



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM BOTÂNICA TROPICAL  
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI**



**LEANDRO PAULO MONTEIRO MACEDO**

**NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM *PASSIFLORA* DA REGIÃO  
METROPOLITANA DE BELÉM: MORFOANATOMIA E ASPECTOS  
ECOLÓGICOS**

**BELÉM**

**2013**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM BOTÂNICA TROPICAL  
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI**



**LEANDRO PAULO MONTEIRO MACEDO**

**NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM *PASSIFLORA* DA REGIÃO  
METROPOLITANA DE BELÉM: MORFOANATOMIA E ASPECTOS  
ECOLÓGICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Programa de pós-graduação em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.

Orientador (a): Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Cristina de Andrade Aguiar Dias

**BELÉM**

**2013**

## **Ficha Catalográfica**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM BOTÂNICA TROPICAL  
MUSEU PARAENSE EMÍLIO GOELDI**



**LEANDRO PAULO MONTEIRO MACEDO**

**NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM *PASSIFLORA* DA REGIÃO  
METROPOLITANA DE BELÉM: MORFOANATOMIA E ASPECTOS  
ECOLÓGICOS**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi, como parte das exigências do Programa de pós-graduação em Ciências Biológicas: área de concentração Botânica Tropical, para obtenção do título de Mestre.**

Aprovado em:  
BANCA EXAMINADORA

---

Dr<sup>a</sup> Ana Cristina de Andrade Aguiar Dias – Orientadora  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ-UFPA

---

Dr<sup>a</sup>. Michaelle Alvim Milward de Azevedo  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO-UFRRJ

---

Dr<sup>a</sup> Maria Auxiliadora Feio Gomes  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA

---

Dr. João Ubiratan Moreira dos Santos  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA

Dedico com muito amor e carinho,

Ao meu Senhor e Salvador Jesus Cristo, por toda força, saúde e sabedoria que sempre me deu e continua dando ao longo de toda minha vida.

À minha mãe Rosa Macedo, pelo amor, carinho, dedicação e educação que tem me dado.

À minha noiva Ananda Nascimento, pelo amor, paciência e apoio.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, pela oportunidade e força dada, nos momentos mais difíceis, onde tudo parecia que iria dar errado e enquanto muitas pessoas não acreditavam em mim, Ele acreditou.

À **Universidade Federal Rural da Amazônia** pela oportunidade de cursar uma pós-graduação em nível de mestrado acadêmico.

Ao **Museu Paraense Emílio Goeldi** por ter cedido o espaço e a infraestrutura necessários para a realização desta pesquisa.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão da bolsa de mestrado.

À **Coordenação da pós-graduação** pelos e-mails indicando prazos e datas, informativos, convites, etc.

Aos **professores** do curso pela contribuição que cada um proporcionou, de acordo com sua área de atuação.

À minha orientadora **Dr. Ana Cristina de Andrade Aguiar Dias**, pela amizade, orientação, ajuda na elaboração do trabalho, pelos artigos enviados e tudo aquilo que tem contribuído com meu crescimento profissional.

A **Jessica Yumi Yoshimo** por montar as formigas para a posterior identificação.

A **Sherlem Patricia** da entomologia por ter me ajudado na identificação das formigas.

Ao professor Dr. **Alessandro Rapini** por me ajudar com a aquisição de alguns artigos bastante importantes para o desenvolvimento do trabalho.

À todos os colegas da **turma de 2011** pelas contribuições feitas, sejam elas diretas ou indiretas, pela amizade, força e companheirismo, mesmo que haja em alguns casos, muitas “discordâncias filosóficas”.

À todos os amigos do **Laboratório de Anatomia Vegetal** pelas incansáveis conversas e contribuições, pelas gargalhadas, enfim, foram verdadeiros amigos.

Ao **Eduardo** da turma de 2010, que me ajudou bastante com os primeiros passos dentro da família Passifloraceae.

Ao seu **Oswaldo** pelas ajudas nas coletas.

Aos **membros da banca examinadora**, pelas valiosas contribuições, com o intuito de melhorar o trabalho e consequentemente ter mais chances de publicá-lo.

À minha **família** pelo apoio e força dados a todo o momento, desde a prova de seleção, inclusive por ter me ajudado a achar uma das espécies estudadas.

À minha noiva linda e maravilhosa, **Ananda Nascimento**, por estar sempre ao meu lado me incentivando, apoiando, ouvindo meus estresses, reclamações, enfim, por ser a companheira que eu sempre pedi a Deus, e um pouco mais.

"Não sejas sábio a teus próprios olhos; teme ao SENHOR e aparta-te do mal". Pv. 3:7

"Porque o Senhor dá sabedoria, e da sua boca vem a inteligência e o entendimento". Pv. 2:6

"Porque dEle e por Ele, e para Ele, são todas as coisas". Rm. 11:36

**Deus**



## Sumário

RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	3
LISTA DE TABELAS .....	4
LISTA DE FIGURAS .....	5
1. CONTEXTUALIZAÇÃO .....	6
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	9
2.1. Nectários extraflorais .....	9
2.2. Relações entre plantas e formigas.....	14
2.3. O gênero <i>Passiflora</i> L. ....	15
REFERÊNCIAS.....	17
3. ARTIGO. ....	28
NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM <i>PASSIFLORA</i> DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM: MORFOANATOMIA E ASPECTOS ECOLÓGICOS .....	28
RESUMO.....	28
ABSTRACT.....	29
INTRODUÇÃO .....	30
MATERIAL E MÉTODOS.....	31
RESULTADOS.....	32
DISCUSSÃO .....	41
Anatomia e Histoquímica .....	41
Morfologia e implicações ecológicas dos NEFs .....	42
Referencias bibliográficas .....	44

## RESUMO

Nectários extraflorais (NEFs) são estruturas secretoras especializadas na produção de néctar, uma solução constituída essencialmente por açúcares. Estas glândulas têm sido alvo de muitos estudos, sobretudo, na família Passifloraceae que possuem glândulas peciolares classificadas como NEFs em muitos estudos. Em função disso, o presente trabalho objetiva investigar os aspectos anatômicos, bem como compreender alguns dos aspectos ecológicos relacionados às glândulas de *Passiflora ambigua*, *P. ceratocarpa* e *P. quadrangularis*, e, conseqüentemente, fornecer dados para a taxonomia do taxa. O material foi coletado na região metropolitana de Belém, e submetido aos protocolos usuais de anatomia vegetal para análise em microscopia de luz e eletrônica de varredura, assim como, para testes histoquímicos. Todos os insetos e aracnídeos coletados foram identificados por especialistas. Foram encontrados cinco gêneros de formigas visitando as três espécies de *Passiflora*, dos quais o gênero *Camponotus* foi o mais abundante, sendo encontrado em todas as espécies, seguido pelo gênero *Pseudomyrmex*. Também foram encontradas associações com aranhas Psauridae em *P. ambigua* e Salticidae em *P. quadrangularis*. Anatomicamente, os NEFs das três espécies possuem grande semelhança, inclusive com relação aos seus compostos químicos, sendo encontrados açúcares, proteínas e lipídeos. Os cristais de oxalato de cálcio encontrados em diferentes quantidades nas três espécies estão influenciando diretamente na produção de néctar, e conseqüentemente na atração das formigas, gerando diferentes níveis de proteção contra herbivoria nos indivíduos estudados.

**Palavras-chave:** *Passiflora*, interação inseto-planta, néctar, herbivoria.

**ABSTRACT**

**Keywords:** Passiflora, Extrafloral nectaries, crystals of calcium oxalate, herbivory.

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Diferenças entre os Nectários Florais e extraflorais	10
Tabela 2	Trabalhos que corroboram com a hipótese protecionista	12
Tabela 3	Espécies de formigas encontradas	33
Tabela 4	Resultado dos testes histoquímicos	35

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b>	Espécies de <i>Passiflora</i> estudadas	08
<b>Figura 2</b>	Nectários de <i>Passiflora ambigua</i> , <i>P. ceratocarpa</i> e <i>P. quadrangularis</i>	32
<b>Figura 3</b>	Ovos, larvas e aranhas encontradas	33
<b>Figura 4</b>	Formigas coletoras	36
<b>Figura 5</b>	Hábito e microscopia de <i>P. ambigua</i>	37
<b>Figura 6</b>	Hábito e microscopia de <i>P. ceratocarpa</i>	38
<b>Figura 7</b>	Hábito e microscopia de <i>P. quadrangularis</i>	39
<b>Figura 8</b>	Resultado dos testes histoquímicos	40

## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO

Nectários são estruturas secretoras especializadas na produção de néctar e que possuem uma grande variedade de formas, localizações e funções no corpo da planta (FAHN, 1979; BENTLEY & ELIAS, 1983). Nestes dois últimos, os nectários podem ser classificados como florais (NFs) e extraflorais (NEFs) e como nupciais (NNs) e extranupciais (NENs), respectivamente (FAHN, 1979; LEITÃO *et. al*, 2002; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2006; AGUIAR-DIAS, 2011).

Os nectários podem ser encontrados na superfície das plantas, no mesmo nível da epiderme, abaixo do nível desta, ou até mesmo formar estruturas proeminentes e complexas. O principal tecido constituinte do nectário é chamado de tecido nectarífero, local onde o néctar é elaborado (FAHN, 1979; VASSILYEV, 2010).

Os constituintes do néctar variam de acordo com a espécie vegetal, entre outros fatores abióticos e do ciclo de vida do vegetal, sendo constituído basicamente por sacaroses, glicose e frutose, podendo haver também proteínas, aminoácidos e lipídios, que entram na estruturação de alguns óleos essenciais que fazem parte do néctar de algumas espécies. Não raro, são encontrados glicosídeos e alcalóides, que garantem proteção antibacteriana ao vegetal (FAHN, 1979; HEIL, 2011).

Com isso, podemos ver que o néctar é uma solução heterogênea, e isto se deve às pressões seletivas ocorrentes nas diferentes espécies ao longo do processo evolutivo, especialmente quando são consideradas as coevoluções interespecíficas, nas quais estão envolvidas as preferências alimentares, relacionadas a este recurso energético disponível no vegetal (BENTLEY & ELIAS, 1983; WAGNER & KAY, 2002; WILDER AND EUBANKS, 2009; HEIL, 2011).

Ao longo dos anos várias hipóteses têm surgido para tentar explicar a função ecológica dos nectários, e alguns autores têm entrado em contradição, de um lado, pesquisadores afirmam simplesmente uma função fisiológica para a planta, de outro, autores afirmam que possuem uma função protetora, pois os vegetais que os possuem estão, de acordo com alguns fatores, protegidos contra a herbivoria (ARMEN TAKHTAJAN, 1980; PETER ENDRESS, 1994; NICOLSON, NEPI & PACINI, 2007).

Em ambientes tropicais estas glândulas são bastante comuns, criando uma intensa relação mutualística facultativa ou obrigatória entre formigas e plantas (KOPTUR, 1992; OLIVEIRA & PIE, 1998). Esta relação envolve praticamente um terço de todas as espécies lenhosas de um determinado habitat, e em locais que as espécies de formigas são reduzidas ou até mesmo

ausentes, o número de plantas com nectários extraflorais é reduzido (KEELER, 1980; SCHUPP & FEENER, 1991; OLIVEIRA & PIE, 1998).

Várias famílias de Angiospermas possuem NEFs (FAHN, 1979), dentre elas podemos destacar Passifloraceae Juss. ex Kunth, com suas glândulas peciolares característica do grupo, e que possuem grande importância taxonômica para o grupo (KILLIP, 1938). Um dos gêneros mais bem representativos do grupo, sem dúvida é *Passiflora* L. com aproximadamente 520 espécies por todo o mundo e no Brasil pode-se encontrar 129 espécies (SOUZA & LORENZI 2008; CERVI, 2012).

Todos os caracteres florais e vegetativos utilizados na descrição taxonômica do grupo possuem uma grande variabilidade, gerando uma complexidade taxonômica no grupo (MACDOUGAL, 1994; CERVI, 2004; MUSCHNER, 2005).

Por isso o presente trabalho objetiva investigar os aspectos anatômicos, bem como compreender alguns dos aspectos ecológicos relacionados às glândulas de *Passiflora ambigua* (figura 1A e B), *P. ceratocarpa* (figura 1C e D) e *P. quadrangularis* (1E e F), e, consequentemente, fornecer dados para a taxonomia do taxa.

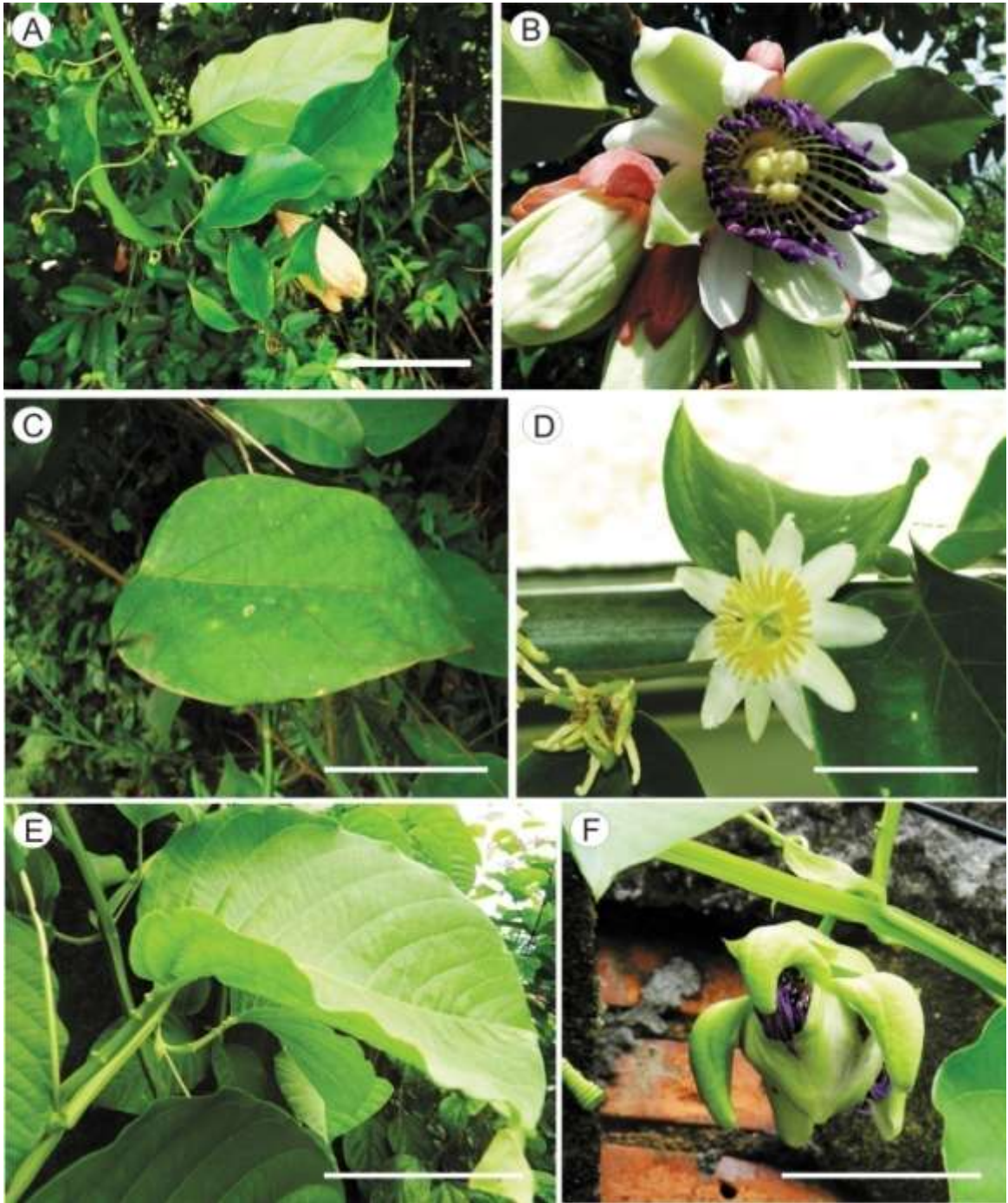


Figura 1. Espécies de *Passiflora* estudadas: (A) ramo de *P. ambigua*, barra 7cm; (B) flor de *P. ambigua*, barra 7cm; (C) ramo de *P. ceratocarpa*, barra 8cm; (D) flor de *P. ceratocarpa*, barra 10cm; (E) ramo de *P. quadrangularis*, barra 11cm; (F) flor de *P. quadrangularis*, barra 10cm.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Nectários extraflorais

Estas estruturas começaram a ser estudadas no início da década de 80 por Behrens e Bonnier. Contudo, segundo Behrens o primeiro a utilizar o termo “néctar” foi J. Ruellius, em 1543, fazendo com que a atenção de alguns pesquisadores se voltasse para esta secreção nos séculos posteriores (FAHN, 1979).

Segundo Fahn (op.cit.), o termo “nectário” foi introduzido no século XVIII por Linneau. Caspary (1848) dividiu os nectários em floral (NFs) e extrafloral (NEFs), fazendo referência a sua localização em relação à flor. Já Delpino (1868-75), tendo por base a função de cada um dos nectários, sugeriu a divisão em nupcial e extranupcial, sendo que os nectários nupciais seriam aqueles relacionados ao processo de polinização, enquanto que os extranupciais não possuiriam esta relação, contudo, estariam envolvidos com a proteção contra a herbivoria.

A origem destas estruturas secretoras ainda é obscura e muitos pesquisadores têm trabalhado para preencher esta lacuna, de forma mais ampla, levando em consideração a evolução das famílias de angiospermas, nos remetendo a uma visão mais geral sobre a incidência, diversidade, origem e função de tais estruturas, e alguns exemplos clássicos nos mostram como estes conceitos relacionados à origem do néctar e dos nectários foram sendo modificados, ao passo que novas informações vinham a público (NICOLSON, NEPI & PACINI, 2007).

O primeiro a escrever sobre uma possível teoria a respeito da origem dos nectários foi Armen Takhtajan em 1980 em seu trabalho voltado para a classificação das angiospermas, onde ele forneceu esboços a respeito do tema. Segundo o autor, os nectários surgiram de forma independente nos diversos grupos botânicos, com uma variedade tanto nas formas e tamanhos, quanto na complexidade estrutural, e provavelmente os primeiros polinizadores eram besouros e o atrativo inicial na polinização por insetos não era o néctar, mas sim o pólen, no entanto, a relação custo benefício na produção de pólen para este fim era muito alta, e no decorrer da evolução foi desenvolvido um recurso energético mais barato, e eficiente para atração de polinizadores, o néctar.

Peter Endress (1994) com base em novos dados provenientes da paleobotânica e sistemática molecular, afirmou que as primeiras recompensas para polinizadores, na verdade foram secreções florais que não possuíam grande complexidade, e não o pólen como foi dito

por Armen Takhtajan, que por sua vez teve suas teorias retomadas, a luz de novas evidências, e com a ajuda de Endress (*ibidem*) que reafirmou a hipótese e acrescentou que os nectários teriam surgido de forma independente, e poderiam se apresentar com grande variedade de posições nos tecidos florais (SIMPSON & NEFF, 1983).

NFs e NEFs podem possuir as mais variadas formas e tamanhos, assim como, estarem presentes em vários locais nos órgãos dos vegetais, em função disso, tais estruturas possuem valor taxonômico (CHAMBERLAIN, 1914; DURKEE, 1983; ELIAS, 1972, 1980; KOPTUR, 1992). Da mesma forma, eles podem diferir significativamente em relação a sua anatomia, mas no geral, são constituídos basicamente por uma epiderme com ou sem estômatos, por onde o néctar é liberado para o exterior; um parênquima especializado que sintetiza ou armazena os componentes do néctar, este parênquima é irrigado por um tecido vascular que transporta água e nutrientes para o mesmo (ELIAS, 1983; NICOLSON, NEPI & PACINI, 2007). O conjunto destas características, especialmente a vascularização, permitiu a classificação dos NEFs em três linhas evolutivas: a primeira é composta por nectários não vascularizados e sem uma estrutura bem definida; a segunda por nectários não vascularizados, mas com uma estrutura bem definida e por último, os nectários vascularizados (ELIAS, 1983). Na Tabela 1 podemos notar algumas das principais características que diferenciam os NFs dos NEFs.

Tabela 1. Resumo das principais diferenças entre os NFs e NEFs.

	<b>Nectários Florais</b>	<b>Nectários extraflorais</b>
<b>Função</b>	Recompensa para polinizadores	Recompensa para animais defensores de herbívoros
<b>Posição</b>	Verticilos florais e receptáculos	Órgãos vegetativos das plantas
<b>Consumidores de néctar</b>	Insetos: principalmente Himenóptera, Díptera, Lepidóptera. Aves: como exemplo, temos o beija-flor e os Sunbird. Mamíferos: morcegos, pequenos marsupiais, etc.	Principalmente formigas
<b>Quantidade do néctar produzido</b>	Menos de 1 µl por ml e é proporcional ao volume do parênquima nectarífero	Geralmente poucos ml por dia
<b>Variação na qualidade do néctar</b>	As características químicas e físicas (viscosidade) variam amplamente em função da	As características físico-químicas do néctar variam menos, uma

variedade de consumidores de néctar	vez que as formigas são os principais consumidores
(NICOLSON, NEPI & PACINI, 2007; adaptado)	

A identificação de uma estrutura secretora como nectário não pode ser determinada apenas pela morfologia que a estrutura apresenta, devendo ser também, observada a composição química da secreção produzida, pois em diferentes estudos, as glândulas nectaríferas foram confundidas com coléteres, hidatódios ou elaióforos devido ao formato ou por serem registradas como tal em outras espécies do grupo (SCHMID, 1988). Um exemplo disto são as glândulas foliares de *Passiflora*, que em *P. foetida* (Bertol.) Mast. são responsáveis pela produção de resina e nas demais espécies do gênero, néctar (DURKEE *et al.* 1984).

Os principais constituintes do néctar são as sacaroses, glicose e frutose e estes podem variar bastante de acordo com cada espécie, também pode conter também: proteínas, que não necessariamente são enzimáticas como as encontradas em muitos nectários florais; aminoácidos, que ocorrem com certa especificidade em cada espécie; lipídios, que foram registrados em um grande número de espécies de plantas, fazendo parte da estrutura de alguns óleos essenciais que são secretados juntamente com o néctar, assim como substâncias, glicosídeos e alcalóides, que conferem ao néctar propriedades tóxicas, garantindo à planta proteção antibacteriana. Logo, um nectário pode não produzir apenas açúcar, mas um conjunto heterogêneo de substâncias voltadas para a funcionabilidade de tal estrutura (FAHN, 1979).

A planta mais antiga e ainda existente é a samambaia *Pteridium aquilinum* L. Kuhn (Heads e Lawton, 1985). Atualmente, já se sabe que os NEFs estão amplamente distribuídos em aproximadamente 93 famílias e 332 gêneros de vegetais, das Pteridófitas as Angiospermas (KOPTUR, 1992), e dentro das Angiospermas são frequentemente encontrados em espécies de Bignoniaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Malvaceae, Passifloraceae, Poaceae, Polygonaceae e Turneraceae (FAHN, 1979). E preferencialmente encontrados em plantas ocorrentes nas regiões tropicais e temperadas (BENTLEY & ELIAS, 1983; KOPTUR, 1992).

Em função de suas características, os NEFs acabam atraindo uma diversidade de animais, em busca de alimento e essa relação, pode ser benéfica para o vegetal ou prejudicial, isso é claro, vai depender das espécies estão sendo atraídas, do hábitat, e várias outras questões bióticas e abióticas (HORVITZ & SCHEMSKE, 1984; OLIVEIRA & PIE, 1998; WIRTH & LEAL, 2001). Toda esta dinâmica envolvendo os NEFs, gerou uma imensa discussão com relação ao seu significado adaptativo, surgindo duas hipóteses, uma “exploracionista” e a outra “protecionista” (GUIMARÃES, 2002). A primeira, afirma que os

NEFs não teriam uma importância na proteção das plantas, mas teriam uma função restritamente ecológica (BENTLEY, 1976; TEMPEL, 1983). Por outro lado, a segunda hipótese, e a mais difundida, é a de que os NEFs trazem muitos benefícios para o vegetal, atraindo insetos, principalmente formigas, que garantem proteção contra herbívoros (Tabela 2) (JANZEN, 1966; BENTLEY, 1977b; KOPTUR, 1984, 1992; SOARES & DELABIE, 2000; SANTOS & DEL-CLARO, 2011).

Tabela 2. Trabalhos que corroboram com a hipótese protecionista contra a herbivoria, promovida pelos NEFS em plantas.

Espécie estudada	Referencias bibliográficas
<b>Acanthaceae</b>	
<i>Ruellia radicans</i> (Nees) Lindau	(GRACIE, 1991)
<b>Bignoiaceae</b>	
<i>Campsis radicans</i> (L.) Seem.	(ELIAS & GELBAND, 1976)
<b>Bixaceae</b>	
<i>Bixa orellana</i> L.	(BENTLEY, 1977b)
<b>Convolvulaceae</b>	
<i>Ipomoea carnea</i> Jacq.	(KEELER, 1977)
<i>I. leptophylla</i> Torr.	(KEELER, 1980)
<i>I. pandurata</i> (L.) G. F. W. Mey.	(BECKMAN Jr. & STUCKY, 1981)
<b>Dilleniaceae</b>	
<i>Davilla nitida</i> (Vai) Kubitzki	(YOUNG & PLATT, 1989)
<b>Fabaceae</b>	
<i>Vicia sativa</i> L. (vetch)	(KOPTUR, 1979)
<b>Gesneriaceae</b>	
<i>Codonanthe crassifolia</i> (Focke) Morton.	(KLEINFELDT, 1978)
<b>Leguminosae</b>	
<i>Acacia cornigera</i> L.	(JANZEN, 1966)
<i>A. pycnantha</i> Benth.	(KNOX, et al. 1986)

---

<i>A. terminalis</i> (Salisb.) MacBride	
<i>Chamaecrista cytisoides</i> (Collad.) I. & B. var	(COUTINHO, et al. 2012)
<i>C. brachystachya</i> (Benth.) Conc., L.P.	
Queiroz & G.P. Lewis	
<i>C. blanchetii</i> (Benth.) Conc., L.P. Queiroz &	
G.P. Lewis	
<i>C. decora</i> (H.S.Irwin & Barneby) Conc., L.P.	
Queiroz & G.P. Lewis	
<i>Inga densiflora</i> (Benth)	(KOPTUR, 1984)
<i>I. punctata</i> Willd	
<i>Vicia sativa</i> (vetch)	(KATAYAMA & SUZUKI, 2011)
<i>V. hirsuta</i> (L.) S. F. Gray	
Loasaceae	
<i>Mentzelia nuda</i> (Pursh.) T. & G.	(KEELER, 1981)
Marantaceae	
<i>Calathea ovandensis</i> Matuda	(HORVITS & SCHEMSKE, 1984)
Ochnaceae	
<i>Ouratea spectabilis</i> (Mart.) Engl.	(FERREIRA, 1994)
Passifloraceae	
<i>Passiflora adenopoda</i> D.C.	(GILBERT, 1971)
	(WIRTH & LEAL, 2001)
<i>P. coccinea</i> aubl.	(LEAL et al., 2006)
Rubiaceae	
<i>Tocoyena formosa</i> (Cham. & Schltdl.)	(SANTOS & DEL-CLARO, 2001)
K.Schum.	
Vochysiaceae	
<i>Qualea grandiflora</i> Mart.	(OLIVEIRA, et al., 1987)

---

(GUIMARÃES, 2002; adaptado)

Os nectários extraflorais sempre geraram interesse, principalmente do ponto de vista ecológico, devido à relação estreita com as formigas, e os trabalhos que eram feitos com estas glândulas não chamavam a atenção para os aspectos anatômicos e ultra-estruturais (DURKEE, 1982). Foi a partir do trabalho realizado por Zimmerman (1932), que uma vasta literatura começou a surgir nesse sentido (MAHESHWARI, 1954; ELIAS & GELBAND,

1977; KEELER & KAUL, 1979; DURKEE, 1982; NEPI; CIAMPOLINI & PACINI, 1996; LEITÃO et al., 2002; PAIVA & MACHADO, 2006; VARASSIN, PENNEYS & MICHELANGELI, 2008; COUTINHO et al.; 2012).

## **2.2. Relações entre plantas e formigas**

As relação mutualísticas entre insetos e plantas é bem antiga, e já existe há mais de 200 milhões de anos - passando pelo Permiano, bem antes do surgimento das angiospermas que ocorreu no final do Jurássico e início do Cretáceo, ainda com as Gimnospermas, e no caso da relação mutualística com formigas, fósseis mostram que esse tipo de interação teve início no cretáceo (HOLDOBLER & WILSON, 1990; CRANE ET ALL., 1995; LABANDEIRA, 1997, 1998; SOLTIS & SOLTIS, 2004; GRIMALDI & ENGEL, 2005).

As formigas estão entre os insetos mais abundantes em ambientes terrestres (RICO-GRAY & OLIVEIRA, 2007), e boa parte delas são forrageiras oportunistas, se alimentando do exsudado de plantas, sementes e restos de animais vivos ou mortos (FERNÁNDEZ, 2003). Porém, existe uma expressiva parte das comunidades neotropicais que possuem um nicho alimentar bem mais especializado, que cortam parte da vegetação, colecionam animais mortos ou seus resíduos, algumas cultivam fungos que são coletados por elas e outras com vários graus de especialização na coleta de exsudado de plantas (WEBER, 1972a, b; TENNANT & PORTER, 1991; TOBIN, 1994). Estes exsudados podem ser obtidos diretamente dos nectários ou indiretamente por parte dos Homópteros sugadores de seiva (HUXLEY & CUTLER, 1991; FERNÁNDEZ, 2003)

Atualmente, as melhores formas de defesa conhecidas da planta são aquelas de natureza química (TAIZ, 2004). Porém, com o advento dos nectários, em especial dos extraflorais, surgiu uma nova estratégia de defesa contra herbívoros (HOLDOBLER & WILSON, 1990). Esta “defesa biológica” é feita por animais, que são atraídos pela recompensa dos nectários extraflorais, principalmente as formigas, que por sua vez, detêm ou matam os predadores da planta em questão (KOST & HEIL, 2005; THIEN, 2009; KATAYAMA & SUZUKI, 2010; MORTENSEN, WAGNER & DOAK, 2010).

Este tipo de relação algumas vezes se torna tão específica, que certas plantas possuem estruturas que se especializaram ao longo da evolução e servem para a nidificação de determinados grupos de formigas, tais estruturas recebem o nome de domáceas (FERNÁNDEZ, 2003; WEBBER et al., 2007). De um lado as formigas recebem abrigo e de

outro as plantas recebem proteção contra herbívoros e nutrientes que provêm dos detritos deixados dentro das domáceas (JANZEN, 1966). Este tipo de relação é comum em biomas tropicais e tais plantas são chamadas de mimercófitas (JANZEN, 1966; BENSON, 1985; HOLLOBLER & WILSON, 1990)

Outro tipo de relação que de fato é bem mais expressiva, mas não tão específica, é a mimercofilia, onde plantas oferecem recompensas alimentares para várias espécies de formigas, que não nidificam na mesma, como visto em plantas mimercófitas, mas fazem seus ninhos em outros lugares, nas proximidades da planta que as atrai principalmente com o néctar extrafloral (OLIVEIRA & BRANDÃO, 1991; RICO-GRAY & OLIVEIRA, 2007; ROSUMEK, et al., 2009). Logicamente que esta relação também depende de outros fatores como as espécies de formigas associadas, o tipo de herbívoro, o habitat, as condições abióticas, enfim, o simples fato de haver a visitação de formigas em uma determinada planta, não garante a eficiência de tal estratégia (HORVITZ & SCHEMSKE, 1984; OLIVEIRA & PIE, 1998; WIRTH & LEAL, 2011; DI GIUST et al., 2011)

### 2.3. O gênero *Passiflora* L.

O gênero *Passiflora* foi descoberto na ocasião da expansão européia ainda no período das grandes navegações espanholas e sua exploração no Novo Mundo. Na época, estas plantas causaram maior admiração entre os colonizadores espanhóis do século XVI e XVII, não somente pela exuberância de suas flores, mas por todo o misticismo religioso e expressão literária singular que foram atribuídos a ela (CERVI, 1997). Esta planta inicialmente ficou conhecida como “granadilla” pela aparência de seu fruto que se assemelhava com a *Punica granatum* L., e mais tarde passou a ser conhecida como *Passiflora*, passionária ou flora da paixão (flor de la pasión) e a primeira espécie a ser conhecida foi a atualmente chamada de *P. incarnata* L., que em função de suas características, os exploradores que eram católicos, atribuíram às partes da flor e folhas uma semelhança com instrumentos utilizados na paixão de Cristo (KILLIPI, 1938; CERVI, 1997). Em função da exuberância de suas flores, muitos autores procuraram estudar as espécies de *Passiflora*, contudo, o gênero passou a ser estudado de forma satisfatória somente no século XVIII, com Linnaeus, em 1753 (KILLIP, 1938; CERVI, 1997, 2005, 2006).

Muitas espécies de Passifloraceae agregam plantas herbáceas, arbustos escandentes ou trepadeiras lenhosas, que desenvolveram estruturas chamadas de gavinha cuja a principal

função é escalar AUTOR. Algumas espécies do gênero *Astrophea* autor são arbustos verdadeiros ou árvores de pequeno porte autor. O caule pode ser cilíndrico, possuírem de 3-5 ângulos ou serem até mesmo quadrangulares, ambos com gavinhas solitárias e axilares autor. Possuem folhas alternas que variam bastante com relação a sua forma e contorno autor. Uma das características principais de *Passiflora*, e geralmente são tratadas a parte em muitos estudos, são as glândulas peciolares que possuem grande valor taxonômico para o grupo, já que as características aéreas principalmente em relação às folhas variam muito, mesmo se tratando da mesma espécie autor. Além do mais, as espécies de *Passiflora* possuem um grande valor econômico devido a qualidade de seus frutos e a grande adaptabilidade ornamental e propriedades medicinais autor. Como exemplo, temos *P. quadrangularis*, *P. ligularis*, *P. edulis*, *P. maliformis* e *P. laurifolia* que são espécies muito importantes com relação aos seus frutos comestíveis autor. Em alguns lugares as folhas de *P. mexicana* e *P. holocericea* servem como um substituto para chás e outras espécies que são utilizadas como antiespasmódicos e antialérgicos (KILLIP, 1938).

Anteriormente, esta família fazia parte de Violales, já que antes eram consideradas as características estruturais da mesma, principalmente o tipo de placentação (CRONQUIST, 1981), mas foi reclassificada devido aos recentes estudos filogenéticos e moleculares, que a colocaram em Malpighiales (JUDD et al., 1999; APG, 2009), estando dividida em duas tribos, *Paropsieae* e *Passiflorieae*, onde, a última é representada no continente americano por quatro gêneros, no qual podemos destacar o gênero *Passiflora*, com 520 espécies distribuídas em todo o mundo e 129 espécies no Brasil. Na região Norte o gênero é representado por 66 espécies e quatro variedades, das quais 45 espécies e quatro variedades podem ser encontradas no estado do Pará (CERVI, 2005; SOUZA & LORENZI 2008; CERVI, 2012).



## REFERÊNCIAS

- AGUIAR-DIAS, A. C. A.; YAMAMOTO, K.; CASTRO, M. M. **Stipular extranuptial nectaries new to *Polygala*: morphology and ontogeny**. *Botanical Journal of the Linnean Society*, The Linnean Society of London, p. 40-50, 19 de Jan. de 2011.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. 2<sup>a</sup> ed. atual. Viçosa: Ed. UFV, 2006. 438p. ISBN: 85-7269-240-1.
- APG III. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG**. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 161, p. 105–121, 2009.
- BECKMANN, R. L. Jr. & STUCKY, J. M. 1981. **Extrafloral nectaries and plant guarding in *Ipomoea pandurata* (L.) G. F. W. Mey. (Convolvulaceae)**. *Am. J. Bot.* 68: 72-79.
- BENTLEY, B. L. **Plants bearing extrafloral nectaries and the associated ant community: interhabitat differences in the reduction of herbivore damage**. *Ecology*, v. 57, p. 815-820.
- BENTLEY, B. L. 1977a. **Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards**. *Annual Review of Ecology*, v. 8, p. 407-428.
- BENTLEY, B. L. 1977b. **The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* (Bixaceae)**. *J. Ecol.* 65: 27-38.
- BENTLEY, B. & ELIAS, E. 1983. **The Biology of Nectaries**. Columbia University Press, New York.
- BENSON, W.W. 1985. **Amazon ant-plant**, pp. 239-266. Em: *Amazônia* (G.T. Prance & T.E. Lovejoy, eds.). Pergamon Press, Oxford.
- CASPARY, R., 1968. **“De Nectariis”**. Elberfeld.

Cervi, A.C. 1997. **Passifloraceae do Brasil: Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora***. Fontqueria, 45: 1-92.

CERVI, A.C. 2005. **Espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950 – 2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras.** *Estudos de Biologia*, 27: 19-24.

CERVI, A.C. 2006. **O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950.** *Adumbrationes ad Summae Editionem*, v. 16, p. 1-5.

CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BERNACCI, L. C.; NUNES, T. S. 2012. ***Passifloraceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB024148>).

CHAMBERLAIN, C. J. **Nectaries and Phylogeny.** *Botanical Gazette*, v. 57, n. 4, p. 344, 1914.

COUTINHO, I. A. C.; FRANCINO, D. M. T.; AZEVEDO, A. A. & MEIRA, R. M. S. A. **Anatomy of the extrafloral nectaries in species of *Chamaecrista* section *Absus* subsection *Baseophyllum* (Leguminosae, Caesalpinioideae).** *Flora*, Elsevier GmbH, 207, p. 427–435, 2012.

CRANE, P. R.; FRIIS, E. M.; PEDERSEN, K. R. **The origin and early diversification of angiosperms.** *Nature*, v. 374, n. 6517, p. 27–33, 1995

CRONQUIST, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants.** New York, Columbia University Press, 1261 pp.

DELPINO, F. 1868-1875. **Ulteriori osservazioni sulla dicogamia nel regno vegetale.** I and II. *Atti. Soc. Ital. Sci. nat.* XI. XII.

DÍAZ-CASTELAZO, C. *et. al.* **Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico.** *Annals of Botany*, v. 96, p. 1175-1189, 2005.

DI GIUST, B.; ANSTETT, M. C.; DOUNIAS, E. & MCKEY, D. 2001. **Variation in the effectiveness of biotic defence: the case of an opportunistic ant-plant protection mutualism.** *Oecologia*, 129: 367-375.

DURKEE, L. T. 1982. **The floral and extrafloral nectaries of *Passiflora*, II.** The extrafloral nectary. *American Journal of Botany*, 69: 1420-1428.

DURKEE, L. T. 1983. **The ultrastructure of floral and extrafloral nectaries.** In BENTLEY, B. & ELIAS, T. S. (eds.). *The biology of nectaries*. New York, Columbia University Press. p. 1-29.

DURKEE, L. T., BAIRD, C. W., COHEN, P. F. **Light and electron microscopy of the resin glands of *Passiflora foetida* (Passifloraceae).** *American Journal of Botany*, v. 71, p. 596-602, 1984.

ENDRESS, P.K. (1994). **Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances.** *Plant Systematics and Evolution*, 192, 79–97.

ELIAS, T. S. 1972. **Morphology and anatomy of foliar nectaries of *Pithecellobium macradenium* (Leguminosae).** *Botanical Gazette*. 133: 38-42.

ELIAS, T. S. 1980. **Foliar nectaries of unusual structure in *Leonardoxa africana* (Leguminosae), an African obligate myrmecophyte.** *American Journal of Botany*, v. 67, p. 423-425.

ELIAS, T. S. 1983. **Extrafloral nectaries – their structure and distribution.** In: Bentley BL, Elias TS, eds. **The biology of nectarines**. New York: Columbia University Press, p. 74-203.

ELIAS, T. S. & GELBAND, H. 1976. **Morphology and anatomy of floral and extrafloral nectaries in *Campsis* (Bignoniaceae).** *American Journal of Botany*. 63: 1349-1353.

ELIAS, T. S. & GELBAND, H. 1977. **Morphology, anatomy, and relationship of extrafloral nectaries and hydathodes in two species of Impatiens (Balsaminaceae).** Bot. Gaz. 138: 206-212.

FAHN, A. **Secretory tissues in plant.** 1ª ed. London New York San Francisco: Academic Press, p.302, 1979,

FERNÁNDEZ, F. Introducción a las hormigas de la región Neotropical. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia, 2003, 398 p.

FERREIRA, S. O. 1994. **Nectários extraflorais de *Ouratea spectabilis* (Ochnaceae) e a comunidade de formigas associadas: um estudo em vegetação de cerrado, no Sudeste do Brasil.** 81 f. (Mestrado em Ciências Biológicas – Ecologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, São Paulo, 1994.

GALETTO, L.; BERNADELLO, L. M. **Extrafloral nectaries that attract ants in Bromeliaceae: structure and nectar composition.** *Canadian Journal of Botany*, v. 70, p. 1101-1105, 1992.

GILBERT, L.E. 1971. **Butterfly-plant coevolution:** has *Passiflora adenopoda* won the selectional race with heliconiine butterflies? *Science*, v. 172, p. 585-586.

GRACIE, C. 1991. **Observation of dual function of nectaries in *Ruellia radicans* (Nees) Lindau (Acanthaceae).** Bull. Torrey Bot. Soc. 118: 188-190.

GRIMALDI, D.; ENGEL, M. S. **Evolution of the insects.** New York: Cambridge University Press, 2005.

GUIMARÃES, A. A. **Influência da variação numérica dos nectários extraflorais de *Passiflora suberosa* Linnaeus (Passifloraceae) na fauna de formicídios associada.** 2002. 68 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

- HEADS, P.A., & LAWTON, J.H. 1985. **Bracken, ants and extrafloral nectaries. III. How insect herbivores avoid ant predation.** *Ecological Entomology*, 10, 29–42.
- HEIL, M. 2011. **Nectar: generation, regulation and ecological functions.** *Trends in Plant Science*, v. 16, No. 4. Abril de 2011.
- HUXLEY, C. R. & CUTLER, D. F. 1991. **Ant-Plant Interactions.** eds. Oxford University Press, Oxford.
- HOLLOBLER, B. & WILSON, E. O. 1990. **The ants.** Cambridge, Harvard University Press, 732 p.
- HORVITZ, C. C. & SCHEMSKE, D. W. 1984. **Effects of ants and an ant-tended herbivore on seed production of a neotropical herb.** *Ecology* 65: 1369-1378.
- LEAL, I. R., FISCHER, K., CHRISTIAN, M., TABARELLI, K. & WIRTH, R. 2006. **Ant protection against herbivores and nectar thieves in *Passiflora coccinea* flowers.** *Ecoscience* 13:431-438.
- JANZEN, D.H. 1966. **Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America.** *Evolution*, 20: 249-275.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL C.S.; KELLONG, E. A.; STEVENS, P.F. **Plant Systematics: A phylogenetic Approach.** Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA, 1999.
- KATAYAMA, N.; SUZUKI, N. **Anti-herbivory defense of two *Vicia* species with and without extrafloral nectaries.** *Plant ecology*, Springer, n. 212, p. 743-752, 2011.
- KEELER, K. H. 1977. **The extrafloral nectaries of *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae).** *American Journal of Botany*, v. 64, p. 1182-1188.
- KEELER, K. H. 1980. **The extrafloral nectaries of *Ipomoea leptophylla* (Convolvulaceae).** *American Journal of Botany*, v. 67, p. 216-222.

KEELER, K. H. 1981. **Function of *Mentzelia nuda* (Loasaceae) postfloral nectaries in seed defense.** *Am. J. Bot.* 68: 295-299.

KEELER, K. H. & KAUL, R. B. **Morphology and distribution of nectarines in *Opomoea* (Convolvulaceae).** *American Journal of Botany*, v. 66, n.08, p. 946-952, 1979.

KILLIP, E.P. 1938. **The American species of Passifloraceae.** Publications of the Field Museum of Natural History 19:1-613.

KLEINFELDT, S. E. 1978. **Ant-gardens: the interaction of *Codonanthe crassifolia* (Gesneriaceae) and *Crematogaster longispina* (Formicidae).** *Ecology* 59: 449-456.

KNOX, R. B.; MARGINSON, R.; KENRICK, J. & BEATTIE, A. J. 1986. **The role of extrafloral nectaries in *Acacia*.** In JUNIPER, B. & SOUTHWOOD, S. R. (eds.). *Insects and plant surface*. London, Edward Arnold. p. 155 - 178.

KOPTUR, S. **Facultative mutualism between weedy vetches bearing extrafloral nectaries and weedy ants in California.** *American Journal of Botany*, v. 66, p. 1016-1020, 1979.

KOPTUR, S. **Experimental evidence for defense of *Inga* (Mimosoideae) saplings by ants.** *Ecology*, v. 65, p. 1787-1793, 1984.

KOPTUR, S. 1992. **Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants.** In BERNAYS, E. (ed.). *Insect-plant interactions*. Boca Raton, CRC Press, vol. 4. p. 81-129.

HOLDOBLER, B. & E.O. WILSON. 1990. **The Ants.** *Springer-Verlag*, Berlim.

LARCHER, W. 2000. **Ecofisiologia vegetal.** Rima, São Carlos.

KOST, C.; HEIL, M. **Increased availability of extrafloral nectar reduces herbivory in Lima bean plants (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae).** *Basic and Applied Ecology*, Elsevier, v. 6, p. 237-248, 2005.

LABANDEIRA, C. C. **Insect mouthparts: ascertaining the paleobiology of insect feeding strategies.** *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 28, p. 153–193, 1997.

LABANDEIRA, C. C. **Early history of arthropod and vascular plant associations.** *Annual Review of Earth Planetary Sciences*, v. 26, p. 329–377, 1998.

LEITÃO, C. A. E. *et. al.* **Ontogenia dos nectários extraflorais de *Triumfetta semitriloba* (Tiliaceae).** *Planta Daninha*, Viçosa-MG, v. 20, n. 3, p. 343-351, 2002.

MAHESHWARI, J. K. 1954. **The structure and development of extrafloral nectaries in *Duranta plumier* Jacq.** *Phytomorphology* 4: 208-211.

MCDUGAL, J. C. 1994. **Revision of subgenus *Decaloba*, section *Pseudodysosmia* (Passifloraceae).** *Systematic Botany Monographs* 41: 1–146.

MORTENSEN, B.; WAGNER, D.; DOAK, P. **Defense effects of extrafloral nectaries in quaking aspen differ with scale.** *Oecologia*, Springer, n. 165, p. 983-993, 08 de outubro de 2010.

MUSCHNER, V. C. **Filogenia molecular, taxas evolutivas, tempo de divergência e herança molecular em *Passiflora* L. (Passifloraceae).** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2005.

NEPI, M.; CIAMPOLINI, F. & PACINI, E. **Development and ultrastructure of *Curcubita pepo* nectaries of male flowers.** *Annals of Botany*, v. 78, p. 95-104, 22 jan. 1996.

NICOLSON, S. W.; NEPI, M.; PACINI, E. **Nectaries and néctar.** 1ª ed. The Netherlands: Springer, p. 395, 2007.

OLIVEIRA, P. S. & BRANDÃO, C. R. F. 1991. **The ant community associated with extrafloral nectaries in the Brazilian cerrados.** In: Huxley, C. R. & Cutler, D. F. (eds). *Ant-Plant interactions*. Oxford University Press, Oxford. UK: 198-212.

OLIVEIRA, P. S.; SILVA, A. F. da & MARTINS, A. B. 1987. **Ant foraging on extrafloral nectaries of *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae) in cerrado vegetation: ants as potential antiherbivore agents.** *Oecologia* 74: 228-230.

OLIVEIRA, P. S.; LEITÃO-FILHO, H. F. **Extrafloral nectaries: their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of cerrado vegetation in southeast Brazil.** *Biotropica*, v. 19, p. 140-148, 1987.

OLIVEIRA, P. S. & PIE, M. R. 1998. **Interactions between ants and plants bearing extrafloral nectaries in cerrado vegetation.** *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 27:161-176.

PAIVA, E. A. S. & MACHADO, S. R. Ontogênese, anatomia e ultra-estrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae – Caesalpinioideae). *Acta botânica brasílica*, v.20, n.02, p. 471-482, 2006.

REN, D. **Flower associated *Brachycera* flies as fossil evidence for Jurassic angiosperm origins.** *Science*, v. 280, p. 85–88, 03 de Abril de 1998.

RICO-GRAY, V. *et. al.*, 2004. **Ant-plant interactions: their seasonal variation and effects on plant fitness.** In: Martínez ML, Psuty N, eds. Coastal dunes, ecology and conservation. Ecological studies. Berlin: Springer-Verlag, p. 274-289.

RICO-GRAY, V. & OLIVEIRA, P. S. 2007. **The ecology and evolution of ant-plant interactions.** The University of Chicago Press, Chicago, USA, 346p.

ROSUMEK, F. B.; SILVEIRA, F. A. O.; NEVES, F. S.; BARBOSA, N. P. U.; DINIZ, L.; OKI, Y.; PEZZINI, F.; FERNANDES, G. W. & CORNELISSEN, T. 2009. **Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plants biotic defenses.** *Oecologia* 160:537-549.

SANTOS, J. C. & DEL-CLARO, K. 2001. **Interação entre formigas, herbívoros e nectários extraflorais em *Tocoyena formosa* (Cham. & Schlechtd.) K. Schum. (Rubiaceae) na vegetação do cerrado.** *Rev. bras. Zoociências* 3: 77-92.



SIMPSON, B.B., & NEFF, J.L. (1983). **Evolution and diversity of floral rewards**. In: C.E. Jones, & R.J. Little (Eds.), *Handbook of experimental pollination biology* (pp. 142–159). New York: Van Nostrand Reinhold.

SCHUPP, E. W., FEENER, D.H. **Phylogeny, lifeform, and habitat dependence of ant-defended plants in a Panamanian forest**. In: Huxley C. H., Cutler D. F., eds. *Ant-plant interactions*. Oxford, UK: Oxford University Press, p. 175–197, 1991.

SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. **The origin and diversification of angiosperms**. American Journal of Botany, v. 91, n. 10, p. 1614-1626, 2004.

SOARES, I. M. F. & DELABIE, J. H. C. 2000. **Interações entre formigas (Hymenoptera: Formicidae) e *Opuntia ficus-indica* Mill (Cactaceae) no semi-árido do nordeste brasileiro**. Acta Biol. Leop. 22: 79-87.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. 2008. **Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2nd ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum. 704 p

STEPHENSON, A. G. 1982. **The role of the extrafloral nectaries of *Catalpa speciosa* in limiting herbivory and increasing fruit production**. Ecology 63: 663-669.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 786p.

TAKHTAJAN, A.L. (1980). **Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta)**. *Botanical Review*, v. 46, p. 225–359.

TEMPEL, A. S. 1983. **Bracken fern (*Pteridium aquilinum*) and nectar-feeding ants: a nonmutualistic interaction**. *Ecology*, v. 64, p. 1411-1422.

TENNANT, L. E. & PORTER, S. D. 1991. **Comparision of diets of two fire ants species (Hymenoptera: Formicidae): Solid and liquid components**. Journal of Entomological Science, 26: 450-465.

TOBIN, J. 1994. **Ants as primary consumers: Diet and abundance in the Formicidae**, pp. 297-307 in: HUNT, J. H & NAPELA, C. A, eds., *Nourishment and Evolution in Insect Societies* Westview Press, Boulder.

THIEN, L. B. *et. al.* **Pollination biology of basal angiosperms (ANITA grade).** American Journal of Botany, v. 96, n. 1, p. 166-182, janeiro de 2009.

VASSILYEV, A. E. 2010. **On the mechanisms of nectar secretion: revisited.** Annals of Botany 105: 349-354.

WAGNER, D., KAY, A., 2002. **Do extrafloral nectaries distract ants from visiting flowers?** An experimental test of an overlooked hypothesis. *Evol. Ecol. Res.* 4, 293–305.

WEBER, N. A. 1972a. **The Attines: the fungus culturing ants.** American Scientist, v. 60, p. 448-456.

WEBER, N. A. 1972b. **Gardenig Ants: The Attines.** American Philosophical Society, Philadelphia.

WEBBER, B. L; MOOG, J.; CURTIS, A. S. O. & WOODROW, I. E. 2007. **The diversity of ant-plant interaction in the rainforest understorey tree, *Ryparosa* (Achariaceae): food bodies, domatia, prostomata, and hemipteran trophobionts.** Botanical of Journal of the Linnean Society 154:353-371.

WILDER, S.M., EUBANKS, M.D., 2009. **Extrafloral nectar content alters foraging preferences of a predatory ant.** *Biol. Lett.* 6, 177–179.

WIRTH, R. & LEAL, I.R. 2001. **Does rainfall affect temporal variability of ant protection in *Passiflora coccinea*?** *Ecoscience* 8:450-453.

YOUNG, A. M. & PLATT, M. E. 1989. **Leaf Damage from Herbivory in Relation to Extrafloral Nectaries and Ant Activity in *Davilla nitida* (Vahl) Kubitzki (Dilleniaceae) in Costa Rica.** Invertebrate Zoology Section, Milwaukee Public Museum; Milwaukee, Wisconsin 53233.

ZIMMERMANN, J. 1932. **Über die extrafloralen nektarien der Angiospermen.** Beihefte zum Botanischen Centralblatt. 49:99–196.

### 3. ARTIGO.

## NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM *PASSIFLORA* DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM: MORFOANATOMIA E ASPECTOS ECOLÓGICOS

Leandro Paulo Monteiro Macedo<sup>1</sup>, Ana Cristina de Andrade Aguiar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal Rural da Amazônia/Museu Paraense Emílio Goeldi,

<sup>2</sup> Professora da Universidade Federal do Pará-UFPA.

### RESUMO

O presente trabalho propôs um estudo mais detalhado das glândulas presentes em *Passiflora ambigua*, *P. ceratocarpa* e *P. quadrangularis*, a fim de contribuir com aspectos taxonômicos e ecológicos que suas glândulas. O material foi coletado na região metropolitana de Belém, e submetido aos protocolos usuais de anatomia vegetal para análise em microscopia de luz e varredura, assim como, para testes histoquímicos. Todos os insetos e aracnídeos coletados foram identificados por especialistas. Foram encontrados cinco gêneros de formigas visitando as três espécies de *Passiflora*, dos quais o *Camponotus* foi o mais abundante, sendo encontrado em todas as espécies estudadas, seguido por *Pseudomyrmex*. Também foram encontradas associações com aranhas da Família Psauridae em *P. ambigua* e Salticidae em *P. quadrangularis*. Anatomicamente os NEFs de ambas as espécies possuem grande semelhança, inclusive com relação aos seus compostos químicos, nos quais foram encontrados açúcares, proteínas e lipídeos. Os cristais de oxalato de cálcio encontrados em diferentes quantidades nas três espécies estão influenciando diretamente na produção de néctar, e consequentemente na atração das formigas, gerando diferentes níveis de proteção contra herbivoria nos indivíduos estudados.

**Palavras-chave:** *Passiflora*, Nectários extraflorais, cristais de oxalato de cálcio, herbivoria.

## **ABSTRACT**

**Keywords:** Passiflora, Extrafloral, crystals of calcium oxalate, herbivory.

## INTRODUÇÃO

Passifloraceae Juss. ex Kunth, que inicialmente estava incluída em Violales, principalmente pelo seu tipo de placentação (CRONQUIST, 1981), hoje está subordinada à Malpighiales, em função de recentes estudos filogenéticos (APG, 2009), e por sua monofilia que é embasada por estudos moleculares (JUDD et al., 1999).

As 600 espécies que compõem esta família estão organizadas em duas tribos, cuja mais representativa é a tribo *Passiflorieae*, que no continente americano esta tribo é composta por quatro gêneros, onde destacamos o *Passiflora* L., que possui 520 espécies em todo o mundo (CERVI, 2005; SOUZA & LORENZI 2008), sendo assim a mais abundantes, e no Brasil compreende aproximadamente 129 espécies (CERVI et al, 2012).

A classificação taxonômica de *Passiflora* baseia-se em aspectos florais e vegetativos, no entanto, estes dois aspectos possuem uma grande “plasticidade”, principalmente as folhas, pois MacDougal (1994) afirmou que a variabilidade foliar deste gênero é a maior dentre todas as Angiospermas, o que causa uma grande complexidade taxonômica dividindo o gênero em subgêneros, seções e séries (CERVI, 2004; MUSCHNER, 2005).

Esta divisão formada dentro de Passifloraceae possui um frágil limite de circunscrição, que aliado à falta de trabalhos recentes que busquem uma revisão detalhada do grupo, proporciona uma grande dificuldade taxonômica dentro do mesmo, e em decorrência disto a sistemática de Passifloraceae ainda não está bem esclarecida (MILWARD-DE-AZEVEDO & BAUMGRATZ, 2004).

Uma das características marcantes de *Passiflora* é a presença de glândulas no pecíolo e na lâmina foliar (KILLIP, 1938; MUSCHNER, 2005), e que muitos autores acabam descrevendo erroneamente como nectários sem que haja um estudo que venha legitimar esta afirmação, como mostrado por Durkee (1982) em trabalho com *Passiflora foetida*, mostrando que glândulas na mesma região podem secretar compostos lipofílicos e dissuasivos.

Muitas espécies de passiflora ainda não possuem nenhum estudo com relação a estes aspectos, como é o caso de *Passiflora ambigua* Hemsl. e *P. ceratocarpa* F. Silveira e *P. quadrangularis* L., que possuem distribuição em vários países incluindo alguns estados do Brasil, com exceção de *P. ceratocarpa* que até o momento é considerada endêmica do estado do Pará, porém possui um único registro de nova ocorrência no estado do Mato Grosso (CERVI et al., 2012).

Em função disso, o presente trabalho propôs um estudo morfológico e anatômico destas glândulas, assim como do seu exsudado, a fim de trazer informações que possam de

fato classificar tais glândulas como sendo NEFs, uma vez que nectários possuem um grande potencial taxonômico e podem acrescentar provas adicionais de caráter derivativo entre as espécies (CHAMBERLAIN, 1914), além de verificar também, alguns aspectos mutualísticos entre as espécies estudadas e seus visitantes.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os nectários extraflorais (NEFs) de *Passiflora ambigua*, *P. ceratocarpa* e *P. quadrangulares* foram coletados em duas áreas pertencentes à Região Metropolitana de Belém, a primeira foi no Parque Ambiental de Belém (PAB): Nordeste 01°23' 13'' a 01 26' 02'' de latitude sul e 48° 23' 50'' a 48° 26' 47'' de longitude Oeste, e a segunda foi na Ilha de Mosqueiro (Distrito de Belém), localizada há 75 km da capital, nas seguintes coordenadas: 1°8'32"S e 48°23'30"W.

Para a obtenção dos NEFs, Foram coletados os ramos vegetativos das três espécies de *Passiflora*, especificamente o primeiro, terceiro e quinto nós consecutivos. A análise de açúcar no exsudado das glândulas foram feitas com a auxílio de uma glicofita. O material testemunho das três espécies foi incorporado ao acervo do herbário do MG (Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi/Campus de Pesquisa).

As amostras selecionadas foram fixadas em Formaldeído – Álcool etílico 70% – Ácido acético glacial (FAA70; JOHANSEN, 1940) para preservação de substâncias hidrofílicas; Formalina Neutra Tamponada (FNT; LILLIE, 1965), para compostos lipofílicos; Sulfato Ferroso em Formalina (SFF; JOHANSEN, 1940) para compostos fenólicos totais, e mantidos em vácuo para retirada do ar contido nos espaços intercelulares e, posteriormente desidratadas em série butílicas (álcool butílico terciário; JOHANSEN, 1940) e incluídos em Paraplast. Foram feitos cortes seriados transversais e longitudinais (10-15µm de espessura) e uma parte foi corada com Safranina e Azul de Astra (GERLACH, 1969) e as lâminas montadas em resina sintética Permoult. Parte do material fixado também foi submetida a testes histoquímicos.

Os testes realizados foram: reação PAS (Periodic-Acid-Schiff's reagent) para polissacarídeos totais (MCMANUS, 1948), vermelho de rutênio para detecção de mucilagens ácidas (GREGORY & BAAS, 1989), preto de sudão B para lipídios totais (PEARSE, 1985) e cloreto férrico para compostos fenólicos totais (JOHANSEN, 1940), Reagentes de

Dragendorff (SVEDSEN & VERPOORTE, 1983) e de Wagner (FURR & MAHLBERG, 1981) para alcalóides e lugol para amido (JOHANSEN, 1940).

Para análise em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), os NEFs fixados em FAA (JOHANSEN, 1940), e após o isolamento as amostras foram desidratadas em série etílicas. Subsequentemente, secas pelo método do ponto crítico, montadas e metalizadas com ouro. As observações foram feitas com o auxílio de microscópio JEOL JSM 5000LV a 20kv do MPEG.

## RESULTADOS

*P. ambigua* possui um par de glândulas assim como *P. ceratocarpa*, no qual, ambas possuem exsudado abundante (figura 2A e B), registrado em todos os nós analisados. Já em *P. quadrangularis* as glândulas formam em média três pares onde o exsudado é secretado de forma escassa (Figura 2C), contudo, a presença de glicose foi confirmada em todas as espécies com o uso da glicofita. Apesar dos nós se apresentarem ativos, foi observado uma diminuição na secreção das glândulas mais distantes dos primeiros nós em todas as espécies, e um aumento na herbivoria.

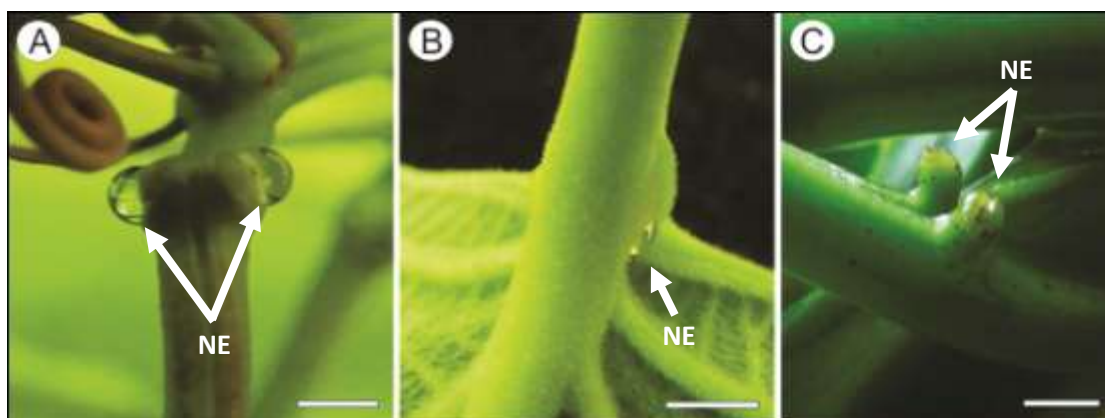
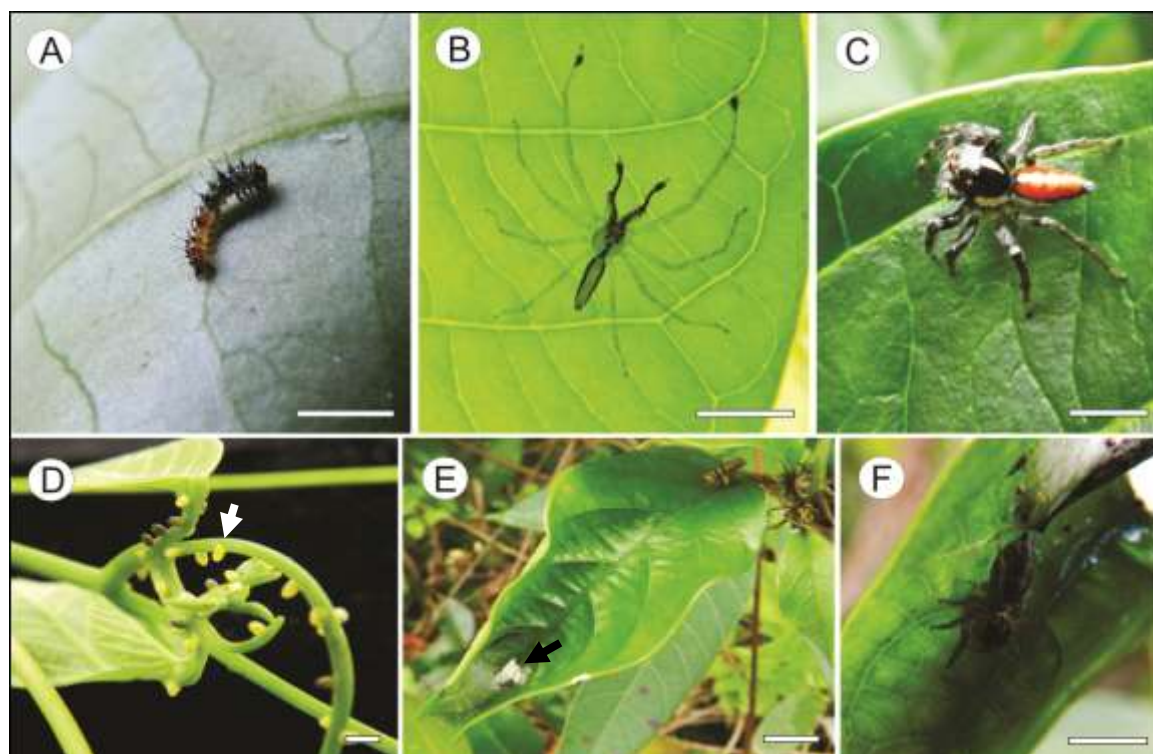


Figura 2. Nectários extraflorais peciolares de *P. ambigua* (A), barra 4mm; *P. ceratocarpa* (B), barra 3mm; e *P. quadrangularis* (C), barra 5mm; ambas em fase secretora (setas); NE= nectários.

Foram encontrados cinco gêneros de formigas visitando os nectários extraflorais das três espécies de *Passiflora*, sendo que o maior número de formigas foi encontrado em *P. ceratocarpa* seguida pela *P. ambigua* e por último *P. quadrangularis*, como podemos ver na tabela 1. A única espécie em que foi encontrada uma nidificação das formigas foi *P. quadrangularis* (figura 4E). Também foram encontradas quatro espécies de aranhas,



distribuídas em três famílias, que estariam utilizando o nectário de forma indireta para conseguir comida, pois agem como oportunistas predando os visitantes dos nectários, contudo, esses aracnídeos foram identificados a nível de família por se tratarem de indivíduos jovens (figura 3B, C, E e F).



**Fig. 3.** Ovos, larvas e aranhas encontrados nas espécies de *Passiflora* (A-F). (A) Larva de borboleta do gênero *Heliconius* em *P. quadrangularis*, barra 3mm; (B) aranha da família Salticidae em *P. quadrangularis*, barra 1,3cm; (C) aranha da família Salticidae em *P. quadrangularis*, barra 5mm; (D) ovos de *Heliconius* depositados entre os primeiros nós de *P. ceratocarpa*, barra 2mm; (E) aranha da família Pisauridae encontrada em *P. ambigua* em sua teia localizada nos primeiros nós (seta), barra 6mm; (F) aranha da família Pisauridae em *P. ambigua*, barra 7mm.

Tabela 3. Distribuição das espécies de formigas visitantes de *P. ambigua*, *P. ceratocarpa* e *P. quadrangularis*.

Espécies de formigas	Espécies de <i>Passiflora</i>		
	<i>P. ambigua</i>	<i>P. ceratocarpa</i>	<i>P. quadrangularis</i>
<i>Pseudomyrmex sp1</i> <sup>a</sup>	-	+	-
<i>Pseudomyrmex sp2</i> <sup>a</sup>	-	+	-
<i>Pseudomyrmex sp3</i> <sup>a</sup>	+	+	-
<i>Campanotus sp1</i> <sup>b</sup>	+	+	+

<i>Creumatogaster limata</i> <sup>c</sup>	-	+	-
<i>Wasmannia auropunctata</i> <sup>c</sup>	+	-	+
<i>Ectatomma tuberculatum</i> <sup>d</sup>	-	+	-

Nota: +, presente; -, ausente; a, subfamília Pseudomyrmecinae; b, subfamília Formicinae; c, subfamília Myrmicinae; d, subfamília Ponerinae.

O par de NEFs em *P. ambigua* distribui-se na região mediana e basal do pecíolo, na superfície adaxial, possuindo um formato convexo e coloração verde (figura 5A) e em indivíduos expostos ao sol, principalmente nos ramos mais maduros, estas glândulas ganham um aspecto avermelhado devido a produção de antocianinas e coram intensamente com Safranina (figura 5D, E e F). Estes NEFs formam uma espécie de canal entre eles, aonde o néctar vai sendo acumulado após a sua liberação (figura 5B e C). Anatomicamente, esta espécie apresenta uma epiderme com uma cutícula delgada, que formam o espaço subcuticular onde o néctar fica acumulado (figura 5F) e não há a presença de estômatos ou tricomas nessa região. Um espesso e uniforme parênquima nectarífero com 2-3 camadas de células cubóides (figura 5F). O tecido vascular constituído pelo floema e xilema possui origem nos feixes acessórios do pecíolo que se estendem para o parênquima subnectarífero, até as proximidades do tecido secretor. Na região parenquimática em volta dos feixes vasculares existe uma grande quantidade de idioblastos, assim como um grande aglomerado de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa (figura 5F e G).

Em *P. ceratocarpa* o par de NEFs possui a forma de ocelos – nome que se dá ao tipo de glândulas encontradas neste subgênero – e possuem coloração amarelada, e estão inseridos na lamina foliar, na superfície abaxial, sobretudo, na inserção do pecíolo (figura 6A). Cada NEF é coberto por inúmeros tricomas tectores e há uma pequena invaginação onde o néctar é acumulado após sua liberação, que assim como em *P. ambigua* também ocorre por rompimento da cutícula delgada (figura 6B, D e F) que envolve a epiderme secretora com aproximadamente 4-6 camadas de células (figura 6D, E e F), que são irrigadas pelo xilema e floema circundados por inúmeros idioblastos e cristais de oxalato de cálcio (figura 6E e G). *P. ceratocarpa* foi à única espécie a apresentar fungos em algumas de suas glândulas (figura 6C).

Três pares de NEFs estão distribuídos ao longo do pecíolo em *P. quadrangularis* com uma cor amarelada e um formato estipitado-crateriforme (figura 7A, B e D), estes podem se apresentar de forma regular ou alternada no pecíolo (figura 7A). A região crateriforme serve

para acumular o néctar após a sua liberação, este exsudado pouco abundante é secretado e se acumula no espaço subcuticular, logo abaixo da cutícula que é delgada e irregular (figura 7C), assim como o tecido paliçádico que possui de 1-3 células (figura 7G) e fica levemente mais espesso à medida que se aproxima do centro da região crateriforme (figura 7E). Na região do parênquima subnectarífero podemos encontrar os feixes vasculares, (figura 7F), que assim como nas demais espécies estudadas derivam dos feixes acessórios do pecíolo e estão envoltos por uma quantidade reduzida de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa, quando comparado com as outras duas espécies (figura 7E).

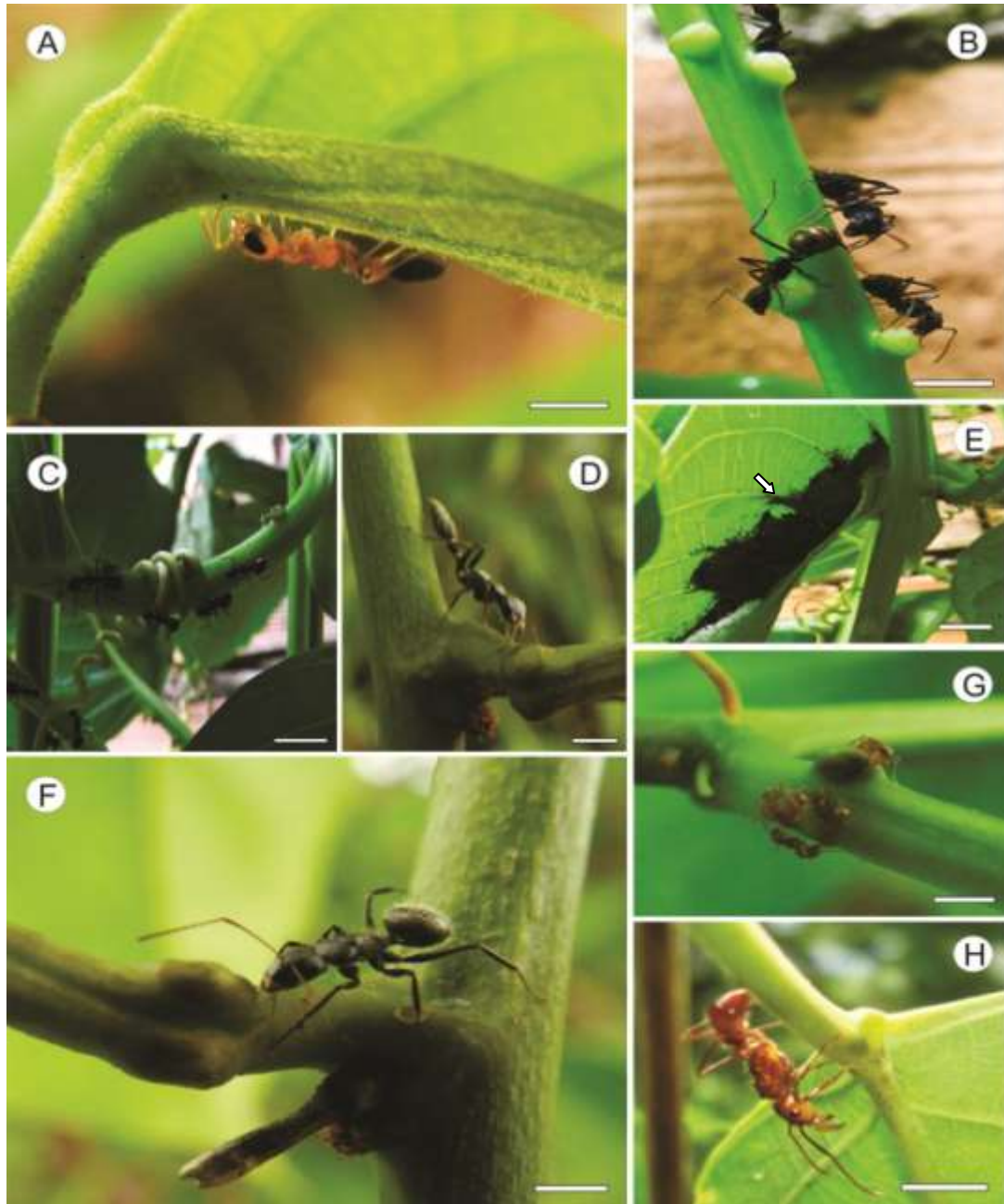
Os resultados dos testes histoquímicos para a localização dos compostos químicos presentes nos NEFs, das espécies estão na tabela 2.

Tabela 4. Resultados dos testes histoquímicos realizados nos nectários peciolares.

Tratamento (referências)	Compostos identificados	Cor (resultado positivo)	Nectários peciolares		
			P. ambigua (Figuras)	P. ceratocarpa (figuras)	P. quadrangularis (figuras)
Reação PAS (McManus 1948)	polissacarídeos totais	magenta	+ epiderme e parênquima nectaríferos (8A)	+ epiderme e parênquima nectaríferos (8B)	+ epiderme e parênquima nectaríferos (8C)
preto de Sudão B (Pearse 1985)	lipídios totais	azul a preto	+ cutícula, idioblastos (8D)	+ cutícula, epiderme e parte do parênquima nectaríferos, (8E)	+ cutícula, epiderme e parte do parênquima nectaríferos, idioblastos (8F)
SFF* (Johansen 1940)	compostos fenólicos totais	marrom a preto	-	-	-
Reagente de Dragendorff (Yoder & Mahlberg 1976, Furr & Mahlberg 1981, Svedsen & Verpoorte 1983)	aminas terciárias e quaternárias presentes em alcalóides	marrom avermelhado	-	-	-
Vermelho de rutênio (Gregory & Baas, 1989)	Mucilagens ácidas e pectinas	Magenta ou vermelho	-	-	-
Azul Brilhante de Comassie (FISCHER, 1968)	Proteínas	Azul	+ epiderme e parênquima nectaríferos (8G)	+ epiderme e parênquima nectaríferos (8H)	+ epiderme e parênquima nectaríferos (8I)

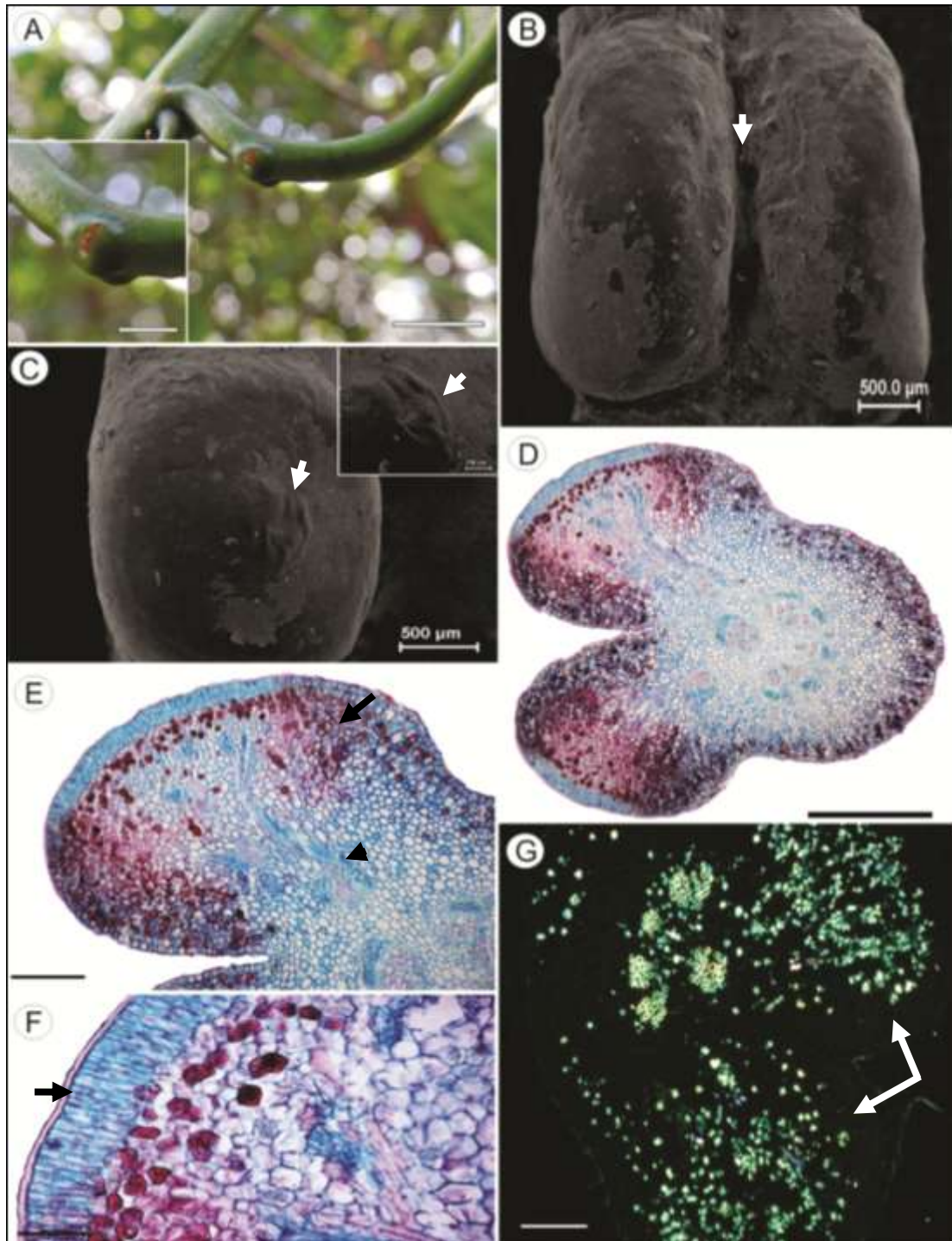
Lugol (Johansen, 1940)	amido	Tons de azul marinho e preto	-	-	-
---------------------------	-------	------------------------------------	---	---	---

Nota: \*fixador; +, reação positiva; -, reação negativa.

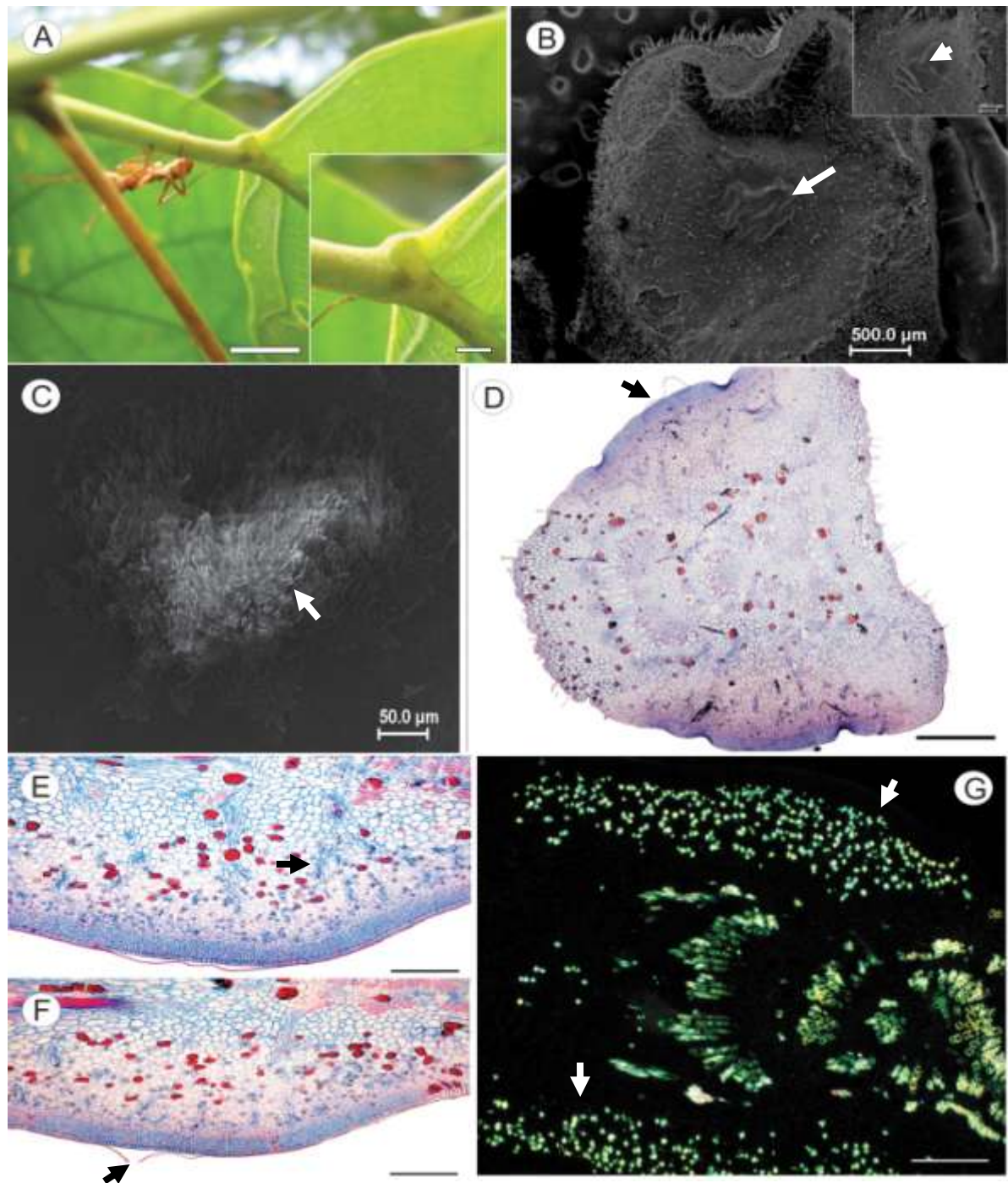


**Figura 4.** Nectários de *P. ambigua* e *P. ceratocarpa* e *P. quadrangularis* e suas formigas coletoras (A-H): (A) formiga d *Pseudomyrmex*, barra 2mm; (B) formigas *Camponotus* coletando néctar, barra 4mm; (C) formiga *Camponotus* forrageando, barra 4mm; (D) formiga do gênero *Pseudomyrmex*, barra 5mm; (E) nidificação do gênero *Camponotus* em *P. quadrangularis* (seta), barra 2mm; (F) formiga do gênero *Camponotus*, barra 6mm; (G) formigas do gênero *Wasmannia* coletando néctar, barra 3,5mm; (H) formiga do gênero *Ectatomma*, barra 5mm.



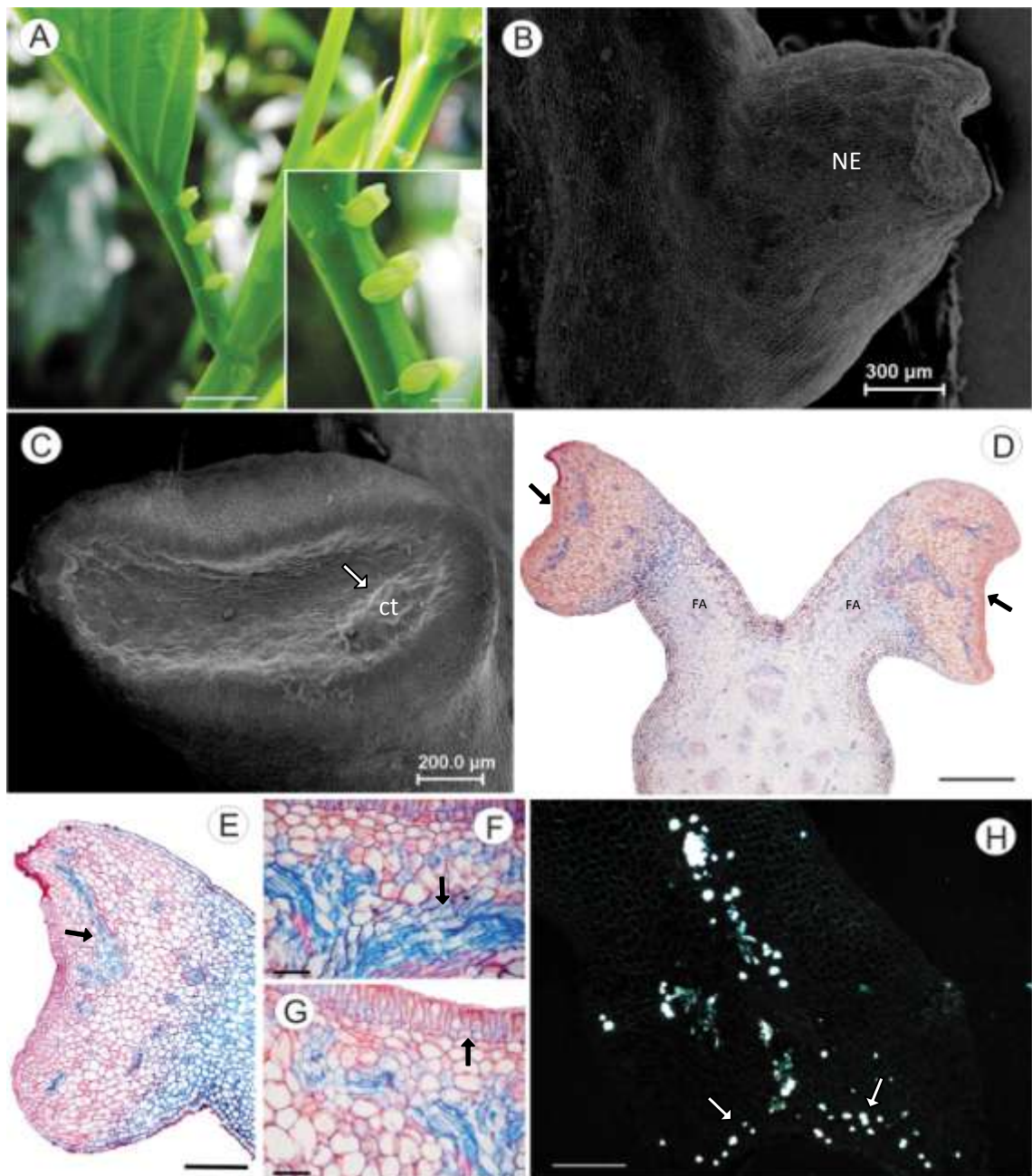


**Figura 5.** Hábito (A), microscopia eletrônica de varredura (B, C), de luz (D, E, F) e de polarização (G): (A) hábito do nectário exfloral *in natura*, barra 3cm; *in locu* barra 4mm; (B) sulco formado pelos dois nectários comcavos presentes nesta espécie (seta); (C) microscopia eletrônica de varredura mostrando o detalhe da cutícula destendida (seta); (D) vista geral dos nectários extraflorais de *P. ambigua* em corte transversal, barra 50µm; (E) corte trasversal evidenciando os feixes vascularis (seta), barra 25µm; (F) corte transversal do nectário extrafloral, atentando para o tecido nectarífero (seta) e os idioblastos de antocianinas (id- idioblasto), barra 10µm; (G) microscopia de luz polariza mostrando a quantidade de drzas de oxlato de calcio (seta), 50µm.

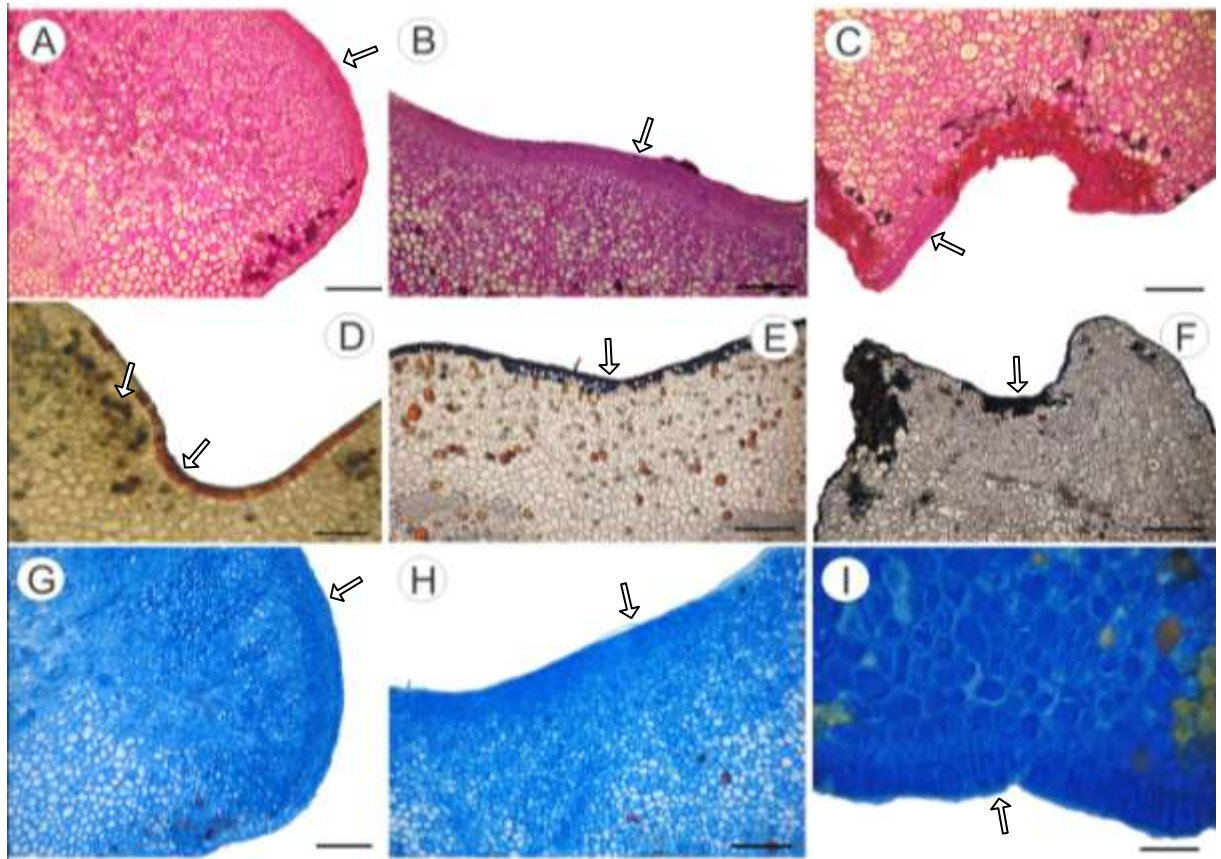


**Figura 6.** Hábito (A), microscopia eletrônica de varredura (B, C), de luz (D, E, F), polarizada (G) de *P. ceratocarpa*: (A) hábito de *Passiflora ceratocarpa*; barra 2,5cm; *in locu* barra 5mm; (B) microscopia eletrônica de varredura mostrando a cutícula distendida (seta), (C) Hifas fúngicas no nectário (seta), na fase pós-secretora; (D) corte longitudinal, mostrando os aspectos gerais dos nectários (setas), com a cutícula distendida, barra 50µm; (E) e (F) mostrando o detalhe da vascularização (seta) e a cutícula distendida (cabeça de seta), barra 25µm; (G) corte transversal em microscopia de luz polarizada, com destaque para os cristais de oxalato de cálcio de tipo drusa (seta), barra 50µm.





**Figura 7.** Hábito (A), microscopia eletrônica de varredura (B, C), de luz (D, E, F, G), polarizada (H) de *P. ceratocarpa*: (A) hábito; barra 5cm; *in locu* barra 5mm (B) podemos notar o formato estipado-crateriforme do nectário (NE) e a região crateriforme (C) com a cutícula (ct) destendida (seta); (D) vista geral dos nectários (setas) em corte transversal mostrando os feixes acessórios (FA), barra 50µm; (E) e (F) corte transversal nos nectários mostrando a predominância do floema (seta), barra 25µm e 10µm respectivamente; (G) corte transversal mostrando o tecido secretor (seta), barra 10µm; (H) corte transversal em luz polarizada, evidenciando a pequena quantidade de cristais de oxalato de cálcio do tipo drusas nesta espécie (seta), barra 50µm.



**Figura 8.** Testes histoquímicos realizados em *P. ambigua*, *P. ceratocarpa* e *P. quadrangularis*, cortes transversais: (A-I). Resultado positivo do PAS em *P. ambigua* (A), *P. ceratocarpa* (B) e *P. quadrangularis* (C), a coloração mais intensa na região do parênquima nectarífero (seta); resultado positivo do preto de sudão B em *P. ambigua* (D), *P. ceratocarpa* (E) e *P. quadrangularis* (F), a coloração mais intensa na região do parênquima nectarífero (seta); resultado positivo do Azul brilhante de Comassie em *P. ambigua* (G), *P. ceratocarpa* (H) e *P. quadrangularis* (I), a coloração mais intensa na região do parênquima nectarífero (seta). Barras de escala 25μm.



## DISCUSSÃO

### Anatomia e Histoquímica

Anatomicamente os NEFs das três espécies apresentam características semelhantes, mesmo se tratando de glândulas morfológicamente diferentes entre si, que na verdade são correspondentes ao táxon no qual pertencem. Além disso, nas porções não secretoras, sobretudo, algumas células parenquimáticas e feixes vasculares, seguem os padrões morfológicos citados acima e seguindo o padrão já descrito nos diversos estudos realizados (DURKEE et al., 1981, DURKEE, 1982; ELIAS, 1983; CERVE, 1997, CARDOSO, 2010; CERVI et al., 2012).

Todas as espécies de *Passiflora* descritas anatomicamente, acumulam secreção no espaço subcuticular (DURKEE et al, 1981; DURKEE, 1982, CARDOSO, 2010), assim como foi visualizado em *P. ambigua*, *P. ceratocarpa* e *P. quadrangularis* que é liberada pela epiderme nectarífera múltipla, comum nesta família (METCALFE & CHALK, 1979). O fato da vascularização do tecido nectarífero ser constituída principalmente pelo floema, nos sugerindo que os constituintes do néctar provêm basicamente do floema, já que o teste histoquímico para amido foi negativo e os precursores do néctar podem vir do floema ou da quebra dos grãos de amido presentes no parênquima nectarífero (HEIL, 2011).

A presença de drusas de oxalato de cálcio nos NEFs é comum em muitos taxa, inclusive em Passifloraceae (METCALF & CHALK, 1979; DURKEE, 1982). Estes cristais estão garantindo um suporte à proteção promovida pelas formigas, já que a sua presença diminui a herbivoria, bem como os danos causados pelos raios ultravioleta, além de contribuir com a regulação do conteúdo nectarífero e com a assimilação de precursores do néctar através da dinâmica de íons de  $\text{Ca}^{++}$  que funcionam como mensageiros intracelulares, respondendo aos estímulos externos e gerando respostas específicas nestas células (ELIAS & GELBAND, 1977; MCANISH & HETHERINGTON, 1998; LARCHER, 2000; MESSERLI et al., 2000; HOLDAWAY-CLARKE, 2003; PAIVA & MACHADO, 2005).

Desta forma podemos notar que a pouca quantidade de cristais em *P. quadrangularis*, promove certa instabilidade ao néctar e explica a quantidade reduzida de exsudado, o que de certa forma reduz a proteção contra herbivoria, já que a recompensa para as formigas estaria sendo apresentada de forma escassa, esse fato pode ser confirmado pela presença de uma

menor quantidade de formigas encontradas nesta espécie, levando a crer que isto estaria contribuindo para a presença de larvas em suas folhas.

A reação positiva ao corante azul de Comassie nos revela a presença de compostos protéicos na região do parênquima nectarífero das três espécies, estes compostos posteriormente podem ser hidrolisados em aminoácidos que se tornam parte do exsudado (ROSHCHINA & ROSHCHINA, 1993). Este aspecto evidencia o investimento extra na atração de visitantes, pois as formigas preferem néctar suplementado com aminoácidos, e desta forma as espécies de Passifloraceae estudadas aqui estariam em vantagem em relação a espécies que não apresentam tais compostos em seus exsudados (WAGNER & KAY, 2002; WILDER AND EUBANKS, 2009; HEIL, 2011).

### **Morfologia e implicações ecológicas dos NEFs**

Com base na posição, morfologia, anatomia, detecção de glicose na secreção e polissacarídeos, além da presença de formigas visitando as glândulas e coletando o exsudado—ainda que haja outros visitantes – podemos afirmar, com base nessas evidências, que tais estruturas são de fato NEFs (KEELER, 1977; KEELER & KAUL, 1979; APPLE & FEENER, 2001; DIAS, 2008; PAIVA, 2009; AGUIAR-DIAS, 2011, COUTINHO et al., 2012), uma vez que somente características estruturais e a posição de uma determinada glândula não garantem com exatidão a sua classificação, sendo de fundamental importância o estudo do exsudado (ROTH, 1968; BAKER et al. 1978; DURKEE et al. 1984, FRANCINO et al., 2006; CARDOSO, 2010), principalmente em relação às glândulas de *P. quadrangularis*, que já haviam sido descritas como sendo NEFs, por isso, o resultado encontrado no presente estudo veio ratificar esta informação (DURKEE, 1982).

A presença do néctar em uma dada região da planta atua como fator de atração para formigas, que em busca de alimento, garantem proteção para as partes da planta que requerem maior atenção e serão fundamentais para a posterior propagação da mesma, ou seja, garantem um forrageamento diferencial a essas estruturas, como já foi visto em outras espécies de *Passiflora* (GILBERT, 1971; KEELER, 1977; FERREIRA, 1994; WIRTH & LEAL, 2001; LEAL et al., 2006; PAIVA, 2009). O que explicaria a herbivoria mais acentuada encontrada nos últimos nós, onde o néctar é produzido em menores quantidades, conseqüentemente, um

numero bem reduzido de formigas são atraídas para esta região deixando-a suscetível aos herbívoros.

As formigas de *Camponotus* são encontradas na maioria dos trabalhos e possuem uma predominância mundial em ambientes tropicais, subtropicais e temperados, além de serem os visitantes mais encontrados em NEFs e mais numerosos, sendo *Camponotus Sp1* a única encontrada nas três espécies de passiflora o que está de acordo com o padrão encontrado (RICO-GRAY & THIEN, 1989; OLIVEIRA & BRANDÃO, 1991; FERREIRA, 1994; DIAS-CASTELAZO et al., 2004), isto porque as espécies deste gênero não apresentam uma especificidade com relação ao grupo de plantas visitadas, independente do tipo de vegetação encontrada (FERREIRA, 1994).

O gênero *Pseudomyrmex*, que foi o segundo mais abundante, é conhecido por apresentar indivíduos agressivos, que protegem a planta hospedeira contra a ação de herbívoros e ainda matam ramos de outras plantas que por ventura entrem em contato com sua fonte de recursos, garantindo uma intensa proteção à mesma (JANZEN, 1966; KEELER, 1977). Além de possuírem elevado grau de especificidade em relação ao seu sítio de forrageamento (DIAS-CASTELAZO et al, 2004), uma vez que mesmo tendo sido o gênero de formiga mais abundante, com três espécies, o grupo foi encontrado majoritariamente em *P. ceratocarpa*, sendo que apenas *Pseudomyrmex Sp3* foi visualizada tanto em *P. ceratocarpa* como em *P. ambigua*.

A presença de hifas fúngicas no nectário de *P. ceratocarpa* está presente forma característica na fase pós-secretora (PAIVA, 2003; FRANCINO, et al., 2006), estas hifas podem ser prejudiciais aos NEFs, modificando a composição química do néctar fazendo com que determinados visitantes não sejam atraídos (HEIL, 2011)

A presença de aranhas em *P. ambigua* e *P. quadrangularis*, nos remete a três hipóteses: a primeira de que a presença desses aracnídeos estaria contribuindo com a proteção oferecida pelas formigas, pois estariam consumindo os eventuais herbívoros (MEEHAN et al., 2009; NAHAS et al., 2011); a segunda seria de que essas aranhas estariam promovendo um aumento na taxa de herbivoria, devido à mudança causada no comportamento das formigas ou até mesmo pela predação das mesmas (GASTREICH, 1999; ROSA, 2008), e por último temos o efeito neutro da presença de aranhas, onde a taxa de herbivoria não sofre alterações (LETOURNEAU, 1998; MIGUELI, et al., 2009), havendo a necessidade de futuros estudos para testar tais hipóteses.

Os resultados encontrados neste trabalho mostraram que as três espécies de *Passiflora* apresentam padrões morfológicos, anatômicos e químicos intimamente ligados a atração de formigas, afim de, garantir a proteção das mesmas contra a herbivoria, e uma das características encontradas, que tem contribuído para a dinâmica de atração são os cristais de oxalato de cálcio.

### Referencias bibliográficas

AGUIAR-DIAS, A. C. A.; YAMAMOTO, K.; CASTRO, M. M. **Stipular extranuptial nectaries new to *Polygala*: morphology and ontogeny**. Botanical Journal of the Linnean Society, The Linnean Society of London, p. 40-50, 19 de Jan. de 2011.

APG III. 2009. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG**. Botanical Journal of the Linnean Society, v. 161, p. 105–121.

APPLE, J. L.; FEENER, JR. D. H. 2001. **Ant visitation of extrafloral nectaries of *Passiflora*: the effects of nectary attributes and ant behavior on patterns in facultative ant-plant mutualisms**. Oecologia 127: 409–416.

BAKER, D. A.; HALL, J. L.; THORPE, J. R. 1978. **A study of the extraforal nectaries of *Ricinus communis***. New Phytologist, v. 81, p. 129-137

CARDOSO, P. R. **Estruturas secretoras em órgãos vegetativos aéreos de *Passiflora allata* Curtis e *P. edulis* Sims (Passifloraceae) com ênfase na localização *in situ* de compostos bioativos**. 2010. 250 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.

CERVI, A. C., & JUNIOR A. D. 2004. **Passifloraceae do Brasil: estudo do gênero *Passiflora* L. subgênero *Distephana* (Juss.) Killip**. Revista Estudos de Biologia, v. 26, n.55, p. 45-67.

CERVI, A.C. 2005. **Espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950 – 2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras.** *Estudos de Biologia*, 27: 19-24.

CERVI, A.C. 2006. **O gênero *Passiflora* L. (Passifloraceae) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950.** *Adumbrationes ad Summae Editionem*, v. 16, p. 1-5.

CERVI, A. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BERNACCI, L. C.; NUNES, T. S. 2012. ***Passifloraceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB024148>).

CHAMBERLAIN, C. J. 1914. **Nectaries and Phylogeny.** *Botanical Gazette*, Vol. 57, No. 4 (Apr., 1914), p. 344.

COUTINHO, I. A. C.; FRANCINO, D. M. T.; AZEVEDO, A. A.; MEIRA, R. M. S. A. 2012. **Anatomy of the extrafloral nectaries in species of *Chamaecrista* section *Absus* subsection *Baseophyllum* (Leguminosae, Caesalpinioideae).** *Sciverse ScienceDirect. Flora*, v. 207, p. 427-435.

CRONQUIST, A. 1981. **An integrated system of classification of flowering plants.** New York, Columbia University Press, 1261 pp.

DIAS, A. C. A. 2008. **Estudos morfológicos em cinco espécies de *Polygala* L. (Polygalaceae) com ênfase nas estruturas secretoras.** Tese (doutorado em Biologia Vegetal). Instituto de Biologia – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

DÍAZ-CASTELAZO, C.; RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S.; CUAUTLE, M. 2004. **Extrafloral nectary-mediated ant–plant interactions in the coastal vegetation of Veracruz, Mexico: richness, occurrence, seasonality and ant foraging patterns.** *Ecoscience* 11: 472–481.

DURKEE, L.T. 1982. **The floral and extra-floral nectaries of *Passiflora*. II. The extra-floral nectary.** *American Journal of Botany* 69:1420-1428.

DURKEE, L. T., BAIRD, C. W., COHEN, P. F., 1984. **Light and electron microscopy of the resin glands of *Passiflora foetida* (Passifloraceae).** Am. J. Bot. 71, 596–602.

DURKEE, L.T., GAAL, D.J. & REISENER, W.T. 1981. **The floral and extrafloral nectaries of *Passiflora*. I.** The floral nectary. *American Journal of Botany*, v. 68, p. 453-462.

ELIAS, T. S.; GELBAND, H. **Morphology, anatomy, and relationship of extrafloral nectaries and hidathodes in two species of *Impatiens* (Balsaminaceae).** Bot. Gaz., v. 138, p.206-212, 1977.

FERREIRA, S. O. 1994. **Nectários extraflorais de *Ouratea spectabilis* (Ochnaceae) e a comunidade de formigas associadas: Um estudo em vegetação de Cerrado, do Suldeste do Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Ecologia). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1994.

FRANCINO, D. M. T., SANT'ANNA-SANTOS, B. F., SILVA, K. L. F., THADEO, M., MEIRA, R. M. S. A., AZEVEDO, A. A., 2006. **Anatomia foliar e caulinar de *Chamaecrista trichopoda* (Caesalpinioideae) e histoquímica do nectário extrafloral.** *Planta Daninha*, v. 24, p. 695–705.

FURR, M. & MAHLBERG, P. G. 1981. **Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*.** Journal of Natural Products. 44: 153-159.

GASTREICH, K.R. 1999. **Trait mediated indirect effects of a theridiid spider on an ant plant mutualism.** *Ecology*, v. 80, p. 1066-1070.

GASTREICH, K. R. 1999. **Trait-mediated indirect effects of a theridiid spider on an ant-plant mutualism.** *Ecology*, v. 80, p. 1066-1070.

GERLACH, D. 1969. **Botanische Mikrotechnik, Eine Einfuhrung.** Stuttgart: Georg Thieme.

GILBERT, L.E. 1971. **Butterfly-plant coevolution: has *Passiflora adenopoda* won the selectional race with heliconiine butterflies?** *Science*, v. 172, p. 585-586.

GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. **A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons.** *Israel Journal of Botany*. 38: 125-174.

HEIL, M. 2011. **Nectar: generation, regulation and ecological functions.** *Trends in Plant Science*, v. 16, n. 4. Abr. 2011.

HOLDAWAY-CLARKE, T.L.; WEDDLE, N.M.; KIM, S.; ROBIA, A.; PARRIS, C.; KUNKEL, J.G. & HEPLER, P.K. 2003. **Effect of extracellular calcium, pH and borate on growth oscillations in *Lilium formosanum* pollen tubes.** *Journal of Experimental Botany*, v. 54, p. 65-72.

JANZEN, D. H. 1966. **Co-evolution of mutualism between ants and acacias in Central America.** *Evolution* 20: 249–275.

JUDD, W.S.; CAMPBELL C.S.; KELLONG, E. A.; STEVENS, P.F. **Plant Systematics: A phylogenetic Approach.** Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA, 1999.

JOHANSEN, D. A. 1940. **Plant microtechnique.** 2<sup>a</sup>ed. New York: McGraw Hill.

KEELER, K. H. **The extrafloral nectaries of *Ipomoea carnea* (Convolvulaceae).** *American Journal of Botany*, v. 64, p. 1182-1188, 1977.

KEELER, K. H. & KAUL, R. B. 1979. **Morphology and distribution of nectarines in *Opomoea* (Convolvulaceae).** *American Journal of Botany*, v. 66, p. 946-952.

KILLIP, E.P. 1938. **The American species of Passifloraceae.** *Publications of the Field Museum of Natural History* 19:1-613.

LARCHER, W. 2000. **Ecofisiologia vegetal.** Rima, São Carlos.

LEAL, I. R.; FISCHER, E.; KOST, C.; TABARELLI, M. WIRTH, R. 2006. **Ant protection against herbivores and nectar thieves in *Passiflora coccinea* flowers.** *Ecoscience*, v. 13, n. 14, p. 431-438.

LETOURNEAU, D.K. & L.A. DYER. 1998. **Density patterns of *Piper* ant-plants and associated arthropods: top predator trophic cascades in a terrestrial system?** *Biotropica*, 30: 162-169.

LILLIE, R. D. 1965. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 3<sup>a</sup>ed. New York: McGraw Hill.

MCANISH, M.R.; HETHERINGTON, A.M., 1998. **Encoding specificity in Ca<sup>2+</sup> signalling systems**. *Trends in Plant Science*, 3 (1): 32-36.

MCDUGAL, J. C. 1994. **Revision of subgenus *Decaloba*, section *Pseudodysosmia* (Passifloraceae)**. *Systematic Botany Monographs* 41: 1–146.

MCMANUS, J. F. A. 1948. **Histological and histochemical uses of periodic acid**. *Stain Technology* 23:99-108.

MEEHAN, C., OLSON, E., REUDINK, M., KYSER, T., & CURRY, R. (2009). **Herbivory in a spider through exploitation of an ant-plant mutualism**. *Current Biology*, v. 19, n. 19.

METCALFE, C. R., AND CHALK, L. 1979. **Anatomy of the dicotyledons: Systematic anatomy of leaf and stem with a brief history of the subject**. V. 1, 2nd ed. Clarendon Press, Oxford, UK.

MESSERLI, M.A.; CRETON, R.; JAFFE, L.F.; ROBINSON, K. R. 2000. **Periodic Increases in elongation rate precede increase in cytosolic Ca<sup>2+</sup> during pollen tube growth**. *Developmental Biology*, v. 222, p. 84-98.

MILWARD-DE-AZEVEDO, M.A.; BAUMGRATZ, J.F.A. 2004. ***Passiflora* L. subgênero *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na região Sudeste do Brasil**. *Rodriguésia*, 55 (85): 17-54.



MUSCHNER, V. C. **Filogenia molecular, taxas evolutivas, tempo de divergência e herança molecular em *Passiflora* L. (Passifloraceae).** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2005.

NAHAS, L.; LANGE, D.; GONZAGA, M. O.; DEL-CLARO, K. 2011. **Efeitos de aranhas e formigas sobre herbivoria e reprodução de *Qualea multiflora* Mart. (Vochysiaceae) no Cerrado.** *X Congresso de Ecologia do Brasil*, 16 a 22 de Set. 2011, São Lourenço – MG.

OLIVEIRA, P. S. & BRANDÃO, C. R. F. 1991. **The ant community associated with extrafloral nectaries in the Brazilian cerrados.** In: Huxley, C. R. & Cutler, D. F. (eds). *Ant-Plant interactions*. Oxford University Press, Oxford. UK: 198-212.

PAIVA, E. A. S. **Estruturas secretoras em *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): uma abordagem morfofuncional.** 2003. 125 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

PAIVA, E.A.S. & MACHADO, S.R. 2005. **Role of intermediary cells in *Peltodon radicans* (Lamiaceae) in the transfer of calcium and formation of calcium oxalate crystals.** *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48(1): 147-153.

PAIVA, E. A. S. 2009. **Ultrastructure and post-floral secretion of the pericarpial nectaries of *Erythrina speciosa* (Fabaceae).** *Annals of Botany* 104: 937–944.

PEARSE, A. G. E. 1985. **Histochemistry theoretical and applies.** v.2. Edinburgh: C. Livingstone.

RICO-GRAY, V.; THIEN, L. B. 1989. **Effect of different ants species on the reproductive fitness of *Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae).** *Oecologia*, v. 81, p. 487-489.

ROSA, C. 2008. **Um estranho no ninho: efeito indireto da presença da aranha mirmecófaga *Diploena bryantae* (Aranae: Theridiidae) no aumento da herbivoria em *Hirtella myrmecophila* (Chrysobalanaceae).** In: Livro do curso de campo “Ecologia da Floresta Amazônica” (G. Machado & José L.C. Camargo, eds.). PDBFF/INPA, Manaus.

ROSHCHINA, V. V.; ROSHCHINA, V. D. **The excretory function of higher plants.** Berlin: Springer-Verlag, p. 314, 1993.

ROTH, I. 1968. **Desarrollo de los nectarios extra-florales em *Passiflora foetida*.** Acta Botanica Venezuelica 6:44-49.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. 2008. **Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II.** 2nd ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum. 704 p.

SVEDSEN, A. B. & VERPOORTE, R. 1983. **Chromatography of alkaloids.** New York: Elsevier Scientific Publish Company.

WAGNER, D., KAY, A., 2002. **Do extrafloral nectaries distract ants from visiting flowers?** An experimental test of an overlooked hypothesis. *Evol. Ecol. Res.* 4, 293–305.

WILDER, S.M., EUBANKS, M.D., 2009. **Extrafloral nectar content alters foraging preferences of a predatory ant.** *Biol. Lett.* 6, 177–179.

WIRTH, R. & LEAL, I.R. 2001. **Does rainfall affect temporal variability of ant protection in *Passiflora coccinea*?** *Ecoscience*, v. 8, p. 450-453.