

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

VINÍCIUS ALVES RODRIGUES

**ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DO NECTÁRIO FLORAL DE *Bauhinia monandra*
KURZ. (FABACEAE)**

VITÓRIA DA CONQUISTA – BAHIA

AGOSTO/2016

VINÍCIUS ALVES RODRIGUES

**ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DO NECTÁRIO FLORAL DE *Bauhinia monandra*
KURZ. (FABACEAE)**

Monografia apresentada à Universidade Estadual
do Sudoeste da Bahia – UESB / *Campus* de
Vitória da Conquista – BA, para a obtenção do
título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Carlos André Espolador Leitão

VITÓRIA DA CONQUISTA – BAHIA

AGOSTO/2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL**

Campus de Vitória da Conquista – BA.

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: Anatomia e histoquímica do nectário floral de *Bauhinia monandra* Kurz. (Fabaceae).

Autor: Vinícius Alves Rodrigues

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de BACHAREL EM ENGENHARIA FLORESTAL, pela Banca Examinadora:

Prof. Dr. Carlos André Espolador Leitão – UESB
Presidente

Prof. Dr. Dalton Longue Júnior

Prof. Dr. Gilmar Correia Silva

Prof. Dr. Claudenir Simões Caires
Suplente

Prof^ª M.Sc. Daíse Cardoso de S. Bernardino
Suplente

Data de realização: 15 de setembro de 2016

UESB – Campus Vitória da Conquista, Estrada do Bem Querer Km 04,
Telefone: (77) 3425-9380
Fax: (77) 3424-1059 CEP: 45.083-900
E-mail: ccengflor@uesb.edu.br

Ao meu Deus, primeiramente.

Ao meu pai,

Joel Alckmin,

por todo amor e incentivo de sempre e a
minha família que me deram todo o aporte
necessário.

Aos meus amigos, colegas, ao meu pastor.

DEDICO.

*A formatação do presente trabalho segue as normas para publicação da Revista
FLORA (ELSEVIER).*

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. RESUMO..... | 6 |
| 2. ABSTRACT..... | 7 |
| 3. INTRODUÇÃO..... | 8 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS..... | 11 |
| 4.1. Obtenção de amostras..... | 11 |
| 4.2. Microscopia de luz..... | 11 |
| 4.3. Microscopia eletrônica de varredura..... | 12 |
| 5. RESULTADOS..... | 13 |
| 6. DISCUSSÃO | 20 |
| 7. AGRADECIMENTOS..... | 23 |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 24 |

1. RESUMO

ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DO NECTÁRIO FLORAL DE *Bauhinia monandra* KURZ. (FABACEAE)

Vinícius Alves Rodrigues¹, Carlos André Espolador Leitão²

Fabaceae é uma das maiores famílias de eudicotiledôneas, com aproximadamente 18.000 espécies de ampla distribuição geográfica. Dentre essas espécies se destaca a *Bauhinia monandra* Kurz. uma árvore de pequeno porte e de grande interesse ornamental, que também possui propriedades medicinais, pertencente à família Fabaceae. Essa espécie apresenta nectário floral, ainda desconhecido quanto à estrutura anatômica e funcional. Tendo-se em vista a importância dos nectários florais na reprodução cruzada e a relevância da espécie supracitada para o homem, o presente trabalho teve como objetivo realizar um estudo anatômico e histoquímico do nectário floral dessa espécie. Para tanto, amostras do nectário em fase de secreção foram obtidas de indivíduos que crescem no campus de Vitória da Conquista da UESB, e processadas segundo metodologia usual em anatomia e histologia vegetal. A solução secretada reagiu positivamente ao teste de detecção de açúcar, confirmando se tratar de néctar. O nectário possui o formato de um tubo, onde os tecidos secretores envolvem parcialmente a porção ventral do terço basal e as laterais dos dois terços apicais do tubo. As células do nectário coraram fortemente com Azul de Toluidina, Xylidine Ponceau e PAS, evidenciando citoplasma denso, vacúolo relativamente menor e presença de grãos de amido. A epiderme que reveste o tubo é simples e ligeiramente papilosa, com cutícula fina e apresentando estômatos modificados no terço basal do tubo. O parênquima nectarífero é o tecido mais abundante, no qual passam feixes vasculares. Os resultados obtidos confirmam que o hipanto de *B. monandra* é um nectário, cujo os estômatos modificados são a principal via de saída de néctar.

Palavras-chave: Árvore ornamental, estômatos, estrutura secretora, néctar, secreção.

1. Graduando em Engenharia Florestal, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, vinicius14cnn@gmail.com; 2. Biólogo, Professor Titular da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Departamento de Ciências Naturais–DCN–UESB. Vitória da Conquista-BA, candreel@yahoo.com.br

2. ABSTRACT

ANATOMY AND HISTOCHEMISTRY OF FLORAL NECTARIES OF *Bauhinia monandra* KURZ. (FABACEAE)

Fabaceae is one of the largest eudicotyledon family, with approximately 18,000 species widely distributed. *Bauhinia monandra* Kurz. is a small tree of great ornamental interest and has medicinal properties, belonging to the Fabaceae family. This species possess floral nectary which is still unknown under structural point of view. Having in account the floral nectaries in interbreeding and the relevance of the aforementioned species to man, this study aimed to investigate the anatomy and the histochemistry of the floral nectary of this species. For this purpose, nectary samples in secretory phase were obtained from specimens growing in UESB, Vitória da Conquista campus, and processed according to the usual methodology in plant anatomy. The secreted solution reacted positively to the sugar detection test, confirming it is nectar. The nectary is tube shaped, where the secretory tissues partially surround the ventral portion of the basal third, and the lateral of the two apical thirds of the tube. The nectary cells strongly stained with Toluidine Blue, Ponceau Xylidine and PAS, showing dense cytoplasm, relatively minor vacuole and starch grains. The epidermis covering the tube is simple and slightly papillose, with thin cuticle and showing modified stomata in the basal third of the tube. The nectary parenchyma is the most abundant tissue. where passing vascular bundles. The results confirm that the hypanthium *B. monandra* is a nectary, whose modified stomata are the main route of nectary output.

Keywords: Ornamental tree, nectar, secretion, secretory structure, stomata.

3. INTRODUÇÃO

Considerada como a terceira maior família das Angiospermas (Freitas, 2012), Fabaceae Lindl. (*sensu* APG IV, 2016) compreende cerca de 18.000 espécies distribuídas em aproximadamente 400 gêneros (Rodrigues & Vaz, 2008), no qual, se encontram registradas no Brasil mais de 200 espécies entre arbóreas, arbustivas e/ou lianas (Vaz & Tozzi, 2005).

Devido ao grande número e distribuição de suas espécies a família Fabaceae possui destaque econômico no setor florestal e agrícola, sendo assim intensamente cultivada devido ao acentuado potencial na geração de produtos alimentícios, medicinais, madeireiras, produtoras de fibras e óleos, além do fato de muitas espécies possuírem flores exuberantes, de potencial ornamental (Juchum, 2007).

Muitas espécies de Fabaceae constam como o principal elemento de diferentes formações vegetais brasileiras e são adaptadas aos ambientes abertos e perturbados (Freitas, 2012), devido em parte, à simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* e *Bradirhizobium*, fixadoras de nitrogênio (Lewis, 1987).

Sua distribuição geográfica abrange quase todas as regiões do mundo, sendo mais representada nas regiões tropicais e, em menor grau, nas regiões temperadas (Burkart, 1979; Judd et al. 2009). O porte varia de arbóreo a herbáceo (Barroso et al. 1991), e ocorrem em diversos ecossistemas, de florestas úmidas até desertos secos e frios (Raven & Polhill, 1981).

Incluído em Fabaceae, *Bauhinia* é um gênero proposto em 1753 por Carolus Linnaeus e abriga cerca de 300 espécies das quais 98 são nativas do Brasil (Lewis, 1987; Wunderlin et al. 1987). Está subdividido em 4 subgêneros, 22 seções e 30 séries, onde 6 seções destas têm representantes nativos na região neotropical: *Amaria* (S. Mutis) Endl., *Bauhinia*, *Benthamia* Fortunato & Wunderlin, *Caulotretus* DC., *Pauletia* (Cav.) DC. e *Schnella* (Raddi) Benth. (Castro et al., 2009).

Desse gênero, *Bauhinia monandra* Kurz. é uma espécie nativa da África, apesar de ser encontrada em diversos outros lugares como a Índia e América do Sul (Badami & Daulatabad, 1969; Balogun & Fetuga., 1985). No Brasil, especificamente na Amazônia, é conhecida vulgarmente por “pata-de-vaca” devido às suas folhas bifoliadas, além de outras denominações como unha-de-vaca, casca-de-vaca, unha-de-boi, unha-de-anta e mororó (Badami & Daulatabad, 1969; Balogun & Fetuga, 1985; Caribé & Campos, 1991). Trata-se de uma árvore ou arbusto perene de crescimento rápido que comumente atinge 3,0 a 15,2 m de altura e 0,5 m de diâmetro (Connor, 2000). Suas folhas possuem formas arredondadas e dividem-se de 1/3 a 1/2 do seu comprimento, formando dois lóbulos simétricos. As flores do

gênero variam de 6,4 a 10,2 cm de diâmetro com apenas um estame fértil e cálice longo dividido, os frutos são vagens deiscientes escuras com 2,5 cm de largura e 15,2 a 30,5 cm de comprimento (Connor, 2000).

Pode-se destacar que, além de ser intensamente explorada como planta medicinal (Cruz, 1982; Albuquerque et al., 2000; Menezes et al., 2007), por exemplo, como fonte da proteína Lectina BmoLL (Haver, 2002); *B. monandra* é comumente usada na arborização urbana, recomposição vegetal e ornamentação (Connor, 2000).

Casparry (1848) foi o primeiro a apresentar trabalhos detalhados sobre a estrutura anatômica dos nectários florais e atribuiu uma definição geral aos mesmos como estruturas secretoras, que exsudam uma substância açucarada constituída basicamente por sacarose, glicose e frutose, denominada néctar.

São classificados conforme a sua posição, sendo nomeados florais aqueles nectários presentes em peças florais; e extraflorais aqueles situados em órgãos não-reprodutivos (Schmid, 1988).

Quando ocorrem em órgãos vegetativos, essas estruturas estão geralmente associadas à proteção das plantas (Janzen, 1966; Bentley, 1983; Oliveira, 1997), atraindo animais tais como formigas, que a defendem contra o ataque de herbívoros, fitófagos e patógenos (Beattie, 1985; Oliveira & Freitas 2002; Pacini et al. 2003; Fuhro, 2006). Quando produzido na flor, o néctar é uma recompensa para os polinizadores, como exemplo, abelhas melíferas utilizam na produção de mel.

De acordo com Fahn (1979) os nectários são estruturas produtoras de néctar, e podem variar anatomicamente de espécie para espécie e também numa mesma planta. Já Schmid (1988) define o nectário como estrutura glandular multicelular que ocorre no órgão vegetativo ou reprodutivo e que secreta regularmente néctar, uma solução doce que contém principalmente açúcares e geralmente servindo como recompensa para os polinizadores.

Os estudos realizados em *B. monandra* são, basicamente, de enfoque farmacológico, sobre extrativos medicinais (Achenbach, et al. 1988; Silva & Cechinel, 2002; Borges, 2005). Apesar da importância dessa espécie como fonte de princípios ativos e na arborização urbana, não há relatos sobre a anatomia de seu nectário floral.

No intuito de se conhecer uma estrutura chave na reprodução sexuada da planta e assim, oferecer elementos para o estudo da biologia reprodutiva e ecologia da espécie, o presente trabalho teve como objetivos descrever a anatomia do nectário floral de *B. monandra* e detectar, mediante testes histoquímicos, diferentes naturezas químicas nos tecidos nectaríferos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção das amostras de nectários

Flores recém-abertas de *Bauhinia monandra* foram removidas de árvores que crescem no *campus* da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB de Vitória da Conquista - Bahia, Brasil, nas coordenadas 14°53'28"S; 40°48'14"W, a 823 metros de altitude, em janeiro de 2014. O material testemunha foi armazenado para ser depositado no Herbário do Departamento de Biologia da UESB, *campus* de Jequié - Bahia, Brasil. As amostras de néctar foram previamente testadas com Keto-Diabur Test® da Roche para detecção de açúcares. As amostras de nectários foram imediatamente fixadas em solução contendo 2,5% de glutaraldeído, 4% de paraformaldeído, 3% de sacarose, e 5 mmol/L de cloreto de cálcio, em 0,2 mol/L de tampão fosfato de sódio a pH 7,2, sob 4 °C (Karnovsky, 1965). Posteriormente, as amostras foram lavadas em água destilada, parcialmente desidratadas e estocadas em etanol 70% (Berlyn & Miksche, 1976).

4.2. Microscopia de luz

As amostras em solução estoque (álcool 70%) foram parcialmente desidratadas em série até etanol 95% e, em seguida, embebidas em resina de glicol-metacrilato (Historesin®-Leica). Foram obtidos cortes seriados de 3 µm de espessura com um micrótomo rotativo Leitz 1212 (Ernst Leitz Optical Works, Wetzlar, Germany) usando uma navalha de aço com fio tipo C. As secções foram acondicionadas em lâminas histológicas e submetidas a diferentes técnicas histoquímicas, a saber: para contraste visando caracterização estrutural e obtenção de metacromasia, utilizou-se Azul de Toluidina 0,025% em tampão pH 4,0 McIlvane (Vidal, 1977); para a detecção de polissacarídeos totais, a reação PAS (Maia, 1979); para demonstração de mucilagem foi utilizado ácido tânico 5% e cloreto férrico 3% (Pizzolato and Lillie, 1973) e Azul de Alciano 1% em pH 2,5 (Pearse, 1980); para identificação da presença de proteínas totais utilizou-se Xylidine Ponceau 1% em pH 2,5 (Vidal, 1970); para fenóis, Dicromato de Potássio 10% (Gabe, 1968) e para lipídeos, solução saturada de Sudan IV em etanol 70% (Pearse, 1980).

As lâminas temporárias foram montadas com lamínula e água destilada (Johansen, 1940).

Para análise e documentação fotográfica, foi empregado o microscópio óptico Leica DM750 com recurso de polarização e equipado com sistema de captura de imagens digitais ICC50 HD.

4.3. Microscopia eletrônica de varredura

Para uma visualização da superfície do nectário em alta resolução e em grandes ampliações, parte das amostras armazenadas em etanol 70% foi desidratada em série etanol/acetona e, em seguida, submetidas à secagem em ponto crítico do CO₂ utilizando-se um aparelho Bal-Tec CPD030 (Balzers, Schaan, Liechtenstein). A deposição catódica de ouro foi levada a cabo em um *sputter coater* Bal-Tec SCD050 (Balzers, Schaan, Liechtenstein) (Bozzola & Russel, 1992). Para observação e documentação fotográfica, foi utilizado um microscópio eletrônico de varredura Quanta 250 (FEI Company, Oregon, USA) a 10Kv, equipado com um sistema de captura de imagens digitais.

5. RESULTADOS

A secreção foi positiva ao teste Keto Diabur® da Roche, comprovando se tratar de néctar e, conseqüentemente, a estrutura secretora é um nectário. Este tem o formato de um tubo constricto de cerca de 2,3 cm de comprimento, cuja abertura se localiza rodeada pela inserção das peças florais, se aprofundando até a metade da base do pedicelo (Fig. 1A).

Os tecidos nectaríferos estão presentes envolvendo ventralmente o terço basal do tubo (Fig. 1B) e, acropetamente, se bifurcam em “Y”, formando dois ramos que seguem nas laterais do tubo até a abertura do mesmo, na região de inserção das peças florais (Fig. 1C).

A epiderme que reveste o tubo é simples e ligeiramente papilosa. Nas porções secretoras do tubo, a epiderme é nectarífera, constituída por células menores com o citoplasma mais denso, fortemente corado com Azul de Toluidina (AT) (Fig. 1D, E) e Xylidine Ponceau (XP) (Fig. 1F). O vacúolo é relativamente menor e pode conter material corpuscular tendendo ao formato esférico, que se cora com o AT (Fig. 1E), positivo ao PAS (Fig. 1G) e fracamente positivo ao XP (Fig. 1F). Esses corpúsculos também podem ser encontrados na epiderme não nectarífera que reveste o dorso do tubo (Fig. 2A). A cutícula que reveste a epiderme nectarífera; principalmente na porção basal (Fig. 2B), é mais fina que a encontrada nas demais células da epiderme do tubo (Fig. 2C), nem sempre detectável ao Sudan IV. As paredes anticlinais e periclinal interna se caracterizam pela grande ocorrência de pequenos campos de pontoação. Esses campos também ocorrem nas paredes das células do parênquima nectarífero (Fig. 2G).

No terço basal do nectário ocorrem estômatos modificados (Fig. 2D-F) distribuídos de forma não orientada (Fig. 2E). No fundo do tubo, bem como na porção próxima à abertura do mesmo, ocorrem tricomas tectores unicelulares a pluricelulares unisseriados, ornamentados com rugosidades em sua superfície (Fig. 2G-I). Os tricomas possuem formato conoidal, ou seja, com o ápice afilado. Tricomas semelhantes são também encontrados fora da região do nectário, na superfície da flor (Fig. 2H).

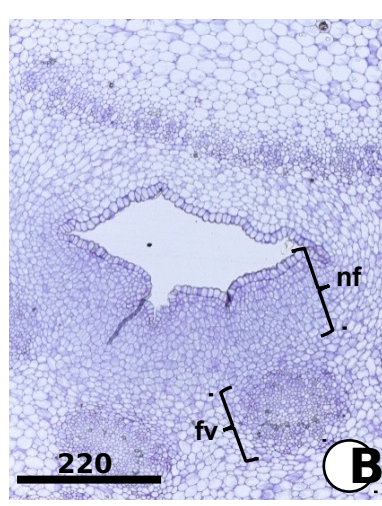
O teste PAS também evidenciou grande quantidade de grãos de amido de formato globoso nas células do parênquima nectarífero (Fig. 3A) e adjunto aos feixes vasculares, principalmente na região do floema (Fig. 3B). Também ocorrem na epiderme (Fig. 3A), porém em menor quantidade, bem como parênquima fundamental adjacente ao nectário (Fig. 3C).

No parênquima nectarífero esses grãos são observados até a oitava camada de células, e são mais concentrados em algumas regiões, mas em maior disposição próximo a inserção do ovário (Fig. 3C).

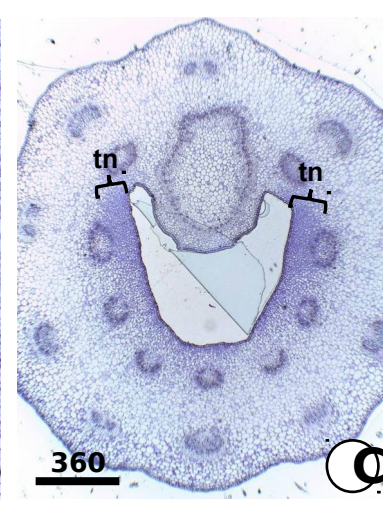
Pode-se notar a presença de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa em idioblastos distribuídos em volta dos feixes vasculares, em especial, nas adjacências do floema (Fig. 3D, E).



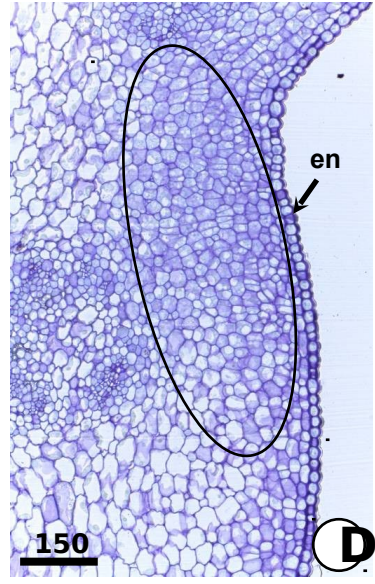
A



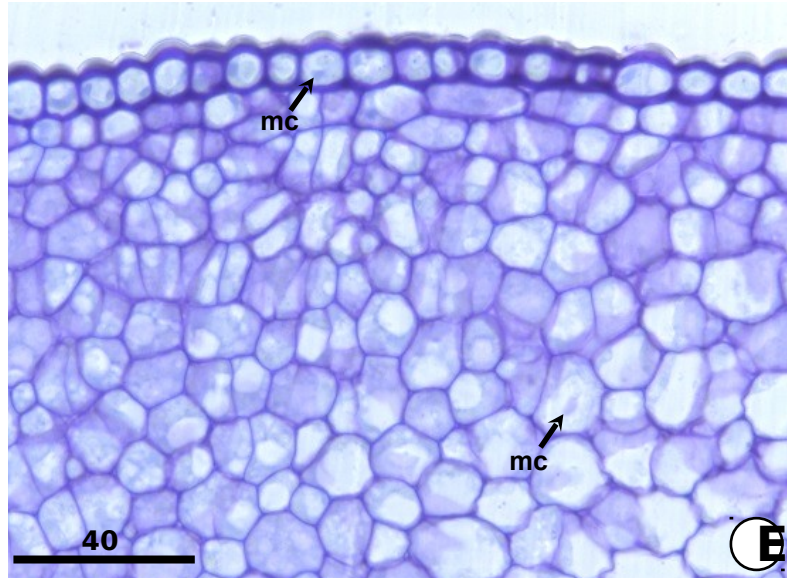
B



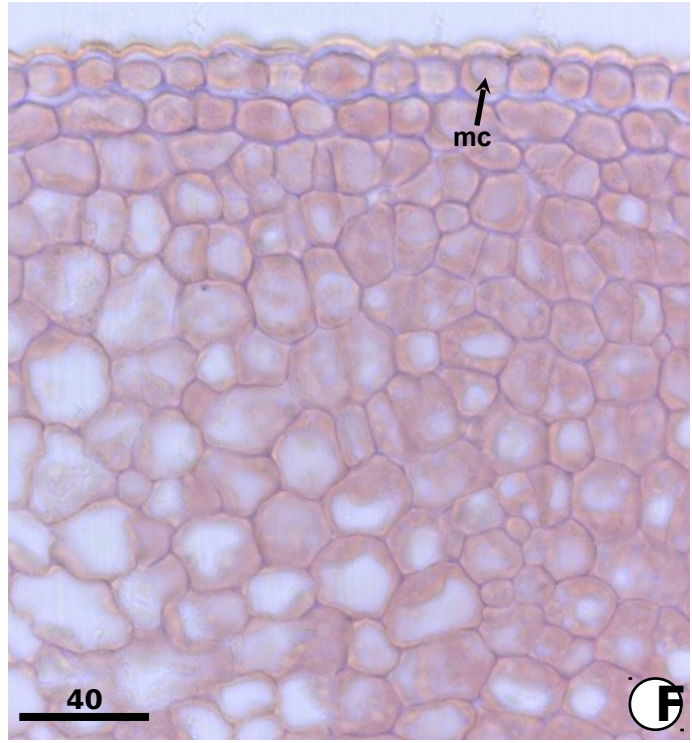
C



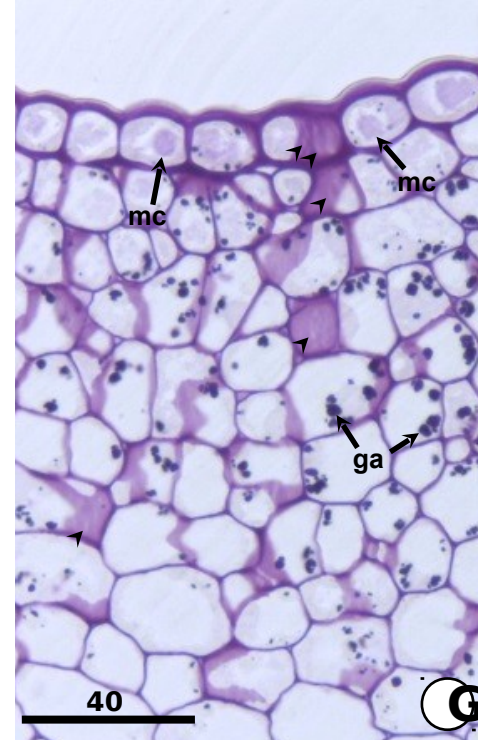
D



E



F



G



Figura 1. Nectário floral de *Bauhinia monandra*. A - Corte longitudinal da flor de *Bauhinia monandra*. B - corte transversal do botão floral evidenciando a porção basal do nectário floral (nf) adjacente a feixes vasculares (fv). C - Corte transversal panorâmico do nectário com os tecidos nectaríferos (tn) envolvendo as laterais até a abertura do mesmo. D- Panorama dos tecidos nectaríferos, evidenciando epiderme (en) e parênquima nectarífero (elipse). E - Detalhe dos tecidos nectaríferos corados com Azul de Toluidina (AT), evidenciando material corpustular (mc) nas células da epiderme e do parênquima nectarífero. F - Detalhe dos tecidos nectaríferos corados com Xylidine Ponceau, evidenciando material corpuscular (mc). G - Detalhe dos tecidos nectaríferos ao PAS evidenciando grãos de amido (ga), material corpuscular (mc) e campos de pontuação (cabeças de seta). Barras de escala em micrômetros.

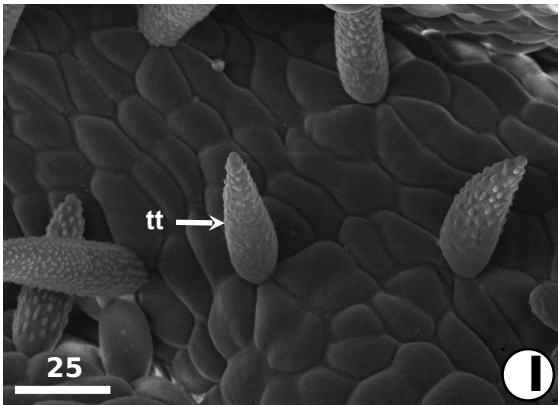
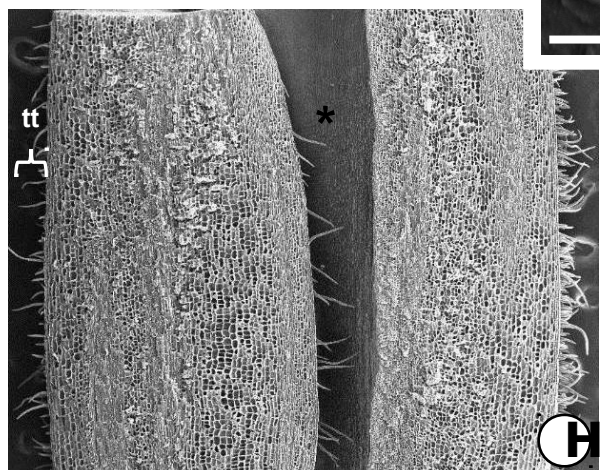
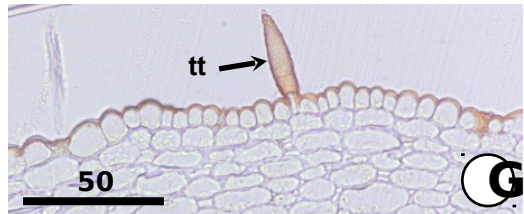
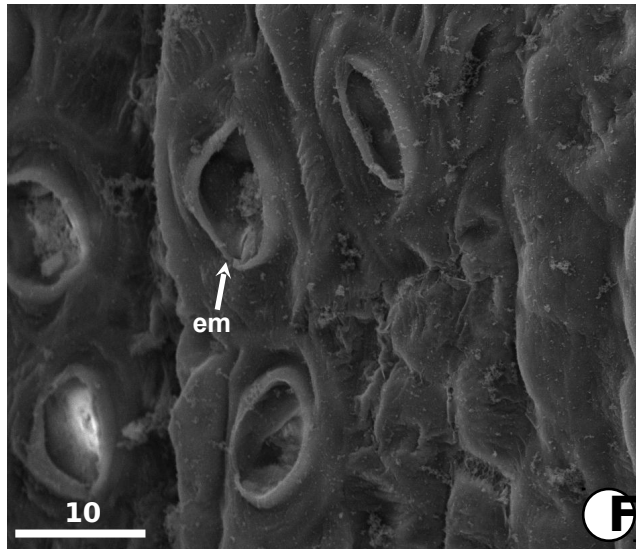
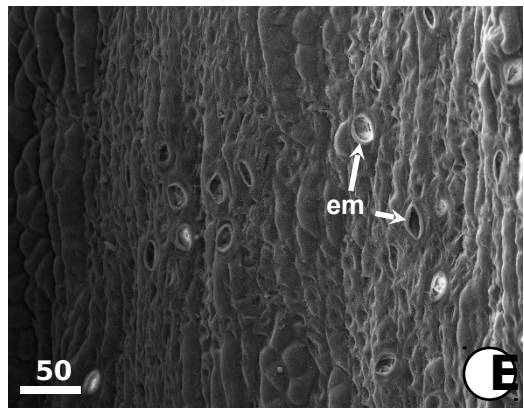
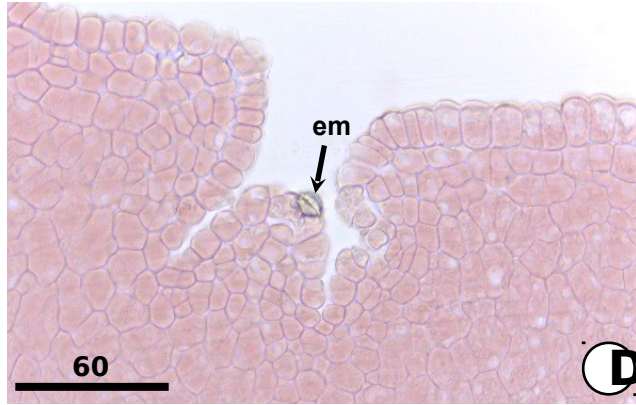
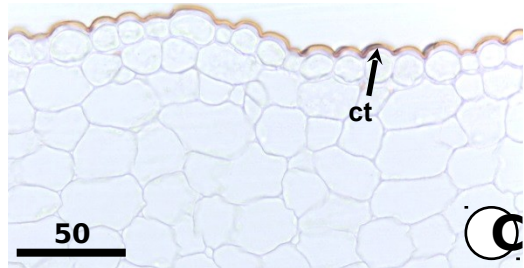
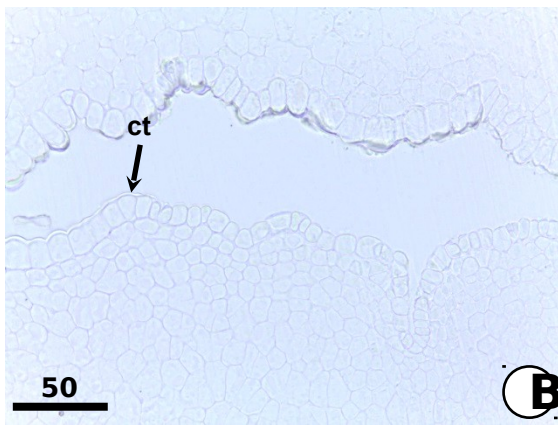
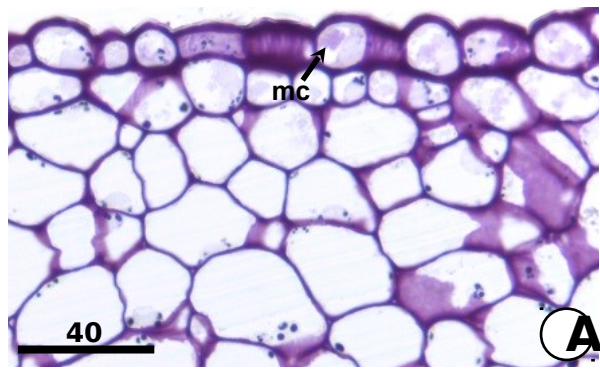


Figura 2. Nectário floral de *Bauhinia monandra* e regiões adjacentes. A - Região do tubo fora do nectário, evidenciando material corpuscular (mc) corado com o PAS. B - Detalhe da porção basal do nectário corado com Sudan IV, onde a cutícula (ct) é tão fina que se torna imperceptível. C - Cutícula (ct) espessa encontrada na células da epiderme fora do nectário. D - Estômato modificado (em) na porção basal do tubo. Coloração: Xylidine Ponceau. E - Detalhe em varredura da porção basal do tubo, evidenciando estômatos modificados (em). F - Detalhe da porção mostrada em E. G - Tricomas tectores (tt) ornamentados em sua superfície encontrado no fundo do tubo. H - Panorama do corte longitudinal do pedicelo evidenciando a porção basal do tubo (asterisco) e tricomas tectores (tt) dentro e fora do tubo. I - Detalhe da porção basal do tubo, evidenciando tricomas tectores (tt). Barras de escala em micrômetros.

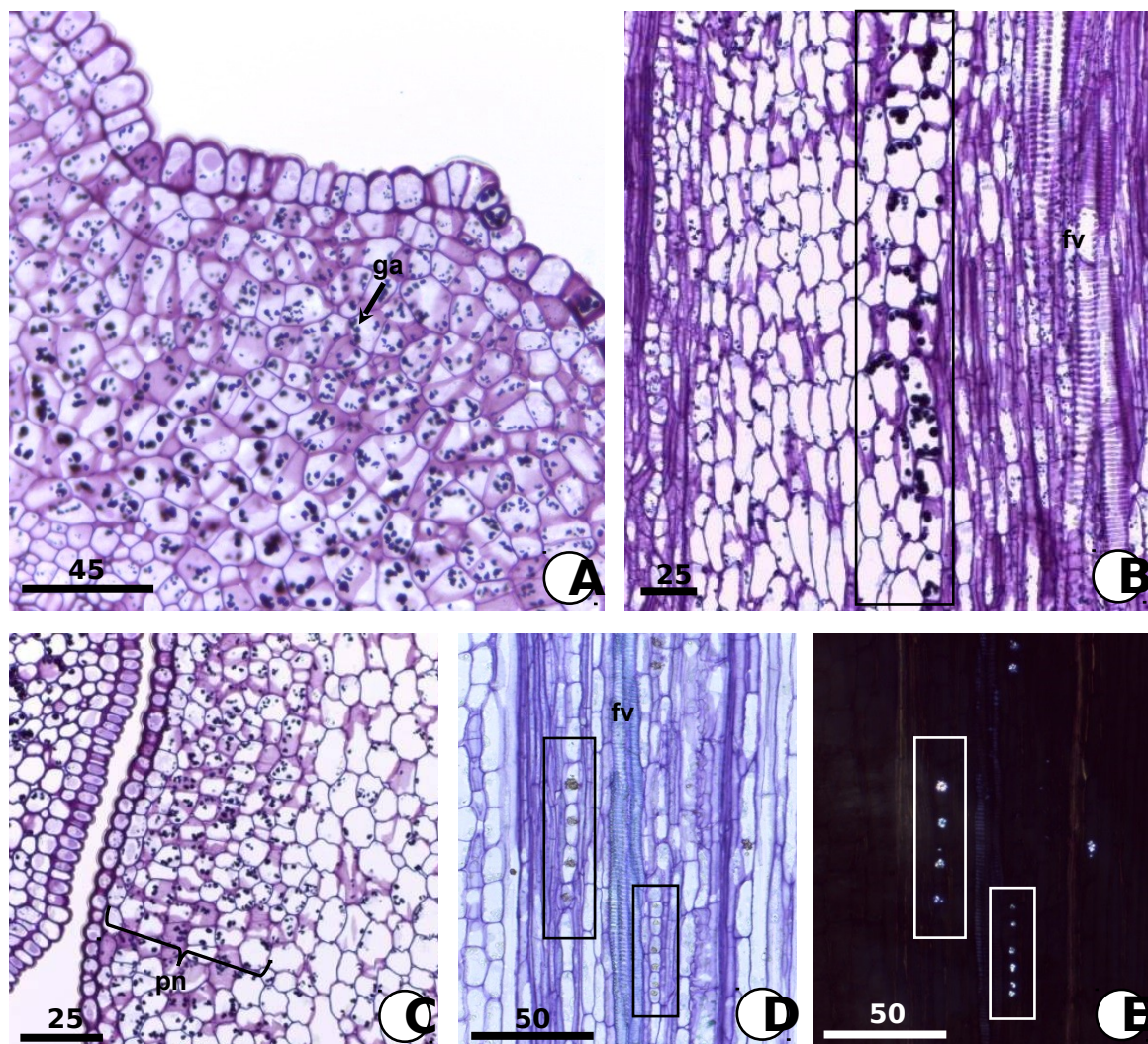


Figura 3. Nectário floral de *Bauhinia monandra*. A - Teste PAS evidenciando grande quantidade de grãos de amido (ga) de formato globoso nas células do parênquima nectarífero na porção basal do tubo. B - Grãos de amido nas células parenquimáticas (retângulo) adjacentes ao floema dos feixes vasculares (fv), em corte longitudinal do pedicelo floral. C - Grãos de amido distribuídos em maior quantidade até a oitava camada do parênquima nectarífero (pn), próximo a inserção das peças florais. D - Cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (retângulo), adjacentes a um feixe vascular (fv) em corte longitudinal do pedicelo floral. E - Como em D, porém sob luz polarizada. Barras de escala em micrômetros.

6. DISCUSSÃO

O nectário estudado de *Bauhinia monandra* é do tipo floral, pois se localiza nas peças florais. Possui a forma de um tubo, tipo esse comum na família Fabaceae (Fahn, 1952; Fahn, 1953; Paiva & Machado, 2008). Este tubo, em *B. monandra*, é uma modificação do hipanto. Nectários em forma de tubo são relatados em vários grupos de plantas, e seu comprimento está correlacionado com o tamanho das peças bucais (probóscides) de diversos insetos polinizadores (Inouye, 1980; Nilsson, 1988). Para o gênero *Bauhinia*, relata-se uma grande diversidade de polinizadores, tais como morcegos, pássaros, abelhas, borboletas e mariposas (Arroyo, 1981; Endress, 1994; Crespi, et al. 2008; Carol et al. 2009). Porém, no presente estudo não foram encontradas informações sobre o polinizador de *B. monandra*. Todavia, a forma de tubo constricto do nectário de *B. monandra* é típica de flores polinizadas por beija-flores, mariposas e borboletas (Inouye, 1980; Nilson, 1988; Yamasaki et al., 2013).

De uma forma bem geral, nectários consistem em parênquima especializado que produz ou armazena solutos (néctar), podendo ser irrigado por feixe vascular que transmite água e nutrientes para o parênquima nectarífero (Fahn, 2000; Pacini, et al., 2003). Este parênquima é geralmente constituído por várias camadas de células dispostas de forma variada, sendo então pequenas e isodiamétricas, frequentemente com paredes finas, citoplasma granular denso, vacúolos pequenos e núcleo relativamente grande (Nepi, 2007).

Em *B. monandra* verificou-se que as células do parênquima nectarífero são ligeiramente maiores que as epidérmicas e apresentam grãos de amido conspícuos. Essas estruturas são comuns no parênquima nectarífero em várias espécies. Em relatos feitos em observações comparativas de nectários antes e depois da secreção de néctar, constatou-se que frequentemente os grãos de amido são hidrolisados durante a produção de néctar (Zer & Fahn, 1992; Peng et al., 2004). A hidrólise de amido leva ao aumento da pressão osmótica no interior das células resultando no influxo de água ao longo do gradiente de concentração de açúcar, da vascularização ao parênquima nectarífero (Zych et al., 2012). Nesse processo, os amiloplastos podem agir conjuntamente com o vacúolo (Peng et al., 2004). Muitos autores também inferem que a hidrólise do amido no parênquima contribui diretamente para o teor de carboidratos que compõem o néctar (Rachmilevitz & Fahn, 1973; Durkee et al., 1981; Zer & Fahn, 1992; Nepi et al., 1996; Pacini et al., 2003; Peng et al., 2004; Pacini & Nepi, 2007; Paiva, 2011). Entretanto, em casos excepcionais, os grãos de amido podem estar ausentes em

todas as fases de desenvolvimento e atividade do nectário, como se relata em *Fritillaria meleagris* (Stpiczyńska et al., 2012).

Tanto as células da epiderme como as do parênquima nectarífero possuem vacúolo pequeno, núcleo relativamente grande e citoplasma fortemente corado com o Xylidine Ponceau (XP), teste este para detecção de proteínas. Tais características indicam alta atividade metabólica (Konarska, 2010) e, conseqüentemente, sugerem atividade de ambos os tecidos no processo de secreção do néctar.

O parênquima nectarífero é o tecido mais volumoso do nectário de *B. monandra* e, portanto, é o mais atuante no processo de elaboração do néctar. Esse parênquima é subtendido por vascularização constituída por xilema e floema, sem contudo emitir terminações vasculares. Mesmo assim, o arranjo dos feixes vasculares em relação ao parênquima nectarífero sugere que os mesmos desempenham uma importante função no fornecimento de precursores de néctar. A contribuição de fotoassimilados pelo floema para a produção de néctar é amplamente relatada (Webster et al., 1982; Davis, et al. 1988; Sawidis, 1991; Cawoy et al., 2008; Chwil & Chwil, 2011), sendo observada uma correlação positiva entre o volume de floema na vascularização e quantidade de carboidratos no néctar (Davis et al. 1998). Esses estudos são quase sempre realizados em nectários irrigados por terminações vasculares, faltando a devida atenção para os nectários apenas atravessados por feixes vasculares (Leitão et al. 2014).

Também, no terço basal do nectário de *B. monandra*, a cutícula é extremamente fina ou invisível ao microscópio de luz e o parênquima nectarífero subjacente tem a sua máxima espessura. Já a epiderme nectarífera nos dois terços superiores não possui estômatos e sua cutícula é mais espessa que no terço basal, embora mais fina que na epiderme não nectarífera que reveste o tubo. Existe uma relação direta entre a quantidade de estômatos e o volume de néctar secretado (Langenberger & Davis, 2002). Assim, pode-se inferir que é na base do tubo do nectário de *B. monandra* que ocorre a máxima produção do néctar, com a eliminação do mesmo pelos estômatos e, provavelmente, também pela parede periclinal externa das células epidérmicas, haja visto possuírem características de células secretoras aliado a uma fina cutícula em sua parede periclinal externa.

Os estômatos que ocorrem na região basal do tubo são, aparentemente, a principal via de saída de néctar para a luz do tubo. Tais estruturas epidérmicas são frequentemente relatadas em nectários como sendo a via de saída do néctar produzido no parênquima nectarífero e

lançado nos espaços intercelulares (Davis, et al. 1998; Falcão, et al. 2003; Radice & Galati, 2003; Bernadello, 2007; Chwil & Chwil, 2011). Esses estômatos são, em geral, modificados e frequentemente descritos como incapazes de controlarem a abertura do ostíolo (Webster et al., 1982; Davis & Gunning, 1992, 1993; Stpiczyńska et al., 2005; 2012). No nectário de *B. monandra*, os estômatos são visivelmente modificados e muito provavelmente são também incapazes de regularem sua abertura.

Quando os estômatos estão envolvidos na exsudação eles são modificados porque não são capazes de regularem sua abertura para exercer tal função (Davis & Gunning, 1992, 1993), e parecem ser a forma mais comum de liberação de néctar (Galetto & Bernardello, 2005), o que os tornam diferentes daqueles encontrados normalmente em folhas, até mesmo em resposta de estímulos variados (Teuber, et al. 1980; Davis & Gunning, 1993). As localizações desses estômatos variam desde a superfície do nectário até as profundas depressões (Gaffal, et al., 1998), mas são perceptíveis quando envolvidos ou não na secreção (Gaffal et al., 1998). Quando os estômatos não estão envolvidos, as próprias células da epiderme ou tricomas estão ligados a esse processo, apesar dos estômatos estarem intimamente ligados à secreção.

Os tricomas encontrados no fundo e na região de abertura do nectário floral de *B. monandra* são tectores, ou seja, não participam na secreção do néctar. Tricomas tectores são também relatados nos nectários de *Solanum stramonifolium*, e aparentemente são envolvidos na proteção dos mesmos (Falcão et al., 2003). Já em *Prunus persica*, especula-se que atenuem a evaporação do néctar (Radice & Galati, 2003).

Embora em *B. monandra* o néctar fique retido dentro de um tubo, as flores de *B. monandra* se agitam sob a influência do vento, e dificulta a retenção do néctar dentro do tubo. Assim, pode especular a ação desses tricomas no auxílio à retenção do néctar dentro do tubo. Outra suposição poderia ser sensações táteis ao aparelho bucal do inseto polinizador, juntamente com as células epidérmicas de natureza papilosa revestindo internamente o tubo.

7. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Claudenir Simões Caires, do Departamento de Ciências Naturais da UESB, pela identificação da espécie; ao discente e amigo Alex Bruno Alves Couto, do curso de graduação em Engenharia Florestal, pela ajuda na coleta de amostras, e à FAPESB - Fundação de Ampara à Pesquisa do Estado da Bahia, pela concessão de bolsa iniciação científica ao primeiro autor.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Achenbach, H; Stocker, M.; Constenla, A., 1988. Flavonoid and other constituents of *Bauhinia manca*. *Phytochemistry*, vol.27, n.6, p.1835-1841.

Albuquerque, U.P.; Pereira, S.A.B.; Silva, A.V., 2000. Pharmacobotanical study of species used in the treatment of the diabetes. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, eneromarzo, 19(1): 7-12.

APG IV (Angiosperm Phylogeny Group). 2016. Angiosperm Phylogeny Poster – Flowering Plant Systematic. PeerJ Preprints. DOI: 10.7287/2320v1.

Arroyo, M. T. K., 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. Pp. 723-769 in Polhill, R. M. & Raven, P. H. (eds.). *Advances in legume systematics. part 2*. Royal Botanic Gardens, Kew.

Badami, R. C. & Daulatabad, C. D. 1969. Component acids of *Bauhinia* seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.20, n.2. p. 99-100.

Balogun, A. M. & Fetuga, B. L. 1985. Fatty acid composition of seed oils of some members of the Leguminosae family. *Food Chemistry*, v.17. p.175-182.

Barroso, G. M.; Peixoto, A. L.; Costa, C. G.; Ichasso, C. L. F.; Guimarães, E. F. & Lima, H. C. 1991. Leguminosae. *In: Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Viçosa: Imprensa Universitária, v. 2, p. 15-100,.

Beattie, A. J., 1985. *The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms*. New York: Cambridge University Press, p. 182.

Bentley, B. L. 1983. Nectaries in agriculture, with an emphasis on the tropics. *In: Bentley, B., Elias, T.S. (Eds.) The biology of nectaries*. New York: Columbia University Press, p. 204-222.

Berlyn, G. P. & Miksche, J. P., 1976. Botanical microtechnique and cytochemistry. (Iowa State University Press: Ames, IA, US).

Bernardello, G., 2007. A systematic survey of floral nectaries. *In* S. W. Nicolson, M. Nepi, and E. Pacini [eds.], Nectaries and nectar, 19–128. Springer, Dordrecht, Netherlands.

Borges, F. I., 2005. Morfo-anatomia de sementes e órgãos vegetativos em três estádios de desenvolvimento de *Bauhinia monandra* Kurz (Leguminosae-Caesalpinioideae) como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas na região amazônica. Tese de Doutorado INPA/UFAM, 149p.

Bozzola, J. J. & Russell, L. D., 1992. Electron microscopy. Jones and Bartlett Publishers, Boston.

Burkart, A. 1979. Leguminosas – Mimosoideas. *In*: Reitz, R. (ed.). Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí, SC. 304p.

Bruneau, A. & Forest, F., 2001. Phylogenetic relationships in the Caesalpinioideae (Leguminosae) as inferred from chloroplast trnL sequences. *Syst. Bot.*, v.26, p. 487-514.

Caribé, J. & Campos, J. M. 1991. Plantas que ajudam o homem: guia prático para a época atual. São Paulo: Cultrix/Pensamento, p.321.

Carol, P. Y. L.; Richard, M. K. S.; Saunders, L. R., 2009. Floral biology, breeding systems and population genetic structure of three climbing *Bauhinia* species (Leguminosae: Caesalpinioideae) in Hong Kong, China. *Journal of Tropical Ecology* / Volume 25 / Issue 02/ March 2009, pp 147 – 159 DOI: 10.1017/S0266467408005762.

Casparry, R., 1848. De Nectariis. Elberferld.

Castro, L. M. R., Oliveira, G. L. S., Coutinho, S. C., Santos, F. J. B., Saffi, F. 2009. Identificação botânica da *Bauhinia forficata*. IV CONNEPI.

Cawoy, V.; Kinet, J. M.; Jacquemart, A.L., 2008. Morphology of nectaries and biology of nectar production in the distylous species *Fagopyrum esculentum*. *Ann Bot* 102:675–684.

Connor, K.F. 2000. *Bauhinia monandra* Kurz. Southern Research Station, USDA Forest Service. Mississippi State, Mississippi.

Chase, M. W. & Kron, K. A., 1993. Systematics of the Ericaceae, Empretaceae, Epacridaceae and related taxa based upon *rbcL* sequence data. *Ann. Missouri Bot. Gard.* v. 80, p. 735-741.

Crespi, B.; Amorim, L. S.; Rodrigues, A. P. P.; Gandara, F. B., 2008. *Bauhinia variegata* L.: a coloração das flores e sua influência na comunidade dos visitantes florais.

Cruz, G.L., 1982. Dicionário das plantas úteis do Brasil. Difel. Rio de Janeiro, RJ. 2ª ed. 599p.

Chwil, M. & Chwil, S., 2011. Micromorphology and ultrastructure of the floral nectaries of *Polemonium caeruleum* L. (Polemoniaceae). *Protoplasma* 249: 1059–1069. DOI 10.1007/s00709-011-0341-y.

Cronquist, A., 1981. An intergrated system of classification of flowering plants. New York: Columbia University Press, p. 1262.

Dahlgren, R. M. T., 1983. General aspects of angiosperm evolution and macrosystematics. *Nordical Journal of Botany*, v. 3, p. 119-149.

Davis, A. R.; Peterson, R. L.; Shuel, R. W., 1988. Vasculature and ultrastructure of the floral and stipular nectaries of *Vicia faba* (Leguminosae). *Can. J. Bot.*, v. 66, p. 1435-1448.

Davis, A. R. & Gunning, B. E. S., 1992. The modified stomata of the floral nectary of *Vicia faba* L. 1. Development, anatomy and ultrastructure. *Protoplasma* 166: 134-152.

Davis, A. R. & Gunning, B. E. S., 1993. The modified stomata of the floral nectary of *Vicia faba* L. 3. Physiological aspects, including comparison with foliar stomata. *Botanica Acta* 106: 241-253.

Doyle, J. J., 1995. DNA data and legume phylogeny: a progress report. *Advances in legume systematic*. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew. *Phylogeny*, p. 11-30.

Doyle, J. J.; Chappill, J. A.; Bailey, C. D.; Kajita, T., 2000. Towards a comprehensive phylogeny of legumes: evidences from *rbcL* sequences and non molecular data. *Advances in legume systematic*. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew. p.1-20.

Doyle, J. J. & Luckow, M. A., 2003. The rest of 5th iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology*, v. 131, p. 900-910.

Endress, P. K., 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 511.

Fahn, A., 1952. On the structure of floral nectaries. *Botanical Gazette* 113: 464–470

Fahn A., 1953. The topography of the nectary in the flower and its phylogenetic trends. *Phyto morphology*, 3: 424 426.

Fahn, A., 1979. *Secretory tissues in plants*. (Academic Press: London).

Fahn , A. 2000. Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Research* 31: 37 – 75

Falcão, P. F.; Melo, P.; Leal, I. R.; Almeida, C. J. S., 2003. Morphology and anatomy of extrafloral nectaries in *Solanum stramonifolium* (Solanaceae). *Canadian Journal of Botany*, 81, 859–864.

Freitas, D. M., 2012. O gênero *Desmodium* Desv. (Fabaceae-Faboideae) no estado de Santa Catarina. Florianópolis, SC. p. 135.

Fuhro, D. 2006. O sistema *Asclepias curassavica* L., *Epidendrum fulgens* Brongn. e *Lantana camara* L. constitui um complexo mimético, com borboletas como operadores? Um estudo no Parque Estadual de Itapeva, Torres, RS. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Gaffal, K. P.; Heimler, W.; el-Gammal, S., 1998. The floral nectary of *Digitalis purpurea* L., structure and nectar secretion. *Annals of Botany* 81: 251–262.

Gabe, M., 1968. *Techniques histologiques*. Paris: Masson & Cie. p. 1113.

Galetto, L. & Bernardello, G., 2005. Nectar. Pp. 261- 313 en: Dafni, A; PG Kevan & BC Husband (Eds.). *Rewards in flowers*. Practical Pollination Biology. Cambridge, Ontario.

Haver, N. J., 2002. Desenvolvimento, purificação e caracterização de IgG anti lectina de folha de *Bauhinia monandra*. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco.

Inouye, D. W., 1980. The effect of proboscis and corolla tube lengths on pattern and rates of flower visitation by bumblebees. *Oecologia* 45: 197– 201.

Janzen, D. H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution*, v. 20, p. 249- 275, 1966.

Johansen, D. A., 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.

Juchum, F. S., 2007. Análise filogenética das variantes morfológicas foliares de *Caesalpinia echinata* Lam. (Pau-Brasil) da região sul baiana com base em sequências de DNA. Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Janeiro de 2007.

Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A., 1998. *Plant systematic phylogenetic approach*. Sinauer Associates, p. 283-288.

Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F. & Donoghue, M. J., 2009. Sistemática vegetal. Um enfoque filogenético. 3a ed. Artmed, Porto Alegre. 632p.

Kajita, T.; Ohashi, H.; Tateishi, Y.; Doyle, J. J., 2001. rbcL and legume phylogeny, with particular reference to Phaseoleae, Millettieae and allies. Systematic Botany. v. 26, p. 515-536.

Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J. Cell Biol., 27: 137–138.

Konarska, A., 2010. Flower nectary structure in *Cornus alba* L. Plant Syst Evol (2011) 291:1 6 DOI 10.1007/s00606-010-0364-4.

Kronstedt, E.C.; Robards, A.W.; Stark, M.; Olesen, P., 1986. Development of trichomes in the *Abutilon* nectary gland. Nordic Journal of Botany, 6, 627–640.

Langenberger, M. W. & Davis, A. R., 2002. Temporal changes in floral nectar production, reabsorption, and composition associated with dichogamy in annual caraway (*Carum carvi*, Apiaceae). American Journal of Botany, 89, 1588–1598.

Leitão, C. A. E.; Dolder, M. A. H.; Cortelazzo, A. L., 2014. Anatomy and histochemistry of the nectaries of *Rodriguezia venusta* (Lindl.) Rehb. f. (Orchidaceae). Flora, 209, 233-243.

Lewis, G. P., 1987. Legumes of Bahia. Kew Botanic Gardens, p.369.

Lewis, G. P. & Schrire, B. D., 2003. Leguminosae or Fabaceae?. In: Klitgaard, B. B.; Bruneau, A. (eds.). Advances in Legume Systematics 10, Higher Level Systematics. London: Royal Botanic Gardens, Kew, p. 1-3.

Maia, V., 1979. Técnica histológica. 2ª ed. Atheneu, São Paulo, p.70-136.

- Menezes, F. S.; Minto, A. B. M.; Ruela, H. S.; Kuster, R. M.; Sheridan, H.; Frankish, N., 2007. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17(1): 08-13.
- Moreira, F. F., Vaz, A. M. S. F., Mendonça, C. B. F., Esteves, V. G. 2013. The systematic value of pollen morphology in trees and shrubs species of *Bauhinia* L. (Caesalpinioideae-subg. *Bauhinia* – sect. *Pauletia*) occurring in Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 27(2): 400-417. 2013.
- Nepi M. 2007. Nectary structure and ultrastructure. In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E, eds. *Nectaries and nectar*. Dordrecht: Springer, 129–166.
- Nilsson, L. A., 1988. The evolution of flowers with deep corolla tubes. *Nature* 334: 147–149.
- Oliveira, P. S. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). *Funct. Ecol.*, v. 11, p. 323-330, 1997.
- Pacini, E.; Nepi, M., Vesprini, J. L., 2003. Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution* 238: 7–21.
- Paiva, E. A. S., 2011 . Petaline nectaries in *Swietenia macrophylla* (Meliaceae): Distribution and structural aspects. *Flora* 206 : 484 – 490.
- Paiva, E. A. S. & Machado, S. R., 2008. The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): structural aspects during floral development. *Ann Bot* 101(1):125–133.
- Pearse, A. G. E., 1980. *Histochemistry theoretical and applied*. Edinburgh: Churchill Livingston.

Peng, Y. B.; Li, Y. Q.; Hao, Y. J.; Xu, Z. H.; Bai, S. N., 2004. Nectar production, and transportation in the nectaries of the female *Cucumis sativus* L. flower during anthesis. *Protoplasma*, 224, 71–78.

Pizzolato, T. D. & Lillie, R. D., 1973. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 21, 56–64.

Rachmilevitz, T. & Fahn, A., 1973. Ultrastructure of nectaries of *Vinca rosea* L., *Vinca major* L. and *Citrus sinensis* Osbeck cv. Valencia and its relation to the mechanism of nectar secretion. *Annals of Botany* 37, 1–9.

Radice, S.; Galati, B. G., 2003. Floral nectary ultrastructure of *Prunus persica* (L.) Batch cv. Forastero (Newcomer), an Argentine peach. *Plant Systematics and Evolution* 238: 23–32.

Raven, P. H. & Polhill, R. M., 1981. (Eds.). *Advances in legume systematics part I*. Kew: Royal Botanic Gardens, p. 57-64.

Rodrigues, A. C. L. N. & Vaz, A. M. S. F., 2008 *Bauhinia albicans* e *B. affinis*: espécies nativas ameaçadas de extinção no estado do Rio de Janeiro. *Rodriguésia* 59 (3): 449-454.

Savolainen, V.; Soltis, D. E.; Soltis, P. S.; Chase, M. W.; Mort, M. E.; Albach, D. C.; Zanis, M.; Hahn, W. H.; Hoot, S. B.; Fay, M. F.; Axtell, M.; Swensen, S. M.; Prince, L. M.; Kress, W.J.; Nixon, K. C.; Farris, J. S., 2000. Angiosperm phylogeny inferred from a combined dataset of 18S rDNA, rbcL and atpB sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society*. v. 133, p. 381-461.

Sawidis, T., 1991. A histochemical study of nectaries of *Hibiscus rosa-sinensis*. *J. Exp. Bot.* 42: 1477–1487.

Schmid, R., 1988. Reproductive versus extra reproductive nectaries historical perspective and terminological recommendations. *Bot. Rev.* 54: 179-232.

Silva, K. L. & Cechinel, F. V., 2002. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí – SC. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 3, 449-454.

Smets, E. F.; Ronse, D. L. P.; Caris, P.; Rudall P. J., 2000. Floral nectaries in monocotyledons: distribution and evolution. [In:] *Monocots: Systematics and Evolution*, K. L. Wilson, D. A. Morrison (eds.), CSIRO, Melbourne.

Soltis, D. E.; Soltis, P. S.; Endress, P. K.; Chase, M. W., 2005. *Phylogeny and Evolution of Angiosperms*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts U.S.A, 370 p.

Stpiczyńska, M.; Milanesi, C.; Faleri, C.; Cresti, M., 2005. Ultrastructure of the nectary spur of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rchb. (Orchidaceae) during successive stages of nectar secretion. *Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica*, 47, 111–119.

Stpicznaska, M.; Nepi, M.; Zych, M., 2012. The structure of perigonal nectaries and nectar composition in *Fritillaria meleagris* L. (Liliaceae). *Plant Systematics and Evolution* 298: 997–1013. DOI 10.1007/s00606-012- 0609-5.

Teuber, L. R.; Albertsen, M. C.; Barnes, D. K.; Heikel, G H., 1980. Structure of floral nectaries of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in relation to nectar production. *American Journal of Botany* 67: 433-439.

Vaz, A. M. S. F. & Tozzi, A. M. G. A. 2005. Sinopse de *Bauhinia* sect. *Pauletia* (Cav.) DC. (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cercideae) no Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 28(3): 477-491.

Vidal, B. C., 1970. Dichroism in collagen bundles stained with xylidine ponceau 2R. *Annales d’Histochimie*. 15, 289–296.

Vidal, B.C., 1977. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. *Cell Mol. Biol.* 22: 45–64.

Webster, B. D.; Ross, D. M.; Evans, T., 1982. Nectar and the nectary of *Phaseolus vulgaris*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 107: 497–503.

Wunderlin, R., Larsen, K. & Larsen, S. L. 1987. Reorganization of the Cercideae (Fabaceae: Caesalpinioideae). *Biologiske Skrifter Danske Videnskabernes Selskab* 28: 1-40.

Yamasaki, E. & Sakai, S., 2013. Wind and insect pollination (ambophily) of *Mallotus* spp. (Euphorbiaceae) in tropical and temperate forests. *Australian Journal of Botany* 61 : 60 – 66.

Zer, H. & Fahn, A., 1992. Floral nectaries of *Rosmarinus officinalis* L. Structure, ultrastructure and nectar secretion. *Annals of Botany* 70: 391-397.

Zych, M.; Stpiczynska, M.; Roguz, K., 2012. Reproductive biology of the red listed species *Polemonium caeruleum* L. (Polemoniaceae). 26th Annual Meeting of the Scandinavian Association of Pollination Ecologists. 25–28 October, Skjaerhalden Sjobuer, Norway.

ANEXOS

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA FLORA ELSEVIER *Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants.*

GUIDE FOR AUTHORS

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>. Further information and an example of a Conflict of Interest form can be found at: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/286/p/7923.

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/sharingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service CrossCheck <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts: *Before the accepted manuscript is published in an online issue*: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged and (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers

will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names in an article published in an online issue will follow the same policies as noted above and result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright, see <http://www.elsevier.com/copyright>). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult

<http://www.elsevier.com/permissions>.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' (for more information see <http://www.elsevier.com/OAauthoragreement>).

Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of user license see (<http://www.elsevier.com/openaccesslicenses>).

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/languageediting/>) or visit our customer support site (<http://support.elsevier.com>) for more information.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/flora>.

Referees

Please submit the names and institutional e-mail addresses of several potential referees. For more details, visit our [Support site](#). Note that the editor retains the sole right to decide whether or not the suggested reviewers are used.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in

the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication and a copy of the title page of the relevant article must be submitted.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have a standard template available in key reference management packages. This covers packages using the Citation Style Language such as Mendeley (<http://www.mendeley.com/features/reference-manager>) and also others like EndNote (<http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>) and Reference Manager (<http://refman.com/support/rmstyles.asp>). Using plug-ins to word processing packages which are available from the above sites, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article and the list of references and citations to these will be formatted according to the journal style as described in this Guide. The process of including templates in these packages is constantly ongoing. If the journal you are looking for does not have a template available yet, please see the list of sample references and citations provided in this Guide to help you format these according to the journal style.

If you manage your research with Mendeley Desktop, you can easily install the reference style for this journal by clicking the link below: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/flora>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice. For more information about the Citation Style Language, visit <http://citationstyles.org>.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author*: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. *Two authors*: both authors' names and the year of publication;
3. *Three or more authors*: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: 'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown'

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters 'a', 'b', 'c', etc., placed after the year of publication.

Examples:

Reference to a journal publication: Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations:

<http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.