

**Natalie do Valle Capelli**

**Evolução heterotópica dos nectários florais em  
Apocynaceae**

**Heterotopic evolution of floral nectaries in  
Apocynaceae**

Tese apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade de São  
Paulo, para a obtenção do título de  
Doutor em Ciências, área de  
concentração em Botânica

Orientador: Prof. Dr. Diego Demarco

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo José  
Pena Ferreira

São Paulo

2021

## RESUMO

Os nectários florais em Apocynaceae podem ocupar diferentes posições, apresentar diversas estruturas e estratégias para a liberação e armazenamento do néctar, sendo um bom modelo para o estudo da evolução desta glândula em relação à diversificação da família. Analisamos a estrutura, posição e origem dos nectários de Apocynaceae, com enfoque na sua evolução heterotópica. Para este estudo, utilizamos flores pertencentes aos grupos Rauvolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae e Asclepiadoideae. Nos grupos Rauvolfioideae e Apocynoideae, o nectário está presente em algumas espécies e ausente em outras. Em ambos os grupos, os nectários podem apresentar morfologias diversas, podendo ser inconspícuos, projeções laterais ao ovário ou formando um disco, contínuo ou lobado, ao redor do ovário ou no topo do ovário. Anatomicamente, esses nectários são compostos por epiderme e parênquima, ou apenas parênquima nectarífero. Quanto a liberação do néctar, pode ocorrer por meio da epiderme quando ela é nectarífera, por meio de estômatos quando apenas o parênquima é nectarífero, ou ainda, em alguns casos pode ser liberado de forma mista quando a epiderme é secretora e os estômatos também estão presentes. A origem destes nectários na maioria das espécies pertencentes a Rauvolfioideae é do ovário, e em poucas espécies do receptáculo; em Apocynoideae a origem pode ser do receptáculo, da corola ou do ovário. Nas flores de Asclepiadoideae, os nectários primários são originados do androceu, na região interestaminal do tubo dos filetes; adicionalmente alguns gêneros possuem nectários originários da corola, principalmente na posição estaminal (nectários secundários), e ainda podem apresentar nectários terciários quando existe uma corola anular. Os nectários, das Asclepiadoideae são compostos apenas por uma epiderme ou epiderme e mais algumas camadas de células de parênquima subepidérmico. Esses nectários não apresentam estômatos e o néctar é liberado diretamente pela epiderme. A heterotopia desses nectários florais pode refletir novas estratégias de polinização relacionadas à maior diversificação dessas flores dentro da família.

## **ABSTRACT**

Floral nectaries in the Apocynaceae family can occupy different positions, or present different structures and strategies for the release and storage of nectar, being a good model for the study of the evolution of this gland concerning the diversification of the family. We analyzed the structure, position, and origin of Apocynaceae nectaries, focusing on their heterotopic evolution. For this study, we used flowers belonging to the groups Rauvolfioideae, Apocynoideae, Periplocoideae, and Asclepiadoideae. In the Rauvolfioideae and Apocynoideae grades, nectary is present in some species and absent in others. In both grades, the nectaries may have different morphologies, which may be inconspicuous, projections lateral to the ovary, or forming a continuous or lobed disc around the ovary or on top of the ovary. Anatomically, these nectaries are composed of epidermis and parenchyma, or just by nectary parenchyma. As for the release of nectar, it can occur through the epidermis when it is nectariferous, through stomata when only the parenchyma is nectariferous, or even, in some cases it can be released in a mixed way when the epidermis is secretory and the stomata are also present. The origin of these nectaries in most species belonging to Rauvolfioideae is from the ovary, and in a few species from the receptacle; in Apocynoideae the origin may be from the receptacle, corolla, or ovary. In the flowers of Asclepiadoideae, the primary nectaries originate from the androecium, in the interstaminal areas of the filament tube; additionally, some genera have nectaries originating from the corona, mainly in the staminal position (secondary nectaries), and may also present tertiary nectaries when there is an annular corona. The nectaries of the Asclepiadoideae are composed only of either just an epidermis or epidermis and a few more layers of subepidermal parenchyma cells. These nectaries do not have stomata and the nectar is released directly from the epidermis. The heterotopy of these floral nectaries may reflect new pollination strategies related to the greater diversification of these flowers within the family.

## INTRODUÇÃO

Apocynaceae é uma das maiores famílias contidas no grupo das angiospermas, com aproximadamente 5.350 espécies contidas em 378 gêneros (Endress *et al.* 2018, 2019). É uma das famílias com maior representatividade no Brasil, com 974 espécies pertencentes a 94 gêneros (Flora do Brasil 2020, em construção). Atualmente, as espécies pertencentes à Apocynaceae são classificadas em cinco grandes grupos: grupos não-monofiléticos, informalmente tratados como rauvolfioides e apocynoides que são reconhecidos como grados, e três subfamílias monofiléticas (Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae) (Fishbein *et al.* 2018; Endress *et al.* 2018, 2019).

Nectários florais são glândulas responsáveis pela produção de néctar, que é o principal recurso alimentar oferecido a potenciais polinizadores (Fahn 1979; Bernardello 2007). As flores da família Apocynaceae apresentam nectários em diversas posições e com diferentes estruturas e estratégias de liberação e armazenamento do néctar (Demarco 2017; Monteiro & Demarco 2017). Estruturalmente, os nectários podem ser constituídos por epiderme e/ou parênquima. A epiderme pode ser composta por células secretoras alongadas em paliçadas ou por pequenas células não secretoras. Quando as células epidérmicas não são secretoras, frequentemente os estômatos estão presentes, e são uma via muito comum para a liberação de néctar (Fahn 1979, 2002; Durkee 1983; Bernardello 2007; Nepi 2007). Os estômatos envolvidos na liberação do néctar são caracterizados por terem perdido a capacidade de controlar sua abertura (Smets & Cresens 1988; Davis & Gunning; 1992, 1993; Razem & Davis 1999). A posição dos estômatos no nectário pode ser homogênea, ocupando toda a glândula, ou os estômatos podem estar restritos a alguns locais específicos (Tölke *et al.* 2018). Nos casos em que a epiderme é secretora (ou nectarífera) e não apresenta estômatos, o néctar é liberado através da parede celular e da cutícula (Stpiczyńska *et al.* 2003; Paiva 2016,

2017). O tipo de feixe vascular que supre o parênquima nectarífero pode, mais comumente, consistir apenas de floema, ou então de floema e xilema (Fahn 1979, 2000; Galetto & Bernardello 2004; Nicolson *et al.* 2007). No entanto, nenhum feixe específico irriga os nectários, sendo estes fornecidos pela vascularização dos órgãos localizados próximos a eles (Fahn 1979, 1988, 2000; Galetto 1995; Nicolson *et al.* 2007). Os feixes vasculares estão geralmente presentes no parênquima subnectarífero e podem conter floema ou xilema, ou ambos (Durkee 1983; Bernardello 2007; Nepi 2007). O suprimento vascular em alguns casos está correlacionado com a concentração de açúcar no néctar. Nectários que secretam néctar muito concentrado geralmente são vascularizados apenas pelo floema, enquanto baixas concentrações de açúcar ocorrem em nectários vascularizados igualmente pelo xilema e floema ou apenas pelo xilema (Wergin *et al.* 1975; Gunning & Hughes 1976; Sawidis *et al.* 1987; Dafni *et al.* 1988; Zer & Fahn 1992). As ramificações vasculares podem chegar ao parênquima do nectário e às vezes até a epiderme, mas geralmente apenas os elementos do floema são encontrados entre esses tecidos (Davis *et al.* 1988; Wist & Davis 2006; Nepi 2007).

Estruturas especializadas, como os nectários, podem mostrar tendências evolutivas em alguns grupos de plantas por terem características razoavelmente constantes ou mesmo por serem muito plásticas. Isso confere uma grande importância aos dados de ocorrência, posição e estrutura dos nectários para análises comparativas, visando acessar as relações entre os diferentes grupos de plantas (Nicolson *et al.* 2007).

Nas Rauvolfioideae e Apocynoideae, o nectário pode estar ausente ou presente, e morfológicamente podem ser inconspícuos, ou conspícuos. Quando conspícuos, podem apresentar-se como um disco contínuo ou lobado, ou como projeções se alternando em posição com os dois carpelos. Podem estar localizados ao redor, ou no

próprio ovário, e podem ter sido originados do receptáculo ou do ovário (Tostes *et al.* 2003; Morales 2004; Martins *et al.* 2013; Simões *et al.* 2016; Endress *et al.* 2019)

Nas Asclepiadoideae, o tecido nectarífero que ocorre primariamente na região interestaminal do tubo dos filetes (Kunze & Liede 1991; Kunze 1991, 1995, 1997; Endress 1994; Endress & Bruyns 2000; Vieira & Shepherd 2002; Demarco 2017; Monteiro & Demarco 2017) pode apresentar o néctar na própria câmara estigmática ou na corona ou ainda na base da corola junto ao ginostégio (Kunze 1991; Demarco 2017; Monteiro & Demarco 2017).

Woodson (1954) registrou células nectaríferas na corona estaminal de espécies de *Asclepias*; entretanto, a partir do trabalho de Galil e Zeroni (1965) com *Asclepias curassavica*, passou-se a admitir que há apenas cinco nectários (câmaras estigmáticas) e que o néctar flui através de passagens capilares até os contentores formados pela corona estaminal. Este ponto de vista foi adotado por diversos autores, que trabalharam com *Asclepias* (Kevan *et al.* 1989; Wyatt & Broyles 1994), *Calotropis* (Eisikowitch 1986) e outras 20 espécies de Asclepiadinae e quatro de Metastelmatinae (Kunze 1997; Liede 1997). Adicionalmente aos cinco nectários interestaminais, também chamados de primários, algumas espécies podem conter nectários secundários e terciários, e estes podem estar na corona e/ou na base dos estames.

Liede e Kunze (1993), viram a necessidade de propor um sistema de nomenclatura padronizado para os diferentes tipos de corona, pois diferentes autores estavam se utilizando diferentes nomenclaturas, o que dificultava posteriormente unir esses dados e fazer inferências evolutivas. Para a nomenclatura, utilizaram a identificação dos componentes da corona e a relação entre eles. Cada elemento, separadamente, foi nomeado: corona estaminal (Cs), corona interestaminal (Ci), corona

anular (Ca), e corona corolina (Cc). Também utilizamos essa no presente trabalho, visto que os tecidos nectaríferos podem também estar presentes na corona.

### ***Composição química do néctar***

O néctar consiste principalmente de açúcares, especialmente do dissacarídeo sacarose e dos monossacarídeos frutose e glicose (Nicolson & Thornburg 2007). Além disso, existem pequenas quantidades de outros monossacarídeos (manose, arabinose, xilose) e dissacarídeos (maltose, melibiose), bem como oligossacarídeos e álcoois de açúcar (Baker & Baker 1982, 1983; Nicolson & Thornburg 2007).

As possíveis correlações entre o tipo e a composição dos açúcares do néctar e o tipo de polinizadores associados têm sido discutidas há muito tempo. Flores com néctar com alto teor de sacarose são mais propensas a serem visitadas por abelhas, borboletas, mariposas e beija-flores, enquanto flores com néctares com alto teor de hexose são geralmente polinizadas por pequenos insetos não especializados, pássaros ou morcegos (Baker & Baker 1982, 1983; Nicolson & Thornburg 2007). Por outro lado, plantas com semelhantes concentrações e composição química de néctar, tendem a ter o mesmo tipo de polinizadores mais especializados. Néctar altamente concentrado está relacionado a flores polinizadas por insetos, enquanto flores polinizadas por pássaros e morcegos geralmente produzem néctar mais diluído (Baker & Baker 1982, 1983; Pyke & Waser 1981; Nicolson & Thornburg 2007).

Aminoácidos também estão comumente presentes no néctar. A sua concentração e composição podem variar significativamente dentro de uma população e até mesmo dentro de uma única planta (Gottsberger *et al.* 1981; Lanza *et al.* 1995; Petanidou *et al.* 1996). No entanto, a composição geral de aminoácidos é geralmente mais conservada do que as concentrações de aminoácidos individuais (Gardener &

Gillman, 2001). Os aminoácidos contribuem para o sabor do néctar e são importantes no que diz respeito aos tipos de polinizadores que visitam ou evitam as flores (Birch & Kemp 1989; Hansen *et al.* 1998; Wacht *et al.* 2000; Gardener & Gillman 2001, 2002).

Pequenas quantidades de outras substâncias também podem compor o néctar, como lipídeos, ácidos orgânicos, compostos fenólicos, alcaloides e terpenóides (Nicolson & Thornburg 2007). Em algumas espécies, essas substâncias, especialmente lipídeos, podem até compreender uma grande proporção dos solutos do néctar, que são então referidos como secreções mistas (Baker & Baker 1983; Nicolson & Thornburg 2007; Machado *et al.* 2008; Monteiro & Demarco 2017). Os lipídeos geralmente fornecem um sabor e odor específicos que podem ser essenciais para certos polinizadores; além disso, eles são duas vezes mais ricos em energia do que os açúcares e um importante recurso alimentar (Southwick 1990; Galetto & Bernardello 2005; Neff & Simpson 2005). Os principais lipídeos no néctar são ácidos graxos de diferentes comprimentos de cadeia, mas recentemente óleos voláteis, como monoterpenos, também foram identificados, produzidos pelo próprio nectário (Vogel 1971; Bernardello *et al.* 1999; Raguso 2004; Rering *et al.* 2017).

Diante de toda a diversidade citada acima, em nosso estudo, foram abordadas as seguintes questões específicas: (1) Como se apresentam os nectários florais, anatômica e morfológicamente, em Apocynaceae?; (2) Quais órgãos florais podem dar origem a esses nectários?; (3) Quais compostos químicos podem estar presentes no néctar? (4) Quais as possíveis relações da diversidade morfológica e química com os polinizadores?



## CONCLUSÃO

As flores de Apocynaceae apresentam uma grande diversidade morfológica e topológica dos nectários que podem apresentar diferentes funções, especialmente em Asclepiadoideae. A presença de nectários conspícuos que liberam o néctar através de estômatos ocorre apenas nos grados que derivaram primeiro, Rauvolfioideae e Apocynoideae. Os nectários das espécies pertencentes a esses grados, em sua maioria, têm origem ovariana. Também é nestas linhagens que derivaram primeiro que está presente a maior diversidade morfológica, podendo haver de um até cinco nectários ao redor do ovário, conspícuos ou inconspícuos, ou ausente.

Já nas subfamílias que derivaram mais tardiamente, Periplocoideae e Asclepiadoideae, quase todos os nectários são inconspícuos e têm origem do androceu: tubo estaminal e/ou corona, que é de origem estaminal em todas as Asclepiadoideae. Neste último caso, metade dos gêneros de Asclepiadoideae estudados apresenta nectários secundários na corona (estaminal, interestaminal ou anular). A presença de mais de cinco nectários em uma mesma flor e também de nectários com diferentes origens está presente apenas nestes grupos que derivaram mais tardiamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAHADUR, B.; CHATURVEDI, A.; SWAMY, N. R. 1986. Nectar Types. Indian Plants. Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci.), 96:41-48.
- BAKER, H.G BAKER, I. 1982. Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanisms and phylogeny. In: Nitecki MH (ed) Biochemical aspects of evolutionary biology. University of Chicago Press, Chicago

- BAKER, H.G BAKER, I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: Jones CE, Little RJ (eds) Handbook of experimental pollination biology. Van Nostrand Reinhold, New York
- BAKER, H.G. BAKER, I. 1982. Some chemical constituents of floral nectars of *Erythrina* in relation to pollinators and systematic. *Allertonia* 3:25-37.
- BARRETT, S.C.H HARDE, L.D, & WORLEY, A.C. 1996. The comparative biology of pollination and mating in flowering plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 351:1271-1280.
- BATEMAN, R.M. DIMICHELE, W. 2002. Generating and filtering major phenotypic novelties: neoGoldschmidtian saltation revisited, in *Developmental Genetics and Plant Evolution* (eds Q. C. B. Cronk, R. M. Bateman and J. A. Hawkins), Taylor & Francis, London, 109-159.
- BERGMEYER, H.U. BERNT, E. 1974. *Methods of enzymatic analysis*. 2 ed. New York: Academic Press, 1177-1179.
- BERNARDELLO, G. 2007. A systematic survey of floral nectaries. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E (eds) *Nectaries and nectar*. Springer, Dordrecht
- BERNARDELLO, G. GALETTO, L FORCONE, A. 1999. Floral nectar chemical composition of some species from Patagonia. II. *Biochem Syst Ecol* 27:779–790. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00029-0](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00029-0)
- BIRCH, G.G. KEMP, S.E. 1989. Apparent specific volumes and tastes of amino acids. *Chem Senses* 14:249–258. <https://doi.org/10.1093/chemse/14.2.249>
- BOITEAU, P. and ALLORGE, L. 1978. Morphologie et biologie florales des Apocynacées: Différences essentielles entre les Plumérioidées et les Tabernaemontanoidées. *Adansonia*, serie 2 17:305-326.

- CHRIST, P. and SCHNEPF, E. 1985. The nectaries of *Cynanchum vincetoxicum* (Asclepiadaceae). Israel Journal of Botany, 34:79-90.
- CHRIST, P. and SCHNEPF, E. 1988. Structure and function of nectaries in Asclepiadaceae. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 63:55-80.
- CRONK, Q. 2009. The molecular organography of Plants. Oxford University Press, 1:06-09.
- CRONQUIST, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants, 2nd edn. New York: New York Botanical Garden.
- DAFNI, H. LENSKY, Y. FAHN, A. 1988. Flower and nectar characteristics of nine species of Labiatae and their influence on honeybee visits. J Apic Res 27:103–114. [https://doi.org/ 10.1080/00218839.1988.11100788](https://doi.org/10.1080/00218839.1988.11100788)
- DAVIS, A.R. GUNNING, B.E.S. 1992. The modified stomata of the floral nectary of *Vicia faba* L. I. Development, anatomy and ultrastructure. Protoplasma 166:134–152. <https://doi.org/10.1007/BF01322777>
- DAVIS, A.R. GUNNING, B.E.S. 1993. The modified stomata of the floral nectary of *Vicia faba* L. III. Physiological aspects, including comparison with foliar stomata. Bot Acta 106:241–253. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1993.tb00747.x>
- DAVIS, A.R. PETERSON, R.L. SHUEL, R.W. 1988. Vasculature and ultrastructure of the floral and stipular nectaries of *Vicia faba* (Fabaceae). Can J Bot 66:1435–1448. <https://doi.org/10.1139/b88-198>
- DEMARCO, D. 2017. Floral glands in asclepiads: structure, diversity and evolution. Acta Botanica Brasilica, 31(3):477:502
- DRESSLER, R.L. 1990. The orchids: natural history and classification. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press

- DURKEE, L.T. 1983. The ultrastructure of floral and extrafloral nectaries. In: Bentley B, Elias T (eds) *The biology of nectaries*. Columbia University Press, New York
- EISIKOWITCH, D. 1986. Morpho-ecological aspects on the pollination of *Calotropis procera* (Asclepiadoideae) in Israel. *Plant Systematics and Evolution*, 152:185-194.
- ELIAS, T.S. 1983. Extrafloral nectaries: their structure and distribution. In *The Biology of Nectaries* (Bentley, B. and Elias, T.S., eds), pp. 174–203, Columbia University Press
- ENDRESS, M.E. and BRUYNS, P.V. 2000. A Revised Classification of Apocynaceae *s.l.* *The Botanical Review*, 66:1-56.
- ENDRESS, M.E. MEVE, U. MIDDLETON, D.J. LIEDE-SCHUMANN, S. 2018. Apocynaceae. In: Kadereit J., Bittrich V. (eds) *Flowering Plants. Eudicots. The Families and Genera of Vascular Plants*, vol 15. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-93605-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-93605-5_3)
- ENDRESS, P.K. 1994. Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances. *Plant Systematics and Evolution*, 192:79-97.
- ENDRESS, P.K. 1996. Structure and function of female and bisexual organ complexes in Gnetales. *International Journal of Plant Sciences*, 157 6 Suppl.:113-125.
- ERBAR, C. 2014. Nectar secretion and nectaries in basal angiosperms, magnoliids and non-core eudicots and a comparison with core eudicots. *Plant Divers Evol* 131(2):63–143. <https://doi.org/10.1127/1869-6155/2014/0131-0075>
- FAHN, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. London, Academic Press.
- FAHN, A. 2000. Structure and function of secretory cells. *Adv in Bot. Research*. 31:37-75.

- FAHN, A. 2002. Functions and location of secretory tissues in plants and their possible evolutionary trends. *Isr J Plant Sci* 50:S59–S64. <https://doi.org/10.1560/LJUT-M857-TCB6-3FX5>
- FAHN, A. 1988. Secretory Tissues and Factors Influencing their development. *Phyton* (Austria), 28:13-26.
- FISHBEIN, M. 2001. Evolutionary innovation and diversification in the flowers of Asclepidaceae. *Annals of Missouri Botanical Garden*, 88:603-623.
- FISHBEIN, M.; LIVSHULTZ, T.; STRAUB, S. C. K.; SIMOES, A. O.; BOUTTE, J.; MCDONNELL, A.; FOOTE, A. 2018. Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers, and fruits. *American Journal of Botany*, 105 (3):495-513.
- FLORA DO BRASIL 2020 <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>: Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- FROST, S.W. 1965. Insects and pollinia. *Ecology* 46:556-558.
- GALETTO, L. 1997. Flower structure and nectar chemical composition in three Argentine Apocynaceae. *Flora*, 192:197-207.
- GALETTO, L. BERNADELLO, G. 2005. Nectar. In: Dafni, A.; Kevan, P.G. & Husbana, B.C. (ed.). *Practical pollination biology*. Ontario: Enviroquest, 261-313.
- GALETTO, L. BERNADELLO, G. 2004. Floral nectaries, nectar production dynamics and chemical composition in six *Ipomoea* species (Convolvulaceae) in relation to pollinators. *Ann Bot* 94:269–280. <https://doi.org/10.1093/aob/mch137>
- GALIL, J. and ZERONI, M. 1965. Nectar system of *Asclepias curassavica*. *Botanical Gazette*, 126:144-148.

- GARDENER, M.C. GILLMAN, M.P. 2001. Analyzing variability in nectar amino acids: composition is less variable than concentration. *J Chem Ecol* 27:2545–2558. <https://doi.org/10.1023/A:1013687701120>
- GARDENER, M.C. GILLMAN, M.P. 2002. The taste of nectar – a neglected area of pollination ecology. *Oikos* 98:552–557. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.980322.x>
- GIFFORD, E.M. FOSTER, A.S. 1989. *Morphology and Evolution of Vascular Plants* (3<sup>rd</sup>. edn). W.H. Freeman, New York.
- GOMES, S. M.; CAVALCANTI, T. B. 2001. Morfologia floral de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 15: 73-88.
- GOMES, S. M.; KINOSHITA, L. S.; CASTRO, M. D. M. 2008. Hemisincarpia e nectário apendicular enfocados através de ontogênese floral em *Mandevilla velame* (A. St.-Hil.) Pichon, Apocynoideae. *Revista Brasileira de Botânica*, 31:81-93.
- GOTTSBERGER, G. ARNOLD, T. LINSKENS, H.F. 1990. Variation in floral nectar amino acids with aging of flowers, pollen contamination, and flower damage. *Isr J Bot* 39:167–176
- GRANT, V. and GRANT, K.A. 1965. *Flower pollination in the Phlox family*. New York: Columbia University Press.
- GUNNING, B.E.S. HUGHES, J.E. 1976. Quantitative assessment of symplastic transport of pre-nectar into the trichomes of *Abutilon* nectaries. *Aust J Bot* 3:619–637. <https://doi.org/10.1071/PP9760619>
- HABER, W.A. 1984. Pollination by deceit in a mass-flowering tropical tree *Plumeria rubra* (Apocynaceae). *Biotropica*, 16:269-275.

- HAMILTON, N. 2016. ggtern: an extension to 'ggplot2', for the creation of ternary diagrams. R package version 2.1.5. Available at: <https://CRAN.Rproject.org/package=ggtern>
- HANSEN, K. WACHT, S. SEEBAUER, H. SCHNUCH, M. 1998. New aspects of chemoreception in flies. *Ann N Y Acad Sci* 855:143–147. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb10556.x>
- HERRERA, J. 1991. The reproductive biology of a riparian Mediterranean shrub, *Nerium oleander* L. (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 106:147-172.
- JAEGER, P. 1971. Contribution a l'étude de la biologie florale des Asclépiadacées. Le *Calotropis procera* Ait. *Bulletin de l'Institut Fondamental d'Afrique Noire (A)*, 33:32-43.
- KEVAN, P.G. EISINKOWITCH D, RATHWELL B. 1989. The role of nectar in the germination of pollen in *Asclepias syriaca* L. *Botanical Gazette* 150:266-270.
- KUNZE, H. 1991. Structure and function in asclepiad pollination. *Plant Systematics and Evolution*, 176:227-253.
- KUNZE, H. 1995 Floral morphology of some *Gonolobae* (Asclepiadaceae). *Botanische Jahrbücher für Systematik*, 117:211-238.
- KUNZE, H. 1997. Corona and nectar system in *Asclepiadinae* (Asclepiadaceae). *Flora*, 192:175-183.
- KUNZE, H. 1999. Pollination ecology in two species of *Gonolobus* (Asclepiadaceae). *Flora*, 194:309-316.
- KUNZE, H. and LIEDE, S. 1991. Observations on pollination in *Sarcostemma* (Asclepiadaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 178:95-105.

- LANZA, J. SMITH, G.C. SACK, S. CASH, A. 1995. Variation in nectar volume and composition of *Impatiens capensis* at the individual, plant, and population levels. *Oecologia* 102:113–119. <https://doi.org/10.1007/BF00333318>
- LEE, J. BAUM, S.F. OH, S. JIANG, C. CHEN, J. BOWMAN, J.L. 2005. Recruitment of CRABS CLAW to promote nectary development within the eudicot clade. *Development* 132:5021–5032. <https://doi.org/10.1242/dev.02067>
- LEE, J.Y. BAUM, S.F. OH, S.H. JIANG, C.Z. CHEN, J.C. BOWMAN, J.L. 2005. Recruitment of CRABS CLAW to promote nectary development within the eudicot clade. *Development*, 132:5021-5032.
- LIEDE, S. 1997. Subtribes and genera of the tribe *Asclepiadeae* (Apocynaceae - Asclepiadoideae) – a synopsis. *Taxon* 46:233-247.
- LIEDE, S.; KUNZE, H. 1993. A descriptive system for corona analysis in Asclepiadaceae and Periplocaceae. *Plant Systematic and Evolution*, 185:275-284.
- LIN, S & BERNARDELLO, G. 1999. Flower structure and reproductive biology in *Aspidosperma quebracho-blanco* (Apocynaceae), a tree pollinated by deceit. *International Journal of Plant Science*, 160:869-878.
- LUMER, C. & YOST, S.E. 1995. The reproductive biology of *Vincetoxicum nigrum* (L.) Moench (Asclepiadaceae), a Mediterranean weed in New York State. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 122:12-23.
- MACHADO, S.R. MORELLATO, L.P. SAJO, M.G. OLIVEIRA, P.S. 2008. Morphological patterns of extra-floral nectaries in woody plant species of the Brazilian cerrado. *Plant Biol* 10:660–673. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00068.x>



- MACIOR, L.W. 1965. Insect adaptation and behavior in *Asclepias* pollination. Bulletin of the Torrey Botanical Club 92:114-126.
- MARTINS, F. M.; MASCARENHAS, A. A. S.; MACEDO, T. P.; CUNHA NETO, I. L. 2013. Estruturas secretoras em órgãos vegetativos e florais de *Secondatia densiflora* A.DC. (Apocynaceae – Apocynoideae – Odontadenieae). Rev. Bras. Pl. Med., 15:13-24.
- MEIRA, R.M.S.A. & MARTINS, F.M. 2003. Inclusão de material herborizado em metacrilato para estudos de anatomia vegetal. Revista Árvore 27:109–112.
- MONTEIRO, M. & DEMARCO, D. 2017. Corona development and floral nectaries in *Asclepiadeae* (Asclepiadoideae, Apocynaceae). Acta Botanica Brasilica, 31(3): 420-432.
- MORALES, J. F. 2005. Estudios en las Apocynaceae Neotropicales XIII revision del género *Temnadenia* (Apocynoideae Echiteae).
- MOROKAWA, R. MAYER, J.L.S. SIMÕES, A.O. KINOSHITA, L.S. 2015. Floral development of *Condylocarpon isthmicum* (Apocynaceae). Botany, 93:769-781.
- NEFF, J.L. SIMPSON, B.B. 2005. Other rewards: oils, resins and gums. In: Dafni A, Kevan PG, Husbana BC (eds) Practical pollination biology. Enviroquest, Cambridge
- NEPI, M. 2007. Nectary structure and ultrastructure. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E (eds) Nectaries and nectar. Springer, Dordrecht
- NICOLSON, A.S. NEPI, M. ETTORE, P. 2007. Nectaries and nectar. Springer.
- NICOLSON, S.W. THORNBURG, R.W. 2007. Nectar chemistry. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E (eds) Nectaries and nectar. Springer, Dordrecht
- O'BRIEN, T.P. FEDER, N. MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. Protoplasma 59:368-373.

- OLLERTON, J. *et al.* 2019. The diversity and evolution of pollination systems in large plant clades: Apocynaceae as a case study. *Annals of Botany*, 123:311-325.
- PACINI, E. NEPI, M. VESPRINI, J.L. 2003. Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution*, 238:7-21.
- PAIVA E.A.S. 2016. How do secretory products cross the plant cell wall to be released? A new hypothesis involving cyclic mechanical actions of the protoplast. *Ann Bot*, 117:533–540. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw012>
- PAIVA E.A.S. 2017. How does the nectar of stomata-free nectaries cross the cuticle? *Acta Bot Bras* 31:525–530. <https://doi.org/10.1590/0102-33062016abb0444>
- PANT, D.D. NAUTIYAL, D.D. CHATUREDI, S.K. 1982. Pollination Ecology of some indian asclepiads. *Phytomorphology*, 302-3013.
- PETANIDOU, T. VAN LAERE, A.J. SMETS, E. 1996. Change in floral nectar components from fresh to senescent flowers of *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae), a nocturnally flowering Mediterranean shrub. *Plant Syst Evol* 199:79–92. <https://doi.org/10.1007/BF00985919>
- PROCTOR, M. YEO, P. & LACK A. 1996. The natural history of pollination. London: HarperCollins.
- PYKE, G.H. WASER, N.M. 1981. The production of dilute nectars by hummingbird and honeyeater flowers. *Biotropica* 13:260–270. <https://doi.org/10.2307/2387804>
- RAGUSO, R.A. 2004. Why are some floral nectars scented? *Ecology* 85:1486–1494. <https://doi.org/10.1890/03-0410>
- RAO, V.S & GANGULI, A. 1963. Studies in the floral anatomy of the Apocynaceae. *Journal of the Indian Botanical Society*, 42:419-435.
- RAZEM, F.A. DAVIS, A.R. 1999. Anatomical and ultrastructural changes of the floral nectary of *Pisum sativum* L. during flower development. *Protoplasma* 206:57–72.

- RERING, C.C. BECK, J.J. HALL, G.W. MCCARTNEY, M.M. VANNETTE, R.L. 2017. Nectar-inhabiting microorganisms influence nectar volatile composition and attractiveness to a generalist pollinator. *New Phytol* 220:655–658. <https://doi.org/10.1111/nph.14809>
- SANTA-CATARINA, C. SILVEIRA, V. BALBUENA, T. S. VIANA, A. M. ESTELITA, M. E HANDRO, W. FLOH, E.I. 2006. IAA, ABA, polyamines and free amino acids associated with zygotic embryo development of *Ocotea catharinensis*. *Plant Growth Regulation* 49:237-247.
- SAWIDIS, T.H. ELEFThERIOU, E.P. TSEKOS, I. 1987. The floral nectaries of *Hibiscus rosasinensis*. I. Development of the secretory hairs. *Ann Bot* 59:643–652
- SCHNEPT, E. & CHRIST, P. 1980. Unusual transfer cells in the epithelium of the nectaries of *Asclepias curassavica* L. *Protoplasma* 105:135-148.
- SIMÕES, A. O.; KINOSHITA, L. S.; KOCH, I.; SILVA, M. J.; ENDRESS, M. E. 2016. Systematics and character evolution of *Vinceae* (Apocynaceae). *Taxon*, 65(1):99-122.
- SIMÕES, A. O.; LIVSHULTZ, T.; CONTI, E.; ENDRESS, M. E. 2009. Phylogeny and Systematics of the Rauvolfioideae (Apocynaceae) Based on Molecular and Morphological Evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 94(2):268-297.
- SIMÕES, A.O. LIVSHULTZ, T. CONTI, E. & ENDRESS, M. 2007. Phylogeny and systematics of the Rauvolfioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 94:268-297.
- SIMPSON, B.B. & NEFF, J.L. 1983. Evolution and diversity of floral rewards. In: C.E. Jones, SMITH, F.H. SMITH, E.C. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *American Journal of Botany*, 29:464-471.

- SMETS, E.F. CRESENS, E.M. 1988. Types of floral nectaries and the concept of “character” and “character state”—a reconsideration. *Acta Bot Neerl* 37:121–128.  
<https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1988.tb01586.x>
- SOUTHGATE, D.A.T. 1976. Determination of food carbohydrates. London: Applied Science Publishers.
- SOUTHWICK, E.E. 1990. Floral nectar. *Am Bee J* 130:517–519
- STPICZYŃSKA, M. DAVIES, K.L. GREGG, A. 2003. Nectary structure and nectar secretion in *Maxillaria coccinea* (Jacq.) L.O. Williams ex Hodge (Orchidaceae). *Ann Bot* 93:87–95. <https://doi.org/10.1093/aob/mch008>
- TÖLKE, E.D. BACHELIER, J.B. LIMA, E.A. GALETTO, L. DEMARCO, D. CARMELLO-GUERREIRO, S.M. 2018. Diversity of floral nectary secretions and structure, and implications for their evolution in Anacardiaceae. *Bot J Linn Soc* 187:209–231. <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boy016>
- TOSTES, R.B. VIEIRA, M.F. & CAMPOS, L.A.O. 2003. Polinização de *Peltastes peltatus* (Vell.) Woodson (Apocynoideae, Apocynaceae) por abelhas euglossineas. Pp. 3-9. In: Melo, G.A.R. & Alves-dos-Santos, I. (Eds). *Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure*. Criciúma.
- VALENTE, M.C. & COSTA, C.G. 2005. Estudo anatômico da flor de *Marsdenia loniceroides* E. Fournier (Asclepiadoideae – Apocynaceae). *Rodriguésia*, 56:51-66.
- VALENTE, M.C. & SILVA, N.M.F. 1984. Anatomia floral de *Barjonia erecta* (Vell.) Schum. (Asclepiadaceae). *Rodriguésia*, 36:95-106.
- VALENTE, M.C. 1984. *Ditassa eximia* Decne (Asclepiadaceae). Anatomia vegetal. *Atas da Sociedade Botânica do Brasil*, 2:53-59.

- VALENTE, M.C. 1995. *Matelea maritima* subsp. *ganglinosa* (Vell.) Font. - Anatomia e vascularização floral (Asclepiadaceae). Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 33:75-98.
- VIEIRA, M. F.; FONSECA, R. B. S.; SHEPHERD, G. J. 2012. Morfologia floral e mecanismos de polinização em espécies de *Oxypetalum*. Revista brasileira de Biociências, 10: 314-321.
- VIEIRA, M.F. & SHEPHERD, G.J. 1999. Pollinators of *Oxypetalum* (Asclepiadaceae) in Southeastern Brazil. Revista Brasileira de Biologia, 59(4):693-704.
- VIEIRA, M.F. & SHEPHERD, G.J. 2002. *Oxypetalum banksii* subsp. *banksii*: a taxon of Asclepiadaceae with an extragynoecial compitum. Plant Systematics and Evolution, 233:199-206.
- VOGEL S. 1971. Pollination of oil-producing flowers by oil-collecting bees. Naturwissenschaften 58:58
- WACHT, S. LUNAU, K. HANSEN, K. 2000. Chemosensory control of pollen ingestion in the hoverfly *Eristalis tenax* by labellar taste hairs. J Comp Physiol 186:193–203. <https://doi.org/10.1007/s003590050019>
- WALKER, D.B. 1975. Postgenital carpel fusion in *Catharanthus roseus* (Apocynaceae). Light and scanning electron microscopic study of gynoecial ontogeny. American Journal of Botany, 64:457-467.
- WERGIN, W.P. ELMORE, C.D. HANNY, B.W. INGBER, BF. 1975. Ultrastructure of the subglandular cells from the foliar nectaries of cotton in relation to the distribution of plasmodesmata and the symplastic transport of nectar. Am J Bot 62:842–849. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1975.tb14124.x>

- WIST, T.J. DAVIS, A.R. 2006. Floral nectar production and nectary anatomy and ultra-structure of *Echinacea purpurea* (Asteraceae). *Ann Bot* 97:177–193.  
<https://doi.org/10.1093/aob/mcj027>
- WOODSON, R.E. & MOORE, J.A. 1938. The vascular anatomy and comparative morphology of Apocynaceae flowers. *Bulletin of the Torrey Club*, 65:135-166.
- WOODSON, R.E. & MOORE, J.A. 1938. The vascular anatomy and comparative morphology of Apocynaceous flowers. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 65:135-166.
- WOODSON, R.E. 1954. The North American Species of *Asclepias* L. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 41 (1):1-211.
- WYATT, R. & BROYLES, S.B. 1994. Ecology and evolution of reproduction in milkweeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25:423-441.
- WYATT, R. & SHANNON, T.R. 1986. Nectar production and pollination of *Asclepias exaltata*. *Systematic Botany*, 11:326-334.
- YANG, L. HONG, L. YANG, T. KUANG, D. LI, M. LIAO, Y. CHEN, Z. WU, H. ZHANG, S. 2016. A supermatrix approach provides a comprehensive genus-level phylogeny for Gentianales. *Journal of Systematics and Evolution*, 54(4):400-415.
- ZER, H. FAHN, A. 1992. Floral nectaries of *Rosmarinus officinalis* L. structure, ultrastructure and nectar secretion. *Ann Bot* 70:391–397.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088493>