyllum wendlandianum* (Kraenzl.) Dammer (B. section Cirrhopetalum Lindl., Bulbophyllinae Schltr., Orchidaceae). *Plant Systematic and Evolution* **301**, 609–622.
- Kunze J., Gumbert A. (2001) The combined effect of color and odor on flower choice behavior of bumble bees in flower mimicry systems. *Behavioral Ecology*, **12**, 447–456.
- Marinho C.R., Souza C.D., Barros T.C., Teixeira S.P. (2014) Scent glands in legume flowers. *Plant Biology*, **16**, 215–226.
- Matthews M.L., Endress P.K. (2006) Floral structure and systematics in four orders of rosids, including a broad survey of floral mucilage cells. *Plant Systematic and Evolution*, **260**, 199–221.
- Melo M.C.; Borba E.L., Paiva E.A.S. (2010) Morphological and histological characterization of the osmophores and nectaries of four species of Acianthera (Orchidaceae: Pleurothallidinae). *Plant Systematics and Evolution*, **286**, 141–151.

- O'Brien T.P., Feder N., McCully M.E. (1964). Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, **59**, 368–373.
- Olmstead R.G., Bohs L., Migid H.A., Santiago-Valentin E., Garcia V.F., Collier S.M. (2008) A molecular phylogeny of the Solanaceae. *Taxon*, **57**, 1159–1181.
- Płachno B.J, Swiatek P., Szymczak G. (2010) Can a stench be beautiful? Osmophores in stem-succulent stapeliads (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae-Stapeliinae). *Flora*, **205**, 101–105
- Proctor M., Yeo P., Lack A. (1996) *The Natural History of Pollination*. Harper Collins Publishers. London, pp 479.
- Raguso R.A., Willis M.A. (2002) Synergy between visual and olfactory cues in nectar feeding by naive hawkmoths, *Manduca sexta*. *Animal Behaviour*, **64**, 685-695.
- Raguso R.A., Levin R.A., Foose S.E., Holmberg M.W., McDade L.A. (2003) Fragrance chemistry nocturnal rhythms and pollination “syndromes” in *Nicotiana*. *Phytochemistry*, **63**, 265-284.
- Richards A.J. (1997) *Plant Breeding Systems* Chapman & Hall, London, pp 529.
- Robards A.W. (1978) An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: Hall J.L. (Ed.), *Electron Microscopy and Cytochemistry of Plant Cells*. Elsevier, New York, 343–403.
- Ronse De Craene P.L. (2010). *Floral diagrams. An aid to understanding flower morphology and evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 441.
- Roshchina V.V., Roshchina V.D. (1993) *The excretory fuction of higher plants*. Berlin, Springer-Verlag, pp 319.



- Sazima M., Vogel S., Cocucci A., Hausner G. (1993) The perfume flowers of *Cyphomandra* (Solanaceae): pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores, and volátiles. *Plant Systematics and Evolution*, **187**, 51–88.
- Särkinen T., Bohs L., Olmstead R.G., Knapp S. (2013) A phylogenetic framework for evolutionary study of the nightshades (Solanaceae): a dated 1000-tip tree. *BMC Evolutionary Biology*, **13**, 214.
- Soares, A.A.; Campos, O. de; Vieira, M.F.; Melo, G.R. de. 1989. Relações entre *Euglossa* (Euglossella) *mandibularis* Friese 1899 (Hymen. Apidae, Euglossini) e *Cyphomandra calycina* (Solanaceae). *Ciência e Cultura.*, **41**: 903-905.
- Stern W.L., Curry K.J., Pridgeon A.M. (1987) Osmophores of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **74**, 1323-1331.
- Vogel S. (1983) Ecophysiology of zoophilic pollination. In: Lange O.L., Nobel P.S., Osmond C.B., Ziegler H. (Eds), *Physiological Plant Ecology III: responses to the chemical and biological environment*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, 559–624.
- Vogel S. (1990) *The role of scent glands in pollination: on the structure and function of osmophores*. Smithsonian Institution Libraries, Washington, DC, USA, pp 202. (Translated by S.S. Renner).