

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DOS NECTÁRIOS FLORAIS DE *DOMBEYA WALLICHII* (LINDL.) K. SCHUM. E *DOMBEYA NATALENSIS* SOND. (MALVACEAE)**JOECILDO FRANCISCO ROCHA**

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 74582, Seropédica, 23890-000, Rio de Janeiro, Brasil; e-mail: joecildo@ufrj.br

RAFAEL RIBEIRO PIMENTEL

Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do Museu Nacional/UFRJ, Horto Botânico, Quinta da Boa Vista, s.n., São Cristóvão, Rio de Janeiro, 20940-040, Rio de Janeiro, Brasil

MARIA MERCEDES TEIXEIRA DA ROSA

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 74582, Seropédica, 23890-000, Rio de Janeiro, Brasil

SILVIA RODRIGUES MACHADO

Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Caixa Postal 510, Botucatu, 18618-000, São Paulo, Brasil

RESUMO: No presente trabalho, foram estudados os nectários florais de *Dombeya wallichii* (Lindl.) K. Schum. e *Dombeya natalensis* Sond., duas espécies de importância apícola e ornamental pertencentes à família Malvaceae. A análise dos resultados mostrou que os nectários localizam-se no cálice, na face adaxial da base de cada sépala, e que são constituídos por numerosos tricomas secretores claviformes, pluricelulares e por um parênquima subglandular vascularizado predominantemente por floema. Os nectários de ambas as espécies estudadas são estruturalmente semelhantes. Os testes histoquímicos revelaram a presença de açúcares redutores, substâncias lipídicas, polissacarídeos ácidos e neutros, substâncias fenólicas e proteínas nas células dos tricomas e do parênquima subglandular em ambas as espécies.

PALAVRAS-CHAVE: Ecologia, estruturas secretoras, néctar, secreção.

ANATOMY AND HISTOCHEMISTRY OF THE FLORAL NECTARIES OF *DOMBEYA WALLICHII* (LINDL.) K. SCHUM. AND *DOMBEYA NATALENSIS* SOND. (MALVACEAE)

ABSTRACT: In this work we studied the floral nectaries of *Dombeya wallichii* (Lindl.) K. Schum. and *Dombeya natalensis* Sond., two species of the Malvaceae family that are important in apiculture and as ornament. The results showed nectaries in the calix, in the adaxial face of the sepal bases, and that are composed of claviform secretory multicellular trichomes and subglandular parenchyma vascularized predominantly by phloem. The nectaries of both species studied have similar structures. Histochemical tests showed the presence of reducing sugar, lipids, acid and neuter polysaccharides, phenolic substances, and proteins in trichome cells in both species.

KEY WORDS: Ecology, secretory structures, nectar, secretion.

INTRODUÇÃO

D*ombeya wallichii* (Lindl.) K. Schum., conhecida como dombeia ou astrapeia-rosa, é uma espécie originária de Madagascar, caracterizada por se apresentar como arbustos ou arvoretas com flores rosas reunidas em umbelas globosas com longos pedúnculos pendentes (Lorenzi & Souza, 2001). É largamente cultivada no Brasil, apresentando destacada importância apícola e ornamental, sendo utilizada em projetos de urbanização e paisagismo (Gonçalves et al., 2004; Pivetta & Silva Filho, 2002; Taura & Larroca, 2001; Toledo et al., 2003).

Dombeya natalensis Sond., conhecida como astrapeia, é uma espécie ornamental e melífera de origem africana, representada por arbustos ou arvoretas com flores brancas reunidas em umbelas (Knoll et al., 1993; Wiese, 1980).

Nectários extraflorais e florais são de ocorrência comum em representantes da família Malvaceae, constituindo valioso caráter taxonômico e de grande importância ecológica (Judd et al., 2009; Vogel, 2000). Os nectários florais ocorrem em ambas as faces das sépalas; na face abaxial, situam-se sobre a nervura mediana, enquanto na face adaxial, localizam-se na base das sépalas (Gunning & Hughes, 1976; Sawidis, 1998; Sawidis et al., 1989). Estruturalmente, são constituídos por inúmeros tricomas secretores multicelulares e multisseriados associados a um parênquima subglandular (Judd et al., 2009; Rocha et al., 2002; Sawidis 1991, 1998; Sawidis et al., 1987a,b, 1989; Vogel, 2000).

A secreção produzida pelos nectários constitui importante fonte alimentar de grande valor nutricional, fazendo parte da dieta de uma grande diversidade de insetos (Baker & Baker, 1990), sendo o néctar floral o recurso mais comumente oferecido pelas plantas aos polinizadores (Faegri & Van der Pijl, 1980).

O conhecimento da organização anatômica das estruturas secretoras, associado ao estudo da composição química da secreção, aos aspectos do desenvolvimento e da ultraestrutura das suas células permite avaliar o seu funcionamento e auxilia na elucidação dos possíveis papéis desempenhados pela secreção no corpo vegetal (Fahn, 1979 a,b; Machado, 2000; Roshchina & Roshchina, 1993).

Assim, os objetivos deste trabalho foram investigar a anatomia e a histoquímica, além de observar os visitantes florais de *D. wallichii* e *D. natalensis*, visando ampliar o conhecimento sobre a morfologia, o funcionamento e os possíveis papéis desempenhados pelos nectários destas espécies.

MATERIAIS E MÉTODOS

O material botânico foi coletado no Jardim Botânico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus de Seropédica, em 5 de agosto de 2005. Exemplares de *D. wallichii* e *D. natalensis* encontram-se depositados no Herbário RBR do Departamento de Botânica da UFRRJ, registrados com os números RBR 15947 e RBR 15948, respectivamente.

Para a caracterização da estrutura anatômica dos nectários, amostras foram fixadas em FAA 50 (Johansen, 1940), desidratadas em série etílica, incluídas em Historessin® (Leica)(Gerrits, 1991) e seccionadas em micrótomo rotativo. As secções (3-6 mm) foram coradas com azul de toluidina a 0,05% em tampão acetato, pH 4,3 (O'Brien et al., 1964) e montadas entre lâmina e lamínula com resina sintética (Gerlach, 1969).

Secções de material recém-coletado, não fixado, obtidas com auxílio do micrótomo de Ranvier, foram observadas antes da aplicação de quaisquer reagentes. Para os testes histoquímicos, as secções foram tratadas com Sudan IV (Johansen, 1940) e Sudan Black B (Pearse, 1980) para detectar a presença de lipídeos em geral; cloreto férrico a 10% (Johansen, 1940) e dicromato de potássio 10% (Gabe, 1968) para compostos fenólicos; vermelho de rutênio para substâncias pécticas (Jensen, 1962; Johansen, 1940); reagente de Fehling para açúcares redutores (Purvis et al., 1964); lugol para amido (Johansen, 1940); ácido periódico/reagente de Schiff (PAS) para polissacarídeos neutros (Amaral et al. 2001; Taboga & Vilamaior, 2001); ácido acético e ácido clorídrico para identificar cristais de oxalato de cálcio (Howart & Horner, 1959); e solução de azul mercúrio de bromofenol para proteínas (Mazia et al., 1953). Foi aplicado tratamento controle para os testes histoquímicos, de acordo com a indicação dos respectivos autores acima citados.

As análises e as fotomicrografias foram feitas com auxílio dos microscópios Olympus CH30 e Olympus BX-51, com sistema de captura composto por câmera Q color 5 e software Image-Pro Express. Quando necessário, as imagens foram trabalhadas no software Photoshop 6.0 e as pranchas montadas utilizando o CorelDRAW 12.

RESULTADOS

DOMBEYA WALLICHII

Os nectários localizam-se na face adaxial da base de cada sépala (Figura 1A) e são constituídos por numerosos tricomas secretores claviformes, pluricelulares e por um parênquima subglandular vascularizado predominantemente por floema (Figuras 1B-1D). Os tricomas secretores são constituídos por uma célula basal, um pedúnculo curto unisseriado, uma porção intermediária bisseriada, que se torna frequentemente unisseriada na porção distal, e um ápice semigloboso uni ou bicelular (Figura 1D). As células dos tricomas apresentam paredes anticlinais espessas, revestidas por cutícula delgada, sendo o espessamento maior nas células do pedúnculo, e as paredes são impregnadas por substâncias lipídicas. Nessas células, o núcleo é evidente, o citoplasma é denso e notam-se numerosos vacúolos. O parênquima subglandular é constituído por vários estratos celulares (Figura 1B), cujas células possuem paredes delgadas e de natureza pecto-celulósica; têm formas e tamanhos variados, com arranjo compacto (Figura 1C). Cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa e prismáticos são vistos por todo o parênquima.

Os testes histoquímicos revelaram a presença de açúcares redutores (glicose e frutose), substâncias lipídicas, polissacarídeos ácidos e neutros, proteínas e substâncias fenólicas nas células dos tricomas e do parênquima subglandular. As substâncias fenólicas detectadas no parênquima subglandular ocorrem em idioblastos isolados e/ou em grupos (Figuras 1B e 1C).

As observações de campo mostraram grande diversidade de insetos, predominantemente himenópteros (abelhas) e hemípteros (percevejos) visitando as flores ao longo do dia.

DOMBEYA NATALENSIS

A estrutura do nectário de *D. natalensis* é muito semelhante à observada e descrita para *D. wallichii* (Figuras 1E-1H) e os testes histoquímicos revelaram a presença das mesmas classes de substâncias químicas.

Com relação à visitação, as observações de campo comprovaram que as flores de *D. natalensis* também são visitadas ao entardecer por lepidópteros (mariposas), além de himenópteros (abelhas) e hemípteros (percevejos).

DISCUSSÃO

As flores de Malvaceae apresentam grande diversidade morfológica e atraem abelhas, vespas, formigas, moscas, mariposas, aves e morcegos, sendo o néctar secretado na superfície interna das sépalas (Judd et al., 2009) o tipo de recompensa que mais comumente as plantas oferecem como recurso alimentar na atração dos polinizadores (Faegri & Van der Pijl, 1980).

Os nectários de *D. wallichii* e *D. natalensis* são constantemente visitados por grande número de insetos, principalmente himenópteros (abelhas), fato observado por Wiese (1980). Souza et al. (1993) citaram a coleta de pólen e néctar de *D. wallichii* por diferentes espécies de abelhas.

Gaglianone (2000a,b) estudou a biologia floral de 17 espécies de Malvaceae e verificou que estas são visitadas por 93 espécies de abelhas, as quais coletam pólen e néctar e promovem a polinização, com exceção de algumas espécies de abelhas de pequeno porte. Embora as observações de campo tenham mostrado grande espectro de insetos visitando os nectários de *D. wallichii* e *D. natalensis*, não são suficientes para comprovar que estes efetivamente promovam a polinização. Pivetta & Silva Filho (2002) citaram a dificuldade de encontrar sementes de espécies de *Dombeya*, carecendo-se de dados sobre a sua frutificação no Brasil. Esse fato pode estar relacionado ao caráter exótico de ambas as espécies; porém, para comprovar esta hipótese, são necessários estudos detalhados acerca de sua biologia reprodutiva.

A presença de hemípteros (percevejos) visitando os nectários de ambas as espécies

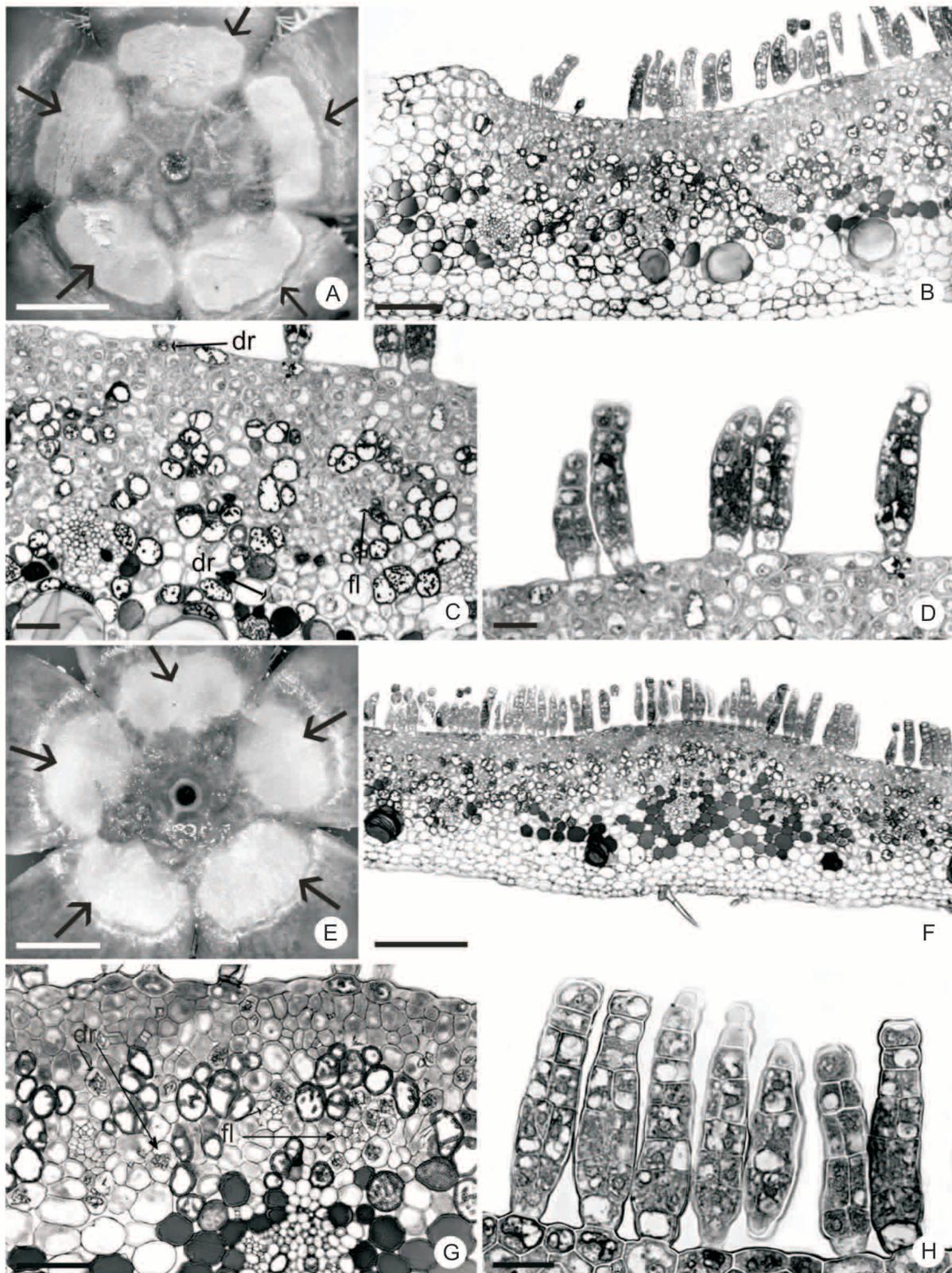


Figura 1 – A-D. *Dombeya wallichii*. **A.** Detalhe do cálice mostrando os cinco nectários (setas); **B.** Secção transversal mostrando o aspecto geral do nectário; **C.** Detalhe do parênquima subglandular em secção transversal destacando floema (fl) e idioblastos de drusa (dr); **D.** Secção transversal mostrando detalhe dos tricomas secretores. **E-H.** *Dombeya natalensis*; **E.** Detalhe do cálice mostrando nectários na base das sépalas (setas); **F.** Secção transversal mostrando o aspecto geral do nectário; **G.** Secção transversal do nectário mostrando detalhe do parênquima subglandular vascularizado por floema (fl) e destacando idioblastos de drusa (dr); **H.** Secção transversal mostrando tricomas secretores. Barras: (A, E) 1,5 mm; (B, F) 100 mm; (C, D, G, H) 25 mm.

pode ser atribuída à sua intensa vascularização, principalmente por floema, ou à utilização direta do néctar, o qual, por ser encontrado em abundância nestas espécies, pode favorecer o oportunismo. De acordo com Edwards & Wratten (1981), o floema é o tecido usualmente explorado por percevejos, os quais buscam uma fonte de alimentos rica em açúcares, nitrogênio e outros nutrientes.

A visita de lepidópteros (mariposas) exclusivamente nos nectários de *D. natalensis*, possivelmente, está relacionada com a cor branca das pétalas desta espécie, dado que se encontra de acordo com as observações de Percival (1965) ao relatar maior tendência de polinização de flores brancas, creme e amarelo-claras por mariposas. Segundo Nicolson (2007), os insetos das ordens Diptera, Lepidoptera e Hymenoptera estão entre os maiores consumidores de néctar floral e relacionados com a polinização de diversas angiospermas.

Na presente pesquisa, as observações de campo revelaram a presença de aranhas visitando os espécimes estudados durante o período de floração. Essa visitação é notoriamente reduzida quando os espécimes encontram-se em sua fase vegetativa. Nicolson (2007) mencionou o néctar floral como uma importante fonte de água e energia para várias aranhas. A visita das aranhas nas espécies de *Dombeya* estudadas pode estar relacionada com o postulado pela referida autora ou com a grande diversidade de insetos atraídos pelo néctar, levando a inferências sobre a função e os possíveis papéis biológicos desempenhados pelos nectários.

A grande diversidade de insetos visitando as flores de ambas as espécies possivelmente está relacionada com a presença, no néctar, de diferentes classes de substâncias químicas identificadas nas células dos nectários. Embora a análise química do néctar não tenha sido realizada, os testes histoquímicos revelaram a presença de açúcares, proteínas e lipídeos, substâncias que, conforme apontado por Baker & Baker (1990), são de grande valor nutricional para diversos visitantes.

Os resultados apresentados mostram que os nectários de *D. wallichii* e *D. natalensis* apresentam organização anatômica muito semelhante e são estruturalmente similares aos

registrados para diversos gêneros de Malvaceae (Rocha, 2004; Rocha et al., 2002; Sawidis, 1991, 1998; Sawidis et al., 1987a,b, 1989; Vogel, 2000).

Nectários florais compostos por tricomas multicelulares claviformes, os quais usualmente se aproximam formando um “carpete” de pelos e parênquima subglandular, são citados por Fahn (2000) e Vogel (2000) como caráter significativo de Malvaceae.

O espessamento de natureza lipídica observado nas paredes anticlinais das células do pedúnculo dos tricomas é uma característica comum a muitos tricomas secretores, sendo resultado do processo de impregnação das paredes anticlinais, similar ao que ocorre nas células da endoderme (Fahn, 2000). Gunning & Hughes (1976) e Sawidis et al. (1987a,b, 1989) consideraram tais espessamentos em células de tricomas secretores como uma barreira que previne o fluxo apoplástico de substâncias.

O parênquima subglandular apresenta células com arranjo compacto, paredes delgadas, núcleo conspícuo e citoplasma denso, características que as diferenciam das células parenquimáticas adjacentes. Células com essas características foram descritas em diferentes táxons (Belin-Depoux & Clair-Maczulajtys, 1975; Gunning & Hughes, 1976; Machado, 1999; Rocha, 2004; Sawidis et al., 1987a, 1989; Wergin et al., 1975) e têm recebido atenção especial, visto que estão ativamente envolvidas no processo de descarregamento de fotoassimilados, produção e transporte dos precursores do néctar.

De acordo com Nepi (2007), as primeiras camadas desse tecido, compostas por células pequenas de paredes delgadas e citoplasma denso, são denominadas parênquima nectarífero e estão diretamente envolvidas com a produção do néctar, podendo este tecido ser vascularizado por floema. Ainda conforme o mesmo autor, o tecido abaixo do parênquima nectarífero apresenta feixes vasculares e possui células maiores de citoplasma menos denso e espaços intercelulares maiores, sendo denominado parênquima subnectarífero.

A presença de cristais de oxalato de cálcio em células nectaríferas é de ocorrência comum e relatada para diferentes táxons (Arbo, 1972, 1973; Castro et al., 2001; Cristobal &

Arbo, 1971; Machado, 1999; Paiva et al., 2001; Paiva & Machado, 2006, 2008; Rocha, 2004; Rocha et al., 2002; Sawidis, 1998).

Böhmker & Koernicke (1917, 1918 apud Arbo, 1972) estabeleceram uma possível relação entre a secreção de néctar e a presença de cristais de oxalato de cálcio em células nectaríferas. Arbo (1972) detectou a presença de grande quantidade de cristais de oxalato de cálcio no parênquima subglandular dos nectários extraflorais de *Byttneria*; entretanto, de acordo com suas observações, não há relação entre os cristais de oxalato de cálcio e o tecido nectarífero, visto que os cristais também são abundantes em outras regiões da folha que não são secretoras. Webber (1938) verificou, em nectários extraflorais de espécies de *Gossypium*, que a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa é particularmente abundante no tecido subglandular. Machado (1999) também observou abundância de cristais de oxalato de cálcio nos nectários extraflorais de *Citharexylum mirianthum*. De acordo com a autora, a presença desses cristais somente nas células nectaríferas, provavelmente, está relacionada com processos metabólicos diferenciais de tais células, corroborando as observações de Böhmker e Koernicke (1917, 1918 apud Arbo, 1972).

Rocha (2004) e Rocha et al. (2002) mencionaram que, em *Hibiscus pernambucensis* e *Hibiscus tiliaceus*, os cristais de oxalato de cálcio não ocorrem exclusivamente nas células nectaríferas, porém são mais abundantes em tais células, concordando com as interpretações feitas por Böhmker e Koernicke (1917, 1918 apud Arbo, 1972) e Machado (1999). Nas espécies estudadas, em relação aos cristais de oxalato de cálcio, foi observada situação semelhante à descrita por Rocha (2004) e Rocha et al. (2002) para os nectários de *H. pernambucensis* e *H. tiliaceus* e por Paiva & Machado (2006) para os nectários de *Hymenaea stigonocarpa*.

Nos nectários florais de *D. wallichii* e *D. natalensis*, notam-se feixes vasculares com predominância de floema vascularizando o parênquima subglandular. Característica semelhante foi relatada para os nectários florais de *Hibiscus rosa-sinensis* por Sawidis (1998) e Sawidis et al. (1987a,b) e de *H. pernambucensis* por Rocha (2004). Metcalfe & Chalk (1979)

relataram que os nectários florais tendem a apresentar vascularização constituída unicamente por floema. A formação de elementos de floema por entre as células secretoras foi também observada por Zer & Fahn (1992). Já para Frey-Wyssling (1955) e Sawidis et al. (1987a), há correlação positiva entre a quantidade de açúcar no néctar e a quantidade de elementos de floema presentes no nectário.

Nos nectários de *D. wallichii* e *D. natalensis*, no presente estudo, foram detectados açúcares redutores, substâncias lipídicas, substâncias fenólicas, compostos proteicos e polissacarídeos ácidos e neutros. De acordo com Fahn (1979a), os constituintes mais comuns do néctar são sacarose, glicose e frutose, sendo o néctar extrafloral de composição similar ao floral (Koptur, 1992). No entanto, outras substâncias, como aminoácidos, proteínas, mucilagens, lipídeos, alcaloides, substâncias fenólicas, terpenoides, glicosídeos, ácidos orgânicos, íons minerais, vitaminas, antibióticos e antioxidantes, são relatadas por diversos autores como parte integrante da composição do néctar de diferentes táxons (Baker & Baker, 1983, 1990; Fahn, 2000; Nicolson & Thornburg, 2007; Roshchina & Roshchina, 1993; Stefano et al., 2001).

Nas células dos nectários das espécies estudadas, foram detectados açúcares redutores (glicose e frutose). De acordo com diferentes autores (Butler et al., 1972; Hanny & Elmore, 1974; Leitão et al., 2005; Reed et al., 1971; Scogin, 1979), o néctar floral e extrafloral de Malvales é composto por maior concentração de glicose e frutose em relação à sacarose, além de apresentar aminoácidos, proteínas e flavonoides.

Os polissacarídeos presentes nas células dos nectários podem ser de grande valor, não somente nutricional, mas também por desempenhar importante função para as estruturas em desenvolvimento, protegendo-as contra a dessecação, conforme postulado por Lüttge & Schnepf (1976) e Meyberg (1988). Além das referidas funções, a mucilagem pode funcionar na preservação de alguns componentes da secreção exposta na superfície (Machado, 1999). Ao descrever o tecido subglandular dos nectários de *H. rosa-sinensis*, Sawidis (1991, 1998) observou a presença de células mucilaginosas

e células com óleo. De acordo com o autor, a mucilagem tem importante papel na regulação da economia de água, que é decisiva na secreção do néctar, e o óleo protege principalmente os tecidos que contêm açúcares contra herbivoria. Além da função atribuída pelo referido autor, as substâncias lipídicas, provavelmente, apresentam grande valor nutricional na dieta dos insetos visitantes (Baker & Baker, 1990). Machado (1999) afirmou que os lipídeos detectados nos nectários de *Citharexylum mirianthum* servem como fonte de energia e/ou de reserva; ademais, podem funcionar na atração ou repelência de visitantes (Rodríguez et al., 1984).

Os compostos fenólicos identificados nas células dos nectários das espécies estudadas podem oferecer proteção contra herbívoros, micro-organismos, excesso de radiação ultravioleta e, ainda, proteger o protoplasto celular mantendo sua integridade quando sujeito ao estresse hídrico (Fahn, 1979a; Paiva & Machado, 2008; Taiz & Zeiger, 2002).

Diante do exposto, pode-se concluir que a presença de tricomas secretores, compondo os nectários florais de *D. wallichii* e *D. natalensis*, está de acordo com as observações registradas para diferentes espécies da família Malvaceae, constituindo uma das características que corroboram seu estabelecimento como um grupo monofilético (Judd et al., 2009). A secreção produzida pelos nectários está envolvida na manutenção de interações com amplo espectro de insetos visitantes, o que constitui um bom modelo para a realização de estudos experimentais com abordagem ecológica.

AGRADECIMENTOS

Ao Pesquisador do Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Massimo Giuseppe Bovini, pela identificação das espécies. À Professora Marilena Menezes da Silva Conde pelo auxílio prestado e bibliografia cedida. Ao Dr. Max Valério Dória Barbosa pela versão do resumo em inglês. À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento de projetos na área de anatomia vegetal.

REFERÊNCIAS

- Amaral, L. I. V., M. F. Pereira & A. L. Cortelazzo.** 2001. Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. – Bixaceae). *Acta Bot. Bras.* 15: 125-132.
- Arbo, M. M.** 1972. Estructura y ontogenia de los nectarios foliares del género *Byttineria* (Sterculiaceae). *Darwiniana* 17: 104-158.
- Arbo, M. M.** 1973. Los nectarios foliares de *Megatritheca* (Sterculiaceae). *Darwiniana* 18: 272-276.
- Baker, H. G. & I. Baker.** 1983. A brief historical review of the chemistry of the floral nectar, p. 126-152. *In:* B. Bentley & T. S. Elias (Eds), *The biology of nectaries*. New York, Columbia University Press.
- Baker, H. G. & I. Baker.** 1990. The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinator type. *Israel J. Bot.* 39: 157-166.
- Belin-Depoux, M. & D. Clair-Maczulajtys.** 1975. Introduction a l'étude des glandes foliaires de l'*Aleurites moluccana* Willd. II. Aspects histologiques de la glande pétiolaire fonctionnelle. *Rev. Gén. Bot.* 82: 119-155.
- Butler, G. D., G. M. Loper, S. E. McGregor, J. L. Webster & H. Margolis.** 1972. Amounts and kinds of sugars in the nectars of cotton (*Gossypium* spp.) and the time of their secretion. *Agron. J.* 64: 364-368.
- Castro, M. A., A. S. Vega & M. E. Mulgura.** 2001. Structure and ultrastructure of leaf and calix glands in *Galphimia brasiliensis* (Malpighiaceae). *Am. J. Bot.* 88: 1935-1944.
- Cristobal, C. L. & M. M. Arbo.** 1971. Sobre las especies de *Ayenia* (Sterculiaceae) con nectarios foliares. *Darwiniana* 16: 603-612.
- Edwards, P. J. & S. D. Wratten.** 1981. *Ecologia das interações entre insetos e plantas*. Tradução Vera Lúcia Imperatriz Fonseca. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 71 p.
- Faegri, K. & L. Van Der Pijl.** 1980. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, New York.

- Fahn, A.** 1979a. Secretory tissues in plants. Academic Press, London.
- Fahn, A.** 1979b. Ultrastructure of nectaries in relation to nectar secretion. *Am. J. Bot.* 66: 977-985.
- Fahn, A.** 2000. Structure and function of secretory cells. *Adv. Botan. Res.* 31: 37-75.
- Frey-Wissling, A.** 1955. The phloem supply to the nectaries. *Acta Bot. Neerl.* 4: 358-369.
- Gabe, M.** 1968. Techniques histologiques. Masson & Cie, Paris.
- Gaglianone, M. C.** 2000a. Biologia floral de espécies simpátricas de Malvaceae e suas abelhas visitantes. *Biociências* 8: 13-31.
- Gaglianone, M. C.** 2000b. Behavior on flowers, structures associated to pollen transport and nesting biology of *Perditomorpha brunerii* and *Cephalurgus anomalus* (Hymenoptera: Colletidae, Andrenidae). *Rev. Biol. Trop.* 48: 89-99.
- Gerlach, D.** 1969. Botanische Mikrotechnik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Gerrits, P. O.** 1991. The application of glycol methacrylate in histotechnology: some fundamental principles. Department of Anatomy and Embriology, State University of Gröningen, Gröningen.
- Gonçalves, E. O., H. N. Paiva, W. Gonçalves & L. A. G. Jacovine.** 2004. Diagnóstico dos viveiros municipais no Estado de Minas Gerais. *Ciênc. Flor.* 14: 1-12.
- Gunning, B. E. S. & J. E. Hughes.** 1976. Quantitative assessment of symplastic transport of pre-nectar into the trichomes of *Abutilon* nectaries. *Austr. J. Plant Physiol.* 3: 619-637.
- Hanny, B. W. & C. D. Elmore.** 1974. Amino acid composition of cotton nectar. *J. Agron. Food Chem.* 22: 476-478.
- Howart, W. O. & L. G. G. Horner.** 1959. Practical botany for the tropics. University of London, London.
- Jensen, W. A.** 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. W. H. Freeman & Co, San Francisco.
- Johansen, D. A.** 1940. Plant microtechnique. MacGraw-Hill, New York.
- Judd, W. S., C. S. Campbell, E. A., Kellogg, P. F. Stevens & M. J. Donoghue.** 2009. Sistemática vegetal: um enfoque filogenético. 3. ed. Artmed, Porto Alegre.
- Knoll, F. R. N., L. R. Bego & V. L. Imperatriz-Fonseca.** 1993. Abelhas em áreas urbanas: um estudo no Campus da Universidade de São Paulo, p. 31-42. *In: J. R. Pirani & M. Cortopassi-Laurino (Eds), Flores e abelhas em São Paulo.* São Paulo, EDUSP/FAPESP.
- Koptur, S.** 1992. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants, p. 81-129. *In: E. Bernays, (Ed), Insect-plant interactions.* Boca Raton, CRC.
- Leitão, C. A. E., R. M. S. A. Meira, A. A. Azevedo, J. M. Araújo, K. L. F. Silva & R. G. Collevatti.** 2005. Anatomy of the floral, bract, and foliar nectaries of *Triumfetta semitriloba* (Tiliaceae). *Can. J. Bot.* 83: 279-286.
- Lorenzi H. & V. C. Souza.** 2001. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3. ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa.
- Lüttge, U. & E. Schnepf.** 1976. Elimination processes by glands. Organic substances, p. 244-277. *In: V. Lüttge & M. G. Pitman (Eds), Transport in plants. II. Encyclopedia of plant physiology.* New York, Springer-Verlag.
- Machado, S. R.** 1999. Estrutura e desenvolvimento de nectários extraflorais de *Citharexylum mirianthum* Cham. (Verbenaceae). Tese de livre docência. Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Machado, S. R.** 2000. Aspectos subcelulares da secreção, p. 90-94. *In: T. B. Cavalcanti & B. M. T. Walter (Coords), Tópicos atuais em botânica: Palestras convidadas do 51º Congresso Nacional de Botânica.* Brasília, DF, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Sociedade Botânica do Brasil.
- Mazia, D., P. A. Brewer & M. Alfert.** 1953. The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *Biol. Bull.* 104: 57-67.

- Metcalf, C. R. & L. Chalk.** 1979. Anatomy of the dicotyledons. v. 1. 2. ed. Clarendon, Oxford.
- Meyberg, M.** 1988. Cytochemistry and ultrastructure of the mucilage secreting trichomes of *Nymphoides peltata* (Menyanthaceae). *Ann. Bot.* 62: 537-547.
- Nepi, M.** 2007. Nectary structure and ultrastructure, p. 129-166. *In:* S. W. Nicolson, M. Nepi, & E. Pacini (Eds), Nectaries and nectar. Dordrecht, Springer.
- Nicolson, S. W.** 2007. Nectar consumers, p. 289-342. *In:* S. W. Nicolson, M. Nepi & E. Pacini (Eds), Nectaries and nectar. Dordrecht, Springer.
- Nicolson, S. W. & R. W. Thornburg.** 2007. Nectar chemistry, p. 215-264. *In:* S. W. Nicolson, M. Nepi & E. Pacini (Eds), Nectaries and nectar. Dordrecht, Springer.
- O'Brien, T. P., N. Feder & M. E. McCully.** 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. *Protoplasma* 59: 368-373.
- Paiva, E. A. S., H. C. Moraes, R. M. S. Isaias, D. M. S. Rocha, & P. E. Oliveira.** 2001. Occurrence and structure of extrafloral nectaries in *Pterodon pubescens* Benth. and *Pterodon polygalaeiflorus* Benth. (Fabaceae-Papilionoideae). *Pesq. Agropec. Bras.* 36: 219-224.
- Paiva, E. A. S. & S. R. Machado.** 2006. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Acta Bot. Bras.* 20: 471-482.
- Paiva, E. A. S. & S. R. Machado.** 2008. The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): structural aspects during floral development. *Ann. Bot.* 101: 125-133.
- Pearse, A. G. E.** 1980. Histochemistry theoretical and applied. v. 2. 4. ed. Longman, London.
- Percival, M.** 1965. Floral biology. Oxford, Pergamon.
- Pivetta, K. F. L. & D. F. Silva Filho.** 2002. Arborização urbana. Boletim acadêmico Série Urbanização Urbana UNESP/FCAV/FUNEP, Jaboticabal.
- Purvis, M. J., D. C. Collier & D. Walls.** 1964. Laboratory techniques in botany. Butterworths, London.
- Reed, M. L., N. Findlay & F. V. Mercer.** 1971. Nectar production in *Abutilon*. IV. Water and solute relations. *Aust. J. Biol. Sci.* 24: 677-688.
- Rocha, J. F.** 2004. Estruturas secretoras em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): anatomia, desenvolvimento, histoquímica e ultra-estrutura. Tese de Doutorado. UNESP, Botucatu.
- Rocha, J. F., L. J. Neves & L. B. Pace.** 2002. Estruturas secretoras em folhas de *Hibiscus tiliaceus* L. e *Hibiscus pernambucensis* Arruda. *Rev. Univers. Rural, Série Ciências de Vida* 22:43-55.
- Rodriguez, E., P. L. Healey, & I. Mehta.** 1984. Biology and chemistry of plant trichomes. Plenum, New York.
- Roshchina, V. V. & V. D. Roshchina.** 1993. The excretory function of higher plants. Springer-Verlag, Berlin.
- Sawidis, T. H.** 1991. A histochemical study of nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis*. *J. Experim. Bot.* 24: 1477-1487.
- Sawidis, T. H.** 1998. The subglandular tissue of *Hibiscus rosa-sinensis* nectaries. *Flora* 193: 327-335.
- Sawidis, T. H., E. P. Eleftheriou, & I. Tsekos.** 1987a. The floral nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis*. I. Development of the secretory hairs. *Ann. Bot.* 59:643-652.
- Sawidis, T. H., E. P. Eleftheriou, & I. Tsekos.** 1987b. The floral nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis* L. II. Plasmodesmatal frequencies. *Phyton* 27: 155-164.
- Sawidis, T. H., E. P. Eleftheriou, & I. Tsekos.** 1989. The floral nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis*. III. A morphometric and ultrastructural approach. *Nordic J. Bot.* 9: 63-71.
- Scogin, R.** 1979. Nectar constituents in the genus *Fremontia* (Sterculiaceae): sugars, flavonoids and proteins. *Bot. Gaz.* 140: 29-31.
- Souza, V. C., M. Cortopassi-Laurino, R. Simão-Bianchini, J. R. Pirani, M. L. Azoubel, L. S. Guibu & T. C. Giannini.** 1993. Plantas apícolas de São Paulo e arredores,

p. 43-67. In: J. R. Pirani & M. Cortopassi-Laurino (Eds), Flores E ABELHAS em São Paulo. São Paulo, EDUSP/FAPESP.

- Stefano, M., A. Papini, C. Andalo & L. Brighigna.** 2001. Ultrastructural aspects of the hypanthial epithelium of *Selenicereus grandiflorus* (L.) Britton & Rose (Cactaceae). *Flora* 196: 194-203.
- Taboga, S. R. & P. S. L. Vilamaior.** 2001. Citoquímica, p. 19-27. In: H. F. Carvalho & S. M. Recco-Pimentel (Eds). *A célula* 2001. Barueri, Manoli Ltda.
- Taiz, L. & E. Zeiger.** 2002. *Plant physiology*. 2. ed. Sinauer Associates, Sunderland.
- Taura, H. M. & S. Larroca.** 2001. A associação de abelhas silvestres de um biótipo urbano de Curitiba (Brasil), com comparações espaço-temporais: abundância relativa, fenologia, diversidade e exploração de recursos (Hymenoptera, Apoidea). *Acta Biol. Par.* 30: 35-137.
- Toledo, V. A. A., A. E. T. Fritzen, C. A. Neves, M. C. C. Ruvolo-Takasusuki, S. H. Sofia & Y. Terada.** 2003. Plants and pollinating bees in Maringá, state of Paraná, Brazil. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 46: 705-710.
- Vogel, S.** 2000. Floral nectaries of the Malvaceae *sensu lato* – a conspectus. *Kurtziana* 28: 155-171.
- Webber, I. E.** 1938. Anatomy of leaf and stem of *Gossypium*. *J. Agric. Res.* 57: 269-286.
- Wergin, W. P., D. Elmore, B. W. Hanny & B. F. Ingber.** 1975. Ultrastructure of the subglandular cells from the foliar nectaries of cotton in relation to the distribution of plasmodesmata and the symplastic transport nectar. *Am. J. Bot.* 62: 842-849.
- Wiese, H.** 1980. *Nova apicultura*. Porto Alegre Agropecuária, Porto Alegre, 482 p.
- Zer, H. & A. Fahn.** 1992. Floral nectaries of *Rosmarinus officinalis* L. Structure, ultrastructure and nectar secretion. *Ann. Bot.* 70: 391-397.