

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**Deborah Cristina Dias Campos**

**Desenvolvimento da Antera e dos Grãos de Pólen em *Adenium obesum***

**Montes Claros**

**2021**

**Deborah Cristina Dias Campos**

**Desenvolvimento da Antera e dos Grãos de Pólen em *Adenium obesum***

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

**Orientador:** Silvia Nietsche

**Coorientador:** Clivia C. F. Possobom

Montes Claros

Abril de 2021

Campos, Deborah Cristina Dias Campos.

C198d  
2021      Desenvolvimento da antera e dos grãos de pólen em *Adenium obesum* [manuscrito]  
/ Deborah Cristina Dias Campos. Montes Claros, 2021.  
29 f.: il.

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

Orientadora: Sílvia Nietzsche

Banca examinadora: Elka Fabiana Aparecida Almeida, Claudineia Ferreira Nunes, Clivia Carolina Fiorilo Possobom, Hellen Cássia Mazzottini dos Santos, Sílvia Nietzsche.

Inclui referências: f. 15-16. f. 27-28

1. Antera. 2. Microsporogênese. 3. Microgametogênese. 4. Rosa do deserto.  
I. Nietzsche, Sílvia. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 635.94



Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Agrárias  
Mestrado em Produção Vegetal

## ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 30 dias do mês de abril de 2021, às 14:00 horas, sob a Presidência da Professora Sílvia Nietzsche, D. Sc. (Orientadora – ICA/UFMG) e com a participação dos Professores Clivia Carolina Fiorilo Possobom, D. Sc. (Coorientadora - ICA/UFMG), Claudinéia Ferreira Nunes, D. Sc. (ICA/UFMG), Elka Fabiana Aparecida Almeida, D. Sc. (ICA/UFMG) e Hellen Cássia Mazzottini dos Santos, D. Sc. (Unimontes), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de defesa de dissertação de **DEBORAH CRISTINA DIAS CAMPOS**, aluna do Curso de Mestrado em Produção Vegetal. O resultado da defesa de dissertação intitulada: “**Desenvolvimento da Antera e dos Grãos de Pólen em *Adenium obesum*”**, sendo a aluna considerada **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, 30 de abril de 2021.

Clivia Carolina Fiorilo Possobom  
Coorientadora

Claudinéia Ferreira Nunes  
Membro

Elka Fabiana Aparecida Almeida  
Membro

Hellen Cássia Mazzottini dos Santos  
Membro

Sílvia Nietzsche  
Orientadora

## AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, por sempre ter ouvido as minhas orações e por estar sempre comigo em todos os momentos. Por me permitir vencer e comemorar mais uma etapa;

Agradeço ao CNPq e a Capes pela bolsa concedida;

À Universidade Federal de Minas Gerais e ao ICA;

À minha Orientadora Sílvia Nietzsche, pela compreensão, incentivo, por toda atenção e paciência ao longo dessa caminhada. Você é um dos meus maiores exemplos e inspiração!

À minha Co-orientadora: Clivia C. F. Possobom, por todos os ensinamentos, atenção cuidado e pela amizade;

Agradeço aos meus pais, Magda e Agnaldo, de todo o coração, pelo carinho e apoio, sei que não teria chegado até aqui sem vocês;

À minha irmã Bárbara, por todo amor, carinho e amizade;

À minha avó Lindaura, por estar comigo diante de todas as dificuldades;

À Fernanda, por todo carinho e amizade;

Ao Thiago, por toda a paciência, amizade e incentivo;

A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho, meu muito obrigada.

*“A beleza de um jardim não depende do tamanho das flores, mas da variedade de seu colorido. Assim, a felicidade não depende de grandes alegrias, mas da variedade de muitos e pequenos momentos felizes que colhemos ao longo da vida.”*

*Padre Fábio de Melo*

## **Desenvolvimento da Antera e dos Grãos de Pólen em *Adenium obesum***

### **RESUMO**

*Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult., conhecida popularmente como rosa-do-deserto, é uma planta com grande potencial paisagístico, cuja propagação por sementes é a forma desejável para formação de caudex volumoso. Os processos reprodutivos, incluindo microsporogênese e microgametogênese, são essenciais para produção de sementes. O objetivo do trabalho foi estudar o desenvolvimento das anteras identificando os principais estádios da microsporogênese e microgametogênese e caracterizando os grãos de pólen na fase de dispersão a partir de plantas cultivadas de *A. obesum* pertencentes a um acesso caracterizado pela corola simples e com coloração rosa. Botões florais e flores em diferentes estádios de desenvolvimento foram coletados e processados de acordo com protocolos usuais de anatomia vegetal. Adicionalmente, grãos de pólen de botões florais em pré-antese foram submetidos a testes histoquímicos para identificação de amido e de lipídios. As anteras de *A. obesum* são bitecas e com deiscência longitudinal, apresentam formato triangular, base sagitada e apêndices filamentosos de coloração rosada na região apical. Em secção transversal, anteras são tetralobadas, revestidas pela epiderme, endotécio, camadas média e tapete. Região do conectivo com células isodiamétricas com citoplasma periférico, vacuoma desenvolvido e núcleos evidentes, além de um feixe vascular em posição central. Ao longo do desenvolvimento (0,68 cm – fase 3) possível observar a formação de um sulco na região dos septos entre os microsporângios de uma mesma teca, correspondendo à região do estômio. As células que compõem os estratos parietais sofrem transformações à medida que as anteras amadurecem. A microesporogênese foi encerrada quando botão atingiu cerca de 0,5 cm. Botões a partir de 1,44 cm, o microesporotico imaturo adquire formato circular. Os grãos de pólen são bicelulares, contêm reserva amilácea e são dispersos em mônades, unidos por lipídeos. Com base dos dados obtidos do presente trabalho podemos concluir: a parede da antera possui cinco estratos parentais, epiderme, endotécio, tapete do tipo secretor e duas camadas médias. A citocinese é do tipo simultâneo e as tétrades são tetraédricas.

**Palavras-chave:** antera, microsporogênese, microgametogênese, rosa-do-deserto.

## Development of Anther and Pollen Grains in *Adenium obesum*

### ABSTRACT

*Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult., popularly known as desert rose, is a plant with great landscape potential, whose propagation by seeds is the desirable way for the formation of voluminous caudex. Reproductive processes, including microsporogenesis and microgametogenesis, are essential for seed production. The objective of this work was to study the development of anthers identifying the main stages of microsporogenesis and microgametogenesis and characterizing the pollen grains in the dispersal phase from cultivated plants of *A. obesum* belonging to an access characterized by simple corolla and with pink coloration. Flower buds and flowers at different stages of development were collected and processed according to usual plant anatomy protocols. Additionally, pre-anthesis flower bud pollen grains were submitted to histochemical tests to identify starch and lipids. The anthers of *A. obesum* are biteca and with longitudinal dehiscence, have a triangular shape, sagittal base and pinkish filamentous appendages in the apical region. In cross-section, anthers are tetralobed, covered by the epidermis, endothelium, middle layers and mat. Cenective region with isodiametric cells with peripheral cytoplasm, developed vacuoma and evident nuclei, in addition to a vascular bundle in a central position. During development (0.68 cm – phase 3), it is possible to observe the formation of a groove in the septum region between the microsporangia of the same theca, corresponding to the stomatal region. The cells that make up the parietal strata undergo transformations as the anthers mature. Microsporogenesis was terminated when the bud reached about 0.5 cm. Buttons starting at 1.44 cm, the immature microsporotic acquires a circular shape. Pollen grains are bicellular, contain amylose reserve and are dispersed in monads, joined by lipids. Based on the data obtained from the present work, we can conclude: the anther wall has five parental strata, epidermis, endothelium, secretory-type mat and two middle layers. Cytokinesis is simultaneous type and tetrahedrals are tetrahedral.

**Keywords:** anther, microsporogenesis, microgametogenesis, desert rose.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	09
<b>2 OBJETIVO</b> .....	11
2.1 <i>Objetivo Geral</i> .....	11
2.2 <i>Objetivos específicos</i> .....	11
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
3.1 <i>Mercado de Plantas Ornamentais</i> .....	12
3.2 <i>Rosa do Deserto</i> .....	12
3.3 <i>Antera</i> .....	13
3.4 <i>Referências</i> .....	15
<b>4 ARTIGO</b> .....	17
4.1 <i>Desenvolvimento da Antera e dos Grãos de Pólen em Adenium obesum</i> .....	17
<b>4.1.1 Introdução</b> .....	18
<b>4.1.2 Material e Método</b> .....	18
4.1.2.1 <i>Material vegetal e condições de cultivo</i> .....	18
4.1.2.2 <i>Análises anatômicas</i> .....	19
<b>4.1.3. Resultados</b> .....	20
4.1.3.1 <i>Caracterização geral do androceu</i> .....	20
4.1.3.2 <i>Desenvolvimento da parede da antera</i> .....	21
4.1.3.3. <i>Microesporogênese e microgametogênes</i> .....	24
4.1.3.4. <i>Grão de pólen</i> .....	24
<b>4.1.4 Discussão</b> .....	24
4.1.4.1. <i>Desenvolvimento da parede da antera</i> .....	25
4.1.4.2. <i>Microsporogênese</i> .....	26
4.1.4.3. <i>Microgametogênese</i> .....	26
4.1.4.4. <i>Grão de pólen</i> .....	26
<b>4.1.5 Conclusão</b> .....	27
<b>4.1.6 Referências</b> .....	28
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	29

## 1 INTRODUÇÃO

*Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult., conhecida popularmente como rosa-do-deserto pertence à família Apocynaceae, composta por árvores, arbustos e lianas. Essas plantas apresentam aspectos cactáceos e suculentos, muitas vezes produtoras de látex. É distribuída predominantemente em regiões subtropicais, com alguns representantes em regiões temperadas, compreendendo grande interesse no ramo ornamental e paisagístico (SENNBLAD; BREMER, 2002). *A. obesum* pertence à subfamília Apocynoideae, tribo Nerieae, subtribo Neriinae (ENDRESS et al., 2014). Originária da África, é uma espécie que apresenta ramagens espessas, folhas verde escuras e flores atrativas de coloração variada, partindo desde o vermelho ao branco. Possui crescimento lento e suas mudas podem ser obtidas por sementes ou por estacas (ROMAHN, 2012).

As flores possuem cinco sépalas e cinco pétalas, em cores diferentes, conatas a um tubo floral (COLOMBO et al., 2018). Segundo Plaizier (1980), o androceu com cinco estames epipétalos, apresenta filetes curtos, as anteras têm formato triangular, o estigma fica dentro desse cone que é formando, sendo essas características comuns à família, possui apêndices filamentosos na região terminal.

Devido à planta ser de uso na decoração de interiores e paisagismo, o interesse vem crescendo no que diz respeito ao comércio de plantas ornamentais (WANNAKRAIROJ, 2008).

*A. obesum* apresenta uma dilatação na base de seu caule conhecido como caudex, uma adaptação fisiológica que garante maior acúmulo de água e, propicia sobrevivência da espécie em locais áridos. Essa característica anatômica também é atrativa aos paisagistas, de modo que o maior engrossamento da base do caule se associa a maiores valores de venda da muda. Porém, essa característica não se manifesta quando a planta é propagada vegetativamente, sendo a propagação seminífera, fundamental para a propagação da rosa-do-deserto (SANTOS et al., 2015; COLOMBO et al., 2018).

Diante da importância de se conhecer os aspectos da polinização desta espécie, já que este é um fator chave para obtenção de características atrativas ao produto ornamental, estudos aprofundados da microsporogênese e microgametogênese são essenciais para otimizar o processo produtivo de mudas de rosa-do-deserto. Aspectos que envolvem o desenvolvimento da antera, da microsporogênese e microgametogênese, bem como os metabólitos presentes nestes processos, auxiliam na compreensão da polinização, no ambiente onde a planta está inserida e pode prever o impacto estresses abióticos na produção de grãos de pólen (FENG et al., 2016; PACINI, 2020).

O tapete tem papel muito importante na formação do micrósporo, onde a sua principal função é a nutrição. Caso essa função relacionada a nutrição não for eficiente, isso acarretará problemas na qualidade dos grãos de pólen, podendo influenciar na germinação do tubo polínico e interferindo diretamente na fertilização.

Os estudos referentes à microsporogênese e microgametogênese em Apocynaceae, têm a sua maior concentração na morfologia dos grãos de pólen, pois, permitem observar as variações nos processos para a formação dos grãos de pólen (ENDRESS, 2016). Segundo Sampaio (2005), o conhecimento relacionado com o desenvolvimento da antera e dos eventos da esporogênese, por exemplo, tem despertado o interesse dos melhoristas e geneticistas.

Outro ponto importante do estudo da microsporogênese para o melhoramento é a produção de

duplo-haploides, onde se trabalha com indivíduos totalmente homocigóticos, reduzindo o tempo na produção de novas cultivares; contudo, para o sucesso é fundamental conhecer o estágio de desenvolvimento do micrósporo que irá influenciar na capacidade de multiplicação celular.

## 1 OBJETIVOS

### 1.1 *Objetivo Geral*

Estudar o desenvolvimento das anteras em relação aos estádios da microsporogênese e microgametogênese e caracterizar os grãos de pólen na fase de dispersão de plantas de *Adenium obesum*.

### 1.2 *Objetivos Específicos*

- Compreender e descrever o desenvolvimento dos estratos parietais das anteras;
- Compreender e descrever os processos de microsporogênese e microgametogênese;
- Caracterizar os grãos de pólen na fase de dispersão quanto à morfologia e conteúdo celular.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Mercado de Plantas Ornamentais

A floricultura é entendida como um conjunto de atividades produtivas e comerciais relacionadas ao mercado das espécies vegetais cultivadas com finalidades ornamentais, constitui-se em um dos mais novos, dinâmicos e promissores segmentos do agronegócio brasileiro (SEBRAE, 2015).

Ao longo dos últimos anos, a floricultura empresarial brasileira vem atingindo um notável desenvolvimento e caracteriza-se como um dos mais promissores segmentos da horticultura intensiva no campo dos diferentes modelos do agronegócio brasileiro (JUNQUEIRA; PEETZ, 2008).

Segundo o Ibraflor (2015), o Brasil conta com cerca de oito mil produtores de flores e plantas. Juntos, eles cultivam mais de 350 espécies com cerca de três mil variedades. Dessa forma, o mercado de flores é uma importante engrenagem na economia brasileira, sendo responsável por 199.100 empregos diretos, desses 78.700 (39,53%) relativos à produção, 8.400 (4,22%) à distribuição, 105.500 (53%) no varejo e 6.500 (3,25%) em outras funções, em maior parte como apoio.

Segundo Junqueira e Peetz (2018), no ano de 2017, o setor movimentou cerca de R\$ 6,9 bilhões, no consumidor final com crescimento de pouco mais de 6% em relação ao ano anterior, sustentando um desempenho econômico favorável, mesmo com o contexto da crise econômica e financeira que afeta o país. Para o ano de 2018, o valor estimado para esta cadeia produtiva foi de R\$ 7,2 bilhões, um aumento de 4% sobre no ano anterior.

Como o Brasil possui diversidade climática e de solos, é possível cultivar diversas espécies de plantas ornamentais e de flores, de clima tropical ou temperado, nativas ou exóticas. A produção de plantas ornamentais está relacionada com flores de vaso e de corte, plantas de interiores e de paisagismo, sementes e folhagens (BATALHA; BUAINAIN, 2007).

### 3.2 Rosa-do-Deserto

*Adenium obesum* é uma planta ornamental popularmente conhecida como rosa-do-deserto que pertence à família Apocynaceae. Tem origem na África Oriental e há décadas tem se tornado uma planta ornamental bastante difundida (RASAD et al., 2015). Também foi encontrada em áreas rochosas em locais de clima semidesértico (ALBUFATIH, 1992).

As plantas da família Apocynaceae apresentam diversificados usos, onde se destacam espécies frutíferas do cerrado, como a mangaba *Hancornia speciosa* Gomes, espécies madeireiras, como as perobas *Aspidosperma* spp., e as ornamentais tropicais que podem incluir *Catharathus* spp., *Beaumontia* spp., *Carissa* spp., *Allamanda* spp., *Mandevilla* spp., *Nerium* spp. e *Plumeria* spp. (COLOMBO et al., 2015).

Segundo Silveira (2016), a rosa-do-deserto é uma planta que possui caudex, significa que possui o tronco espessado em relação às outras partes da planta, sendo esse espessamento uma adaptação que permite armazenar água e nutrientes. *A. obesum* é considerada como xerófita, suculenta, arbustiva, podendo apresentar altura de 0,4 a 4,0 m, e súber de coloração variada, podendo apresentar-se de verde acinzentado a tons amenos de cinza e marrom (PLAIZIER, 1980).

É uma planta que tem sido bastante utilizada em vaso e no solo, na ornamentação de jardins, fazendo com que tenha elevada demanda de mercado. Contudo, há escassez de informações técnicas

que possam dar suporte a um sistema de produção em escala comercial (SANTOS et al., 2015).

O florescimento acontece geralmente na primavera, com a possibilidade de sucessivas florações no verão e outono, em plantas oriundas de sementes com um ano de cultivo e com tamanho de até 15 cm de altura essa floração pode ser mais rápida (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

A propagação por sementes nem sempre é bem-sucedida devido a problemas relacionados à polinização ou à esterilidade feminina ou masculina (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002). O método de propagação mais fácil é por estaquia, porém as plantas obtidas por este método não são bem aceitas no mercado ornamental, pois produzem caules subterrâneos e não apresentam a mesma exuberância das plantas propagadas via sementes (KANCHANAPOOM et al., 2010).

### 3.3 Antera

Os estames em Apocynaceae são em número de cinco e de rara ocorrência em quatro, epipétalos e alternos com os lobos da corola, apresentando filetes curtos ou ausentes, podendo formar um pé ou tubo estaminal (ENDRESS; BRUYNIS, 2000).

Os cinco estames de *A. obesum* são em formato de cone e o as fendas da antera são voltadas para o interior deste cone. As caudas das anteras projetam-se do ápice do cone dando a impressão de ser as verdadeiras anteras. O estigma se encontra escondido dentro do cone formado pelas anteras, logo abaixo delas (DIMMITT et al., 2009).

A morfologia da antera (externa e interna) é extremamente variável e tem sido fonte de um grande número de características importantes para o entendimento da evolução das angiospermas (STEBBINS, 1974, CRONQUIST, 1981, JUDD et al., 1999).

A definição dos diferentes tecidos de uma antera acontece no início do processo de desenvolvimento da estrutura, que vai desde a iniciação no meristema floral até a antese da flor (MARIATH et al., 2000).

A antera, no início de seu desenvolvimento, possui um conjunto de células uniformes, exceto pela epiderme parcialmente diferenciada. Posteriormente, quatro agrupamentos de células férteis ou esporogênicas tornam-se evidentes no seu interior. Cada um desses grupos é circundado por várias camadas de células estéreis. Essas células estéreis desenvolvem-se como parede do saco polínico. As camadas externas do saco polínico atuarão posteriormente na abertura da antera (antese) enquanto a camada interna forma o tapete nutritivo (RAVEN, 2014).

Segundo Simpson (2006), a camada celular mais externa (logo após a epiderme) é denominada endotécio, que normalmente consiste em células aumentadas com espessamentos de parede secundária, que atua na deiscência de anteras, fornecendo tração que puxa as paredes das anteras da linha ou região de deiscência. O endotécio apresenta espessamentos fibrilares na parede, descritos como característicos das Apocynaceae (DAVIS, 1966; JOHRI et al., 1992).

Segundo Appezzato-da-Gloria (2006), a camada média quando presente, o número é variável, podendo ocorrer uma a duas camadas de células, excepcionalmente até cinco estratos.

O tapete é o tecido nutritivo dos grãos de pólen, constituído, frequentemente, por células multinucleadas; é uma importante camada devido sua função nutritiva durante o desenvolvimento do pólen (CALLADO, 2010; DAVIS 1966; PACINI, 2010).

A microsporogênese é a formação dos micrósporos através de células-mãe de micrósporo e o

desenvolvimento do grão de pólen ocorre em cada microsporângio (SAMPSON, 1969; SILVA, 2013). Durante a meiose, podem ocorrer dois tipos de citocinese: o sucessivo, onde a citocinese ocorre no final da meiose I, formando uma parede celular entre os dois núcleos (díades) e o simultâneo, onde a parede será formada somente após a formação dos quatro núcleos haploides. Vale destacar que nesta fase, os micrósporos em tétrades estão envolvidos por uma parede de calose, logo após, ocorre a liberação das tétrades e conclusão do processo de formação dos micrósporos.

A microgametogênese nas angiospermas é uniforme e se inicia quando os micrósporos se dividem mitoticamente, formando duas células no interior da parede original do micrósporo (RAVEN, 2014).

A maioria das angiospermas possuem grãos de pólen que são bicelulares, contendo célula vegetativa e a célula generativa. A célula generativa se divide para formar dois gametas masculinos somente após a formação do tubo polínico. Em muitas angiospermas, no entanto, o pólen na antese é tricelular, causada pela divisão da célula generativa anterior para liberação de pólen (SIMPSON, 2006).

### 3.4 Referências

- ABULFATIH, H. A. Vegetation zonation along an altitudinal gradient between sea level and 3000 meters in south western Saudi Arabia. **Journal of King Saud University**, Riyadh, v. 14, n. 1, p. 57-97, 1992.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, Beatriz; CARMELLO-GUERREIRO, Sandra Maria. Anatomia vegetal. 2. ed. rev. atu. Viçosa: UFV, 2006. 438p.
- BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M.O. Cadeias produtivas de flores e mel. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: IICA, 2007. 139 p
- CALLADO, C. H. **Botânica II**. v. 2. 2.ed. rev. – Rio de Janeiro: Fundação CECIERJ, 2010.
- COLOMBO, R.C.; CRUZ, M.A.; CARVALHO, D.U; HOSHINO, R. T.; ALVES, G. A.C.; FARIA, R. T. *Adenium obesum* as a new potted flower: growth management. **Ornamental Horticulture**, v. 24, No. 3, 2018 p. 197-205
- COLOMBO, R.C.; FAVETTA, V.; YAMAMOTO, L.Y.; ALVES, G.A.C.; ABATI, J.; TAKAHASHI, L.S.A.; FARIA, R.T. Biometric description of fruits and seeds, germination and imbibition pattern of desert rose [*Adenium obesum* (Forssk.), Roem. & Schult.]. **Journal of Seed Science**, v.37, n.4, p.206-213, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v37n4152811>
- DAVIS G (1966) **Systematic embryology of the Angiosperms**. Wiley, New York. deserto sob restrição hídrica associada ao filme de partículas de CaCO<sub>3</sub> [dissertação].
- DIMMITT, M.; JOSEPH, G.; PALZKILL, D. **Adenium: Sculptural Elegance, Floral Extravagance**. Tucson: Scathingly Brilliant Idea, 2009. 152p.
- EMPRAD. **Gerando Valor na Cadeia de Flores e Corte no Mercado Brasileiro**. 2017. 11p.
- ENDRESS ME, BRUYNS PV (2000) A revised classification of the Apocynaceae s.l. *Bot Rev* 66:1-56
- FENG, Y. CAI, Y. ZHANG, X. GAO, T. MU, X. LIANG, C. Microsporogenesis and male gametophyte development in *Prunus mahaleb* Linn. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 91:5, 514-519, 2016 DOI: 10.1080/14620316.2016.1178079
- JOHRI BM, AMBEGAOKAR KB, SRIVASTAVA PS (1992) **Comparative embryology of Angiosperms**, vol 2. Springer, Berlin
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOG, E.A. & STEVENS, P.F. 1999. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates.
- JUNQUEIRA, A. H. E PEETZ, M. S. **Exportações de flores e plantas ornamentais superam US\$ 35 milhões em 2007: recorde e novos desafios para o Brasil - Análise conjuntural da evolução das exportações de flores e plantas ornamentais do Brasil no período de janeiro a dezembro de 2007**. São Paulo, 2008.
- 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: 115-120.
- JUNQUEIRA, A.H.; PEETZ, M.S. Sustentabilidade na floricultura brasileira: apontamentos introdutórios para uma abordagem sistêmica. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**. v.24, n.2, pp.155-162. 2018, <http://dx.doi.org/10.14295/oh.v24i2.1253>.
- KANCHANAPOOM, K.; SUNHEEM, S. *In vitro* propagation of *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. and Schult. **Notulae Botanicae Horticulturae Agrobotanici**, Cluj-Napoca, v.38, n.3, p.209-213, 2010.
- MARIATH, J. E. A., MOÇO, M. C. C., OLIVEIRA, J. M. S., DE TONI, K. L., SANTOS RINALDO, P. E., SANTOS, R. P. Embriologia: atualidade e importância na ciência botânica. In Tópicos Atuais em

Botânica (T. B. CAVALCANTI coord.). **EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia/ Sociedade Botânica do Brasil**, Brasília, p. 95-100. 2000.

MCLAUGHLIN, J.; GAROFALO, JOE. **The Desert Rose, *Adenium obesum*: nursery production**. University of Florida, 2002.

NETO, A. S. M. **Caracterização e viabilidade econômica do sistema produtivo de flores tropicais do Rio de Janeiro**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Rio de Janeiro, 2010.

PLAIZIER, A. C. **A revision of *Adenium* Roem. and Schult. and of *Diplorhynchus* Welw.** Ex Fic. & Hiern (Apocynaceae). Wageningen: H. Veenman & Zonen B.V. 1980. 40 p.

RASAD, F. M. et al. **Micropropagation of *Adenium obesum* (Desert Rose) *in vitro***. International Conference on Agricultural, Ecological and Medical Sciences (AEMS-2015) April 7-8, 2015. p10-12.

RAVEN, P.H.; EICHHORN, S.E.; EVERT, R.F. *Biologia Vegetal*. 8ª Edição. Guanabara Koogan, 867p, 2014.

SAMPAIO, D. S. **Ontogênese floral, esporo e gametogênese em anteras de *Aeschynomene falcata* (POIR.) Dc. e *Aeschynomene sensitiva* SW. (Papilionoideae – Leguminosae)**. Porto Alegre – UFRS. 177p. 2005.

SAMPSON, FB (1969). Studies on the Monimiaceae. I. Floral morphology and gametophyte development of *Hedycarya arborea* J. R. et G. Forst. (sub-family Monimioideae). *Australian Journal of Botany* v.17: 403-424.

SANTOS, M.M.; COSTA, R.B.; CUNHA, P.P.; SELEGUINI, A. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (*Adenium obesum*). **Multi-Science Journal, Goiás**, v. 1, n. 3, p. 79-82, 2015. São Cristóvão (SE): Universidade Federal de Sergipe; 2016

SENNBLAD, B., BREMER, B. (2002). Classification of Apocynaceae s.l. according to a new approach combining Linnaean and phylogenetic taxonomy. **Systematic Biology Journal**, v.51 (3), 389-409.

Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas – Sebrae. **Flores e Plantas Ornamentais do Brasil**. 2015. Volume 1. 44p.

SILVA, L. Desenvolvimento da antera e do grão de pólen em espécies de *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae). Lavras : UFLA, 2013. 57 p.

SILVEIRA MPC. Avaliação dos parâmetros ecofisiológicos e de crescimento em rosa do

SIMPSON, M. G. *Plant systematics*. Academic Press, 590P, 2006.

STEBBINS, G.L. 1974. **Flowering Plants: evolution above the species level**. Cambridge: Harvard University Press. 480 p.

WANNAKRAIROJ, S. Status of ornamental plants in Thailand. **Acta Horticulturae**, v. 01, n. 788, p. 29-36, 2008.

## 4 ARTIGO

### 4.1 Desenvolvimento da Antera e dos Grãos de Pólen em *Adenium obesum*

Este artigo foi elaborado conforme normas do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal.

#### Resumo

*Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult., pertence à família Apocynaceae e subfamília Apocynoideae. Tem uma boa aceitação de mercado, contudo são inúmeros os fatores que interferem na sua produção comercial. O objetivo do trabalho foi estudar o desenvolvimento das anteras identificando os principais estádios da microsporogênese e microgametogênese e caracterizando os grãos de pólen na fase de dispersão a partir de plantas cultivadas de *A. obesum* pertencentes a um acesso caracterizado pela corola simples e com coloração rosa. Botões florais e flores em diferentes estádios de desenvolvimento foram coletados e processados de acordo com protocolos usuais de anatomia vegetal. Adicionalmente, grãos de pólen de botões florais em pré-antese foram submetidos a testes histoquímicos para identificação de amido e de lipídios. As anteras de *A. obesum* são bitecas e com deiscência longitudinal, apresentam formato triangular, base sagitada e apêndices filamentosos de coloração rosada na região apical. Em secção transversal, anteras são tetralobadas, revestidas pela epiderme, endotécio, camadas média e tapete. Região do cenectivo com células isodiamétricas com citoplasma periférico, vacuoma desenvolvido e núcleos evidentes, além de um feixe vascular em posição central. Ao longo do desenvolvimento (0,68 cm – fase 3) possível observar a formação de um sulco na região dos septos entre os microsporângios de uma mesma teca, correspondendo à região do estômio. As células que compõem os estratos parietais sofrem transformações à medida que as anteras amadurecem. A microesporogênese foi encerrada quando botão atingiu cerca de 0,5 cm. Botões a partir de 1,44 cm, o microesporotico imaturo adquire formato circular. Os grãos de pólen são bicelulares, contêm reserva amilácea e são dispersos em mônades, unidos por lipídeos. Com base dos dados obtidos do presente trabalho podemos concluir: a parede da antera possui cinco estratos parentais, epiderme, endotécio, tapete do tipo secretor e duas camadas médias. A citocinese é do tipo simultâneo e as tétrades são tetraédricas.

**Palavras-chave:** antera, microsporogênese, microgametogênese, rosa-do-deserto.

#### 4.1.1 Introdução

*Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult., é uma planta suculenta, conhecida como rosa do deserto, nativa da África (DIMMIT & HANSON, 1991; WIN et al 2012). Pertence à família Apocynaceae e subfamília Apocynoideae, apresentam características comuns como as folhas simples, opostas, corola com prefloração sinistrorsa ou dextrorsa, anteras introrsas, livres a totalmente adnatos à cabeça do estilete, formando o ginostégio, os grãos de pólen disposto em mônades ou tétrades e as sementes são comosas (MATOZINHOS & CONNO 2008; ENDRESS & BRUYNS 2000).

*Adenium* sp. tem uma boa aceitação de mercado, contudo são inúmeros os fatores que interferem na sua produção comercial (TAKANE et al., 2019). Segundo Colombo et al (2018), todo o material *Adenium* disponível comercialmente é o resultado da hibridização e tem uma alta taxa de segregação quando propagados por sementes, dessa forma a propagação vegetativa, tem ganhado destaque devido à manutenção das características da cultivar. Sendo a propagação por estacas e enxertos mais comuns. Partindo deste ponto, floricultores relatam que o caule bem moldado pode apresentar valores favoráveis ao mercado, contudo, esta característica importante não se propaga por meio vegetativo (SANTOS et al., 2015). Este fator interfere comercialmente no valor das mudas.

Para os melhoristas de plantas ornamentais é um grande desafio desenvolver novas cultivares que atendam às necessidades do mercado da floricultura, sempre em busca de novidades (NEITZKE et al., 2016).

Segundo Hossain (2007), a técnica de propagação in vitro emergiu como um método viável e econômico de ferramenta alternativa para produção rápida de ornamentais. No entanto, para *Adenium*, pouco se sabe sobre este assunto, o que pode motivar novas pesquisas visando estabelecer protocolos para propagação in vitro (COLOMBO et al., 2018).

Uma alternativa para o melhoramento de *A. Obesum* é a produção de duplo-haplóides. Em pode ser obtida por cultura de anteras ou micrósporos, essa técnica permite reduzir o tempo necessário para a produção de linhagens homozigotas (MILANI & CARVALHO, 2005). O estágio de desenvolvimento de micrósporos é um fator importante e influência na capacidade do micrósporo de se tornar totipotente (SUBBARAYUDU et al., 2013). Sendo crucial entender o processo da microesporogênese e microgametogênese para determinar em qual fase do desenvolvimento do botão é apropriado para utilização dessa técnica no melhoramento genético.

Outro ponto importante para estudo é entender a funcionalidade do tapete e a sua importância na formação micrósporo. Pesquisadores, comparando células do tapete de amostra masculino estéril e homólogo fértil, observaram que a esterilidade masculina esta ligada com anormalidades encontradas no tapete (RAGHAVAN 1997, VARDAR & ÜNAL 2012). Dessa forma, alterações encontradas na ultraestrutura das células desse tecido podem gerar pólenes inviáveis (LI et al. 2006, PACINI 2010).

#### 4.1.2 Material e Metodos

##### 4.1.2.1 Material vegetal e condições de cultivo

Para o presente trabalho foram utilizadas plantas de um acesso de *Adenium obesum* caracterizado pela corola simples e com coloração rosa cultivadas em casa de vegetação no Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Campus Montes Claros.

Foram utilizadas cerca de 60 plantas, sendo a coleta realizada de forma aleatória dentro da população, conforme a fase do desenvolvimento. O período de coleta com maior intensidade foram nos meses de abril à julho.

As plantas, mantidas em vasos de 4 litros contendo substrato comercial da marca Bioplant®, dispostos sobre bancada a 1 metro de altura, foram irrigadas e fertilizadas semanalmente. Para a fertilização utilizou-se 10 g do fertilizante comercial Fort flores® em 2 litros de água, aplicados sobre a superfície do substrato.

#### 4.1.2.2 Análises anatômicas

Botões florais e flores em diferentes estádios de desenvolvimento (Fig. 1 e Tabela 1) foram coletados e fixados em solução de FAA 70 (JOHANSEN, 1940), sendo posteriormente processados para análises ao microscópio de luz no laboratório de Microscopia, Microanálises e Biologia vegetal do Instituto de Ciências Agrárias, UFMG.



Figura 1. Flores de *Adenium obesum* em diferentes estádios de desenvolvimento.

Tabela 1. Fases de desenvolvimento de flores de *Adenium obesum*, definidas pelo comprimento médio.

Fase	Comprimento (cm)	Diametro (cm)	Descrição Morfológica
1	0,4 a 0,5	0,1	Apice
2	0,5 a 0,6	0,1	Sepalas cobrem todo o botão
3	0,68 a 0,74	0,15	Sepalas cobrem parcialmente o botão, petalas visíveis
4	1 a 1,44	0,19	Sepalas cobrem 1/3 do botão
5	1,5 a 1,86	0,7	Sepalas cobrem metade do botão
6	2 a 2,69	0,36	Sepalas cobrem 2/3 do botão
7	2,78 a 3,9	0,511	Petalas totalmente expostas, sepalas 3/3 do botão
8	4,5 a 5,0	0,587	Petalas totalmente expostas
9	5,07 a 5,16	0,74	Petalas frouxas
10	5,44 a 6,852	0,849	Flor totalmente aberta

Amostras de anteras em diferentes estádios de desenvolvimento foram desidratadas em série alcoólica e incluídas em resina acrílica (Historesin, Leica®). Seções longitudinais e transversais, de 4 µm de espessura, foram obtidas a partir de micrótomo rotativo (Yidi- YD-315), coradas com azul de toluidina 0,05%, pH 4,7 (O' BRIEN et al., 1964, modificado) e montadas entre lâminas e lamínulas com

verniz vitral Acrilex®.

Grãos de pólen retirados de botões em diferentes estágios de desenvolvimento, foram submetidos aos testes com reagente de Lugol (Johansen, 1940) para identificação de amido e Sudan III (Pearse, 1972) para identificação de lipídios.

#### 4.1.3. Resultados

##### 4.1.3.1 Caracterização geral do androceu

O androceu de *A. obesum* é constituído por cinco estames adnatos, epipétalos e pilosos em toda a sua extensão. Os filetes são curtos e possuem coloração esverdeada. As anteras são bitecas e com deiscência longitudinal, apresentam formato triangular, base sagitada e apêndices filamentosos de coloração rosada na região apical, os quais apresentam-se enrolados entre si.

##### 4.1.3.2 Desenvolvimento da parede da antera

Em secção transversal, anteras jovens (colocar dimensões no texto ou em uma tabela) retiradas de botões florais em início de desenvolvimento (Fase 1), são levemente tetralobadas, revestidas pela protoderme e constituídas por meristema fundamental e um cordão procambial em posição central.

Em anteras com aproximadamente 0,5 cm – Fase 2, é possível visualizar os quatro lobos das anteras mais pronunciados. Na região dos lobos, abaixo da protoderme, é possível observar células quadrangulares com citoplasma denso e núcleo volumoso constituindo a camada parietal primária e, mais internamente o tecido esporogênico, distinto por suas células mais volumosas (Fig. 2A-C) A região do conectivo apresenta-se diferenciada, com células isodiamétricas com citoplasma periférico, vacuoma desenvolvido e núcleos evidentes, além de um feixe vascular em posição central, células ainda não diferenciadas.

Em algumas amostras (0,5 cm – Fase 2) é possível visualizar áreas em que as células da camada parietal primária estão em divisão periclinal (Fig. 2B, C) e áreas em que ocorre a presença de duas camadas parietais secundárias, a interna e a externa (Fig. 2B). As imagens sugerem que as células da camada parietal secundária externa sofrem novas divisões periclinais e originam as células do endotécio e da camada média, enquanto as células da camada parietal secundária interna originam as células do tapete.

A partir da fase 2 as anteras apresentam os quatro microsporângios evidentes, com estratos parietais representados por uma camada de epiderme, uma camada de endotécio, uma a duas camadas médias e mais frequentemente, uma camada de tapete (Fig. 2E). As células epidérmicas são pequenas, cuboides a retangulares, apresentam cutícula e paredes delgadas, grandes vacúolos e núcleos evidentes e de posição periférica. As células do endotécio e das camadas médias são similares exibindo formato retangular, são achatadas periclinamente e apresentam paredes delgadas, núcleos evidentes e vacúolos volumosos. As células do tapete são volumosas, apresentam formato irregular, paredes delgadas, citoplasma denso e abundante e núcleo volumoso (Fig. 2D).

Ao longo do desenvolvimento (  $\approx$ 0,68 cm – fase 3) possível observar a formação de um sulco na região dos septos entre os microsporângios de uma mesma teca (Fig. 2F), correspondendo à região do estômio. As células que compõem os estratos parietais sofrem transformações à medida que as anteras amadurecem. As células do endotécio passam a apresentar formato quadrangular e espessamentos na parede. As células das camadas médias apresentam-se mais volumosas e formato retangular e

vacuolizada. Células do endotécio irão apresentar aumento no volume e permanece assim até a deiscência da antera. A partir da fase 4 (1,44 cm) não é possível mais observar as células do tapete, sendo esse totalmente consumido (Fig. 2 F).

Na pré-antese (fase 9) ocorre o colapso da camada média, as células do conectivo se tornam irregulares, a epiderme e o endotécio se fundem e ocorre a deiscência da antera (Fig. 2G).

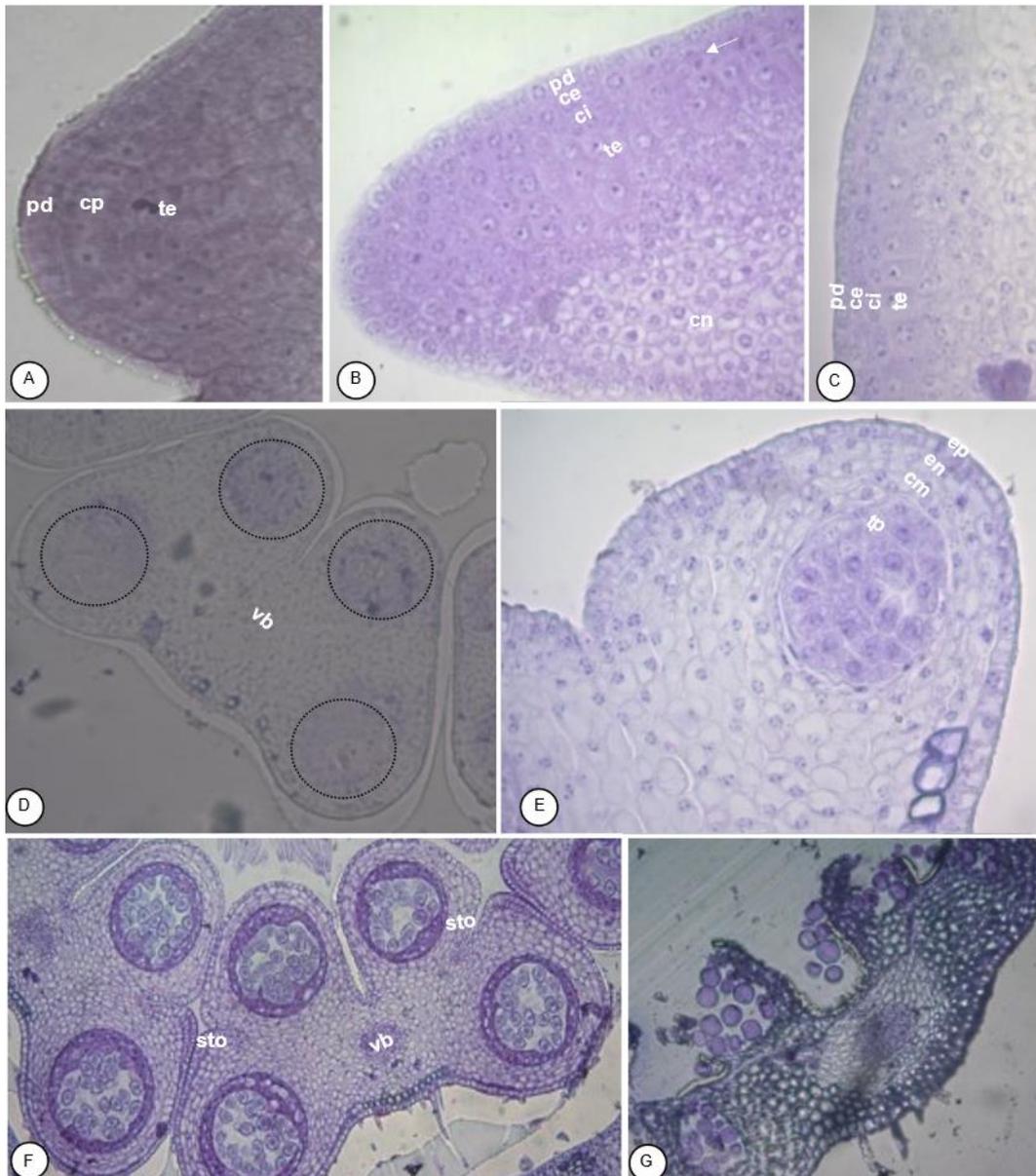


Figura 2. Antera de *Adenium obesum* em diferentes fases de desenvolvimento. A, B, D, E e G, seções transversais. C, seção longitudinal. A. Antera com protoderme (pd), camada parental primária (cp) e tecido esporogênico (te). B. Visualizar protoderme (pd), camada parietal secundária externa (ce), camada parietal secundária interna (ci) e tecido esporogênico (te), seta indica divisão celular da ce. C. Divisão periclinal da parede secundária externa (ce) formando o endotécio e camada média. D. Antera evidenciando os quatro microesporângios e o feixe vascular (vb). E. Antera com endotécio (en), camada média (cm) e tapete (tp) tipo secretor. F. Visualizar região do estômio (sto). G. Visualizar o momento da deiscência da parede da antera com a liberação dos grãos de pólen maduros, células irregulares do conectivo (cn).

#### **4.1.3.3. Microesporogênese e microgametogênese**

No interior dos microsporângios em anteras retiradas de botões em fase 2, as volumosas células do tecido esporogênico apresentam núcleo bastante evidente e citoplasma denso e de aspecto granular, as imagens sugerem que as células mãe do micrósporo sofrem divisões mitóticas, aumentando o número de células. Dentro da mesma antera e entre as tecas são observadas diferentes fases do processo de divisão celular, além de quantidade variável de células microesporângicas (Fig. 3A). É possível observar o início da deposição de calose que passa a envolver cada uma das células-mãe dos micrósporos (Fig. 3B). Tais células passam por duas divisões meióticas originando quatro micrósporos haploides em formato tetraédrico (Fig. 3C).

Quando a calose é dissolvida e os micrósporos ficam livres (Fig. 3D). Na fase 3 ocorre a deposição da exina ao redor dos micrósporos, e eles possuem formato irregular (Fig. 3E). Nessa fase começa a vacuolização do esporo e o núcleo fica na periferia da célula; é possível observar quando a célula do micrósporo sofre mitose assimétrica, originando duas células de tamanhos diferentes: a célula vegetativa e a célula generativa que são separadas por uma parede delgada (Fig. 3F). Na fase 5, após a divisão a célula gerativa migra para região central da célula, devido ao denso citoplasma não é possível observar a célula vegetativa. Nas fases 5 e 8 é possível observar que nas regiões dos poros a camada de intina é mais espessa. Nessas fases também é possível observar que o conteúdo citoplasmático é bem denso, o microesporotico imaturo adquire formato circular (Fig. 3G).

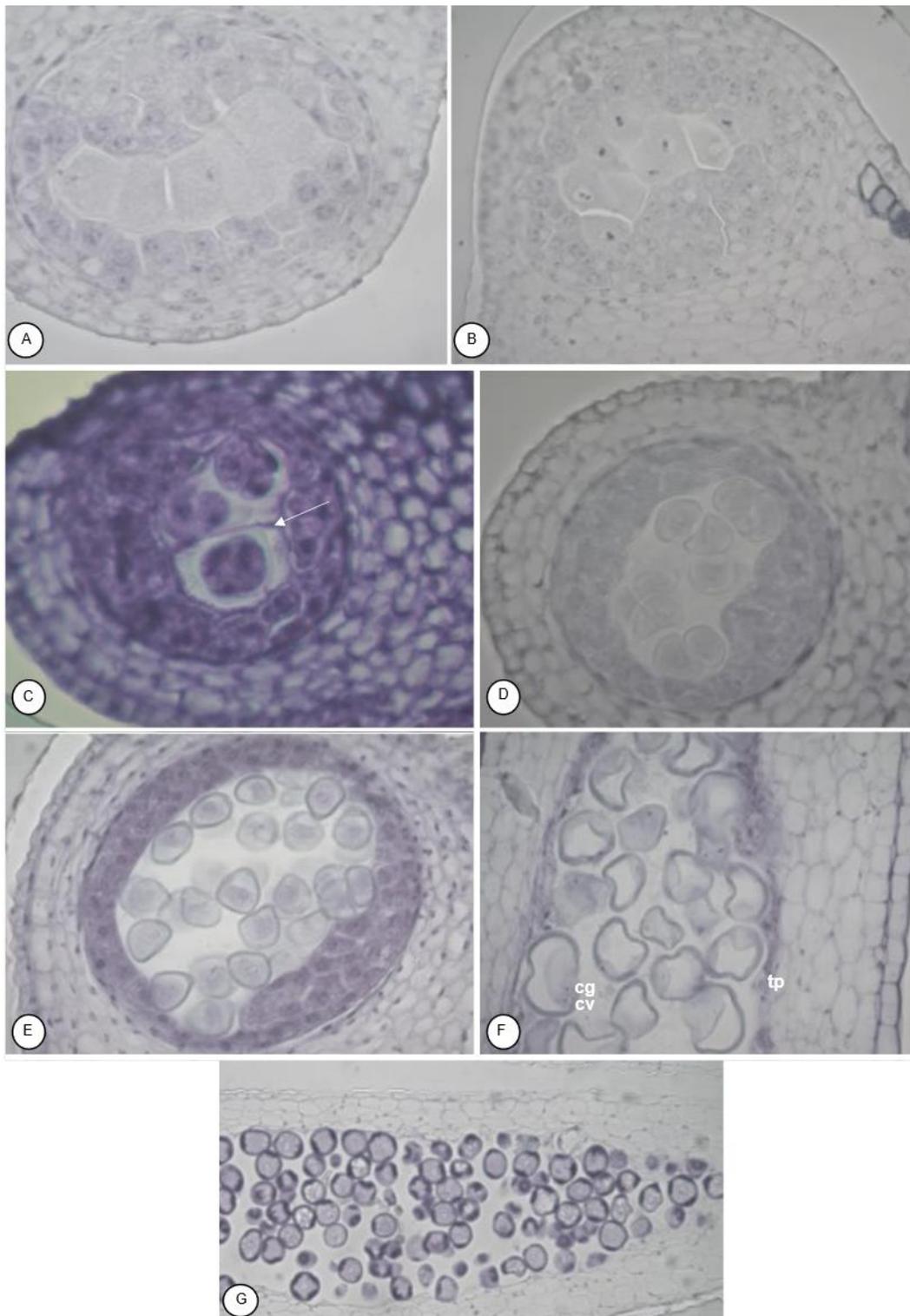


Figura 3. Microesporogênese e microgametogênese de *Adenium obesum*. A, B, D e E, secções transversais. F e G, secção longitudinal. A. Células esporogênicas. B. Células-mãe dos micrósporos - início de deposição de calose. C. Final da meiose II, notar quatro núcleos haploides ainda unidos pela parede única contendo calose. D. Micrósporos recém- individualizados. Notar arranjo tetraédrico. E. Micrósporos Livres. Notar aumento do vacuoma nos micrósporos e também nas células do tapete. Exina

já depositada. F. Vacuolização. Notar tapete quase totalmente degenerado. Notar um grão de pólen com dois núcleos após mitose (célula generativa e vegetativa). G. Grãos de pólen formados. Tapete totalmente degenerado. Camadas médias ainda presentes.

#### 4.1.3.4. Grão de pólen

Os grãos de pólen de *A. obesum* são bicelulares e dispersos na forma de mônades (Fig. 4A). O conteúdo celular é denso e possui grãos de amido como reserva energética (Fig. 4B,C). Há substâncias lipofílicas envolvendo os grãos de pólen, promovendo a adesão entre eles.

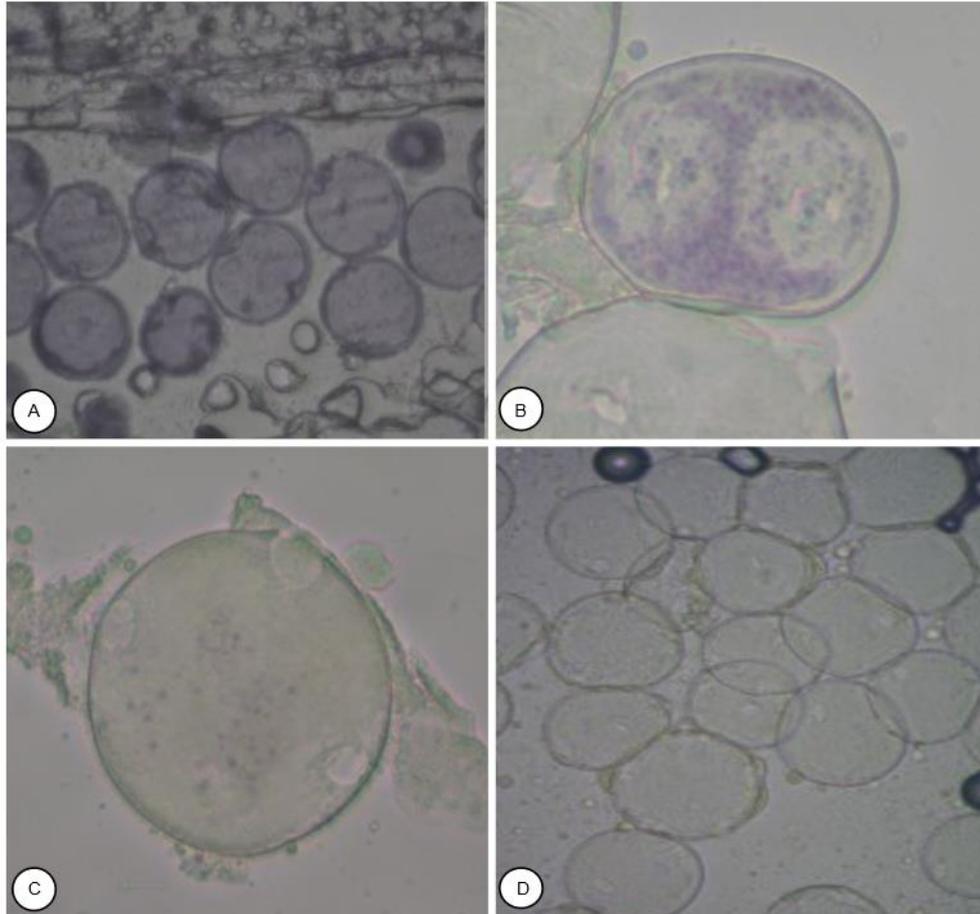


Figura 4. A. Grãos de pólen maduros. B e C. Amido presente no grão de pólen na fase de dispersão. D. Teste com Sudan, mostrado lipídeos ao redor dos grãos de pólen.

#### 4.1.4 Discussão

##### 4.1.4.1. Desenvolvimento da parede da antera

O presente trabalho indicou que as anteras de *A. obesum* são tetrasporangiadas confirmando uma importante característica da família Apocynaceae. Essa característica é considerada evolutiva, sendo observada dentro de cinco subfamílias. Contudo, dentro da subfamília Asclepiadoideae ocorre uma diferenciação e possuem anteras biesporangiadas (ENDRESS; BRUYNS, 2000; VERHOEVEN; LIEDE; ENDRESS, 2003). A ornamental *Allamanda L.*, indivíduo da mesma família de *A. obesum* possui essa mesma característica (Kotovski, 2013). Alves (2019) encontrou padrão similar no desenvolvimento da

parede da antera em *Aspidosperma*. Koch et al. (2018) também relataram padrão similar em duas espécies tetrasporangiadas de *Rauvolfia*.

As divisões celulares que dão origem aos estratos parietais em *A. obesum* é tipo dicotiledônio. Em relação aos estratos parietais, foram observados uma variação de cinco a seis camadas. Ghimire, Ghimire & Heo (2011) relataram dados semelhantes em *Rauvolfia serpentina* (L.), onde foi observado que, antes da maturidade da parede da antera apresentava quatro a cinco camadas, sendo uma epiderme, um endotécio, uma ou duas camadas medias e um tapete.

O endotécio e a epiderme apresentaram paredes com espessamento da parede próximo a deiscência da antera, o que é considerado como característica das Apocynaceae e para as outras famílias da ordem Gentianales (JOHRI et al., 1992). Em espécies estudadas de *Rauvolfia*, o endotécio é estratificado e bem desenvolvido, com espessamento fibroso (KOCH et al., 2018). Segundo Kotovski (2013), o padrão de lignificação que foi observado em *Allamanda* é diferente da observada em outras espécies. Sendo este espessamento parietal do endotécio, deve atuar como um tecido mecânico no processo de deiscência da antera. Em *Oxypetalum appendiculatum*, não foi encontrado evidências de espessamento do endotécio (VITAL, 2015). As camadas médias variaram de duas camadas na maioria das amostras. Sud (1984) relatou duas a três camadas médias em *Trachelospermum fragrans*.

O tapete é do tipo secretor, células uninucleadas e apresenta mais de uma camada de células. Alves (2019) observou dados semelhantes ao presente trabalho, sendo que em *Aspidosperma verbascifolium* apresenta duas a três camadas de tapete e as células também são uninucleadas. Ainda reforça que aparentemente para o desenvolvimento da antera em Apocynaceae, um núcleo por célula e uma ou duas camadas no tapete são as condições plesiomórficas. As células do tapete apresentam grande conteúdo citoplasmático, sendo esse um indicativo de intensa atividade celular.

As funções do tapete são nutrir o tecido esporogênico e os micrósporos, sintetizar esporolenina para a formação da parede dos grãos de pólen, produzir os orbículos (corpúsculos de Ubish), secretar a calose durante a formação das tétrades, fazendo com que fiquem unidas, sintetizar e liberar sobre o grão de pólen substâncias como o "Pollenkitt" (lipídeos, flavonoides, carotenoides), trífino (mistura de substâncias hidrofóbicas), enzimas e proteínas de reconhecimento (FURNESS; RUDALL, 1998). Kotovski (2013) afirma que a degradação do tapete ocorre em fase anterior à antese em *Allamanda*. Em *O. appendiculatum*, o tapete é degradado na pré-antese, não sendo mais visualizado na antese (VITAL; NAKAMURA, 2018). Sendo esses dados diferentes do presente trabalho, onde a degradação do tapete ocorreu logo após a vacuolização dos micrósporos, na fase 5, antes da fase de pré-antese.

Em relação ao desenvolvimento da parede em *A. obesum*, especificamente quanto aos estratos parentais, os resultados corroboram com dados encontrados na literatura sobre outras espécies de Apocynaceae.

#### 4.1.4.2. Microsporogênese

No presente trabalho a microsporogênese finalizou na fase 3, com os micrósporos livres. Para a obtenção de Duplo-Haplóides é de extrema importância conhecer a fase do botão floral onde ocorre a formação do micrósporo e em que este ainda se encontra revestido por tecidos esporofídicos. Segundo Peters et al., (1999), o estágio de desenvolvimento em que os micrósporos respondem é quando estes

se encontram uninucleado, sendo essa etapa o mais adequado para a maioria das espécies. No presente trabalho o momento recomendado para cultura de anteras utilizando micrósporo é na fase 3, quando o micrósporo não sofreu divisão celular. A cultura de anteras pode ser uma alternativa interessante para o melhoramento de *A. obesum*, pois esse método é indicado para plantas que fazem polinização cruzada e demoraria para obter indivíduos homocigotos. Sendo essa técnica utilizada em melhoramento de algumas espécies comerciais para acelerar esse processo. O tipo de citocinese encontrado é simultâneo, sendo essa característica também observada em trabalhos com *Rauvolfia serpentina* (GHIMIRE; GHIMIRE; HEO, 2011), *T. fragrans* (SUD, 1984), *Aspidosperma* (ALVES, 2019). Entretanto Vital & Nakamura (2018), relataram que a citocinese em *O. appendiculatum* é de forma sucessiva. Segundo Furness, Rudall e Sampson (2002), a esporogênese simultânea predomina nas plantas existentes, sendo que o tipo sucessivo são características de alguns grupos como as monocotiledôneas.

As tétrades formadas são do tipo tetraédricas sendo esse tipo comum descritas para a família (JOHRI, 1992).

#### 4.1.4.3. Microgametogênese

A Microgametogênese se iniciou após a degradação da calose e início da vacuolização dos micrósporos. Em relação a divisão para a formação das células vegetativa e a generativa é semelhante ao trabalho de Alves (2019), onde uma divisão celular assimétrica deu origem à célula vegetativa e à célula generativa. Após esse estágio iniciou-se o processo de maturação dos grãos de pólen, o qual se apresentou completo em botões na pré-antese.

#### 4.1.4.4. Grão de pólen

Os grãos de pólen são binucleados no momento da dispersão, dessa forma após a germinação do tubo polínico que a célula generativa irá sofrer divisão e originar os gametas masculinos. Embora seja comum liberação dos grãos de pólen em estágio tricelular na maioria das Apocynaceae (VITAL; NAKAMURA 2018), as amostras aqui analisadas são semelhantes aos observado em *Rauvolfia vomitoria* e *R. weddelliana* em que apresentaram grãos de pólen em estágio bicelular na fase de dispersão (KOCH et al., 2018).

Os grãos de pólen são liberados na forma de mônades. Dentro das Rauvolfioideae e Apocynoideae, o pólen é normalmente disperso como mônades, mas em ambas as subfamílias existem alguns taxa em que o pólen é liberando em forma de tétrades (ENDRESS, 2016).

Van der Ham et al. (2001) relatam que em Rauvolfioideae e Apocynoideae, o pólen é liberado pouco antes da antese. Corroborando com o presente trabalho, sendo que a deiscência da antera ocorre na pré-antese, ocorrendo a liberação dos grãos de pólen.

Os grãos de pólen podem armazenar amido durante o desenvolvimento, no caso de *A. obesum*, na fase de dispersão os grãos de pólen possuem amido como reserva. A maioria das Angiospermas possui, no momento da dispersão, pouco amido (“starchless”) no pólen, enquanto, em alguns grupos é disperso com muito amido no citoplasma da célula vegetativa (“starchy”) (BAKER; BAKER, 1979).

No momento da dispersão os grãos de pólen em *A. obesum* são unidos por lipídeos, ajudando no processo de dispersão, principalmente por polinizadores.

Segundo Oliveira *et al.*, (2001) o interesse em relação a biologia da antera, de forma ampla, aumentou bastante nas últimas décadas, isso é devido à conjunção de fatores, como avanços em estudos genéticos, moleculares e suas aplicações práticas para o melhoramento vegetal e a necessidade crescente da produção vegetal. Tendo isso como base e relacionando com que Pechan e Smykal (2001), que o conhecimento relacionado sobre os processos de formação dos grãos de pólen pode ter aplicações práticas do ponto de vista da floricultura. Ainda, mostram a importância desse estudo e dos dados obtido do presente trabalho para esclarecimentos sobre os processos de microsporogênese e microgametogênese.

#### 4.1.5 Conclusão

Com base dos dados obtidos do presente trabalho podemos concluir:

- Em relação à parede da antera, as características encontradas são as seguintes: cinco estratos parietais, sendo eles, epiderme, endotécio com espessamento de lignina no final do desenvolvimento, duas camadas médias e tapete do tipo secretor com apenas um núcleo. São características presentes na maioria das Apocynaceae;
- O tapete é totalmente consumido após a fase de vacuolização dos microgametofitos jovens;
- A citocinese encontrada é do tipo simultânea;
- As tétrades de *A. obesum* são tetraédricas;
- Os grãos de pólen são bicelulares;
- Os grãos de pólen apresentam amido como reserva energética.

#### 4.1.6 Referências

ALVES, D.M. **Desenvolvimento da Antera e dos Grãos-de-Pólen em *Aspidosperma* Mart. & Zucc. e as Implicações Evolutivas e Taxonômicas para Apocynaceae**. 2019. Dissertação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.

BAKER, HG, BAKER, I. (1979) Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. *American Journal of Botany*. 66: 501-600.

ENDRESS PK (2016) Development and evolution of the extreme synorganization in angiosperm flowers and diversity: a comparison of Apocynaceae and Orchidaceae. *Annals of Botany* 117: 749–767.

ENDRESS, M. E.; BRUYNS, P. V. Uma classificação revisada da Apocynaceae sl. *The Botanical Review*, v. 66, n.1, p.1-56, 2000.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J. Microsporogenesis in monocotyledons. *Annals of Botany*, London, v. 84, n. 4, p. 475-499, 1999.

FURNESS, C. A.; RUDALL, P. J.; SAMPSON, F. B. Evolution of microsporogenesis in angiosperms. *International Journal of Plant Sciences*, Chicago, v. 163, n. 2, p. 235-260, 2002.

GHIMIRE B, GHIMIRE BK, HEO K. Microsporogenesis in *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth ex Kurz (Apocynaceae): an evidence for dual cytokinesis in microspore mother cells. *J Med Plants Res* 5:432-438. 2011

- JOHRI BM, AMBEGAOKAR KB, SRIVASTAVA PS. **Comparative embryology of Angiosperms**, vol 2. Springer, Berlin. 1992.
- KOCH, I.; ALVES, D. M.; SOUTO, L. S. Anther wall and pollen development in two species of *Rauvolfia* L. (Apocynaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 41, n. 1, p. 175-184, 2018.
- KOTOVSKI, E. R. **Morfoanatomia floral em Allamanda L. (Apocynaceae, Rauvolfioideae)**. 2013. Dissertação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.
- OLIVEIRA, J.M.S. MARIATH, J.E.A. DALVA MARIA BUENO, D.M. Desenvolvimento floral e estaminal no clone CP76 de *Anacardium occidentale* L. cajueiro-anão precoce (Anacardiaceae) **Revta brasil. Bot.**, São Paulo, V.24, n.4, p.377-388, dez. 2001
- PACINI, E.; FRANCHI, G. G. Pollen biodiversity—why are pollen grains different despite having the same function? A review. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 193, n. 2, p. 141-164, 2020.
- PECHAN, P. M., & SMYKAL, P. Androgenesis: Affecting the fate of the male gametophyte. **Physiologia Plantarum**, 111(1), 1–8. 2001. doi:10.1034/j.1399-3054.2001.1110101.x –
- ROMAHN, V. Enciclopédia ilustrada das plantas & flores: suculentas, samambaias e aquáticas. São Paulo: Editora Europa, 2012.
- Rudolf L Verhoeven, Sigrid Liede & Mary E Endress (2003) The tribal position of *Fockea* and *Cibirhiza* (Apocynaceae: Asclepiadoideae): evidências de estrutura de pólen e dados de sequência de cpDNA, *Grana*, 42: 2, 70-81, DOI: [10.1080 / 00173130310012549](https://doi.org/10.1080/00173130310012549)
- SANTOS, M. M.; COSTA R. B.; CUNHA, P. P.; SELEGUINI, A. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (*Adenium obesum*). *Multi- ScienceJournal*, v.1, n.3, p. 79-82, 2005.
- Sud KC. A contribution to the embryology of **Trachelospermum fragrans** Hook.f. (Apocynaceae). *Proc Indian Acad Sci Plant Sci* 93:495–501 1984.
- VAN DER HAM R, ZIMMERMANN YM, NILSSON S, IGER SHEIM A. Pollen morphology and phylogeny of Alyxieae (Apocynaceae). **Grana** 40:169-191. 2001.
- VITAL, F. A. Z.; NAKAMURA, A. T. Androecium development of *Oxypetalum appendiculatum* Mart. (Apocynaceae): A Taxonomic Approach. **Scientific Electronic Archives**, v. 11, n. 5, p. 130-139, 2018.
- VITAL, F.A.Z. **Aspectos morfológicos da flor e do desenvolvimento do Androceu de *Oxypetalum Appendiculatum* mart. (Apocynaceae, Asclepiadoideae)**. 2015. Dissertação, Universidade Federal de Lavras, Lavras. Minas Gerais

## 5. CONCLUSÕES

Com base dos dados obtidos do presente trabalho, pode-se concluir:

- Em relação à parede da antera, as características encontradas são as seguintes: cinco estratos parietais, sendo eles, epiderme, endotécio com espessamento de lignina no final do desenvolvimento, duas camadas médias e tapete do tipo secretor com apenas um núcleo. São características presentes na maioria das Apocynaceae;
- O tapete é totalmente consumido após a fase de vacuolização dos microgametofitos jovens;
- A citocinese encontrada é do tipo simultânea;
- As tétrades de *A. obesum* são tetraédricas;
- Os grãos de pólen são bicelulares;
- Os grãos de pólen apresentam amido como reserva energética.