

ANDRÉIA ANJO PEREIRA

**ANATOMIA VEGETATIVA DE EPÍFITAS DE
JARDINS-DE-FORMIGA MEDIADA PELA
EVOLUÇÃO DA INTERAÇÃO MUTUALÍSTICA NA
REGIÃO DA AMAZÔNIA MERIDIONAL**

Dissertação de Mestrado

ALTA FLORESTA-MT

2020

	ANDRÉIA ANJO PEREIRA	Diss. MESTRADO	PPGBioAgro 2020
--	----------------------	----------------	-----------------



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E
AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS
AMAZÔNICOS



ANDRÉIA ANJO PEREIRA

ANATOMIA VEGETATIVA DE EPÍFITAS DE
JARDINS-DE-FORMIGA MEDIADA PELA
EVOLUÇÃO DA INTERAÇÃO MUTUALÍSTICA NA
REGIÃO DA AMAZÔNIA MERIDIONAL

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Orientadora: Profa. Dra. Ivone Vieira da Silva
Coorientador: Dr. Ricardo Eduardo Vicente

ALTA FLORESTA-MT

2020

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO, CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação

Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

Luiz Kenji Umeno Alencar CRB 1/2037

P436a PEREIRA, Andréia Anjo.

Anatomia Vegetativa de Epífitas de Jardins-de-Formiga Mediada pela Evolução da Interação Mutualística na Região da Amazônia Meridional / Andréia Anjo Pereira – Alta Floresta, 2020.

97 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso

(Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Câmpus de Alta Floresta, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2020.

Orientadora: Ivone Vieira da Silva

Coorientador: Ricardo Eduardo Vicente

1.Histoquímica. 2. Alelopatia. 3. Ninhos de Formiga. 4. Alelopatia Ecológica. 5. Nectário Extrafloral. I. Andréia Anjo Pereira. II. Anatomia Vegetativa de Epífitas de Jardins-de-Formiga Mediada pela Evolução da Interação Mutualística na Região da Amazônia Meridional: .

CDU 581.5(811)

ANATOMIA VEGETATIVA DE EPÍFITAS DE JARDINS-DE-FORMIGA MEDIADA PELA EVOLUÇÃO DA INTERAÇÃO MUTUALÍSTICA NA REGIÃO DA AMAZÔNIA MERIDIONAL

ANDRÉIA ANJO PEREIRA

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos

Aprovada em: 28/02/2020

Profa. Dra. Ivone Vieira da Silva
Orientadora – UNEMAT / PPGBioAgro

Profa. Dra. Juliana Garlet
UNEMAT/ PPGBioAgro

Profa. Dra. Rita de Cássia Violin Pietrobon
Pontifícia Universidade Católica de Campinas

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais por ter me orientado para a vida.

À minha orientadora Dra. Ivone Vieira da Silva pela orientação, oportunidade, confiança e ensinamentos... sou muito grata!!!

Ao meu Coorientador Dr. Ricardo Eduardo Vicente pelo tempo dedicado e pelos ensinamentos transmitidos e especialmente por ter uma capacidade incrível de me entender.

À minha amiga Karla Bianca de Deus Bento pelo incentivo e apoio, na verdade não existe forma de expressar o quanto eu sou grata... Amiga você é uma pessoa extraordinária!!

À Leidiane dos Santos de Melo por ter me recebido em sua casa e por ter paciência comigo durante esses dois anos... você foi demais!!

Agradeço imensamente à Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT e ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos – PPGBioAgro pelo apoio, em especial aos professores e técnicos por me permitir tornar a profissional que sou hoje.

À turma do Laboratório de Anatomia Vegetal por me ensinar e auxiliar com as técnicas laboratoriais, em especial a Jaidle, Willian e Diego por irem a campo e ajudar com as coletas... são tão parceiros que até nos perdemos né?...e também pelos momentos de descontração que vivenciamos.

Ao Doutorando Norberto Gomes Ribeiro Júnior pelos ensinamentos, discussões e apoio. Também a Vera Lucia Pegorini Rocha por ser uma pessoa incrível, sempre dando conselho e também disposta a nos ajudar com seus conhecimentos em técnicas laboratoriais.

Ao laboratório de sementes por me ceder o espaço e os equipamentos necessários para realizar parte da minha pesquisa, ao Edmar, Jaidle, Igor e a Sheila e também aos amigos da turma 2018 que me auxiliaram a desmontar o experimento, vocês foram essenciais nesse processo.

À Dra. Ana Kelly Koch por auxiliar com a identificação das plantas e a Doutoranda Elisa dos Santos Cardoso pelo auxílio com as análises estatística. Ao professor Thiago Izzo pelo auxílio no delineamento do experimento de alelopatia ecológica (pruning).

À CAPES pela bolsa concedida.

À FAPEMAT/CNPq pelo financiamento do projeto (DCR-003/2016, processo nº FAPEMAT.0602346/2017) e a ONF Brasil e Fazenda São Nicolau pela logística, em especial a Estelle, Alan, Laide, Gilberto e a Suzana.

Aos membros da banca pelas contribuições.

E por fim agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ABREVIATURA E SIGLA	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	18
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
3. CAPÍTULOS.....	25
3.1. CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DO CORPO VEGETATIVO DE EPÍFITAS COMUNS EM JARDINS-DE- FORMIGA.....	25
Resumo	26
Introdução	27
Material e Métodos.....	29
Resultados	32
Discussão.....	51
Considerações finais	56
Referências Bibliográficas	57
3.2. ALELOPATIA QUÍMICA E ECOLÓGICA EM EPÍFITAS DE JARDINS-DE-FORMIGAS.....	64
Resumo	65
Introdução	67

Material e Métodos.....	70
Resultados	74
Discussão.....	84
Considerações finais	87
Referências Bibliográficas	88
4. CONSIDERAÇÕES GERAIS	93

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Testes histoquímicos utilizados na caracterização da raiz, caule e folha das espécies *Codonanthe calcarata* (Miq.) Hanst., *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr., *Anthurium gracile* (Rudge) Schott, *Markea longiflora* Miers e *Philodendron* sp. Schott.....30

Tabela 2. Caracteres anatômicos presentes na raiz das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT.....33

Tabela 3. Caracteres anatômicos presentes no caule das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT.....35

Tabela 4. Caracteres anatômicos presentes no pecíolo das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT.....37

Tabela 5. Caracteres anatômicos em vista paradérmica presentes nas folhas das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT.....39

Tabela 6. Caracteres anatômicos presentes nas folhas das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT.....42

Tabela 7. Testes histoquímicos das estruturas vegetativas das espécies de epífitas encontradas em jardins-de-formiga, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu-MT.....46

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Resultado da Análise de Variância - ANOVA dos efeitos dos extratos *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* na germinação de sementes de *Cucumis sativus*. (IVG: índice de velocidade de germinação; MS: média dos quadrados).....76

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1 - Jardins de formigas (A, B) de *Camponotus femoratus* (C) e *Crematogaster levior* (D) em duas colônias na fazenda São Nicolau em Cotriguaçu - MT. Fotos A e B são de arquivo pessoal e as fotos C e D são de Ricardo Eduardo Vicente.....21

CAPITULO 1

Figura 1 - Secções transversais anatômica da raiz de *Anthurium gracile* (Fig. A - H), *Codonanthe calcarata* (Fig. I - J), *Peperomia macrostachya* (Fig. L - N), *Markea longiflora* (Fig. O - R) e *Philodendron* sp. (S - U). A- Visão geral do córtex e sistema de revestimento. B- Nervura central poliarca. C- Ráfides. D- Drusa próxima aos feixes vasculares. E- Periderme com velame e drusa. F- Drusas na exoderme. G- Ráfides. H- Célula amilífera. I- Visão geral da raiz de *C. calcarata*. J- Detalhe da periderme e cilindro vascular. L- Visão geral da raiz de *P. macrostachya*. M- Detalhe evidenciando a periderme e o colênquima. N- Cristais prismáticos (monocristais). O- Visão geral da raiz de *M. longiflora*. P- Evidenciando a periderme. Q- Colênquima angular e fibras. R- Detalhe mostrando célula amilífera e idioblasto. S- Visão geral da raiz de *Philodendron* sp. T- Detalhe com drusa e canais envoltos por células esclerificadas. U- Canais, fibras e detalhe da nervura central. Ctx: córtex; Nc: nervura central; Rf: ráfides; Dr: drusas; Ve: velame; Pr: periderme; Co: colênquima; Cp: cristais prismáticos; Fib: fibras; Am: células amilíferas; Can: canais.....34

Figura 2 - Secções transversais anatômicas do caule de *Anthurium gracile* (Fig. A - C), *Codonanthe calcarata* (Fig. D - F), *Peperomia macrostachya* (Fig. G - I), *Markea longiflora* (Fig. J - N), *Philodendron* sp. (Fig. O - U). A- Visão geral do caule de *A. gracile*. B- Detalhe evidenciando drusas e ráfide. C- Detalhe evidenciando estômato. D- Visão do caule de *C. calcarata* evidenciando o cilindro vascular. E- Evidenciando fibras e colênquima angular. F- Detalhe da periderme e tricoma. G - Visão geral do caule de *P. macrostachya* evidenciando os feixes vasculares. H- Detalhe evidenciando idioblasto oleífero e ráfides. I- Detalhe evidenciando tricomas e colênquima angular. J- Visão geral do caule de *M. longiflora* evidenciando o câmbio vascular. L- Detalhe evidenciando periderme e colênquima. M - Tricoma glandular. N- Detalhe evidenciando idioblasto e fibras. O- Visão geral da raiz de *Philodendron* sp. P- Detalhe evidenciando a periderme e canais. Q - Visão geral dos feixes vasculares. R- Visão aproximada do feixe vascular. S- Detalhe evidenciando canais. T- Detalhe evidenciando drusas e fibras envolvendo o feixe vascular. U- Detalhe evidenciando o colênquima e periderme. Dr: drusas; Ep: epiderme; Rf: ráfides; Es: estômatos; Cv: câmbio vascular; Co: colênquima; Fib: fibras; Pr: periderme; Tric: tricoma; Fv: feixe vascular; Id: idioblasto; Can: canais.....36

Figura 3 - Secções transversais anatômicas do pecíolo de *Anthurium gracile* (Fig. A - C), *Codonanthe calcarata* (Fig. D - G), *Peperomia macrostachya* (Fig. H - L), *Markea longiflora* (Fig. M - R), *Philodendron* sp. (Fig. S - U). A- Visão geral do pecíolo de *A. gracile*. B- Detalhe da epiderme evidenciando estômatos, colênquima e drusas. C- Detalhe evidenciando as fibras e os feixes vasculares.

D- Visão geral do pecíolo de *C. calcarata* evidenciando o feixe vascular. E- Detalhe do feixe vascular. F- Detalhe evidenciando a epiderme, os tricomas e colênquima. G- Detalhe evidenciando Nectário extrafloral. H- Visão geral do pecíolo de *P. macrostachya*. I- Detalhe evidenciando epiderme, tricomas e colênquima angular. J- Tricomas. L- Detalhe evidenciando o feixe vascular colateral. M- Visão geral do pecíolo de *M. longiflora* evidenciando o feixe vascular bicolateral. N- Detalhe evidenciando a periderme e o colênquima angular. O- Detalhe evidenciando idioblasto. P- Detalhe evidenciando nectário extrafloral. Q- Detalhe evidenciando tricoma glandular. R- Tricomas glandulares. S- Visão geral do pecíolo de *Philodendron* sp. evidenciando aerênquima e feixes vasculares. T- Detalhe evidenciando drusas canais e colênquima. U - Detalhe evidenciando nectário extrafloral, colênquima e canais. Dr: drusas; Ep: epiderme; Es: estômatos; Co: colênquima; Pr: periderme; Tric: tricoma; Fv: feixe vascular; Id: idioblasto; Can: canais; Nef: nectário extrafloral; A: aerênquima.....38

Figura 4 - Secção paradérmica das folhas de *Anthurium gracile* (Fig. A - B), *Codonanthe calcarata* (Fig. C - D), *Peperomia macrostachya* (Fig. E - F), *Markea longiflora* (Fig. G - H) e *Philodendron* sp. (Fig. I - J). A- Vista adaxial com células de contorno reto. B- Vista abaxial com células levemente curvas, evidenciando estômatos do tipo paracítico. C- Epiderme com células de contorno reto e presença de tricomas tectores. D- Vista abaxial com células retas evidenciando os estômatos anisocítico e tricomas glandulares. E- Epiderme adaxial com célula de contorno reto evidenciando tricoma glandular. F- Vista abaxial com células de contorno reto com estômatos do tipo anisocítico e tricoma glandular. G- Vista adaxial com células de contorno sinuoso e evidenciando tricomas glandulares. H- Vista abaxial com células de contorno sinuoso estômatos paracíticos e tricomas glandulares. I- Vista adaxial com células de contorno reto e presença de estômato do tipo tetracítico. J- Vista abaxial com células levemente curvas e com estômato tetracítico. Es: estômatos; Tric: tricoma.....40

Figura 5 - Secções transversais anatômicas da folha de *Anthurium gracile* (Fig. A - F), *Codonanthe calcarata* (Fig. G - M), *Peperomia macrostachya* (Fig. N - U). A- Vista geral da folha de *A. gracile*. B- Detalhe evidenciando nectários extraflorais e feixes vasculares. C- Detalhe na epiderme da nervura central evidenciando a hipoderme, drusas e feixe vascular com células esclerificadas. D- Vista do mesofilo evidenciando parênquima paliçádico e lacunoso. E- Vista da epiderme abaxial evidenciando estômato com câmara subestomática e detalhe do parênquima lacunoso. F- Vista da epiderme na nervura central no lado abaxial evidenciando colênquima e drusas. G- Vista geral da folha de *C. calcarata* evidenciando o feixe vascular. H- Vista do nectário extrafloral localizado na borda da folha. I- Vista do mesofilo evidenciando a epiderme uniestratificada a hipoderme o parênquima paliçádico e o parênquima lacunoso. J- Detalhe da epiderme abaxial na nervura central evidenciando os tricomas e o colênquima. L- Epiderme adaxial evidenciando os tricomas a hipoderme. M- Detalhe da epiderme adaxial evidenciando o estômato com câmara subestomática e detalhe do parênquima lacunoso. N- Vista geral da folha de *P. macrostachya*. O- Vista do mesofilo evidenciando epiderme uniestratificada, hipoderme, parênquima paliçádico e lacunoso. P- Detalhe em corte longitudinal evidenciando ráfides. Q- Detalhe do feixe vascular na nervura central. R - Detalhe mostrando idioblasto oleífero. S- Detalhe evidenciando tricoma

glandular. T- Detalhe da região abaxial da nervura central evidenciando colênquima angular. U- Detalhe evidenciando estômato com câmara subestomática. Dr: drusas; Ep: epiderme; Es: estômatos; Co: colênquima; Tric: tricoma; Fv: feixe vascular; Id: idioblasto; Nef: nectário extrafloral; Hi: hipoderme; Pp: parênquima paliçádico; Pl: parênquima lacunoso; Cs: câmara subestomática.....43

Figura 6 - Secções transversais anatômicas da folha de *Markea longiflora* (Fig. A - H), *Philodendron* sp. (Fig. I - Q). A- Vista geral da nervura central de *M. longiflora*. B- Nervura central em detalhe com feixes bicolaterais. C- Detalhe do mesofilo evidenciando a epiderme o parênquima paliçádico e o lacunoso e estômato. D- Detalhe da epiderme da nervura central lado abaxial evidenciando nectário extrafloral e colênquima. E- Detalhe da epiderme na nervura central do lado adaxial evidenciando colênquima. F- Detalhe evidenciando tricomas glandulares G- Tricoma glandular bicelular. H- Detalhe do mesofilo mostrando idioblasto. I- Vista geral da folha de *Philodendron* sp. J- Vista da nervura central evidenciando aerênquima. L- Detalhe dos feixes vasculares. M- Vista do mesofilo evidenciando a epiderme o parênquima paliçádico e o lacunoso conspícuo e ráfides. N- Detalhe próximo a nervura central evidenciando epiderme biestratificada. O- Epiderme abaxial do mesofilo evidenciando estômato com câmara subestomática. P- Epiderme adaxial da nervura central evidenciando estômato com câmara subestomática e colênquima. Q- Epiderme abaxial da nervura central evidenciando colênquima, canais e drusas. Dr: drusas; Ep: epiderme; Es: estômatos; Co: colênquima; Tric: tricoma; Id: idioblasto; Nef: nectário extrafloral; Pp: parênquima paliçádico; Pl: parênquima lacunoso; Cs: câmara subestomática; A: Aerênquima.....44

Figura 7 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Anthurium gracile* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica na nervura central da folha. B- Mucilagens no cilindro vascular da raiz. C- Mucilagens na região medular do pecíolo. D- Compostos fenólicos em células epidérmicas e subepidérmicas no pecíolo. E- Alcaloides no córtex da raiz. F- Alcaloides no córtex do caule. G- Alcaloides na nervura central da folha. H- Amido no velame da raiz. I- Amido no córtex do caule. J- Amido na região medular do pecíolo. L- Amido na nervura central da folha. M- Óleos essenciais no córtex da raiz. N- Óleos essenciais na epiderme do pecíolo. O- Óleos essenciais próximos aos vasos condutores na folha. P- Lipídios Totais próximos aos vasos condutores do caule. Q- Lipídios Totais na epiderme do pecíolo. R- Lipídios Totais na epiderme da folha. S- Taninos no córtex do caule. T- Taninos próximos a vasos condutores da folha.....47

Figura 8 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Codonanthe calcarata* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica no córtex do caule. B- Mucilagens no córtex da raiz. C- Mucilagens no córtex do pecíolo. D- Mucilagens na epiderme da folha. E- Terpenóides no córtex da raiz. F- Amido no córtex da raiz. G- Amido no córtex caule. H- Amido no córtex do pecíolo. I- Amido no mesofilo da folha. J- Amido no tricoma presente na nervura central. L- Óleos essenciais no córtex da raiz. M- Óleos essenciais no córtex do caule. N- Óleos essenciais córtex do pecíolo. O- Óleos essenciais no pecíolo evidenciando o tricoma. P- Óleos essenciais na

folha. Q- Lipídios Totais na folha na região do parênquima lacunoso. Testes histoquímicos positivos realizados em nectário extrafloral de *Codonanthe calcarata* na região da borda foliar: R- Lipídios totais. S- Óleos essenciais. T- amido.....47

Figura 9 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Peperomia macrostachya* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica no córtex do caule. B- Alcaloides no feixe vascular da raiz. C- Alcaloides no feixe vascular do caule. D- Amido no córtex da raiz. E- Amido na região dos feixes vasculares do caule. F- Amido no córtex do pecíolo. G- Amido na folha na região do mesófilo. H- Óleos essenciais no córtex da raiz. I- Óleos essenciais na epiderme e no córtex do caule. J- Óleos essenciais no córtex do pecíolo. L- Óleos essenciais na folha na região do mesófilo. M- Lipídios totais no córtex da raiz. N- Lipídios totais próximos aos vasos condutores no caule. O- Lipídios totais próximos aos vasos condutores no pecíolo. P- Lipídios totais na folha na região do mesófilo. Q - Taninos no córtex da raiz. R - Taninos no córtex do caule.....48

Figura 10 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Markea longiflora* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica no córtex do caule. B- Lactona sesquiterpênica no córtex do pecíolo. C- Lactona sesquiterpênica na nervura central da folha. D- Mucilagens próxima do cilindro vascular caule. E- Mucilagens no córtex do pecíolo. F- Mucilagens próximo a nervura central da folha. G- Compostos fenólicos próximo da nervura central do Caule. H - Compostos fenólicos no córtex do pecíolo. I- Compostos fenólicos na folha na região do mesófilo. J- Terpenoides no córtex do pecíolo. L- Terpenoides no tricoma do pecíolo. M- Alcaloides no córtex do pecíolo. N- Alcaloides na nervura da folha. O- Amido no córtex do caule.48

Figura 11 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Markea longiflora* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Amido no pecíolo próximo a nervura central. B- Amido na folha na região da nervura central. C- Óleos essenciais na periderme do caule. D - Óleos essenciais no córtex do pecíolo. E- Óleos essenciais no mesófilo. F- Lipídios totais no córtex do caule. G - Lipídios totais no córtex do pecíolo. H- Lipídios totais na epiderme da folha. I - Esteroides no córtex do caule. J- Esteroides no córtex do pecíolo. L- Esteroides na folha na região da nervura central. M- Taninos no córtex do caule. N- Taninos no córtex do pecíolo. O- Taninos na região da nervura central na folha.....49

Figura 12 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Philodendron* sp. evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica no córtex da raiz. B- Lactona sesquiterpênica no pecíolo próximo ao feixe vascular. C- Mucilagens no córtex da raiz. D- Mucilagens no córtex do caule. E- Mucilagens no feixe vascular do pecíolo. F- Mucilagens no feixe vascular da folha. G- Compostos fenólicos na periderme da raiz. H- Compostos fenólicos no córtex do caule. I- Compostos fenólicos em células parenquimáticas do pecíolo. J- Compostos fenólicos na nervura central da folha. L- Terpenoides em canais presentes no caule. M- Terpenoides em células próximas a feixe

vascular do pecíolo. N- Alcaloides no córtex da raiz. O- Alcaloides em células próximas ao feixe vascular caule.....49

Figura 13 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Philodendron* sp. evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Alcaloides em célula perto de feixe vascular no pecíolo. B- Amido no córtex da raiz. C- Amido no córtex do caule. D- Amido no córtex do pecíolo. E - Amido na nervura central da folha. F- Óleos essenciais no córtex da raiz. G- Óleos essenciais na periderme do caule. H- Óleos essenciais no córtex do pecíolo. I- Óleos essenciais na nervura central da folha. J- Lipídios Totais no córtex da raiz. L- Lipídios totais no córtex do caule. M- Lipídios totais na região da nervura central da folha. N- Esteroides no caule próximo a feixe vascular. O- Taninos na periderme da raiz. P- Taninos próximos a feixe vascular do caule. Q- Taninos no pecíolo próximo a feixe vascular. R- Taninos em região na nervura central da folha.....50

CAPITULO 2

Figura 1. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Índice de velocidade de germinação (IVG): *C. calcarata* (A), *P. macrostachya* (B). Porcentagem de germinação: *C. calcarata* (C) e *P. macrostachya* (D). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração *Transformação em arco seno.....77

Figura 2. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Comprimento da parte aérea: *C. calcarata* (A) e *P. macrostachya* (B). O comprimento da raiz: *C. calcarata* (C). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.....78

Figura 3. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Comprimento total: *C. calcarata* (A). Comprimento total: *P. macrostachya* (B). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.....79

Figura 4. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Peso da parte aérea: *Codonanthe calcarata* (A), *Peperomia macrostachya* (B, C). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.....80

Figura 5. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Peso da raiz: *Codonanthe calcarata* e (A) *Peperomia macrostachya* (B). O peso total: *Codonanthe calcarata*

(C). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.....81

Figura 6. Efeito do extrato de *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Peso total: *Peperomia macrostachya* (A). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.....82

Figura 7. Experimento de alelopatia ecológica com plântulas de espécies não mutualística (*Cucumis sativus*) sendo cortadas pelas formigas (círculo amarelo).....83

Figura 8. Gráfico com o número de plântulas de *Peperomia macrostachya* (espécie mutualística) e plântulas de *Cucumis sativus* (não mutualística) removidos durante o experimento de alelopatia ecológica.....83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA análise de variância

Am clima tropical de monção

BOD incubadora

CEPTAM Centro de Pesquisas e Tecnologia da Amazônia Meridional

CV Coeficiente de variação

FAA₅₀ formalina, ácido acético e álcool etílico 50%

G germinação

GLM modelo linear generalizado

ha hectare

IVG Índice de velocidade de germinação

PPGBioAGRO Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

S Sul

UNEMAT Universidade do Estado de Mato Grosso.

UFMT Universidade Federal de Mato Grosso

W Oeste

RESUMO

Pereira, Andréia Anjo. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Fevereiro de 2020. **Anatomia vegetativa de epífitas de jardins-de-formiga mediada pela evolução da interação mutualística na região da Amazônia Meridional.** Orientadora: Ivone Vieira da Silva. Coorientador: Ricardo Eduardo Vicente.

Os Jardins-de-formigas são uma associação mutualística entre plantas epífitas e espécies de formigas. Esse mutualismo é considerado complexo pois as formigas fornecem substrato e dispersam as sementes das epífitas além de proteger contra herbivoria. Em contrapartida, as epífitas controlam a umidade dos ninhos e estruturam as caixas e ofertam alimento para as formigas. Então afim de entender o que estrutura essa interação mutualística realizamos um levantamento florístico, realizamos análise anatômica e histoquímica dessas epífitas, identificamos os tipos de tecidos anatômicos que elas apresentam e se elas possuem algum tipo de substância química que influencie essa relação. Realizamos também testes alelopáticos químicos e ecológicos para compreender o que determina a composição das espécies de epífitas nos jardins-de-formiga. O levantamento florístico foi realizado na Fazenda São Nicolau, no município de Cotriguaçu, Mato Grosso. Em cada colônia registramos as espécies de epífitas encontradas nos ninhos que estavam ao alcance de nossa visão. Amostras das espécies identificadas foram levadas ao Laboratório de Biologia Vegetal, onde realizamos os estudos anatômicos e histoquímicos nas regiões medianas dos órgãos vegetativos. No teste alelopático químico, realizado no Laboratório de Sementes do CEPTAM, administramos o extrato do caule e da folha de *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr. e *Codonanthe calcarata* (Miq.) Hanst. que são as espécies mais comuns em jardins-de-formiga, sobre sementes de *Cucumis sativus* L. Para o teste de alelopatia ecológica utilizamos plântulas de *Peperomia macrostachya* e de *Cucumis sativus* como controle (planta não mutualística). Fixamos as plântulas nos ninhos presentes na Fazenda São Nicolau, com auxílio de alfinetes e depois de 15 minutos, 3 horas e 24 horas, os ninhos foram visitados e inspecionados quanto à remoção das plântulas. Anatomicamente as epífitas apresentaram estruturas que estão relacionadas a adaptação para o hábito epifítico em clareiras e interação com as formigas, como tecido de armazenamento de água, cristais de oxalato de cálcio

e nectário extrafloral. Na histoquímica encontramos metabólitos como compostos fenólicos e óleo essenciais que são substâncias relacionadas com defesa da planta e atração de insetos. Na alelopatia química os extratos das espécies *Peperomia macrostachya* e *Codonanthe calcarata* diminuíram os índices de velocidade de germinação e a porcentagem de germinação em relação ao controle, o comprimento e o peso foram influenciados de forma positiva, melhorando o desempenho das plântulas, sendo então essas espécies alelopáticas. No teste de alelopatia ecológica houve diferença na remoção das plântulas, sendo que das plantas removidas, 46% foram de plantas não mutualísticas e 7% de plantas mutualísticas. Nessa interação as epífitas contribuem com suas características anatômicas e histoquímicas, bem como, a formiga diminuindo a competição interespecífica entre as epífitas, fazendo com que os Jardins-de-formigas sejam um sistema altamente adaptado ao ambiente em que ocorrem, onde tanto as epífitas quanto as formigas contribuem na composição florística dos ninhos.

Palavras chave: histoquímica, alelopatia, ninhos de formiga, alelopatia ecológica.

ABSTRACT

Pereira, Andréia Anjo. M.Sc. State University of Mato Grosso, February 2020. **Vegetative anatomy of ant-garden epiphytes mediated by the evolution of mutualistic interaction in the Amazônia Meridional region.** Advisor: Ivone Vieira da Silva. Co-supervisor: Ricardo Eduardo Vicente.

Ant-gardens are a mutualistic association between epiphyte plants and ant species. This mutualism is considered complex because ants provide substrate and disperse epiphyte seeds in addition to protecting against herbivory. In return, the epiphytes control the humidity and structure the nests and offer food to the ants. So in order to understand what drive this mutualistic interaction, we carry out a floristic survey, we perform anatomical and histochemical analysis of these epiphytes, we identify the types of anatomical tissues that the epiphytes present and if they have any type of chemical substance that influences this relationship. We also carry out chemical and ecological allelopathic tests to understand what determines the composition of epiphyte species in ant gardens. The floristic survey was carried out at Fazenda São Nicolau, in the municipality of Cotriguaçu, Mato Grosso. In each colony we recorded the species of epiphytes found in the nests that were within reach of our vision (up to about 3 meters high). Samples of the identified species were taken to the Laboratório de Biologia Vegetal, where we performed anatomical and histochemical studies in the middle regions of the vegetative organs. In the chemical allelopathic test, carried out at the Laboratório de Sementes, we administered the stem and leaf extract of *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr. and *Codonanthe calcarata* (Miq.) Hanst. which are the most common species in ant gardens, on seeds of *Cucumis sativus* L. For the ecological allelopathy test we used seedlings of *Peperomia macrostachya* and *Cucumis sativus* as a control (non-mutualistic plant). We fixed the seedlings in the nests at Fazenda São Nicolau, with the help of pins and after 15 minutes, 3 hours and 24 hours, the nests were visited and inspected for the removal of seedlings. Anatomically, the epiphytes presented structures that are related to adaptation to the epiphytic habit in forest gaps and interaction with ants, such as water storage tissue, calcium oxalate crystals and extrafloral nectary. In histochemistry we find metabolites such as phenolic compounds and essential oils that are substances related to plant defense and insect attraction. In chemical allelopathy, the extracts of the species *Peperomia macrostachya* and *Codonanthe calcarata* decreased the germination speed indexes and the percentage of germination in relation to the control, the length and weight were positively influenced, improving the performance of the seedlings, being then these species allelopathic. In the ecological allelopathy test, there was a difference in the removal of seedlings, of which 46% were non-mutualistic plants and 7% mutualistic plants. In this interaction the epiphytes contribute with their anatomical and histochemical characteristics, as well as, the ant decreasing the interspecific competition between the epiphytes, making the Ant-gardens a system highly adapted to the environment in which they occur, where both the epiphytes and ants contribute to the floristic composition of the nests.

Keywords: histochemistry, allelopathy, ant nests, ecological allelopathy.

1. INTRODUÇÃO GERAL

As interações entre formigas e plantas são consideradas como uma das relações ecológicas mais comuns, e geograficamente difundida em todos os ecossistemas terrestres (DÁTTILO et al., 2009). Dentre essas interações (COSTA et al., 2017; SETTERFIELD & ANDERSEN, 2018) destacam-se as mutualísticas (MENZEL et al., 2014; WEISSFLOG et al., 2017). As interações mutualísticas são importantes na dinâmica e estruturação das comunidades terrestres (BRONSTEIN et al., 2006; LANGE et al., 2013) e provavelmente todo organismo na Terra esteja envolvido em pelo menos uma interação ao longo de sua história de vida (BRONSTEIN, 2001).

Entre as plantas tropicais, as epífitas representam um recurso fundamental nas florestas tropicais devido ao seu importante papel na ciclagem de nutrientes e no fornecimento de habitats para muitos microrganismos, invertebrados e pequenos vertebrados (NADKARNI, 1994). Portanto, compreender as interações mutualísticas entre esses grupos com ampla distribuição e importância ecológica tem sido a chave para compreender várias questões (HOEKSEMA & BRUNA, 2000; BRONSTEIN et al., 2006; DÁTTILO et al., 2009; MAYER et al., 2014). Tanto que estudos mutualísticos entre formigas e plantas deram uma notável contribuição para o entendimento atual sobre interações (BRONSTEIN, 1998; IZZO & VASCONCELO, 2002; HEIL & MCKEY, 2003).

Dentre as interações mutualísticas conhecidas, os Jardins-de-formigas (Figura 1 A, B) estão entre as mais complexas e esta relação envolve diretamente formigas e epífitas (ORIVEL & LEROY, 2011), neles as formigas constroem os ninhos com diversos materiais orgânicos, e coletam sementes de epífitas mutualistas e incorporam as sementes selecionadas nas paredes do ninho, onde as sementes germinam e se desenvolvem, produzindo raízes que reforça o ninho e fixa toda a estrutura na árvore de suporte (KAUFMAN & MASCHWITZ, 2006; ORIVEL & LEROY, 2011)

As formigas são importantes para as plantas, positiva ou negativamente, embora algumas espécies sejam causadoras de danos, várias outras oferecem alguma proteção contra herbivoria, além de atuarem como polinizadoras e dispersoras de sementes (TRAGER et al., 2010). Em Jardins-de-

formigas as formigas trazem benefícios às plantas epífitas como a dispersão de sementes (ORIVEL & LEROY, 2011; VICENTE et al., 2014), disponibilização de substrato (BLÜTHGEN et al., 2001) e recebe em troca alguns produtos como alimentos (KLEINFELDT, 1986, DAVIDSON, 1988).

O estabelecimento dos jardins-de-formigas ocorre em áreas com alta incidência luminosa, sendo estas, clareiras por queda de árvores, margens de estradas ou beira de rios (VICENTE et al., 2014; VICENTE & IZZO, 2017). O tipo de epífitas associadas aos jardins-de-formiga é diferente dependendo do tipo de habitat, espécies de árvores, tamanho dos jardins-de-formiga, tipos de formigas associadas e também em relação à diversidade local de epífitas (DAVIDSON, 1988; PAOLLUCCI et al., 2016; LEAL et al., 2017).

Nas regiões neotropicais essas interações incluem nove espécies de formigas obrigatoriamente de jardins-de-formiga e 53 espécies de epífitas (ORIVEL & LEROY, 2011). Na floresta amazônica, os jardins são formados por diferentes espécies de formigas, sendo *Crematogaster*, *Solenopsis*, *Azteca* e *Camponotus* os gêneros mais comuns (DAVIDSON, 1988). Dentre as associações mais estudadas a interação entre as espécies *Camponotus femoratus* (Fabricius) (Formicinae) e *Crematogaster levior* Longino 2003 (Figura 1 C, D) estão entre as mais comumente encontrados e é categorizada como parabiose, sendo essa um tipo de interação onde duas espécies compartilham o mesmo ninho (WEBER, 1943; ORIVEL & LEROY, 2011).

Os gêneros de epífitas mais comuns nas florestas neotropicais são *Peperomia* (Piperaceae), *Codonanthe* (Gesneriaceae), *Codonanthopsis* (Gesneriaceae), *Philodendron* (Araceae), *Ficus* (Moraceae), *Anthurium* (Araceae), *Streptocalix* (Bromeliaceae) e *Epiphyllum* (Cactaceae) (KLEINFELDT, 1978; DAVIDSON, 1988; YU, 1994). Muitas dessas epífitas raramente são encontradas fora dos jardins-de-formiga, o que sugere que elas realmente são especializadas neste sistema (DAVIDSON, 1988). Assim, existe uma forte evidência de que as epífitas de jardins e as formigas arborícolas coevoluíram (YU, 2001).

Mesmo sabendo da importância do mutualismo para conservação e da complexidade da interação mutualística dos jardins-de-formigas, não há na literatura estudos anatômicos, histoquímicos e alelopáticos que analisam o que

estrutura a relação entre as epífitas e as formigas. Assim objetivamos com esse estudo compreender porque apenas uma pequena porcentagem das espécies de epífitas neotropicais disponíveis no *pool* de espécies locais ocorrem em jardins-de-formigas. Para compreender o que determina a composição das espécies em jardins-de-formiga desenvolvemos essa pesquisa constituída de dois capítulos.

No primeiro capítulo realizamos uma caracterização anatômica e testes histoquímicos das espécies mais frequentes em jardins-de-formiga com o objetivo de encontrar alguma estrutura ou substâncias que demonstrassem adaptações para a ocorrência das espécies nos jardins-de-formigas. E no segundo capítulo realizamos testes alelopáticos químicos e biológicos com epífitas de jardins-de-formiga para verificar se as plantas são alelopáticas ou se as formigas podam as epífitas não mutualísticas dos jardins-de-formigas para entendermos o que determina a composição dos ninhos. Esses estudos vão contribuir com informações que ampliem o conhecimento da interação mutualística dessas espécies a fim de compreender a coevolução nessa interação.

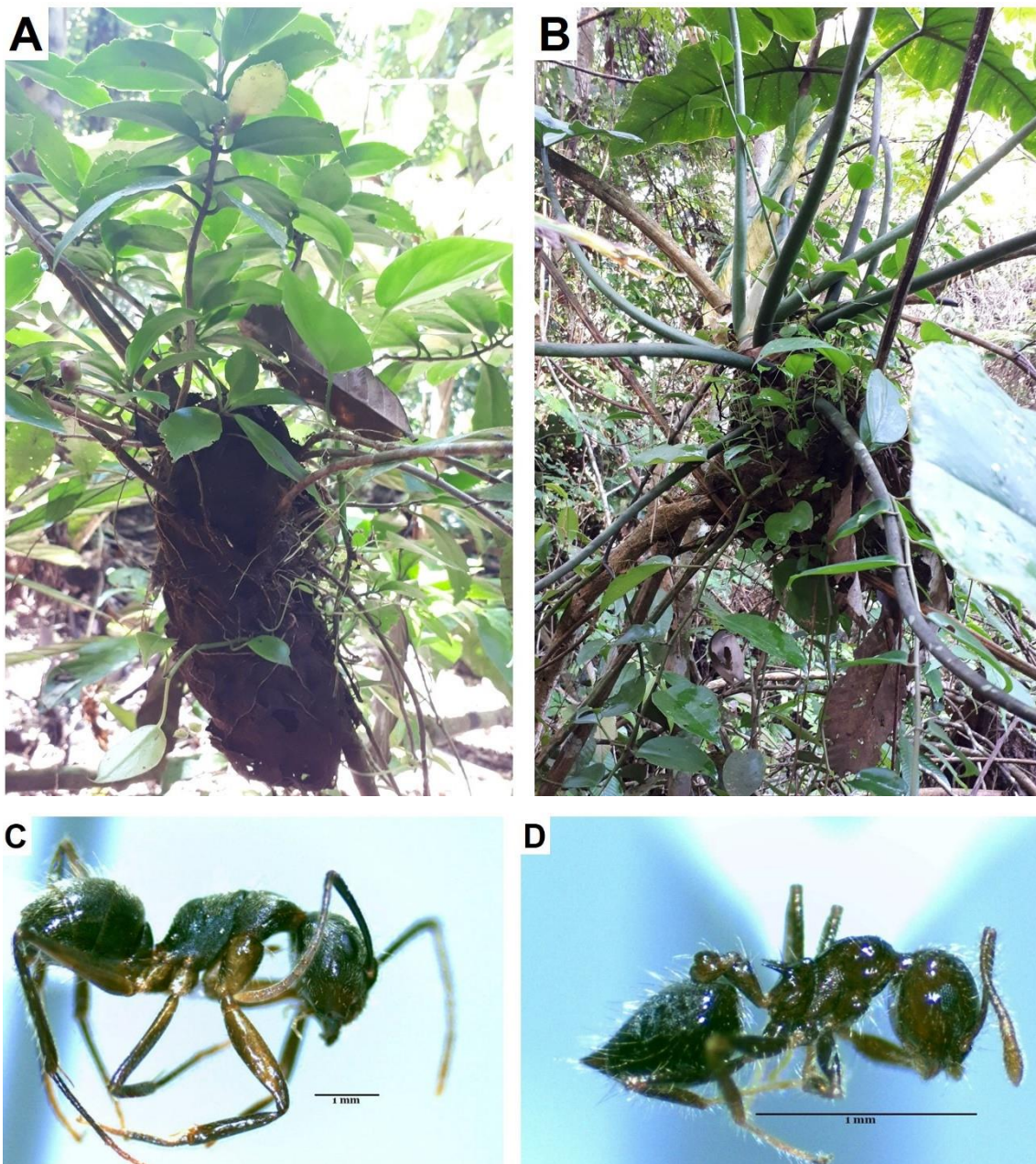


Figura 1 - Jardins de formigas (A, B) de *Camponotus femoratus* (C) e *Crematogaster levior* (D) em duas colônias na fazenda São Nicolau em Cotriguaçu - MT. Fotos A e B são de arquivo pessoal e as fotos C e D são de Ricardo Eduardo Vicente.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLÜTHGEN, N.; SCHMIT-NEUERBURG, V.; ENGWALD, S.; BARTHLOTT, W. Ants as epiphyte gardeners: comparing the nutrient quality of ant and termite canopy substrates in a Venezuelan lowland rain forest. **Journal of Tropical Ecology**, v. 17, p. 887-894, 2001.
- BRONSTEIN J. L. The Contribution of Ant-Plant Protection Studies to Our Understanding of Mutualism. **Biotropica**, v. 30, n. 2, p. 150-161, 1998.
- BRONSTEIN J. L. The exploitation of mutualisms. **Ecology letters**, v. 4, n. 3, p. 277-287, 2001.
- BRONSTEIN, J. L.; ALARCÓN, R.; GEBER, M. The evolution of plant-insect mutualisms. **New Phytologist**, v. 172, p. 412-428, 2006.
- COSTA, A. N.; VASCONCELOS, H. L.; BRUNA, E. M. Biotic drivers of seedling establishment in Neotropical savannas: selective granivory and seedling herbivory by leaf-cutter ants as an ecological filter. **Journal of Ecology**, v. 105, n. 1, p. 132-141, 2017.
- DÁTILLO, W.; COSTA MARQUES, E.; FARIA FALCÃO, J. C.; OLIVEIRA MOREIRA, D. D. Interações mutualísticas entre formigas e plantas. **EntomoBrasilis**, v. 2, n. 2, p. 32-36, 2009.
- DAVIDSON, D. W. Ecological studies of neotropical ant gardens. **Ecology**, v. 69, n. 4, p. 1138-1152, 1988.
- HEIL, M.; MCKEY, D. Protective ant-plant interactions as Model systems in ecological and Evolutionary research, **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 34, p. 425-53, 2003.
- HOEKSEMA, J. D.; BRUNA, E. M. Pursuing the big questions about interspecific mutualism: a review of theoretical approaches. **Oecologia**, v. 125, n. 3, p. 321-330, 2000.
- IZZO, T. J.; H. L. VASCONCELOS. Cheating the cheater: domatia loss minimizes the effects of ant castration in an Amazonian ant-plant. **Oecologia**, v. 133, p. 200-205, 2002.
- KAUFMANN, E.; MASCHWITZ, U. Ant-gardens of tropical Asian rainforests. **Naturwissenschaften**, v. 93, p. 216-227, 2006.
- KLEINFELDT S. E. Ant-gardens: the interaction of *Codonanthe crassifolia* (Gesneriaceae) and *Crematogaster longispina* (Formicidae). **Ecology**, v. 59, n. 3 p. 449-456, 1978.
- KLEINFELDT, S. E. Ant-gardens: mutual exploitation. In Juniper, B.; T. R. E. Southwood (eds.). **Insects and the plant surface**. Edward Arnold, London, p. 283-294, 1986.

LANGE, D.; DATTILO, W.; DEL-CLARO, K. Influence of extrafloral nectary phenology on ant-plant mutualistic networks in a neotropical savanna. **Ecological Entomology, London**, v. 38, p. 463-469, 2013.

LEAL, L. C.; JACOVAK, C. C.; BOBROWIEC, P. E. D.; CAMARGO, J. L. C.; PEIXOTO, P. E. C. The role of parabiotic ants and environment on epiphyte composition and protection in ant gardens. **Sociobiology**, v. 64, n. 3, p. 276-283, 2017.

MAYER, V. E.; FREDERICKSON, M. E.; MCKEY, D.; BLATRIX, R. Current issues in the evolutionary ecology of ant-plant symbioses. **New Phytologist**, v. 202, n. 3, p. 749-764, 2014.

MENZEL, F.; ORIVEL, J.; KALTENPOTH, M.; SCHMITT, T. What makes you a potential partner? Insights from convergently evolved ant-ant symbioses. **Chemoecology**, v. 24, n. 3, p. 105-119, 2014.

NADKARNI, N. M. Diversity of species and interaction in the upper tree canopy of forest ecosystems. **American Zoologist**, v. 34, p. 70-78, 1994.

ORIVEL, J.; LEROY, C. The diversity and ecology of ant gardens (Hymenoptera: Formicidae, Spermatophyta: Angiospermae). **Myrmecol News**, v. 14, p. 73-85, 2011.

PAOLUCCI, L. N.; SOLAR, R. R.C; LEAL, L. C. SHORT COMMUNICATION Proximity shapes similarity in epiphytic composition of Neotropical ant gardens. **Journal of Tropical Ecology**, p. 1-5, 2016.

SETTERFIELD, S. A.; ANDERSEN, A. N. Seed supply limits seedling recruitment of *Eucalyptus miniata*: interactions between seed predation by ants and fire in the Australian seasonal tropics. **Oecologia**, v. 186, n. 4, p. 965-972, 2018.

TRAGER, M. D.; BHOTIKA, S.; HOSTETLER, J. A.; ANDRADE, G. V.; RODRIGUEZ-CABAL, M. A.; MC-KEON, C.; OSENBURG, S. C. W.; BOLKER, B. M. Benefits for plants in ant-plant protective mutualisms: a meta-analysis. **Plos One**, v. 5, n. 12, 2010.

VICENTE, R. E, DÁTTILO, W.; IZZO, T. J. Differential Recruitment of *Camponotus femoratus* (Fabricius) Ants in Response to Ant Garden Herbivory. **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 6, p. 519-525, 2014.

VICENTE, R. E.; IZZO, T. J. Defining habitat use by the parabiotic ants *Camponotus femoratus* (Fabricius, 1804) and *Crematogaster levior* Longino, 2003. **Sociobiology**, v. 64, n. 4, p. 373-380, 2017.

WEISSFLOG, A.; KAUFMANN, E.; MASCHWITZ, U. Ant gardens of *Camponotus (Myrmotarsus) irritabilis* (Hymenoptera: Formicidae: Formicinae) and *Hoya elliptica* (Apocynaceae) in Southeast Asia. **ASIAN MYRMECOLOGY**, v. 9, p. 1-16, 2017.

WEBER, N. A. Parabiosis in neotropical" ant gardens". **Ecology**, v. 24, n. 3, p. 400-404, 1943.

YU, D. W. The structural role of epiphytes in ant gardens. **Biotropica**, v. 26, n. 2 p. 222-226, 1994

YU, D.W. Parasites of mutualisms. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 72, n. 4, p. 529-546, 2001.

3. CAPÍTULOS

3.1. CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DO CORPO VEGETATIVO DE EPÍFITAS COMUNS EM JARDINS-DE-FORMIGAS

Resumo – (Caracterização anatômica e histoquímica do corpo vegetativo de epífitas comuns em Jardins-de-formigas). Os Jardins-de-formigas são uma associação especializada entre plantas epífitas e espécies de formigas. Eles são construídos por formigas arborícolas que constroem os ninhos com diversos materiais orgânicos, e coletam sementes de epífitas mutualísticas, incorporando as sementes selecionadas nas paredes do ninho. Esse mutualismo é considerado complexo pois somente algumas espécies de epífitas estão nos ninhos. Então afim de conhecer as espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, realizamos um levantamento florístico na Fazenda São Nicolau, no município de Cotriguaçu, Mato Grosso, e realizamos análise anatômica e histoquímica dessas epífitas para identificar os tipos de tecidos anatômicos que elas apresentam e se possuem algum tipo de metabólito secundário que influencie essa relação. Os estudos anatômicos e histoquímicos foram realizados em laboratório, utilizando metodologia usual nas regiões medianas dos órgãos vegetativos das epífitas. No levantamento florístico a espécie predominante nos ninhos foi *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr. Anatomicamente encontramos estruturas como tecido de armazenamento de água, cristais de oxalato de cálcio e nectário extrafloral. Na histoquímica encontramos metabólitos como compostos fenólicos e óleo essenciais que são substâncias relacionadas com a defesa da planta e atração de insetos. Essas estruturas e substâncias encontradas nas epífitas beneficiam as formigas e as tornam adaptadas ao ambiente de clareira favorecendo a coocorrência entre elas.

Palavras chave: nectário extrafloral; Inseto; *Peperomia macrostachya*

Abstract – (Anatomical and histochemical characterization of the vegetative body of common epiphytes in Ant-gardens). Ant-gardens are a specialized association between epiphyte plants and ant species. They are built by arboreal ants that build the nests with various organic materials, and collect seeds of mutualistic epiphytes, incorporating the selected seeds in the walls of the nest. This mutualism is considered complex because only a few species of epiphytes are in the nests. So in order to get to know the epiphyte species of Ant-Garden, we carried out a floristic survey at Fazenda São Nicolau, in the municipality of Cotriguaçu, Mato Grosso, and performed an anatomical and histochemical analysis of these epiphytes to identify the types of anatomical tissues they present and whether they have any kind of secondary metabolites that influence this relationship. Anatomical and histochemical studies were performed in the laboratory, using the usual methodology in the middle regions of the vegetative organs of the epiphytes. In the floristic survey, the predominant species in the nests was *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr. Anatomically, we find structures such as water storage tissue, calcium oxalate crystals and extrafloral nectary. In histochemistry, we find metabolites such as phenolic compounds and essential oils that are substances related to plant defense and insect attraction. These structures and substances found in epiphytes benefit ants and make them adapted to the forest gaps environment, favoring co-occurrence between them.

Keywords: extrafloral nectary; insect; *Peperomia macrostachya*

Introdução

Epífitas são plantas que vivem sobre as outras plantas sem que ocorra parasitismo, usando o outro vegetal apenas como suporte não causando prejuízo (MADISON, 1977; BENZING, 1990). Elas representam aproximadamente 10% de toda a diversidade de plantas vasculares (GENTRY & DODSON, 1987; KRESS, 1986; ZOTZ, 2013), contribuindo para uma maior diversidade de nichos e micro habitats no dossel, pois proporcionam espaço físico e oferta de alimento a muitas espécies de animais (BENZING, 1990).

Algumas espécies de epífitas desenvolveram mutualismo obrigatório com formigas, e um exemplo desse tipo de relação são os Jardins-de-formigas. Neles algumas espécies de formigas constroem ninhos arborícolas com fibras vegetais e depois de formados, as formigas coletam sementes de epífitas específicas e as levam para seus ninhos, incorporando-as nas paredes do ninho (ORIVEL & DEJEAN, 1999; DAVIDSON, 1988; ORIVEEL & LEROY, 2011). Essas interações são obrigatórias para ambas, as formigas e plantas participantes, ocorrem nas Américas tropicais e sudeste da Ásia (DAVIDSON, 1988; KAUFMANN & MASCHWITZ, 2006; KLEINFELDT, 1986).

Nas regiões neotropicais, essa interação inclui nove espécies de formigas e 53 espécies de epífitas, das quais são consideradas como epífitas verdadeiras de Jardins-de-formiga somente as que são incorporadas pelas formigas no ninho no estágio de semente e representam apenas um subconjunto dessas espécies (ORIVEL & LEROY, 2011). Na região Amazônica as formigas mais encontradas nessas associações, habitando clareiras, são as parabióticas *Camponotus femoratus* (Fabricius) (Formicinae) e *Crematogaster levior* (Longino 2003) (Myrmicinae) (DAVIDSON, 1988; ORIVEL & LEROY, 2011).

Estudos que visam compreender o que estrutura essa interação demonstram que as raízes reforçam o ninho e fixam toda a estrutura na árvore de suporte (KAUFMAN & MASCHWITZ, 2006; ORIVEL & LEROY, 2011). As formigas mutualísticas têm preferência apenas por algumas espécies e disseminam as suas sementes continuamente ao longo do tempo de vida dos ninhos (ORIVEL & LEROY, 2011). O reconhecimento das sementes é feito através de compostos voláteis que elas emitem (YOUNGSTEADT et al., 2008). As formigas fornecem substrato para as epífitas (BLÜTHGEN et al., 2001), e as

epífitas fornecem alimentos para as formigas (KLEINFELDT, 1986; DAVIDSON, 1988), controlando ainda a umidade dos ninhos através das raízes (YU, 1994; SCHMIT-NEUERBURG & BLÜTHGEN, 2007).

Os estudos sobre interações que ocorrem entre plantas e insetos nos ambientes naturais são de elevada importância por permitirem compreender como os organismos são capazes de se estabelecerem e criar mecanismos de adaptações e, assim, formarem complexas redes ecológicas (DEL-CLARO & TOREZAN-SILINGARDI, 2012).

Diante da complexidade dessa interação e embora estudos anteriores tenham mostrado benefícios gerais para ambos, ainda faltam informações sobre a anatomia das epífitas de jardim-de-formiga que talvez possam promover um melhor entendimento dessa interação. Então a partir do conhecimento da diversidade e distribuição das epífitas em Jardins-de-formigas, saber os tipos de estruturas anatômicas e constituições químicas são importantes para a compreensão da estruturação e manutenção do ciclo de vida dos ninhos. Sabendo disto, nosso objetivo foi realizar um levantamento florístico das epífitas presentes em Jardins-de-formigas de *Camponotus femoratus* e *Crematogaster levior* em uma área de floresta amazônica, no município de Cotriguaçu, Mato Grosso, identificar os tipos de tecidos vegetativos e algum tipo de metabólito secundário que demonstrem a adaptação dessas epífitas para coocorrerem com as formigas nesses Jardins-de-formigas.

Material e métodos

Área de estudo

Realizamos as coletas no município de Cotriguaçu – MT, na Fazenda São Nicolau (9°48'S e 58°15'W, elev. 254m). A fazenda conta com uma área de 10.000 ha sendo de floresta nativa 7.200 ha. De acordo com a classificação de Köppen, para a região o clima é tropical úmido (Am) com temperatura entre 24-26 °C e precipitação de 3.000 mm ano (ALVARES et al., 2013). Em Cotriguaçu, a vegetação local é classificada como Floresta Ombrófila Aberta e Ombrófila Densa, (IBGE, 2004). Coletamos as plantas e analisamos no Laboratório de Biologia Vegetal do Centro de Pesquisa e Tecnologia da Amazônia Meridional - CEPTAM, do Campus da Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT de Alta Floresta.

Inventário florístico

Para o inventário florístico realizamos o levantamento das colônias e a quantidade de ninhos por colônia de *Camponotus femoratus* (Fabricius) (Formicinae) e *Crematogaster levior* Longino 2003 (Myrmicinae). Para isso percorremos 16 km de trilhas do sistema PPBio implantadas na localidade e 8 km de trilhas dos castanheiros de uma cooperativa local, totalizando 24 km de trilhas. Em cada colônia registramos as espécies de epífitas encontradas nos ninhos que estavam ao alcance de nossa visão. Coletamos as espécies e identificamos com o auxílio do guia de identificação Flora da Reserva Ducke (RIBEIRO et al., 1999) e depositamos no herbário da Universidade Federal de Mato Grosso-UFMT.

Caracterização Anatômica

Para a caracterização anatômica utilizamos raiz, caule e folha das espécies encontradas nos Jardins-de-formiga. Coletamos material botânico de pelo menos três indivíduos diferentes de cada espécie identificada. Parte do material coletado utilizamos a fresco e outra parte fixamos em FAA₅₀ e estocamos em etanol 70% (JOHANSEN, 1940). Realizamos o estudo anatômico na região mediana dos órgãos dos indivíduos coletados. Obtivemos secções transversais e longitudinais à mão livre, com o auxílio de lâmina de aço, coramos

com azul de astra e fucsina básica (ROESER, 1962) e montamos em lâminas histológicas semipermanentes com gelatina glicerizada (KAISER, 1880).

Para visualizar a epiderme foliar em vista frontal usamos o método modificado por Jeffrey (KRAUS & ARDUIN, 1997), onde colocamos pequenas porções da região mediana das folhas em recipiente plástico contendo peróxido de hidrogênio volume 30 e ácido acético glacial na proporção de 1:1 e mantivemos na estufa a 60° C por 48 h. Após esse processo lavamos as epidermes e separamos em água destilada com auxílio de um pincel, na sequência coramos com fucsina básica (ROESER, 1962) e safranina (JOHANSEN, 1940).

Testes histoquímicos

Para identificar onde e quais compostos químicos estão presentes nas epífitas realizamos cortes histológicos na raiz, caule e folha à mão livre com o auxílio de lâmina de aço, sendo que na espécie *Markea longiflora* não foi possível realizar os testes histoquímicos na raiz, pois as raízes estavam necrosadas. Os metabólitos analisados nas epífitas e os testes histoquímicos realizados podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1. Testes histoquímicos utilizados na caracterização da raiz, caule e folha das espécies *Codonanthe calcarata* (Miq.) Hanst., *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr., *Anthurium gracile* (Rudge) Schott, *Markea longiflora* Miers e *Philodendron* sp. Schott

Grupo metabólico	Cor da Reação	Reagentes
Amido	Preto	Lugol (JOHANSEN, 1940)
Lipídio total	Vermelho	Sudan IV (PEARSE, 1980)
Óleo essencial	Azul	NADI (DAVID & CARDÉ, 1964)
Tanino	Vermelho	Vanilina clorídrica (MACE & HOWELL, 1974)
Composto fenólico	Preto	Cloreto férrico III (JOHANSEN, 1940)
Alcaloide	Castanho avermelhado	Dragendorff (SVENDSEN & VERPOORTE, 1983)
Mucilagem	Preto	Ácido tânico (PIZZOLATO & LILLIE, 1973)
Esteróide	Vermelho	Tricloreto de antimônio (HARDMAN & SOFOWORA, 1972)
Terpenoide	Vermelho alaranjado	2-4-dinitrofenilhidrazina (GANTER & JOLLÉS, 1970)
Lactona sesquiterpênica	Vermelho	Ácido sulfúrico (GEISSMEN & GRIFFIN, 1971)

Registro das imagens

Obtivemos as ilustrações da anatomia e dos testes histoquímicos por meio do capturador de imagens, acoplado ao fotomicroscópio Leica DMLB, com o auxílio do programa Leica IM50. Montamos pranchas para evidenciar padrões gerais anatômicos e histoquímicos das espécies, buscando realçar os caracteres diagnósticos detectados, principalmente estruturas relacionadas com a visitação das formigas.

Resultados

Inventário Florístico

Inventariamos seis colônias de *Camponotus femoratus* e *Crematogaster levior*, onde registramos 102 ninhos. Nestes ninhos, encontramos seis espécies de epífitas sendo uma não identificada. As espécies identificadas são pertencentes às famílias Araceae, Gesneriaceae, Solanaceae e Piperaceae. A espécie predominante foi *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr., ocorrendo em 92% dos ninhos, seguida de *Philodendron* sp. Schott (31%), *Codonanthe calcarata* (Miq.) Hanst. (20%), *Anthurium gracile* (Rudge) Schott (9,8%), *Markea longiflora* Miers (7,8%) e Angiospermae sp. (2,9%). A maioria dos ninhos abrigavam mais de uma espécie de epífita (58,8%) e 3,9 % dos ninhos não apresentaram epífitas, sendo que a epífita *Peperomia macrostachya* estava presente em todos os ninhos, além de ser a única espécie em ninhos iniciais

Anatomia e histoquímica

Na Tabela 2 mostramos os caracteres anatômicos da raiz de *Anthurium gracile*, *Peperomia macrostachya*, *Codonanthe calcarata*, *Markea longiflora* e *Philodendron* sp. Todas as epífitas, exceto *Anthurium gracile* apresentaram crescimento secundário. Apresentaram cristais de oxalato de cálcio do tipo monocristais em *P. macrostachya* (Figura 1: N) e drusas e ráfides em *A. gracile* (Figura 1: F, G) e drusas em *Philodendron* sp. (Figura 1: T). As imagens dos cortes das raízes podem ser visualizadas na Figura 1.

Tabela 2. Caracteres anatômicos presentes na raiz das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT

	Espécies				
	<i>Peperomia macrostachya</i>	<i>Codonanthe calcarata</i>	<i>Anthurium gracile</i>	<i>Philodendron</i> sp.	<i>Markea longiflora</i>
Periderme	+	+	-	+	+
Exoderme e Velame	-	-	+	-	-
Colênquima	+	-	-	-	+
Canais secretores	-	-	-	+	-
Cristais de oxalato de cálcio	+	-	+	+	-
Fibra	-	-	-	-	+
Feixe Vascular Poliarco	+	+	+	+	+

+ Presença (-) Ausência

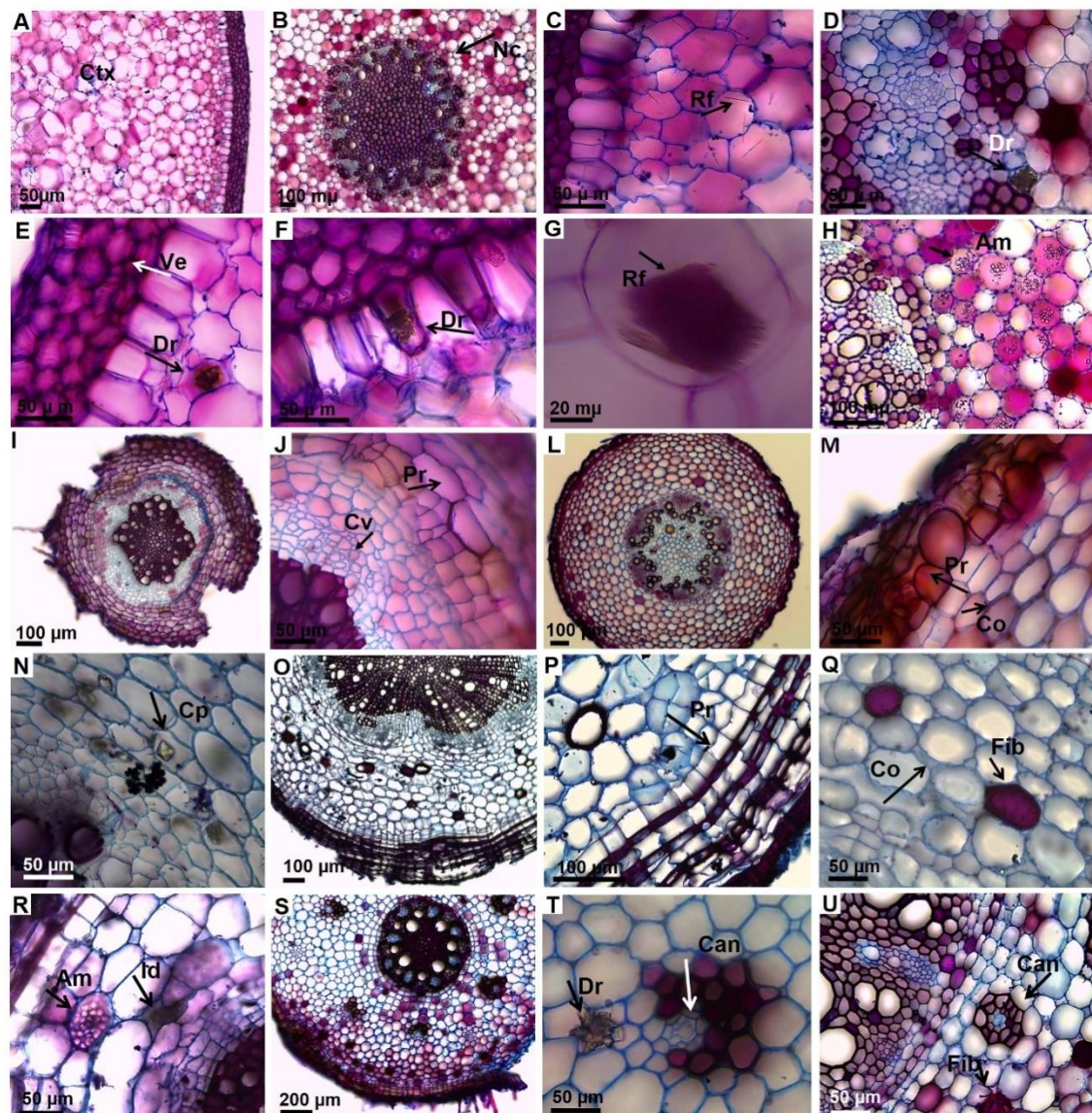


Figura 1 - Secções transversais anatômica da raiz de *Anthurium gracile* (Fig. A - H), *Codonanthe calcarata* (Fig. I - J), *Peperomia macrostachya* (Fig. L - N), *Markea longiflora* (Fig. O - R) e *Philodendron* sp. (S - U). A- Visão geral do córtex e sistema de revestimento. B- Nervura central poliarca. C- Ráfides. D- Drusa próxima aos feixes vasculares. E- Periderme com velame e drusa. F- Drusas na exoderme. G- Ráfides. H- Célula amilífera. I- Visão geral da raiz de *C. calcarata*. J- Detalhe da periderme e cilindro vascular. L- Visão geral da raiz de *P. macrostachya*. M- Detalhe evidenciando a periderme e o colênquima. N- Cristais prismáticos (monocristais). O- Visão geral da raiz de *M. longiflora*. P- Evidenciando a periderme. Q- Colênquima angular e fibras. R- Detalhe mostrando célula amilífera e idioblasto. S- Visão geral da raiz de *Philodendron* sp. T- Detalhe com drusa e canais envolvidos por células esclerificadas. U- Canais, fibras e detalhe da nervura central. Ctx: córtex; Nc: nervura central; Rf: ráfides; Dr: drusas; Ve: velame; Pr: periderme; Co: colênquima; Cp: cristais prismáticos; Fib: fibras; Am: células amilíferas; Can: canais.

Na Tabela 3 é possível visualizar as estruturas anatômicas do caule de todas as espécies. Observamos que o tricoma glandular de *Peperomia macrostachya* é do tipo papilas e capitado (Figura 2: I). O colênquima de *C. calcarata*, *P. macrostachya* e *Philodendron* sp. são do tipo angular (Figura 2: E,

I, U) e o de *M. longiflora* anelar (Figura 2: L). *A. gracile* apresentou cristais de oxalato de cálcio na forma de drusa (Figura 2: B) e ráfide, *Philodendron* sp. apresentou na forma de drusas (Figura 2: T) e em *P. macrostachya* na forma de ráfides (Figura 2: H). Apenas em *M. longiflora* foi possível visualizar idioblastos com compostos secundários (Figura 2: N). As imagens dessas e das outras estruturas presentes na Tabela 3 podem ser vistas na Figura 2.

Tabela 3. Caracteres anatômicos presentes no caule das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT

	Espécies				
	<i>Peperomia macrostachya</i>	<i>Codonanthe calcarata</i>	<i>Anthurium gracile</i>	<i>Philodendron</i> sp.	<i>Markea longiflora</i>
Epiderme uniestratificada	+	-	+	-	-
Periderme	-	+	-	+	+
Tricoma tector	+	+	-	-	-
Tricoma glandular	+	-	-	-	+
Estômatos	-	-	+	-	-
Colênquima	+	+	-	+	+
Canais secretores	-	-	-	+	-
Cristais de oxalato de cálcio	+	-	+	+	-
Idioblasto Oleífero	+	-	-	-	-
Fibra	-	+	+	+	+
Feixe vascular disperso	+	-	+	+	-
Feixe vascular contínuo	-	+	-	-	+

+ Presença (-) Ausência

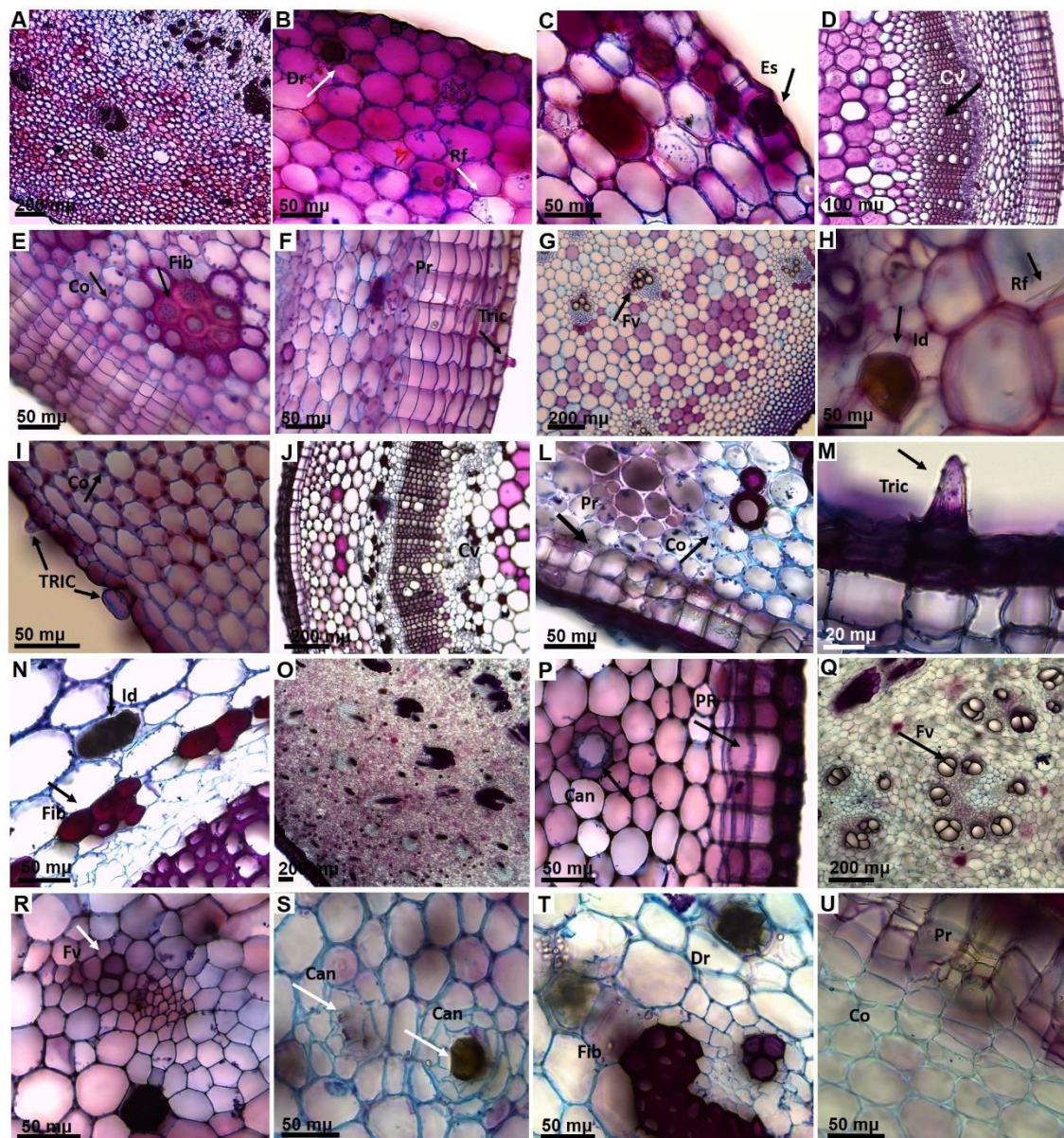


Figura 2 - Secções transversais anatômicas do caule de *Anthurium gracile* (Fig. A - C), *Codonanthe calcarata* (Fig. D - F), *Peperomia macrostachya* (Fig. G - I), *Markea longiflora* (Fig. J - N), *Philodendron* sp. (Fig. O - U). A- Visão geral do caule de *A. gracile*. B- Detalhe evidenciando drusas e ráfide. C- Detalhe evidenciando estômato. D- Visão do caule de *C. calcarata* evidenciando o cilindro vascular. E- Evidenciando fibras e colênquima angular. F- Detalhe da periderme e tricoma. G - Visão geral do caule de *P. macrostachya* evidenciando os feixes vasculares. H- Detalhe evidenciando idioblasto oleífero e ráfides. I- Detalhe evidenciando tricomas e colênquima angular. J- Visão geral do caule de *M. longiflora* evidenciando o câmbio vascular. L- Detalhe evidenciando periderme e colênquima. M - Tricoma glandular. N- Detalhe evidenciando idioblasto e fibras. O- Visão geral da raiz de *Philodendron* sp. P- Detalhe evidenciando a periderme e canais. Q - Visão geral dos feixes vasculares. R- Visão aproximada do feixe vascular. S- Detalhe evidenciando canais. T- Detalhe evidenciando drusas e fibras envolvendo o feixe vascular. U- Detalhe evidenciando o colênquima e periderme. Dr: drusas; Ep: epiderme; Rf: ráfides; Es: estômatos; Cv: câmbio vascular; Co: colênquima; Fib: fibras; Pr: periderme; Tric: tricoma; Fv: feixe vascular; Id: idioblasto; Can: canais.

Na Tabela 4 apresentamos os caracteres anatômicos dos pecíolos. Os tricomas glandulares presentes no pecíolo de *C. calcarata* são multicelulares (Figura 3: F), e *M. longiflora* são bicelulares e multicelulares (Figura 3: Q, R) e os de *P. macrostachya* são do tipo papila (Figura 3: J). Não visualizamos tricomas em *Philodendron* sp. e *A. gracile*. Em *C. calcarata*, *M. longiflora* e *Philodendron* sp. ocorre nectário extrafloral (Figura 3: G, P, U). Os cristais de oxalato de cálcio presente no parênquima de *A. gracile* e *Philodendron* sp. são tipo drusa (Figura 3: B, T). *M. longiflora* apresenta idioblasto com compostos secundários (Figura 3: O). Em *Anthurium gracile* há um anel de células esclerificadas separando o córtex do cilindro vascular (Figura 3: C). Os feixes vasculares de *Peperomia macrostachya* estão dispostos em arco mas de forma descontínua (Figura 3: H). As imagens do pecíolo de *P. macrostachya* e das outras espécies podem ser visualizadas na Figura 3.

Tabela 4. Caracteres anatômicos presentes no pecíolo das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT

	Espécies				
	<i>Peperomia macrostachya</i>	<i>Codonanthe calcarata</i>	<i>Anthurium gracile</i>	<i>Philodendron</i> sp.	<i>Markea longiflora</i>
Epiderme uniestratificada	+	+	+	+	-
Periderme	-	-	-	-	+
Tricoma tector	+	-	-	-	+
Tricoma glandular	+	+	-	-	+
Nectário extrafloral	-	+	-	+	+
Estômato	-	-	+	-	-
Colênquima angular	+	+	+	+	+
Canais secretores	-	-	-	+	-
Aerênquima	-	-	-	+	-
Cristais de oxalato de cálcio	-	-	+	+	-
Feixe vascular disperso	-	-	+	+	-
Feixe vascular disposto em arco	+	+	-	-	+

+ Presença (-) Ausência

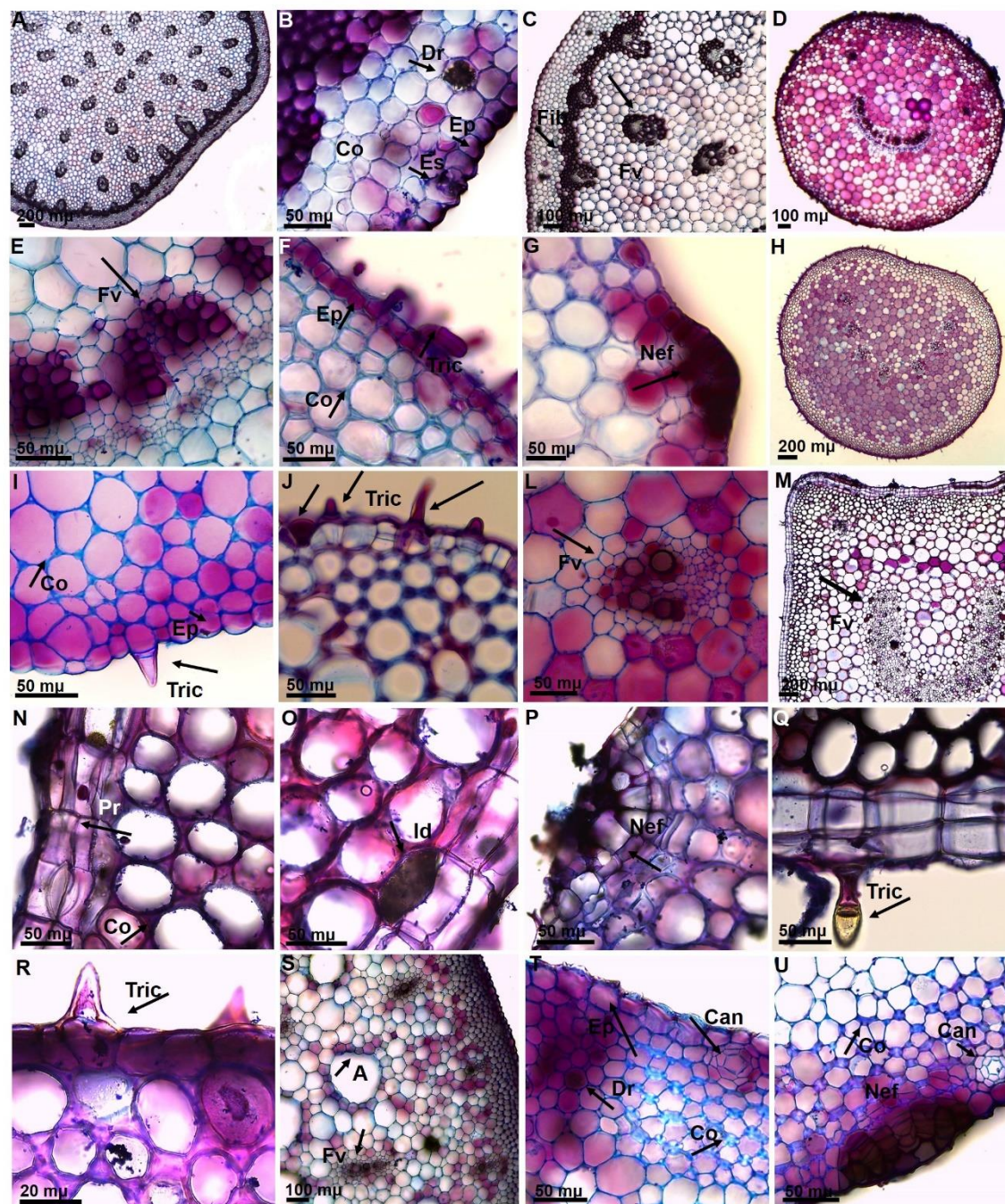


Figura 3 - Secções transversais anatômicas do pecíolo de *Anthurium gracile* (Fig. A - C), *Codonanthe calcarata* (Fig. D - G), *Peperomia macrostachya* (Fig. H - L), *Markea longiflora* (Fig. M - R), *Philodendron* sp. (Fig. S - U). A- Visão geral do pecíolo de *A. gracile*. B- Detalhe da epiderme evidenciando estômato, colênquima e drusa. C- Detalhe evidenciando as fibras e os feixes vasculares. D- Visão geral do pecíolo de *C. calcarata* evidenciando o feixe vascular. E- Detalhe do feixe vascular. F- Detalhe evidenciando a epiderme, os tricomas e colênquima. G- Detalhe evidenciando Nectário extrafloral. H- Visão geral do pecíolo de *P. macrostachya*. I- Detalhe evidenciando epiderme, tricoma e colênquima angular. J- Tricomas. L- Detalhe evidenciando o feixe vascular colateral. M- Visão geral do pecíolo de *M. longiflora* evidenciando o feixe vascular bicolateral. N- Detalhe evidenciando a periderme e o colênquima angular. O- Detalhe evidenciando idioblasto. P- Detalhe evidenciando nectário extrafloral. Q- Detalhe evidenciando tricoma glandular. R- Tricoma glandulares. S- Visão geral do pecíolo de *Philodendron* sp. evidenciando aerênquima e feixes vasculares. T- Detalhe evidenciando drusa, canais e colênquima. U - Detalhe evidenciando

nectários extrafloral, colênquima e canais. Dr: drusas; Ep: epiderme; Es: estômatos; Co: colênquima; Pr: periderme; Tric: tricoma; Fv: feixe vascular; Id: idioblasto; Can: canais; Nef: nectário extrafloral; A: aerênquima.

Na Tabela 5 são apresentados os dados anatômicos da folha em visão frontal da epiderme. Os tricomas glandulares de *C. calcarata* são multicelulares (Figura 4: D). *P. macrostachya* apresentou tricomas glandulares e tectores na face adaxial e abaxial, mas no processo de dissociação só foi possível visualizar os glandulares (Figura 4: E, F). *Markea longiflora* apresentou tricomas glandulares bicelulares e multicelulares (Figura 4: G, H). *Philodendron* sp. é uma espécie anfiestomática com poucos estômatos na face adaxial localizado próximos à nervura central (Figura 4: I). Na face abaxial são do tipo tetracítico abundantes e dispersos por toda epiderme (Figura 4: J). *A. gracile* e *Philodendron* sp. não apresentaram tricomas. As imagens das epidermes em vista paradérmica podem ser visualizadas na Figura 4.

Tabela 5. Caracteres anatômicos em vista paradérmica presentes nas folhas das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT

	Espécies				
	<i>Peperomia macrostachya</i>	<i>Codonanthe calcarata</i>	<i>Anthurium gracile</i>	<i>Philodendron</i> sp.	<i>Markea longiflora</i>
Visão paradérmica					
Contorno celular de reto a levemente curvo	+	+	+	+	-
Contorno celular sinuoso	-	-	-	-	+
Hipoestomática	+	+	+	-	+
Anfiestomática	-	-	-	+	-
Estômato Anisocítico	+	+	-	-	-
Estômato Paracítico	-	-	+	-	+
Estômato Tetracítico	-	-	-	+	-
Tricoma glandular	+	+	-	-	+
Tricoma tector	+	+	-	-	-

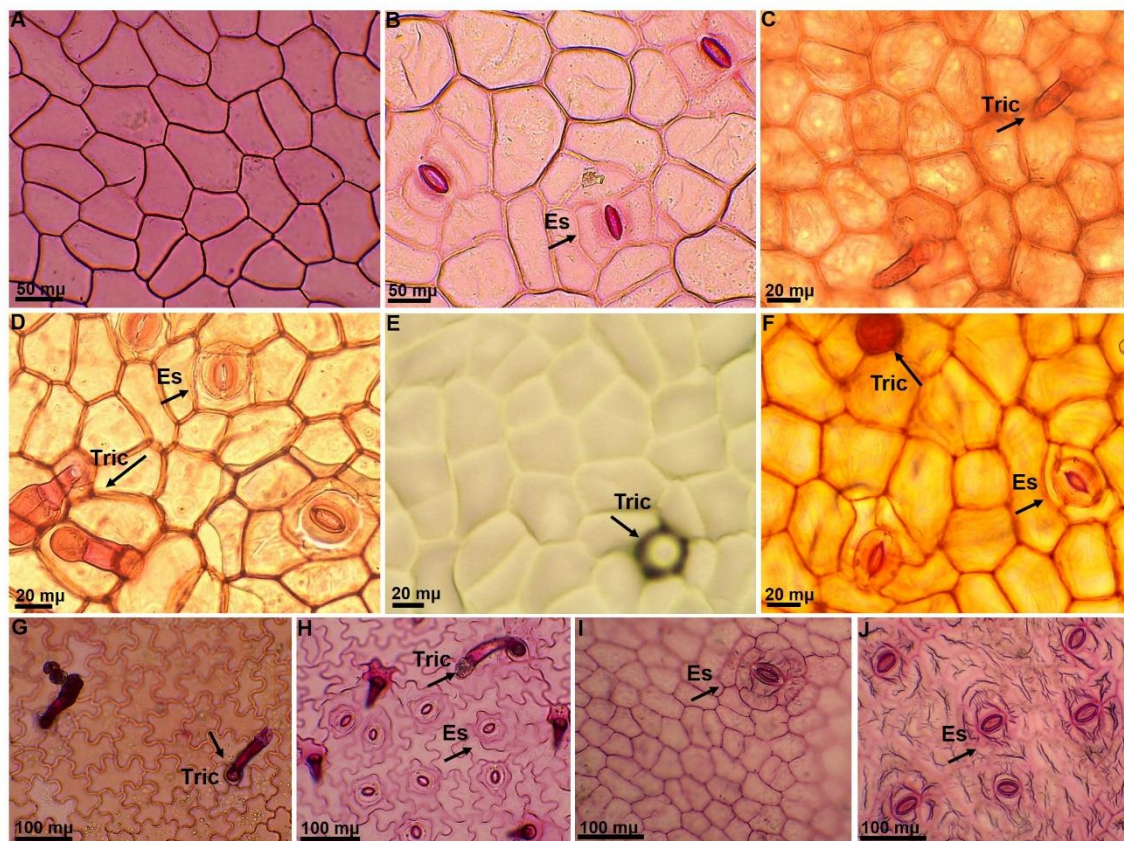


Figura 4 - Secção paradérmica das folhas de *Anthurium gracile* (Fig. A - B), *Codonanthe calcarata* (Fig. C - D), *Peperomia macrostachya* (Fig. E - F), *Markea longiflora* (Fig. G - H) e *Philodendron* sp. (Fig. I - J). A- Vista adaxial com células de contorno reto. B- Vista abaxial com células levemente curvas, evidenciando estômatos do tipo paracítico. C- Epiderme com células de contorno reto e presença de tricomas tectores. D- Vista abaxial com células retas evidenciando os estômatos anisocítico e tricomas glandulares. E- Epiderme adaxial com célula de contorno reto evidenciando tricoma glandular. F- Vista abaxial com células de contorno reto com estômatos do tipo anisocítico e tricoma glandular. G- Vista adaxial com células de contorno sinuoso e evidenciando tricomas glandulares. H- Vista abaxial com células de contorno sinuoso estômatos paracítico e tricomas glandulares. I- Vista adaxial com células de contorno reto e presença de estômato do tipo tetracítico. J- Vista abaxial com células levemente curvas e com estômatos tetracítico. Es: estômatos; Tric: tricoma.

Na Tabela 6 são apresentados os dados anatômicos da folha em secção transversal. As folhas de *Philodendron* sp. apresentaram epiderme biestratificada na região da nervura central (Figura 6: N). *Codonanthe calcarata* (Figura 5: L), *Peperomia macrostachya* (Figura 5: S) e *Markea longiflora* (Figura 6: F, G) apresentaram tricomas tectores unisseriados e glandulares bicelulares e multisseriados. *A. gracile* (Figura 5: B), *M. longiflora* (Figura 6: D) apresentaram nectário extrafloral, *C. calcarata* (Figura 5: H), também apresentou nectários extraflorais, mas estes estão localizados na borda foliar. No mesofilo, *C. calcarata* e *P. macrostachya* apresentaram uma camada de parênquima

paliçádico, e várias camadas de parênquima lacunoso, sendo estes compactos (Figura 5: I, O). Em *Anthurium gracile* (Figura 5: D), *Markea longiflora* (Figura 6: C) e *Philodendron* sp. (Figura 6: M) o parênquima paliçádico apresentou de uma a duas camadas e o parênquima lacunoso com várias camadas, sendo que em *M. longiflora* os espaços intercelulares do lacunoso são pouco evidentes.

Foram observados drusas em *Anthurium gracile* (Figura 5: C) e *Philodendron* sp. além de drusas (Figura 6: Q) apresentou ráfides (Figura 6: M). Em *M. longiflora* foi possível visualizar idioblastos com compostos secundários (Figura 6: H).

Na nervura central de *Anthurium gracile* o colênquima subepidérmico é anelar e os cristais de oxalato de cálcio são na forma de drusa (Figura 5: F). Em *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* o colênquima é do tipo angular (Figura 5: J, T). Em *P. macrostachya* os cristais de oxalato de cálcio são do tipo ráfides (Figura 5: P). Em *Philodendron* sp. voltado para a face adaxial o colênquima está intercalado por células parenquimáticas (Figura 6: P), e voltado para a face abaxial está disposto em uma faixa contínua, e entre essa faixa do colênquima ocorrem canais (ductos) (Figura 6: Q) e presença de drusas.

Tabela 6. Caracteres anatômicos presentes nas folhas das espécies de epífitas de Jardins-de-formigas, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu MT

	Espécies				
	<i>Peperomia macrostachya</i>	<i>Codonanthe calcarata</i>	<i>Anthurium gracile</i>	<i>Philodendron</i> sp.	<i>Markea longiflora</i>
Secção transversal mesofilo					
Epiderme uniestratificada	+	+	+	+	+
Epiderme biestratificada	-	-	-	+	-
Hipoderme	+	+	+	-	-
Tricoma tector	+	+	-	-	-
Tricoma glandular	+	+	-	-	+
Nectário extrafloral	-	+	+	-	+
Estômato no mesmo nível Celular	+	+	+	+	+
Mesofilo dorsiventral	+	+	+	+	+
Parênquima paliçádico e lacunoso	+	+	+	+	+
Cristais de oxalato de cálcio	+	-	+	+	-
Idioblasto oleífero	+	-	-	-	-
Secção transversal nervura central					
Colênquima abaxial	+	+	+	+	+
Colênquima adaxial	-	-	-	+	+
Presença de Canais secretores	-	-	-	+	-
Aerênquima	-	-	-	+	-
Cristais de oxalato de cálcio	+	-	+	+	-
Feixes vasculares colaterais dispersos	-	-	+	+	-
Feixe vascular colateral único	+	-	-	-	-
Feixe vascular colateral anficrival	-	-	-	-	+
Feixe vascular colateral em arco	-	+	-	-	-

+ Presença (-) Ausência

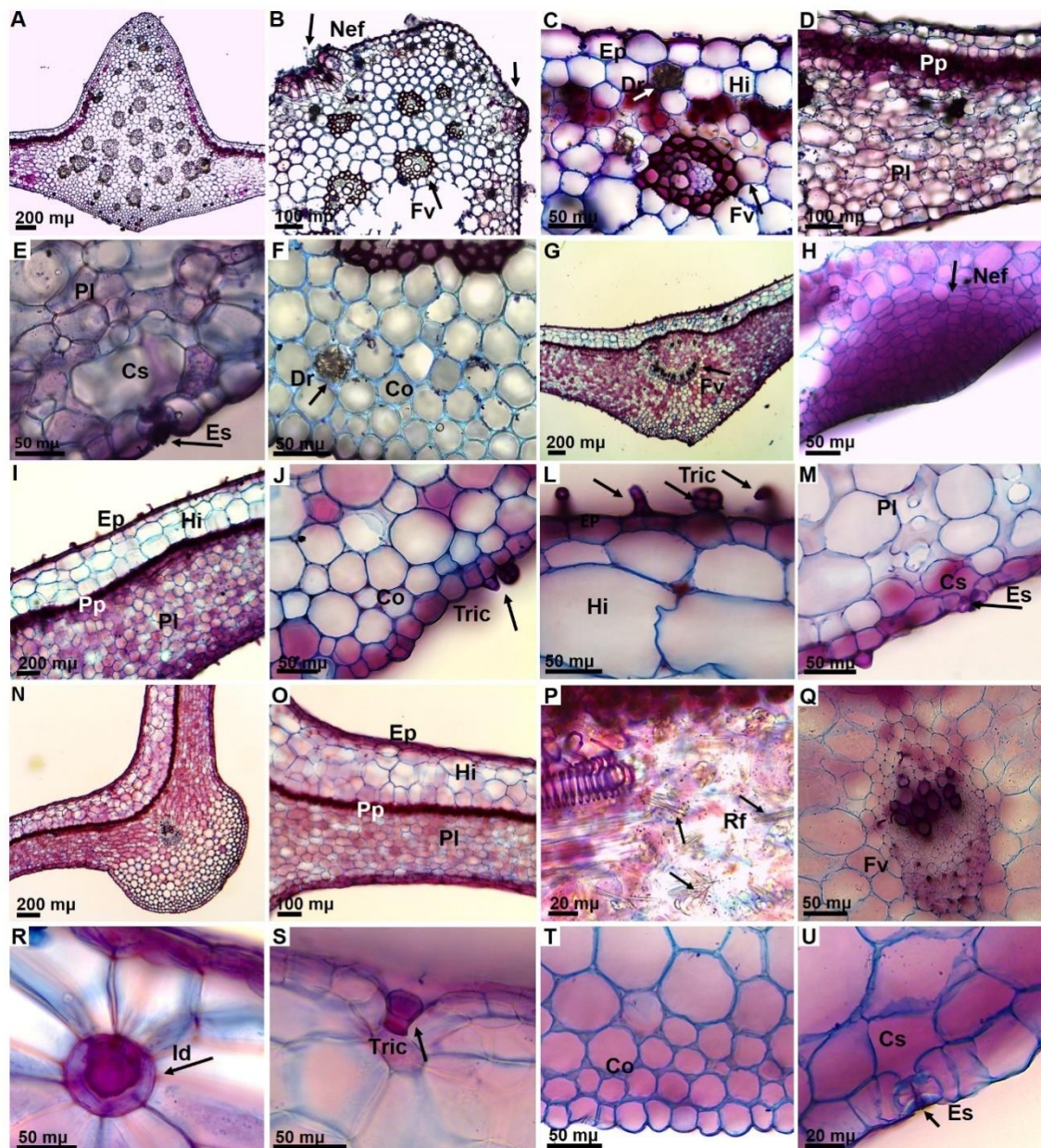


Figura 5 - Secções transversais anatômicas da folha de *Anthurium gracile* (Fig. A - F), *Codonanthe calcarata* (Fig. G - M), *Peperomia macrostachya* (Fig. N - U). A- Vista geral da folha de *A. gracile*. B- Detalhe evidenciando nectários extraflorais e feixes vasculares. C- Detalhe na epiderme da nervura central evidenciando a hipoderme, drusa e feixe vascular com células esclerificadas. D- Vista do mesófilo evidenciando parênquima paliçádico e lacunoso. E- Vista da epiderme abaxial evidenciando estômato com câmara subestomática e detalhe do parênquima lacunoso. F- Vista da epiderme na nervura central no lado abaxial evidenciando colênquima e drusa. G- Vista geral da folha de *C. calcarata* evidenciando o feixe vascular. H- Vista do nectário extrafloral localizado na borda da folha. I- Vista do mesófilo evidenciando a epiderme uniestratificada a hipoderme o parênquima paliçádico e o parênquima lacunoso. J- Detalhe da epiderme abaxial na nervura central evidenciando os tricomas e o colênquima. L- Epiderme adaxial evidenciando os tricomas a hipoderme. M- Detalhe da epiderme adaxial evidenciando o estômato com câmara subestomática e detalhe do parênquima lacunoso. N- Vista geral da folha de *P. macrostachya*. O- Vista do mesófilo evidenciando epiderme uniestratificada, hipoderme, parênquima paliçádico e lacunoso. P- Detalhe em corte longitudinal evidenciando ráfides. Q- Detalhe do feixe vascular na nervura central. R -

Detalhe mostrando idioblasto oleífero. S- Detalhe evidenciando tricoma glandular. T- Detalhe da região abaxial da nervura central evidenciando colênquima angular. U- Detalhe evidenciando estômato com câmara subestomática. Dr: drusas; Ep: epiderme; Es: estômatos; Co: colênquima; Tric: tricoma; Fv: feixe vascular; Id: idioblasto; Nef: nectário extrafloral; Hi: hipoderme; Pp: parênquima paliçádico; Pl: parênquima lacunoso; Cs: câmara subestomática.

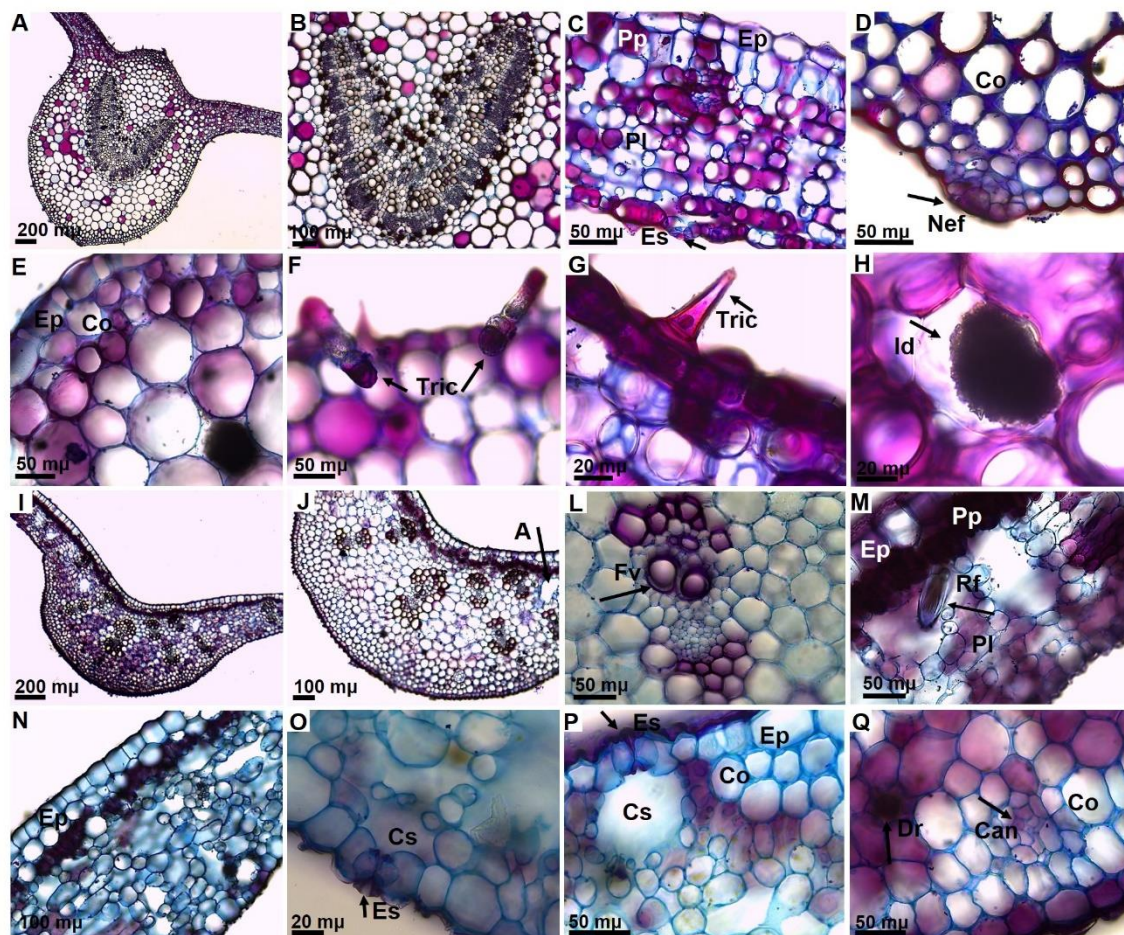


Figura 6 - Secções transversais anatômicas da folha de *Markea longiflora* (Fig. A - H), *Philodendron* sp. (Fig. I - Q). A- Vista geral da nervura central de *M. longiflora*. B- Nervura central em detalhe com feixes bicolaterais. C- Detalhe do mesofilo evidenciando a epiderme o parênquima paliçádico e o lacunoso e estômato. D- Detalhe da epiderme da nervura central lado abaxial evidenciando nectário extrafloral e colênquima. E- Detalhe da epiderme na nervura central do lado adaxial evidenciando colênquima. F- Detalhe evidenciando tricomas glandulares G- Tricoma glandular bicelular. H- Detalhe do mesofilo mostrando idioblasto. I- Vista geral da folha de *Philodendron* sp. J- Vista da nervura central evidenciando aerênquima. L- Detalhe dos feixes vasculares. M- Vista do mesofilo evidenciando a epiderme o parênquima paliçádico e o lacunoso conspícuo e ráfides. N- Detalhe próximo a nervura central evidenciando epiderme biestratificada. O- Epiderme abaxial do mesofilo evidenciando estômato com câmara subestomática. P- Epiderme adaxial da nervura central evidenciando estômato com câmara subestomática e colênquima. Q- Epiderme abaxial da nervura central evidenciando colênquima, canais e drusa. Dr: drusas; Ep: epiderme; Es: estômatos; Co: colênquima; Tric: tricoma; Id: idioblasto; Nef: nectário extrafloral; Pp: parênquima paliçádico; Pl: parênquima lacunoso; Cs: câmara subestomática; A: Aerênquima.

Os testes histoquímicos detectaram resultados positivos para amido, óleos essenciais e lipídios em todas as espécies estudadas (Tabela 7). Nas espécies *Markea longiflora* e *Philodendron* sp. observamos a presença de todos os metabólitos analisados. As imagens desse e dos outros testes positivos estão apresentados nas Figuras 7 a 11. Testes histoquímicos realizados nos nectários de *C. calcarata* podem ser visualizados na Figura 8.

Tabela 7. Testes histoquímicos das estruturas vegetativas das espécies de epífitas encontradas em jardins-de-formiga, coletadas na Fazenda São Nicolau em Cotriguaçu-MT

Partes do vegetal/ Espécie	Substâncias									
	Taninos	Alcaloides	Esteroides	Terpenoides	Óleos essenciais	Compostos Fenólicos	Mucilagens	Lipídeos Totais	Amido	Lactonas Sesquiterpênicas
<i>Peperomia macrostachya</i>										
Raiz	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
Caule	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+
Pecíolo	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
Folha	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
<i>Codonanthe calcarata</i>										
Raiz	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-
Caule	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
Pecíolo	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
Folha	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
<i>Anthurium gracile</i>										
Raiz	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-
Caule	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
Pecíolo	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Folha	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+
<i>Philodendron sp.</i>										
Raiz	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
Caule	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Pecíolo	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
Folha	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
<i>Markea longiflora</i>										
Caule	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Pecíolo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Folha	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Reações negativas (-) Reações positivas (+)

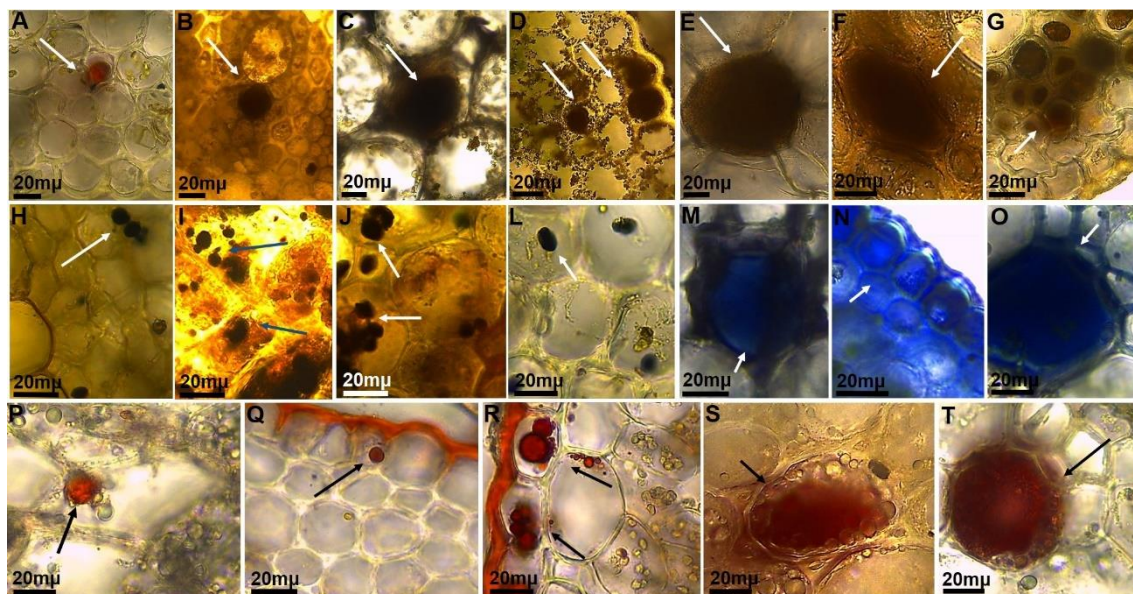


Figura 7 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Anthurium gracile* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica na nervura central da folha. B- Mucilagens no cilindro vascular da raiz. C- Mucilagens na região medular do pecíolo. D- Compostos fenólicos em células epidérmicas e subepidérmicas no pecíolo. E- Alcaloides no córtex da raiz. F- Alcaloides no córtex do caule. G- Alcaloides na nervura central da folha. H- Amido no velame da raiz. I- Amido no córtex do caule. J- Amido na região medular do pecíolo. L- Amido na nervura central da folha. M- Óleos essenciais no córtex da raiz. N- Óleos essenciais na epiderme do pecíolo. O- Óleos essenciais próximos aos vasos condutores na folha. P- Lipídios Totais próximos aos vasos condutores do caule. Q- Lipídios Totais na epiderme do pecíolo. R- Lipídios Totais na epiderme da folha. S- Taninos no córtex do caule. T- Taninos próximos a vasos condutores da folha.

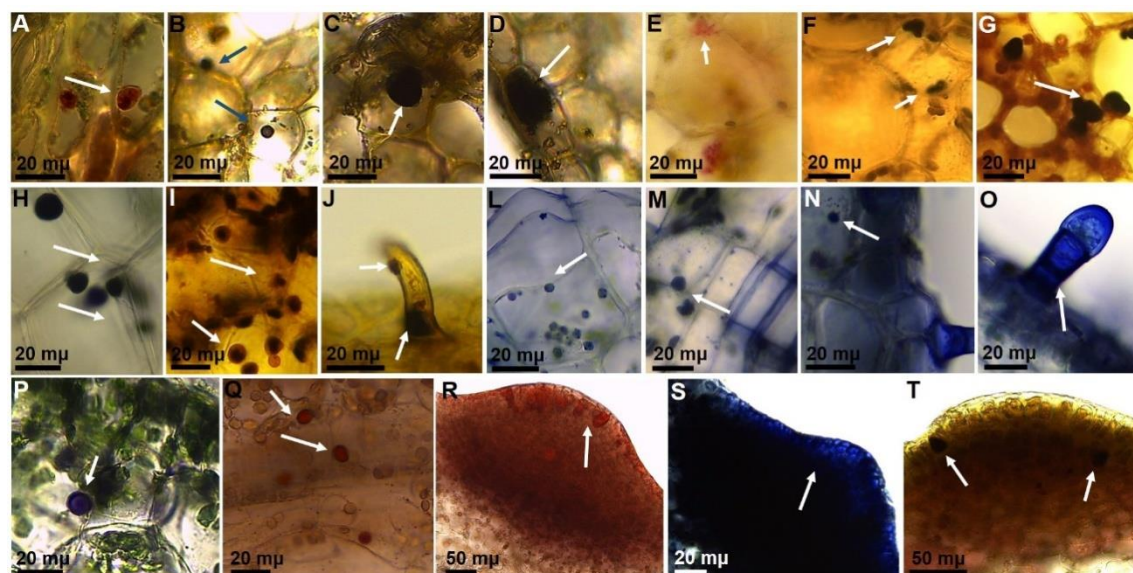


Figura 8 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Codonanthe calcarata* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica no córtex do caule. B- Mucilagens no córtex da raiz. C- Mucilagens no córtex do pecíolo. D- Mucilagens na epiderme da folha. E- Terpenóides no córtex da raiz. F- Amido no córtex da raiz. G- Amido no córtex caule. H- Amido no córtex

do pecíolo. I- Amido no mesofilo da folha. J- Amido no tricoma presente na nervura central. L- Óleos essenciais no córtex da raiz. M- Óleos essenciais no córtex do caule. N- Óleos essenciais no córtex do pecíolo. O- Óleos essenciais no pecíolo evidenciando o tricoma. P- Óleos essenciais na folha. Q- Lipídios Totais na folha na região do parênquima lacunoso. Testes histoquímicos positivos realizados em nectário extrafloral de *Codonanthe calcarata* na região da borda foliar: R- Lipídios totais. S- Óleos essenciais. T- Amido.

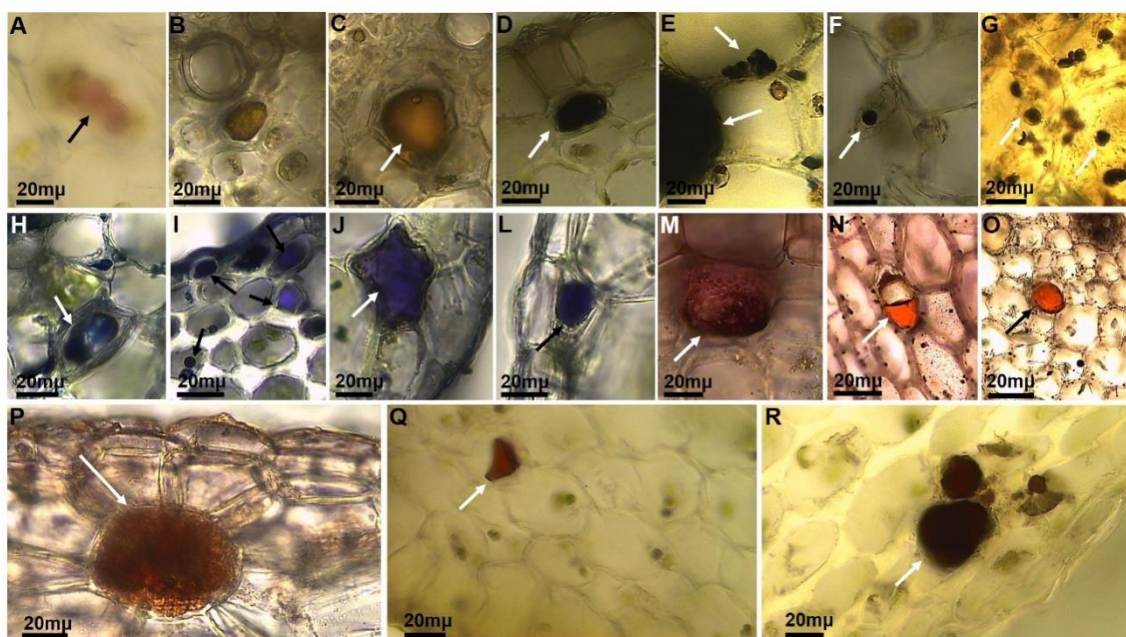


Figura 9 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Peperomia macrostachya* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica no córtex do caule. B- Alcaloides no feixe vascular da raiz. C- Alcaloides no feixe vascular do caule. D- Amido no córtex da raiz. E- Amido na região dos feixes vasculares do caule. F- Amido no córtex do pecíolo. G- Amido na folha na região do mesofilo. H- Óleos essenciais no córtex da raiz. I- Óleos essenciais na epiderme e no córtex do caule. J- Óleos essenciais no córtex do pecíolo. L- Óleos essenciais na folha na região do mesofilo. M- Lipídios totais no córtex da raiz. N- Lipídios totais próximos aos vasos condutores no caule. O- Lipídios totais próximos aos vasos condutores no pecíolo. P- Lipídios totais na folha na região do mesofilo. Q - Taninos no córtex da raiz. R - Taninos no córtex do caule.

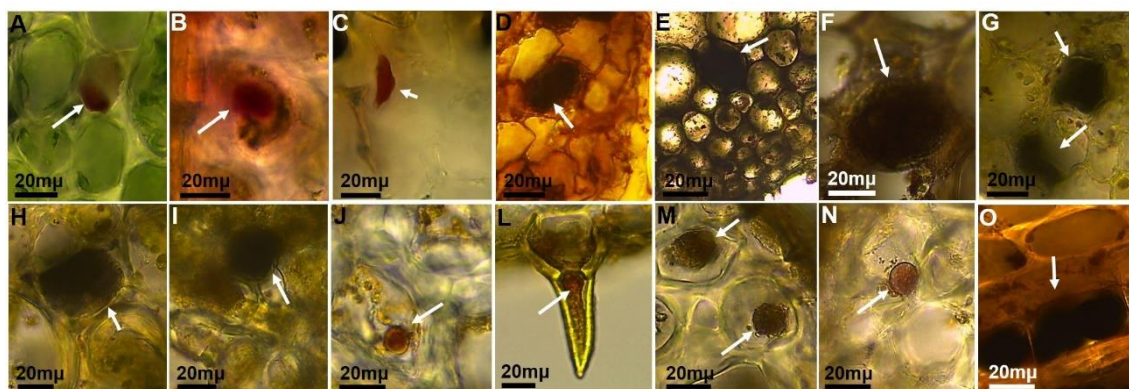


Figura 10 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Markea longiflora* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica no córtex do caule. B- Lactona sesquiterpênica no córtex do caule.

sesquiterpênica no córtex do pecíolo. C- Lactona sesquiterpênica na nervura central da folha. D- Mucilagens próxima do cilindro vascular caule. E- Mucilagens no córtex do pecíolo. F- Mucilagens próxima a nervura central da folha. G- Compostos fenólicos próximo da nervura central do Caule. H - Compostos fenólicos no córtex do pecíolo. I- Compostos fenólicos na folha na região do mesófilo. J- Terpenóides no córtex do pecíolo. L- Terpenóides no tricoma do pecíolo. M- Alcaloides no córtex do pecíolo. N- Alcaloides na nervura da folha. O- Amido no córtex do caule.

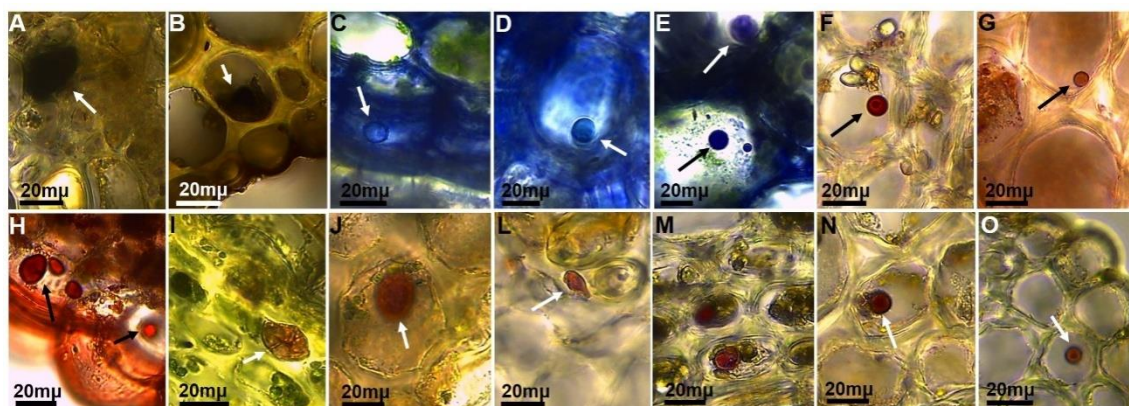


Figura 11 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Markea longiflora* evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Amido no pecíolo próximo a nervura central. B- Amido na folha na região da nervura central. C- Óleos essenciais na periderme do caule. D - Óleos essenciais no córtex do pecíolo. E- Óleos essenciais no mesófilo. F- Lipídios totais no córtex do caule. G - Lipídios totais no córtex do pecíolo. H- Lipídios totais na epiderme da folha. I - Esteroides no córtex do caule. J- Esteroides no córtex do pecíolo. L- Esteroides na folha na região da nervura central. M- Taninos no córtex do caule. N- Taninos no córtex do pecíolo. O- Taninos na região da nervura central na folha.

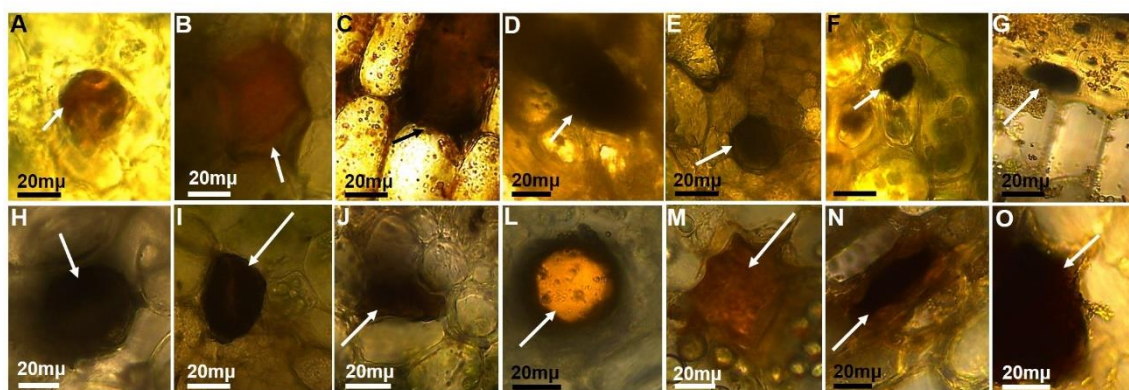


Figura 12 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Philodendron* sp. evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Lactona sesquiterpênica no córtex da raiz. B- Lactona sesquiterpênica no pecíolo próximo ao feixe vascular. C- Mucilagens no córtex da raiz. D- Mucilagens no córtex do caule. E- Mucilagens no feixe vascular do pecíolo. F- Mucilagens no feixe vascular da folha. G- Compostos fenólicos na periderme da raiz. H- Compostos fenólicos no córtex do caule. I- Compostos fenólicos em células parenquimáticas do pecíolo. J- Compostos fenólicos na nervura central da folha. L- Terpenóides em canais presentes no caule. M- Terpenóides em células próximas a feixe vascular do pecíolo. N- Alcaloides no córtex da raiz. O- Alcaloides em células próximas ao feixe vascular caule.

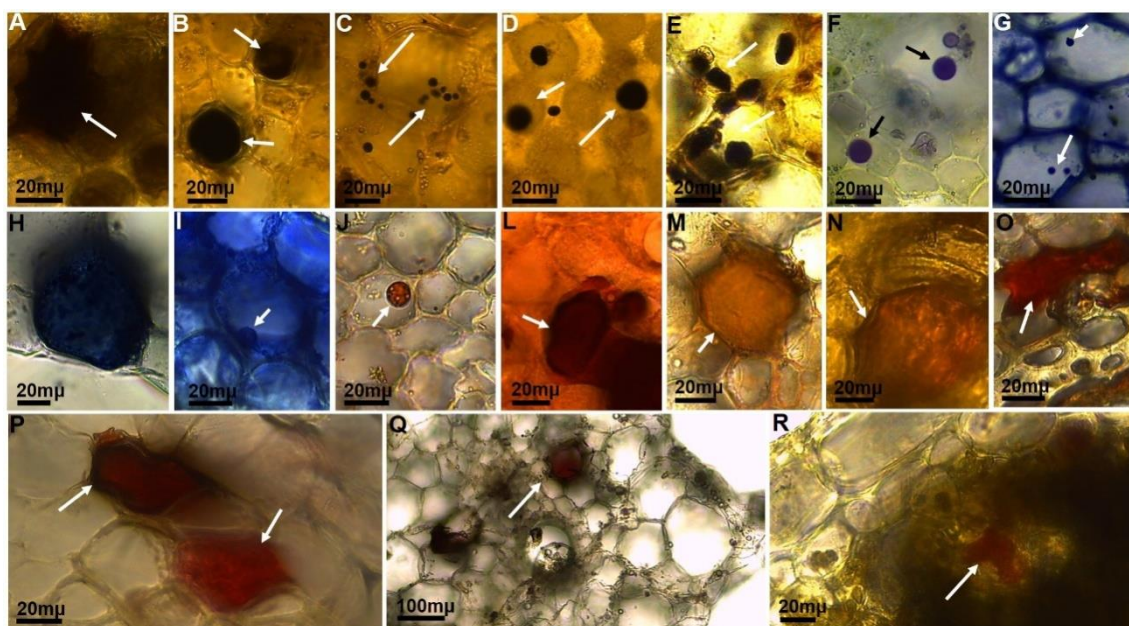


Figura 13 - Secções transversais anatômicas da raiz, caule, pecíolo e folha de *Philodendron* sp. evidenciando os testes histoquímicos positivos. A- Alcaloides em célula perto de feixe vascular no pecíolo. B- Amido no córtex da raiz. C- Amido no córtex do caule. D- Amido no córtex do pecíolo. E - Amido na nervura central da folha. F- Óleos essenciais no córtex da raiz. G- Óleos essenciais na periderme do caule. H- Óleos essenciais no córtex do pecíolo. I- Óleos essenciais na nervura central da folha. J- Lipídios Totais no córtex da raiz. L- Lipídios totais no córtex do caule. M- Lipídios totais na região da nervura central da folha. N- Esteroides no caule próximo a feixe vascular. O- Taninos na periderme da raiz. P- Taninos próximos a feixe vascular do caule. Q- Taninos no pecíolo próximo a feixe vascular. R- Taninos em região na nervura central da folha.

Discussão

As espécies de epífitas encontradas no inventário florístico realizado em Jardins-de-formigas das formigas parabióticas *Camponotus femoratus* e *Crematogaster levior* em clareiras da Amazônia meridional corroboram com outros estudos realizados ao longo da Floresta Amazônica (YU, 1994; DAVIDSON, 1988; VICENTE et al., 2014; LEAL et al., 2017). Nestes estudos, foram encontradas espécies dos gêneros *Anthurium*, *Codonanthe*, *Philodendron* e *Peperomia* (e.g. ORIVEL & LEROY, 2011). Portanto, nossos dados nos possibilitam afirmar que a interação entre as formigas parabióticas e estas espécies de epífitas é uma interação mutualística estável. A alta frequência de *Peperomia macrostachya* pode ser explicada pela preferência das formigas por algumas sementes de epífitas (DAVIDSON, 1988), preferência esta, orientada pelos compostos químicos (do grupo dos terpenoides e fenólicos) presentes nas sementes (YOUNGSTEADT et al., 2010).

Nos Jardins-de-formigas de *Camponotus femoratus* e *Crematogaster levior*, nenhuma das epífitas estudadas apresentou estruturas modificadas para nidificação das formigas, mas suas raízes são utilizadas como estruturas para a ampliação do ninho. *Philodendron* sp. exibiu pouca densidade de raízes, sendo que seus caules “rizomáticos” auxiliavam na estruturação externa de ninhos maiores. Já *Peperomia macrostachya* apresentou grande densidade de raízes fasciculadas que permeavam a parte interna dos ninhos. Esta interação coevolutiva pode ter sido desenhada por estas epífitas fornecerem benefícios às formigas estruturando e removendo o excesso de água dos ninhos através das raízes (HÖLLDOBLER & WILSON, 1990; YU, 1994) em troca da dispersão de sementes e proteção oferecidas pelas formigas (YOUNGSTEADT et al., 2009; VICENTE et al., 2014).

Encontramos nectários extraflorais nas folhas de *A. gracile*, nos pecíolo e nas folhas de *M. longiflora*, nos pecíolo e nas bordas das folhas de *C. calcarata* e nos pecíolo de *Philodendron* sp. Essas estruturas atraem formigas, pois os nectários são tecidos especializados em secretar soluções compostas por monossacarídeos e dissacarídeos, aminoácidos e proteínas (FAHN, 1988; PACINI et al., 2003; BERNARDELLO, 2007; MARAZZI et al., 2013), sendo que uma grande diversidade de formigas consome esse néctar como alimento

(LANGE & DEL-CLARO, 2014; RIBAS et al., 2010; BELCHIOR et al., 2016). Assim as formigas atraídas por nectários extraflorais favorecem as plantas hospedeiras, porque elas atacam herbívoros ou diminuem sua atividade nas plantas (DEL-CLARO et al., 2016). Esse tipo de interação é tão robusta, que os nectários extraflorais foram relatados em espécies pertencentes a 93 famílias e 332 gêneros (KOPTUR, 1992; MARAZZI et al., 2013).

Há também presença de tricomas glandulares e tectores distribuídos pelas estruturas vegetativas da planta, exceto em *A. gracile* e *Philodendron* sp. Os tricomas secretores de *M. longiflora* apresentaram terpenoides e o de *C. calcarata* a presença de óleos essenciais. Os tricomas das outras espécies não apresentaram evidência de compostos metabólicos em seu interior. Os tricomas tectores estão relacionados às defesas estruturais e os glandulares, devido à natureza de seu exsudato, atuam também na defesa química, secretando uma ampla variedade de substâncias tais como terpenoides, taninos e carboidratos (JOHNSON, 1975; LEVIN, 1973). Nas epífitas que apresentam tricomas glandulares com secreção, estes podem atuar defendendo o ninho através da liberação de compostos químicos de defesa e também liberando substâncias nutritivas para as formigas.

As espécies *A. gracile*, *C. calcarata* e *P. macrostachya* apresentaram hipoderme, sendo essa estrutura responsável pelo armazenamento de água e sustentação (METCALFE, 1979), considerada como uma estratégia adaptativa das epífitas (WILLIAMS, 1974). *A. gracile* apresentou velame que é uma estrutura que se comporta como esponja absorvendo água em movimentos passivos, dessa forma permite à raiz reter uma reserva de água e minerais temporária, mas acessível (BENZING et al., 1982). Essas estruturas são fundamentais para a vida em Jardins-de-formigas, pois os ninhos ocorrem em clareiras, onde há alta luminosidade e conseqüentemente menos umidade, pois a carência de água é um fator abiótico importante no habitat epifítico e ela exclui competitivamente a maioria das espécies epífitas vasculares (ZOTZ & HIETZ, 2001; KERSTEN, 2010).

As espécies *P. macrostachya*, *A. gracile* e *Philodendron* apresentaram cristais de oxalato de cálcio na forma de drusas, ráfides e monocristais. Essas substâncias fornecem rigidez, promovem o equilíbrio iônico

e removem o cálcio, magnésio, ácido oxálico, alumínio e outros metais pesados, além de atuarem como defesa contra o ataque de herbívoros (FRANCESCHI & NAKATA, 2005; HE et al., 2012). Também é importante para o hábito epifítico e o hábito de vida em clareiras, já que estes ambientes são frequentemente relacionados a altas taxas de herbivoria (NICHOLS-ORIAN, 1991).

Detectamos compostos fenólicos presentes no pecíolo de *A. gracile*, e em todas as estruturas analisadas de *Philodendron* sp. e *M. longiflora*. Os compostos fenólicos são substâncias que atuam na fisiologia das plantas, como no crescimento, reprodução, pigmentação, rizogênese, vitrificação e resistência a patógenos (CHEYNIER, 2005; LATTANZIO et al., 2006), podendo também agir como atrativo de polinizadores ou dispersores de frutos (TAIZ & ZEIGER, 2013). O tanino é um tipo de composto fenólico que foi detectado na raiz e caule de *P. macrostachya*, folha e caule de *A. gracile*, e em todas as estruturas analisadas de *Philodendron* sp. e *M. longiflora*. O tanino apresenta adstringência que age contra ataques de fungos, bactérias e vírus (POYER & SCHAEFER, 2015).

Os alcaloides estão presentes na raiz e no caule de *P. macrostachya*, na raiz, caule e folha de *A. gracile*, na raiz, caule e pecíolo de *Philodendron* sp. e no pecíolo e na folha de *M. longiflora*. Os alcaloides atuam nas plantas como agentes reguladores de crescimento e como substâncias de reserva (ANISZEWSKI, 2007; DEWICK, 2009), mas sua principal função está relacionada a proteção, pois eles apresentam características como sabor amargo, interrompem a função das proteínas após ingestão e metabolização e provocam alteração no sistema nervoso de predadores (HARBORNE, 1993).

Os terpenoides estão presentes na raiz de *C. calcarata*, no caule e pecíolo de *Philodendron* sp., e no pecíolo de *M. longiflora*. Eles agem como repelentes (LAOTHAWORNKITKUL et al., 2008; UNSICKER et al., 2009; MAFFEI, 2010), ou atuam na defesa indireta das plantas, atraindo artrópodes que atacam ou parasitam herbívoros (KESSLER & BALDWIN, 2001; RASMANN et al., 2005; SCHNEE et al., 2006). Por esses compostos apresentarem atratividade aos artrópodes eles podem estar relacionados com a presença das formigas nessa interação mutualística. Dependendo de como as moléculas dos terpenoides estão arrançadas, elas podem ser um esteroide. Esteroides estão presentes na raiz de *C. calcarata*, no caule e pecíolo de *Philodendron* sp., e no

pecíolo de *M. longiflora*. Os esteroides são substâncias constituintes das membranas de plantas, algas e fungos e afetam a sua permeabilidade (DEWICK, 2002; GROS, 1985), apresentando função estrutural a planta.

Os óleos essenciais estiveram presentes em todas as espécies desse estudo com exceção do caule de *A. gracile*. Os óleos essenciais também são constituídos de moléculas de terpenoides. Eles apresentam funções como atração de insetos para polinização, controle da temperatura, proteção contra perda de água entre outras (PINHEIRO, 2003; SILVA, 2012; TAIZ & ZEIGER, 2004). Detectamos a lactona sesquiterpênica no caule de *C. calcarata*, na folha de *A. gracile*, na raiz e no pecíolo de *Philodendron* sp. e em *M. longiflora* foi identificada no caule, pecíolo e folha. O sesquiterpênico também é um tipo de terpenoide que age como compostos antimicrobianos contra fungos, bactérias (NIERO & MALHEIROS, 2007).

Encontramos mucilagens na raiz, pecíolo e folha de *C. calcarata*, na raiz e pecíolo de *A. gracile* e em todas as estruturas analisadas de *Philodendron* sp. e *M. longiflora*. Elas são substâncias que podem desempenhar diferentes funções nas plantas, entre elas, a proteção de estruturas ou órgãos em desenvolvimento, retenção de água, reserva de carboidratos, redução da transpiração, proteção contra radiação dispersando ou refletindo a luz incidente, lubrificante do ápice das raízes, como adesivo na dispersão de sementes e na regulação da germinação de sementes (GREGORY & BAAS, 1989; FAHN, 1979; ROSHCHINA & ROSHCHINA, 1993; CLIFFORD et al., 2002; MARTINI et al., 2003). Então a presença da mucilagem é importante para o bom desenvolvimento da planta, e também contribui reduzindo a perda de água nas plantas evitando o ressecamento sendo então um fator importante para vida em clareira.

De uma forma geral os metabólitos secundários podem agir na fisiologia das plantas, como atrativos de polinizadores e dispersores (HARBONE, 1988; BAAS, 1989), podem ser agentes alelopáticos (RICE, 1984; KOBAYASHI, 2004) e também apresenta um papel importante nas interações bióticas, como defesa química contra herbívoros e patógenos (NEILSON, 2013). Sendo assim esses compostos encontrados nas epífitas favorecem o desenvolvimento além

de fornecer proteção, e são importantes na interação com as formigas e na vivência em clareira.

Os lipídios totais estavam presentes em todas as estruturas de *P. macrostachya* e *M. longiflora*, nas folhas de *C. calcarata*, no caule, pecíolo, folha de *A. gracile*, e na raiz caule e folha de *Philodendron* sp. Lipídeos são metabólitos fundamentais na manutenção de processos químicos vitais de crescimento e reprodução (CARDOSO, 2015). Detectamos o amido em todos os órgãos das espécies estudadas, sendo considerado como o principal carboidrato de reserva nas plantas, atuando como fonte de energia para as alterações metabólicas em plantas ou fornecendo moléculas de açúcares para biossíntese de lipídeos, proteínas, antioxidantes e polissacarídeos (PESCADOR et al., 2008; GOMEZ-GONZALEZ et al., 2010).

Como o exposto acima, amido e lipídios são substâncias energéticas usadas pelas plantas em suas atividades vitais, mas também são usados como fonte de alimento para outros seres que podem ser os mutualistas como no caso as formigas que utilizam do néctar como fonte de alimento ou o próprio lipídio, pois os testes histoquímicos realizados no nectário extrafloral de *C. calcarata* revelaram a presença de lipídios, amido e óleos essenciais, indicando que além de secretar substâncias nutritivas para as formigas, eles liberam substâncias atrativas.

Considerações finais

As espécies *C. calcarata*, *P. macrostachya*, *A. gracile*, *M. longiflora* e *Philodendron* sp. identificadas no inventário florístico são frequentemente relatadas em outros estudos com Jardins-de-formigas de *Camponotus femoratus* e *Crematogaster levior* ao longo da Amazônia. Essas epífitas apresentam estruturas importantes que beneficiam as formigas e também que as tornam adaptadas ao ambiente de clareira permitindo a coocorrência entre elas. Dentre estas estruturas, as que estão ligadas diretamente as formigas são as raízes que estruturam os ninhos, os nectários extraflorais, tricomas glandulares e compostos metabólicos que são atrativos como os óleos essenciais. Estruturas encontradas que facilitam a vida em ambientes de clareira e consequentemente beneficiam a interação, são os compostos e estruturas presentes nas epífitas que armazenam água e evitam o ressecamento e consequentemente mantêm a umidade dos ninhos como as mucilagens, a hipoderme e o velame, respectivamente. Encontramos também compostos secundários da classe dos fenólicos, terpenos e alcaloides que são substâncias comuns a outras plantas, mas que nos ninhos agem como mecanismos de defesa, protegendo contra microrganismos patogênicos e herbivoria, diminuindo ataques destes aos ninhos.

Referências Bibliográficas

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE-MORAES-GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.

ANISZEWSKI, T. **Alkaloids - secrets of life**. Alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role. Holanda, Elsevier: 2007, 334 p.

BASS, W. J. Secondary plant compounds, their ecological significance and consequences for the carbon budget. Introduction to the carbon-nutrient cycle theory. In H Lambers, M. L Cambridge, H. Konings, T.L. Pons (eds), **Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants**. SPB Academic Publishing, The Hague, p 313-340, 1989.

BELCHIOR, C.; SENDOYA, S. F.; DEL-CLARO, K. Temporal variation in the abundance and richness of foliage-dwelling ants mediated by extrafloral nectar. **PLoS ONE**, v. 11, n. 7, p. e0158283, 2016.

BENZING, D. H.; OTT, D. W.; FRIEDMAN, W. E. Roots of *Sobralia macrantha* (Orchidaceae): structure and function of the velamen-exodermis complex. **American Journal of Botany**, v. 69, n. 4, p. 608-614, 1982.

BENZING, D. H. **Vascular epiphytes**. Cambridge, Cambridge University Press. 1990.

BERNARDELLO, G. A systematic survey of floral nectaries. In: **Nectaries and nectar**. Springer, Dordrecht, p. 19-128, 2007.

BLÜTHGEN, N.; SCHMIT-NEUERBURG, V.; ENGWALD, S.; BARTHLOTT, W. Ants as epiphyte gardeners: comparing the nutrient quality of ant and termite canopy substrates in a Venezuelan lowland rain forest. **Journal of Tropical Ecology**, v. 17, n. 6, p. 887-894, 2001.

CARDOSO, G. H. **Análise Fitoquímica e Atividade Biológica das folhas de *Asclepias curassavica* L. (Apocynaceae)**. 2015. 55f (Trabalho de Conclusão de Curso Licenciatura em Química) - Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2015.

CHEYNIER V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 1, p. 223S-229S, 2005.

CLIFFORD, S. C.; ARNDT, S. K.; POPP, M.; JONES, H. G. Mucilages and polysaccharides in *Ziziphus species* (Rhamnaceae): localization, composition and physiological roles during drought-stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 366, p. 131-138, 2002.

DAVID, R.; CARDÈ, R. J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpéniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du réactif nadi. Paris:

Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. **Serie Iii-Sciences de la vie-life Sciences**, v. 258, p. 1338-1340, 1964.

DAVIDSON, D. W. Ecological studies of neotropical ant gardens. **Ecology**, v. 69, n. 4, p. 1138-1152, 1988.

DEL-CLARO, K.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M. **Ecologia das interações plantas-animaís: Uma abordagem ecológico-evolutiva**. Technical Books Editora, 2012.

DEL-CLARO, K.; RICO-GRAY, V.; TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; ALVES-SILVA, E.; FAGUNDES, R.; LANGE, D.; RODRIGUEZ-MORALES, D. Loss and gains in ant-plant interactions mediated by extrafloral nectar: fidelity, cheats, and lies. **Insectes Sociaux**, v. 63, n. 2, p. 207-221, 2016.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons, 2002.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3. ed., John Wiley & Sons Ltd, 2009. 546 p.

FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. London, Academic Press, 1979.

FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New phytologist**, v. 108, n. 3, p. 229-257, 1988.

FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation and function. **Annual Review of Plant Biology**, v. 56, p. 41-71, 2005.

GANTER, P.; JOLLÉS, G. **Histologie normale et pathologique**. V. 1 e 2, Paris: Gauthier, 1970.

GEISSMAN, T. A.; GRIFFIN, T. S. Sesquiterpen lactones: Acid-catalized color reactions as an in structure determination. **Phytochemistry**, n. 10, p. 2475-2485, 1971.

GENTRY, A.; DODSON, C. H. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 74, n. 2, p. 205-233, 1987.

GOMEZ-GONZALEZ, S.; RUIZ-JIMENEZ, J.; PRIEGO-CAPOTE, F, DE CASTRO, M. D. L. Qualitative and quantitative sugar profiling in olive fruits, leaves, and stems by gas chromatography- tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) after ultrasound- assisted leaching. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 23, p. 12292-12299, 2010.

GREGORY, M.; BAAS, P. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. **Israel Journal of Botany**, v. 38, n. 2-3, p. 125-174, 1989.

GROS, E. G. **Introducción al estudio de los productos naturales**. Secretaria geral de La Organización de los Estados Americanos, **1985**.

HARDMAN, R. E.; SOFOWORA, E. A. Antimony trichloride as test reagentes for steroids, especially diogenin and yamogenin, in plant tissues. **Stain Technol**, n. 47, p. 205-208, 1972.

HARBORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. Third Edition. Academic Press New York, 1988.

HARBORNE J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. London: Elsevier Academic Press; 1993.

HE, H.; BLEBY, T. M.; VENEKLAAS, E. J.; LAMBERS, H.; KUO, J. Morphologies and elemental compositions of calcium crystals in phyllodes and branchlets of *Acacia robeorum* (Leguminosae: Mimosoideae). **Annals of Botany**, v. 109, n. 5, p. 887-896, 2012.

HÖLLDOBLER, B. & WILSON, E. O. **The ants**. Harvard University Press, Cambridge, 1990.

IBGE. **Mapa da vegetação brasileira**. 3ª edição. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. 2004.

JOHNSON, H. B. Plant pubescence: an ecological perspective. **The Botanical Review**, v. 41, n. 3, p. 233-258, 1975.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. MacGraw-Hill BookCompany, New York. 1940.

KAISER, E. Verfahren zur herstellung einer tadellosen glycerin-gelatine. **Botanisch zentralb**, v. 180, p. 25-26, 1880.

KAUFMANN E.; MASCHWITZ U. Ant-gardens of tropical Asian rainforests. **Naturwissen schaften**, v. 93, p. 216-227, 2006.

KRAUS, J. E. & ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Edur, Seropédica, 1997.

KERSTEN, R. A. Epífitas vasculares - Histórico, participação taxonômica e aspectos relevantes, com ênfase na Mata Atlântica. **Hoehnea**, v. 37, n. 1, p. 09-38, 2010.

KLEINFELDT, S. E. Ant-gardens: mutual exploitation. Pp. 283-294 in: Juniper, B., & T.R.E. Southwood (eds.). **Insects and the plant surface**. Edward Arnold, London, 1986.

KESSLER A, BALDWIN I. T. Defensive function of herbivore induced plant volatile emissions in nature. **Science**, v. 291, n. 5511, p. 2141-2144, 2001.

KOBAYASHI, K. Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. **Weed biology and management**, v. 4, n. 1, p. 1-7, 2004.

KOPTUR S. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: Bernays E, editor. **Insect-Plant Interactions**. Boca Raton, CRC Press, Boston; pp. 81-129, 1992.

KRESS, J. W. The systematic distribution of vascular epiphytes: an update. **Selbyana**, v. 9, p. 2-22. 1986.

LAOTHAWORNKITKUL, J.; PAUL, N. D.; VICKERS, C. E.; POSSELL, M.; TAYLOR, J. E.; MULLINEAUX, P. M.; HEWITT, C. N. Isoprene emissions influence herbivore-feeding decisions. **Plant, cell & environment**, v. 31, n. 10, p. 1410-1415, 2008.

LANGE, D.; DEL-CLARO, K. Ant-plant interaction in a tropical savanna: may the network structure vary over time and influence on the outcomes of associations? **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. e105574, 2014.

LATTANZIO V.; LATTANZIO V. M. T.; CARDINALI, A. Role of polyphenols in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. **Phytochemistry: Advances in research**, v. 661, n. 2, p. 23-67, 2006.

LEAL, L. C.; JACOVAK, C. C.; BOBROWIEC, P. E. D.; CAMARGO, J. L. C.; PEIXOTO, P. E. C. The role of parabiotic ants and environment on epiphyte composition and protection in ant gardens. **Sociobiology**, v. 64, n. 3, p. 276-283, 2017.

LEVIN, D. A. 1973. The role of trichomes in plant defense. **The Quarterly Review of Biology**, v. 48, n. 1, p. 3-15, 1973.

MACE, M. E. & HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in root of cotton seedlings. **Canadian Journal of Botany**, v. 52, n. 11 p. 2423-2426, 1974.

MADISON, M. Vascular epiphytes: their systematic occurrence and salient features. **Selbyana**, v. 2, n. 1, p. 1-13, 1977.

MAFFEI M. E. Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 4, p. 612-631, 2010.

MARAZZI, B.; BRONSTEIN, J. L.; KOPTUR, S. The diversity, ecology and evolution of extrafloral nectaries: current perspectives and future challenges. **Annals of Botany**, v. 111, n. 6, p. 1243-1250, 2013.

MARTINI, M. H.; LENCI, C. G.; TAVARES, D. Q. Mucilage pockets in cotyledon tissue of *Theobroma speciosum*. **Acta Microscopica**, v. 1, n. 1, p. 65-9, 2003.

METCALFE, C. R. The leaf: general topography and ontogeny of the tissues. In: Metcalfe, C. R. & Chalk, L. **Anatomy of the Dicotyledons. Systematic anatomy**

of the leaf and stem, with a brief history of the subject. 2nd ed. v.1. Oxford, Clarendon Press, 1979.

NEILSON, E. H.; GOODGER, J. Q. D.; WOODROW, I. E.; MOLLER, B. L. Plant chemical defense: at what cost? **Trends in plant science**, v. 18, n. 5, p. 250-258, 2013.

NIERO, R.; MALHEIROS, A. Principais aspectos químicos e biológicos de terpenos. In: CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Química de produtos naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**, Editora Universidade do vale do Itajaí/Univali, p. 239-257 2007

NICHOLS-ORIAN, C. M. The effects of light on foliar chemistry, growth and susceptibility of seedlings of a canopy tree to an attine ant. **Oecologia**, v. 86, n. 4, p. 552-560, 1991.

ORIVEL, J.; DEJEAN, A. Selection of epiphyte seeds by ant-garden ants. **Ecoscience**, v. 6, n. 1, p. 51-55, 1999.

ORIVEL, J.; LEROY, C. The diversity and ecology of ant gardens (Hymenoptera: Formicidae, Spermatophyta: Angiospermae). **Myrmecol News**, v. 14, p. 73-85, 2011.

PACINI, E.; NEPI, M.; VESPRINI, J. L. Nectary biodiversity: a short review. **Plant Systematics and Evolution**, v. 238, n. 1-4, p. 7-21, 2003.

PIZZOLATO, T. D.; LILLIE, R. D. Mayer's tannic acid-ferric chloride stain for mucins. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 21, n.1, p. 56-64, 1973.

PINHEIRO, A. L. **Produção de óleos essenciais**. Viçosa: CPT, manual nº 463, 140 p. 2003.

PEARSE, A. **Histochemistry theoretical and applied**. 4ª ed. v.II, Longman: Group Limited, 1980.

PESCADOR, R.; KERBAUY, G. B.; VIVIANI, D.; KRAUS, J. Anomalous somatic embryos in *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 31, n. 1, p. 155-164, 2008.

POYER, A.; SCHAEFER, L.; TEIXEIRA, S. D.; ROCHA, R. D. C. Obtenção de tanino a partir de extrato hidroalcoólico de folhas e flores de *Lippia alba*. **Synergismus Scientifica UTFPR**; V. 10, n. 1, p. 140-151, 2015.

RASMANN, S.; KÖLLNER, T. G.; DEGENHARDT, J.; HILTPOLD, I.; TOEPFER, S.; KUHLMANN, U.; TURLINGS, T. C. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. **Nature**, v. 434, n. 7034, p. 732, 2005

RIBAS, C.; OLIVEIRA, P.; SOBRINHO, T.; SCHOEREDER, J.; MADUREIRA, M. The arboreal ant community visiting extrafloral nectaries in the Neotropical cerrado savanna. **Terrestrial Arthropod Reviews**, v. 3, n. 1, p. 3-27, 2010.

RIBEIRO, J.E.L.S.; HOPKINS, M.J.G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.C.L.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCOPIO, L.C. **Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central**. INPA. 798 p. 1999.

RICE, E. L. **Allelopathic**. Academic Press, Orlando, Florida, 1984.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, v.61, p.33-36, 1962.

ROSHCHINA, V. V.; ROSHCHINA, V. D. **The excretory fuction of higher plants**. Berlin, Springer-Verlag. 1993.

SILVA, N. C. C. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. **Natural Product Research**, v. 26, n. 16, p. 1510- 1514, 2012.

SCHMIT-NEUERBURG, V.; BLÜTHGEN, N. Ant-garden epiphytes are protected against drought in a Venezuelan lowland rain forest. **Ecotropica**, v. 13, p. 93-100, 2007.

SCHNEE, C.; KOLLNER, T. G.; HELD, M.; TURLINGS, T. C. J.; GERSHENZON, J.; DEGENHARDT, J. The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 103, p. 1129-1134, 2006.

SVENDSEN, B. A.; VERPOORTE, R. **Cromatografia de alcaloides, parte A: cromatografia em camada fina**. Amsterdã, Oxford, Tóquio: Elsevier. 1983.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artemed, 954p. 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3a. Porto Alegre: Artmed, 722 p. 2004.

UNSICKER, S. B.; KUNERT, G.; GERSHENZON, J. Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. **Current opinion in plant biology**, v. 12, n. 4, p. 479-485, 2009.

VICENTE, R. E, DÁTTILO, W.; IZZO, T. J. Differential Recruitment of *Camponotus femoratus* (Fabricius) Ants in Response to Ant Garden Herbivory. **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 6, p. 519-525, 2014.

WILLIAMS, N. H. The value of plant anatomy in orchid taxonomy. In: Ospina, O. **World Orchid Conference**. Medellin, Proceedings. 1974.

YOUNGSTEADT, E.; NOJIMA, S.; HABERLEIN, C.; SCHULZ, S.; SCHAL, C. Seed odor mediates an obligate ant-plant mutualism in Amazonian rainforest. **The National Academy of Sciences of the USA**, v. 105, n.12, p. 4571-4575, 2008.

YOUNGSTEADT, E.; BACA, J. A.; OSBORNE, J.; SCHAL, C. Species-specific seed dispersal in an obligate ant-plant mutualism. **PLoS One**, v. 4, n. 2, p. e4335, 2009.

YOUNGSTEADT, E.; BUSTIOS, P. G.; SCHAL, C. Divergent chemical cues elicit seed collecting by ants in an obligate multi-species mutualism in lowland Amazonia. **PloS one**, v. 5, n. 12, p. e15822, 2010.

YU, D. W. The structural role of epiphytes in ant gardens. **Biotropica**, v. 26, n. 2 p. 222-226, 1994

ZOTZ, G. The systematic distribution of vascular epiphytes - a critical update. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 3, p. 453-481, 2013.

ZOTZ, G. HIETZ, P. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. **Journal of experimental botany**, v. 52, n. 364, p. 2067-2078, 2001.

3.2 ALELOPATIA QUÍMICA E ECOLÓGICA EM EPÍFITAS DE JARDINS-DE-FORMIGAS

Resumo – (Alelopatia química e ecológica em epífitas de jardins-de-formigas). Nos Jardins-de-formigas as formigas constroem os ninhos com matéria orgânica e levam sementes específicas de algumas espécies de epífitas que após germinarem, formam a interação mutualística. Essa interação é considerada complexa, pois formigas e epífitas específicas coexistem de forma a se beneficiarem mutuamente, e nessa interação uma variedade de outras epífitas poderiam colonizar os ninhos e se desenvolver, mas isso não ocorre. Supomos que exista alelopatia química com as epífitas inibindo o crescimento de outras espécies de epífitas ou alelopatia biológica com as formigas cortando espécies de epífitas não mutualísticas. Essa suposição nos levou a analisar através de testes alelopáticos químico e ecológico o que determina a composição das espécies de epífitas dos Jardins-de-formiga. Para o teste alelopático químico, administramos o extrato do caule e das folhas de *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr. e *Codonanthe calcarata* (Miq.) Hanst. (espécies mais comuns em Jardins-de-formiga) em diferentes concentrações sobre sementes de *Cucumis sativus* L. Para o teste de alelopatia ecológica utilizamos plântulas da planta mutualística *Peperomia macrostachya* e de *Cucumis sativus* como controle (planta não mutualística). Essas plântulas foram fixadas nos ninhos com auxílio de alfinetes e depois de 15 minutos, 3 horas e 24 horas de fixadas, os ninhos foram visitados e inspecionados para avaliar a remoção das plântulas. Nos testes de alelopatia química as espécies *Peperomia macrostachya* e *Codonanthe calcarata* diminuíram os índices de velocidade de germinação e a porcentagem de germinação em relação ao controle. Ao contrário, o comprimento e o peso das plântulas foram influenciados de forma positiva melhorando o desempenho das plântulas. No teste de alelopatia ecológica houve diferença na remoção das plântulas, sendo que a maioria das plantas removidas foram não mutualísticas. Os resultados do experimento de alelopatia química e os de alelopatia ecológica demonstraram que tanto as epífitas mutualísticas quanto as formigas tem um papel determinante na composição de epífitas de Jardins-de-formigas.

Palavras-chave: poda; mutualismo; interação

Abstract – (Chemical and ecological allelopathy in ant-garden epiphytes). In the Ant-gardens, ants build nests with organic matter and take specific seeds from some species of epiphytes that, after germinating, form the mutualistic interaction. This interaction is considered complex, because specific ants and epiphytes coexist in order to benefit each other, and in this interaction a variety of other epiphytes could colonize the nests and develop, but this does not occur. We assume that there is chemical allelopathy with epiphytes inhibiting the growth of other species of epiphytes or biological allelopathy with ants cutting off non-mutualistic epiphyte species. This assumption led us to analyze through chemical and ecological allelopathic tests to understand what determines the composition of the epiphyte species of Ant-Gardens. For the chemical allelopathic test, we administer the extract of the stem and leaves of *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr. and *Codonanthe calcarata* (Miq.) Hanst. (most common species in Ant-Gardens) in different concentrations on seeds of *Cucumis sativus* L. For the ecological allelopathy test we used seedlings of the mutualistic plant *Peperomia macrostachya* and *Cucumis sativus* as a control (non-mutualistic plant). These seedlings were fixed in the nests with the help of pins and after 15 minutes, 3

hours and 24 hours of being fixed, the nests being visited and inspected for the removal of the seedlings. In the chemical allelopathy tests, the species *Peperomia macrostachya* and *Codonanthe calcarata* decreased the germination speed indexes and the germination percentage in relation to the control. On the contrary, the length and weight of the seedlings were positively influenced, improving the performance of the seedlings. In the ecological allelopathy test, there was a difference in the removal of seedlings, and most of the plants removed were from non-mutualistic plants. The results of the chemical allelopathy experiment and those of ecological allelopathy demonstrated that both mutualistic epiphytes and ants play a decisive role in the composition of epiphytes of ant-garden.

Keywords: pruning; mutualism; interaction

Introdução

Jardins-de-formigas é uma interação mutualística constituída de plantas epífitas e formigas, onde as formigas constroem ninhos de cartão constituído de matéria orgânica e levam sementes de algumas espécies de epífitas para os ninhos. Essas sementes germinam formando os Jardins-de-formiga (ORIVEL & DEJEAN, 1999; DAVIDSON, 1988; ORIVEL & LEROY, 2011). Nessa interação as epífitas estruturam o ninho e mantém a umidade (YU, 1994) enquanto as formigas protegem as epífitas contra a herbivoria (VANTAUX et al., 2007 VICENTE et al., 2014) e fornecem nutrientes as epífitas (DAVIDSON, 1988; BLÜTHGEN et al., 2001). Essas interações são obrigatórias tanto para as formigas e plantas participantes, e ocorrem nas Américas tropicais e sudeste da Ásia (DAVIDSON, 1988; KAUFMANN & MASCHWITZ, 2006; KLEINFELDT, 1986).

Os Jardins-de-formigas podem ser formados por diversas espécies de formigas, mas na região amazônica os jardins mais comuns são os das formigas parabióticas *Camponotus femoratus* (Fabricius) (Formicinae) e *Crematogaster levior* Longino 2003 (DAVIDSON, 1988; ORIVEL & LEROY, 2011). Nas regiões neotropicais a composição florística dos Jardins-de-formiga são muito semelhante entre si, com quatro famílias e seis gêneros representando a maioria das epífitas (Bromeliaceae: *Aechmea* e *Streptocalyx*; Areaceae: *Anthurium* e *Philodendron*; Gesneriaceae: *Codonanthe*; Piperaceae: *Peperomia*) (KLEINFELDT, 1978; DAVIDSON, 1988; MARINI-FILHO, 1999; ORIVEL & DEJEAN, 1999).

Sabemos que as espécies de epífitas não estão distribuídas de forma aleatória em Jardins-de-formigas, mas que em vez disso existem algumas associações preferenciais entre as formigas e algumas espécies de epífitas, pois das 15.500 espécies de epífitas conhecidas nos neotrópicos somente algumas são encontradas nos jardins (ORIVEL & LEROY, 2011). Além disso, dentro das espécies de epífitas encontradas em Jardins-de-formigas, poucas estão presentes na grande maioria dos ninhos (DAVIDSON, 1988; YU, 1994; VICENTE et al., 2014). Dentre as epífitas encontradas em Jardins-de-formigas, somente algumas poucas espécies de epífitas não são consideradas especialistas de Jardins-de-formigas. Isso acontece com as Orchidaceae e Polypodiaceae que

são encontradas regularmente e cujas sementes ou esporos são minúsculos e dispersos pelo vento (DAVIDSON, 1988; DEJEAN et al., 2000; BLÜTHGEN et al., 2001).

As paredes que constituem os ninhos são ricas em nutrientes e outras espécies de epífitas poderiam colonizar os ninhos via dispersão por vento ou aves (PAOLUCCI et al., 2016) mas isso não ocorre, então algum processo biológico ainda não determinado, está envolvido na composição de epífitas de Jardins-de-formigas. Sabe-se que fora desses sistemas, as plantas podem exibir alelopatia química, em que as plantas liberam compostos químicos no ambiente que interagem com organismos vizinhos, inibindo ou estimulando o seu crescimento ou desenvolvimento (RICE, 1984; GRESSEL & HOLM, 1964; SOUZA et al., 2006). Assim, a vegetação de uma determinada área pode ter um modelo de sucessão condicionado às plantas pré-existentes e às substâncias químicas que elas liberaram no meio (FERREIRA & AQUILA, 2000). Além disso, sabe-se que em mirmecófitas, as formigas também podem atuar na composição de plantas agindo como alelopatia ecológica (FEDERLE et al., 2002; WEIR et al., 2012; FREDERICKSON, 2005). Janzen (1969) em estudos de comportamento de formiga, apontou que essas podem atuar como agentes alelopáticos ao podar a vegetação das vizinhanças de suas plantas hospedeira, sendo que a poda contribui para a sobrevivência e a reprodução das plantas hospedeiras.

Sabendo que as plantas podem apresentar alelopatia química e que formigas mutualísticas podem apresentar alelopatia ecológica, nós realizamos experimentos em laboratório e a campo para determinar se a composição de epífitas de Jardins-de-formigas é determinada pela alelopatia química das epífitas mais frequentes e pelas formigas de Jardins-de-formigas. Para saber se o fator limitante ao estabelecimento de outras epífitas era determinado pela alelopatia química, nós analisamos o potencial alelopático dos extratos aquosos do caule e folha de *Peperomia macrostachya* (Vahl) A. Dietr. E *Codonanthe calcarata* (Miq.) Hanst. em diferentes concentrações. Para verificar a existência de alelopatia ecológica nós realizamos experimentos em campo administrando plântulas de *Peperomia macrostachya* (planta mutualística) e *Cucumis sativus* L. (planta não-mutualística) e observamos se as formigas cortavam as plantas.

Nossas hipóteses eram de que: 1) as plantas de Jardins-de-formigas apresentassem alelopatia química inibindo a germinação e o desenvolvimento de plantas; e que 2) as formigas demonstrassem alelopatia ecológica, removendo as plântulas de plantas não mutualísticas dos Jardins-de-formigas.

Material e Métodos

Área de estudo

Realizamos essa pesquisa no município de Cotriguaçu, MT na Fazenda São Nicolau (9°48'S e 58°15'W, elev. 254m). Conduzimos as coletas e os experimentos em uma borda de mata nativa com um local de reflorestamento de *Ficus* spp. (Moraceae) (mais informações: Vicente et al., 2014). Há na área plantações de teca (*Tectona grandis*) e 28 espécies de árvores arbóreas nativas (VICENTE et al., 2011). Esta área é composta por árvores jovens (cerca de 3 metros de altura) principalmente *Vismia* sp. (Hypericaceae) uma planta típica de áreas abertas e bordas da floresta (SANTOS & MACHADO, 1998). De acordo com a classificação de Köppen, para a região o clima é tropical úmido (Am) com temperatura de 24-26 °C e precipitação de 3.000 mm ano (ALVARES et al., 2013). Em Cotriguaçu a vegetação local é classificada como Floresta Ombrófila Aberta e Ombrófila Densa (IBGE, 2004). O ensaio alelopático químico foi realizado no Laboratório de Sementes do Centro de Pesquisas e Tecnologia da Amazônia Meridional- CEPTAM, do Câmpus da UNEMAT de Alta Floresta.

Metodologia para o estudo do potencial alelopático químico

Após um inventário florístico escolhemos duas das espécies de epífitas mais frequentes entre os Jardins-de-formiga para a realização dos ensaios alelopáticos. Os extratos vegetais aquosos dessas espécies foram obtidos do caule e das folhas a fresco. Para preparação dos extratos trituramos em liquidificador 5, 10, 20 e 30 g de cada órgão vegetal em 100 mL de água destilada e posteriormente filtramos. Obtendo-se assim extratos nas concentrações 5, 10, 20 e 30 g/100 mL.

Utilizamos como organismo teste, sementes de pepino (*Cucumis sativus*) adquiridas no comércio local. Escolhemos *Cucumis sativus* L. (pepino) por considerarmos uma espécie de fácil manipulação, e também por ser uma planta considerada indicadora por apresentar germinação rápida e uniforme, e por ter sensibilidade aos aleloquímicos mesmo em baixas concentrações (FERREIRA & ÁQUILA, 2000).

Realizamos os bioensaios em câmara de germinação com temperatura controlada de 25 °C $\pm$ 2 °C com fotoperíodo de 12 horas.

Acondicionamos as sementes em caixas gerbox forradas com duas folhas de papel filtro, previamente autoclavadas, e umedecidas com 5 mL do extrato de cada uma das quatro concentrações. Usamos também um tratamento controle, equivalente à concentração zero do extrato, onde o papel filtro foi umedecido com água destilada. Utilizamos cinco repetições de 30 sementes para cada uma das concentrações do extrato, totalizando 20 caixas gerbox por bioensaio.

Para o índice de velocidade de germinação (IVG) realizamos contagens diárias, segundo as regras para análise de sementes (BRASIL, 2009). Utilizamos para os cálculos do IVG a fórmula de Maguire (1962):

$$IVG = \frac{N_1}{D_1} + \frac{N_2}{D_2} + \dots + \frac{N_n}{D_n} \quad \text{Onde:}$$

N1: n= número de plântulas germinadas no dia 1,.....,n;

D1: n = dias para ocorrência da germinação.

Calculamos a porcentagem de germinação (G) de acordo com Labouriau e Valadares (1976), com o uso da seguinte fórmula:

$$G (\%) = \frac{N}{A} \times 100 \quad \text{Sendo que:}$$

N= número de sementes germinadas

A= número total de sementes.

Após 7 dias, ao fim do ensaio realizamos medidas de comprimento da parte aérea e da raiz das plântulas. Também realizamos registros sobre a aparência das plântulas, sendo considerada anormais aquelas que não mostraram potencial para continuar seu desenvolvimento, ou seja, as plântulas que estavam danificadas ou deformadas (BRASIL, 2009). Posteriormente estas foram acondicionadas em saco de papel tipo kraft e secadas em estufa por 72 horas a 65 °C para obtermos o valor da massa seca.

Utilizamos para análise de germinação de cada espécie o delineamento inteiramente casualizado, consistindo de um esquema fatorial 2 x 4 +1 sendo, duas partes da planta (extrato de caule e de folha) e com quatro concentrações (5, 10, 20 e 30 g/100mL) e um tratamento controle (água destilada), com cinco repetições de 30 sementes por tratamento.

Os parâmetros foram submetidos, *a priori*, ao teste de homocedasticidade de Levene (1960) e quando não normal o parâmetro foi submetido a transformação arco seno $\sqrt{(x/100)}$ (para porcentagem) e (Logaritmo $(y) + 1$) para os demais (Banzatto & Kronka, 2006). Após, realizamos as análises de variâncias (ANOVA). *A posteriori*, avaliamos a normalidade dos resíduos utilizando o Teste de Shapiro-Wilki e se os parâmetros atendiam aos pressupostos da ANOVA, e comparamos as médias utilizando Teste de Tukey a 5%. Quando detectada distribuição não normal, a Anova foi substituída por GLM com distribuição de Gaussian e quando verificado a presença de *overdispersion* Gaussian inverso. Realizamos as análises e os gráficos com o programa R (R Core Team, 2014). No caso de interação entre as variáveis explicativas o teste de Tukey foi realizado no programa Genes® (CRUZ, 2013). Para o parâmetro plantas anormais, por não atingir normalidade dos resíduos nem quando submetidos a famílias de GLM, apresentamos os dados em porcentagem.

Metodologia para o estudo do potencial alelopático ecológico

Sabendo que as formigas podem podar plantas não mutualísticas, para testar a presença de alelopatia ecológica, nós marcamos 21 ninhos de uma colônia localizada em uma grande clareira formada por uma estrada abandonada que divide uma área de floresta plantada e uma área de floresta nativa localizada na Fazenda São Nicolau. Em cada ninho, nós aplicamos dois tratamentos que consistiram em fixar plântulas de uma epífita mutualística habitante de Jardins-de-formigas e plântula não-mutualística que não ocorrem em Jardins-de-formigas. Fixamos as plântulas com alfinetes de aço (e.g.: WEIR et al., 2012). Aplicamos três plântulas de cada espécie por ninho totalizando 63 plântulas de epífitas mutualísticas e 63 de plantas não mutualísticas.

As plântulas da espécie de epífita mutualista aplicadas foram de *P. macrostachya*, a epífita mais frequente em Jardins-de-formiga nesta região (VICENTE et al., 2014). Coletamos as plântulas de *P. macrostachya* em ninhos distantes de onde estavam sendo realizados os experimentos para não gerar perturbações nos ninhos estudados. Utilizamos como plantas não mutualistas plântulas de pepino (*Cucumis sativus*), plântulas essas produzidas a partir de sementes comerciais (TopSeed Garden).

Após a fixação dos tratamentos inspecionamos os ninhos nos períodos de 15 minutos, 3 horas e 24 horas, observando quanto à retirada das plântulas. Para determinar se as remoções das plântulas de pepino foram superiores à remoção das plantas mutualísticas, o número de plantas removidas foi comparado entre plântulas de epífita mutualista e planta não mutualista utilizando o Teste t de Student. O teste foi realizado com o programa R (R Core Team, 2014)

Resultado

Alelopatia química

Os resultados estatísticos realizados com extrato das espécies de *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* na planta teste *Cucumis sativus* são apresentados na Tabela 1. O índice de velocidade de germinação e a porcentagem de germinação apresentou efeito nas concentrações do extrato das duas espécies de epífitas. No índice de velocidade de germinação nas duas espécies, a concentração que diferiu do controle foi a de 10g/100mL (Figura 1: A, B), e na porcentagem de germinação o que diferiu do controle foi a concentração 10 e 20g/100mL (Figura 1: C, D).

O comprimento da parte aérea foi afetado pelas concentrações do extrato das duas espécies de epífita, onde todas as concentrações diferiram do controle estimulando o aumento do comprimento da parte aérea em todas concentrações testadas (Figura 2: A, B). O efeito sobre o comprimento da raiz foi significativo somente para o extrato de *C. calcarata* que apresentou interação entre as partes da epífita e a concentração. Das partes, o caule diferiu de folha somente nas concentrações 10 e 30g/100mL. Considerando as concentrações, todas promoveram o crescimento, sendo que a maior diferença foi nas concentrações de folha e caule a 10 e 20 g/100mL, respectivamente (Figura 2: C).

Sobre o comprimento total, o extrato da epífita *C. calcarata* apresentou interação entre a parte da epífita e a concentração, sendo que o extrato de folha diferiu do caule nas concentrações 10 e 30g/100mL, respectivamente. Considerando as concentrações todas diferiram do controle promovendo o crescimento total das plântulas (Figura 2: D). No extrato de *P. macrostachya* as concentrações do extrato apresentaram efeito sobre o comprimento total de forma isolada, sendo que todas as concentrações diferiram do controle de forma positiva, aumentando o comprimento total (Figura 2: E).

O peso da parte aérea foi afetado pelo extrato de *C. calcarata* onde houve interação. Considerando a interação entre as partes houve diferença entre caule e folha nas concentrações 10, 20, 30g/100mL. Nas concentrações de folha não houve diferença do controle, mas nas concentrações de caule a concentração 30g/100mL difere do controle, mas não difere das outras

concentrações (Figura 3: A). O peso da parte aérea foi afetado pela parte (caule/folha) e concentração do extrato de *P. macrostachya*, sendo que na parte o caule diferiu de folha e nas concentrações todas diferiram do controle aumentando o peso da parte aérea (Figura 3: B, C).

O efeito sobre o peso da raiz foi significativo para concentração sob o extrato das duas espécies de epífitas, sendo que todas as concentrações diferiram do controle, aumentando o peso da raiz (Figura 3: D, E). O Peso total foi afetado pelo extrato das duas espécies sendo que parte da epífita e concentração do extrato interagiram. Em *C. calcarata* o caule diferiu de folha nas concentrações 20 e 30g/100mL, e nas concentrações de folha não houve diferença do controle, mas para as concentrações de caule houve diferença sendo que na concentração de 30g/100mL o caule diferiu do controle (Figura 3: F). Na interação no extrato de *P. macrostachya* só houve diferença da folha para caule na concentração de 5g/100mL (Figura 3: G).

Somando todas as sementes do experimento com extrato de folhas de *P. macrostachya* encontramos um percentual de 1,6 % de plantas anormais, e para o extrato do caule 1,8%. *C. calcarata* apresentou os maiores números de plântulas anormais nos dois tipos de extrato (caule/folha), sendo que nos extratos das folhas apresentou 2,6% de plântulas anormais e no extrato de caule teve 5,3%. O controle apresentou 0,5% de plantas anormais.

Tabela 1. Resultado da Análise de Variância - ANOVA dos efeitos dos extratos de *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* na germinação de sementes de *Cucumis sativus*. (IVG: índice de velocidade de germinação; MS: média dos quadrados).

Variável dependente	Variável independente	<i>Codonanthe calcarata</i>	<i>Peperomia macrostachya</i>
		MS	
IVG	Parte	2.880	4.761
	Concentração	12.357*	14.424*
	Interação	2.305	1.405
% Germinação	Parte	0.00086	0.49
	Concentração	0.03490*	134.97*
	Interação	0.00395	11.27
Comprimento Parte aérea	Parte	0.00224	0.924
	Concentração	0.08850***	23.642***
	Interação	0.00228	1.064
Comprimento Raiz	Parte	0.10664***	-
	Concentração	0.09380***	-
	Interação	0.04337**	-
Comprimento Total	Parte	9.56**	0.0000
	Concentração	42.49***	0.3476***
	Interação	3.58**	0.0080
Peso Parte aérea	Parte	0.004068***	0.003920***
	Concentração	0.000328	0.000674*
	Interação	0.001234**	0.000622
Peso Raiz	Parte	0.0000168	-
	Concentração	0.0004119***	-.***
	Interação	0.0000141	-
Peso Total	Parte	0.003562**	0.005063***
	Concentração	0.001147*	0.002107***
	Interação	0.001312*	0.000810*

“**” significativo a 1 e “*” a 5% de probabilidade. Em *C. calcarata* a porcentagem de germinação foi homogeneizada com a transformação arco seno, e no parâmetro comprimento da parte aérea e da raiz foram homogeneizadas com logaritmização. Em *P. macrostachya* para avaliação dos parâmetros comprimento e peso da raiz foi utilizado GLM – Gaussian inverso, comprimento total foi homogeneizado com logaritmização.

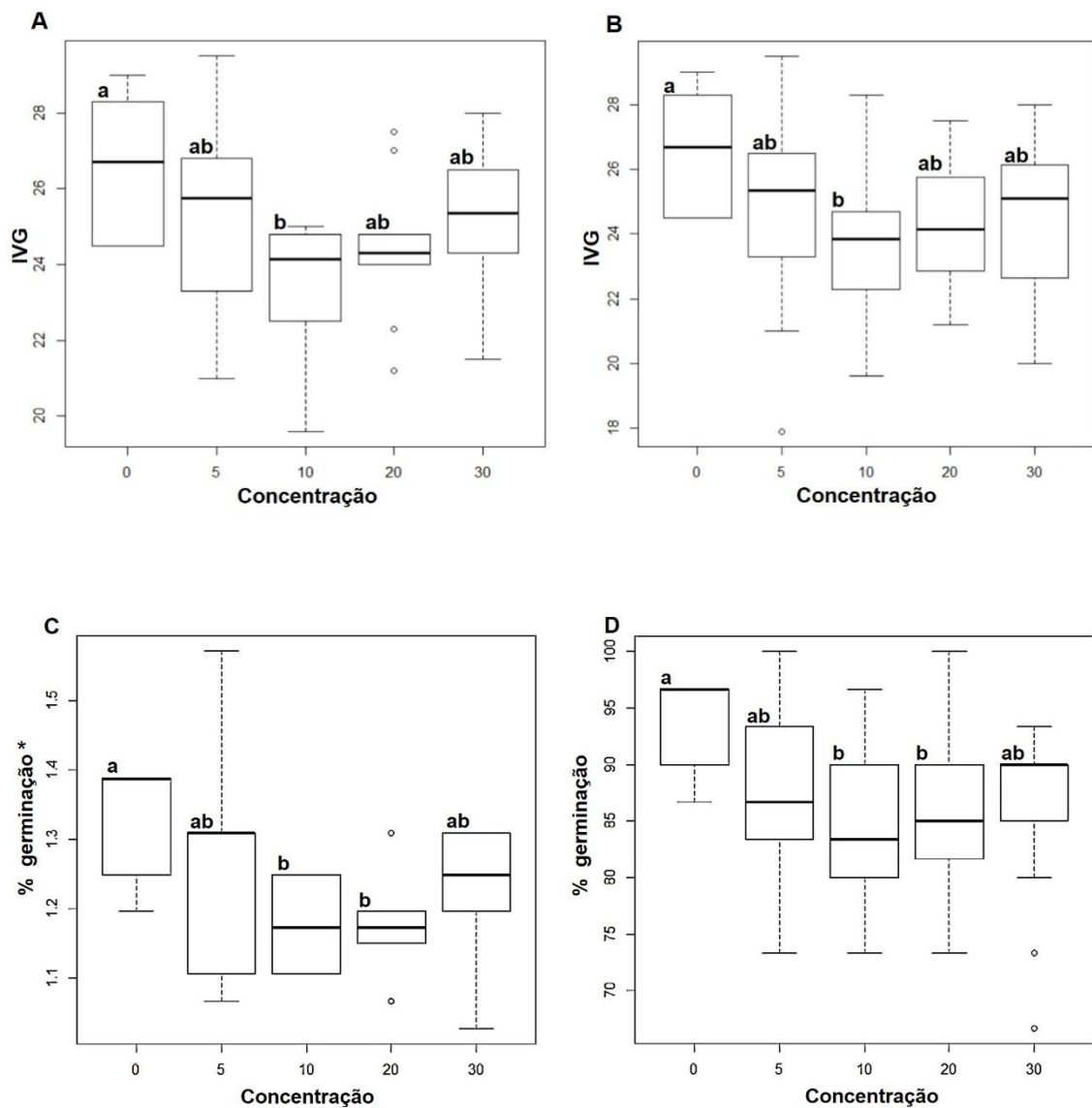


Figura 1. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Índice de velocidade de germinação (IVG): *C. calcarata* (A), *P. macrostachya* (B). Porcentagem de germinação: *C. calcarata* (C) e *P. macrostachya* (D). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração.

* Transformação com arco seno.

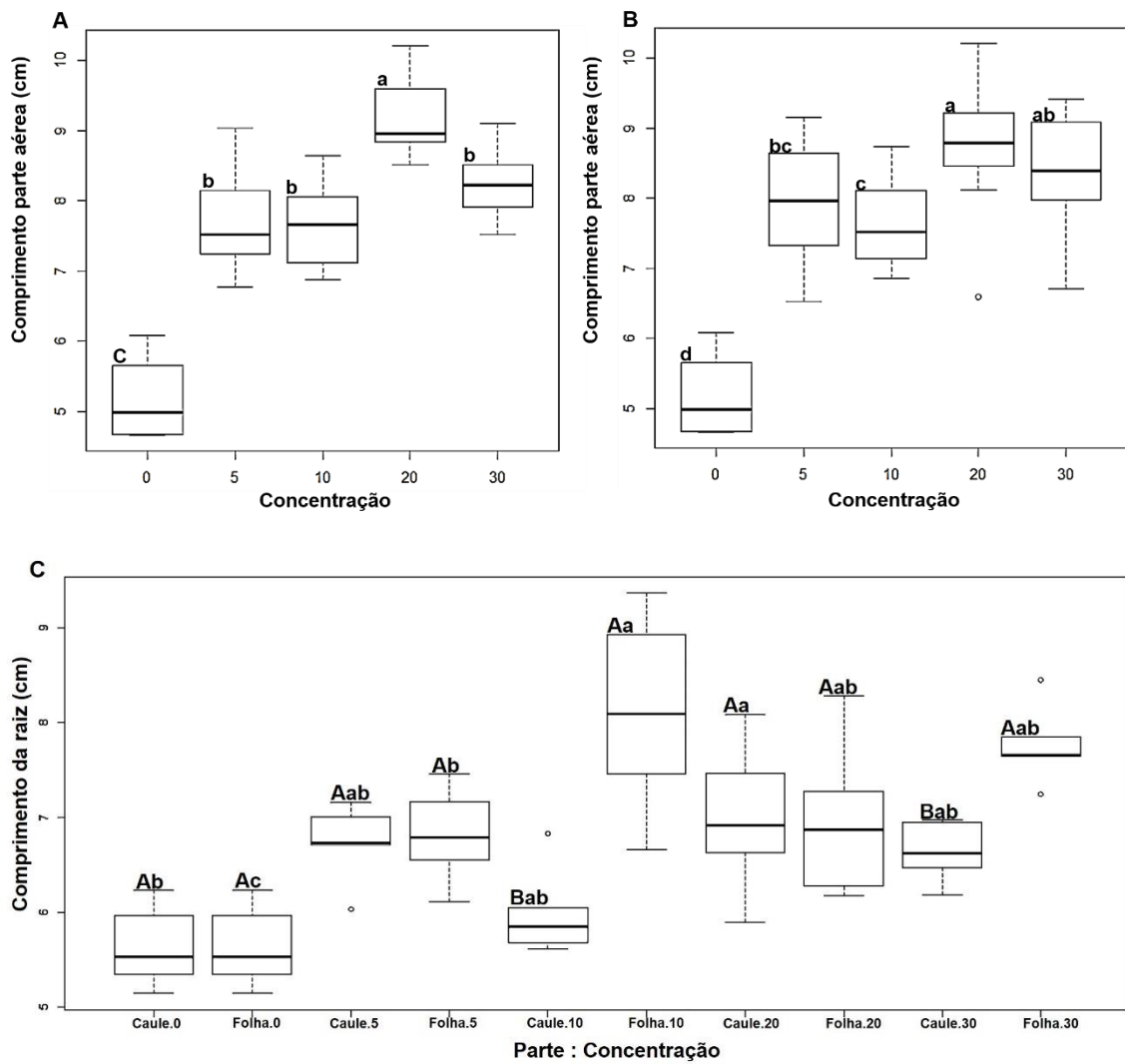


Figura 2. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Comprimento da parte aérea: *C. calcarata* (A) e *P. macrostachya* (B). O comprimento da raiz: *C. calcarata* (C). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.

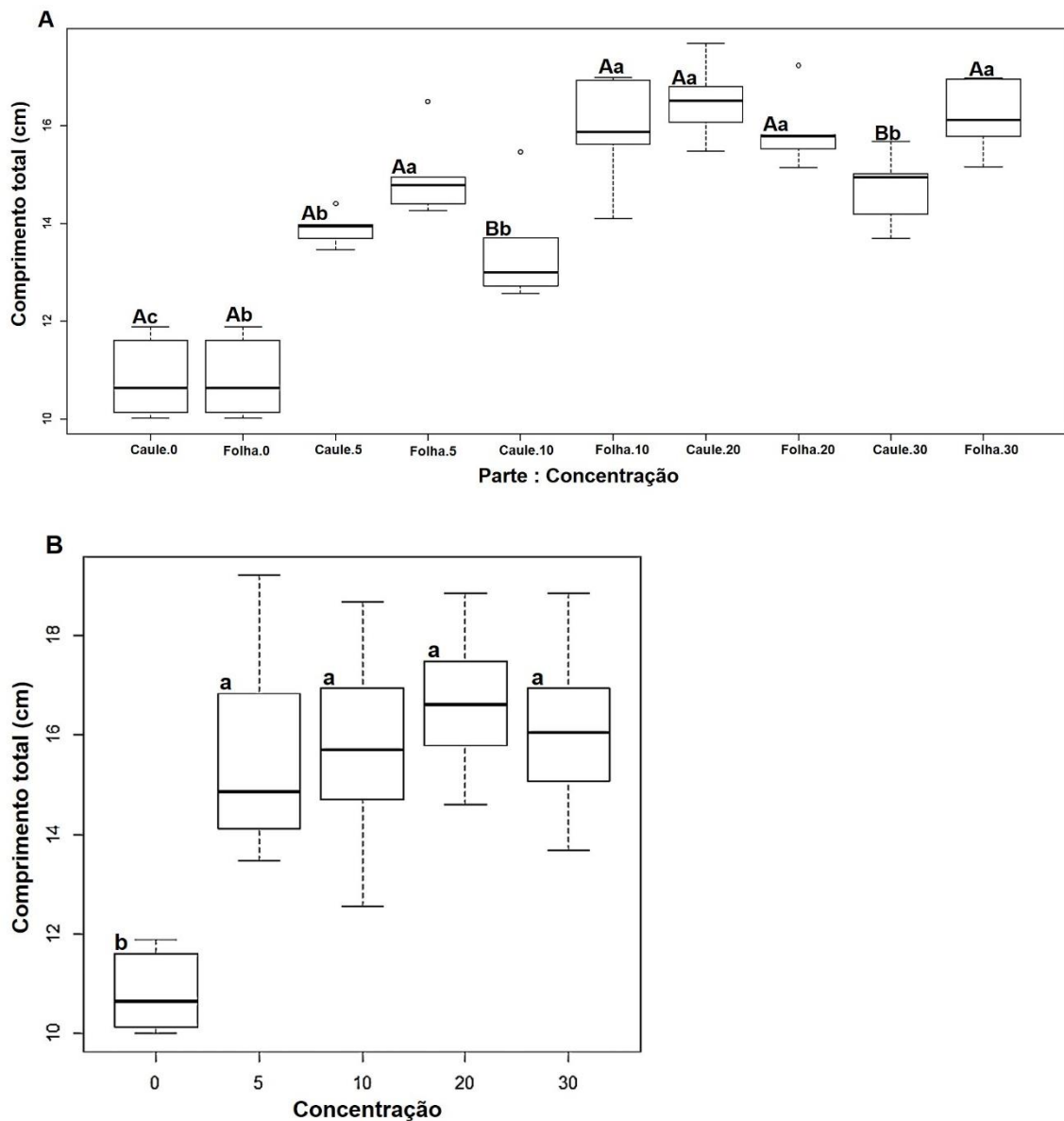


Figura 3. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Comprimento total: *C. calcarata* (A). Comprimento total: *P. macrostachya* (B). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.

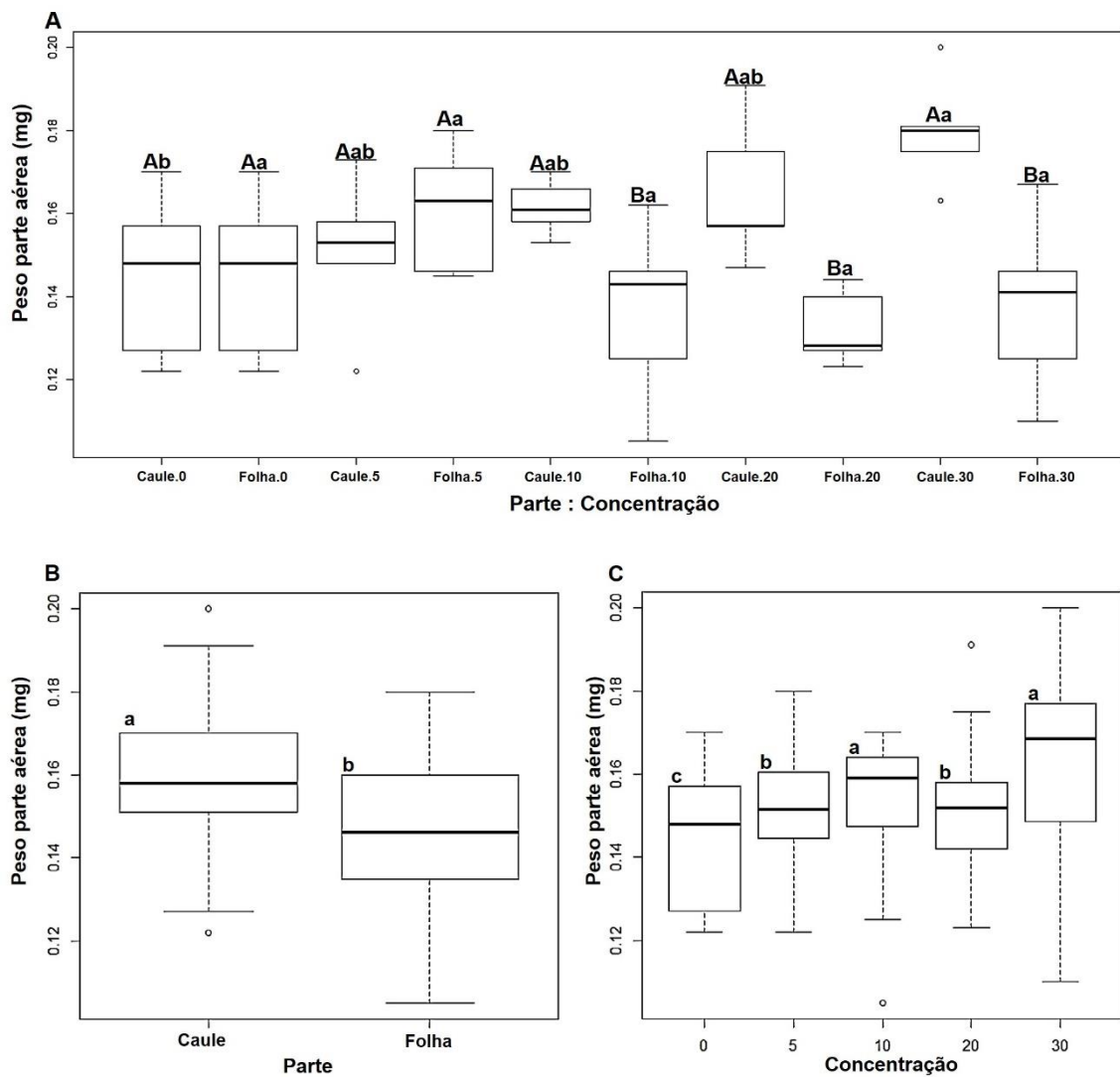


Figura 4. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Peso da parte aérea: *Codonanthe calcarata* (A), *Peperomia macrostachya* (B, C). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.

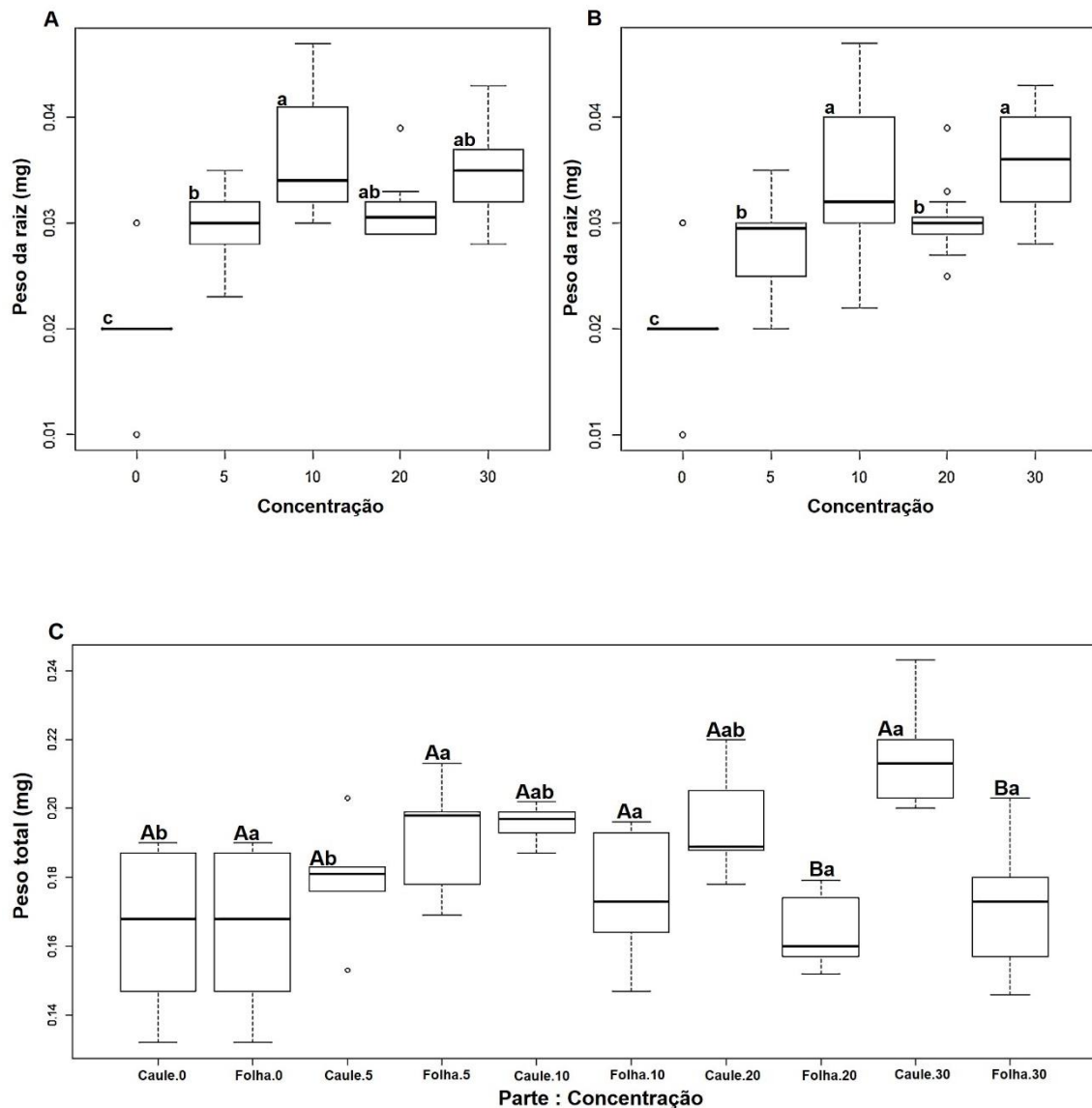


Figura 5. Efeito dos extratos das espécies *Codonanthe calcarata* e *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Peso da raiz: *Codonanthe calcarata* e (A) *Peperomia macrostachya* (B). O peso total: *Codonanthe calcarata* (C). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.

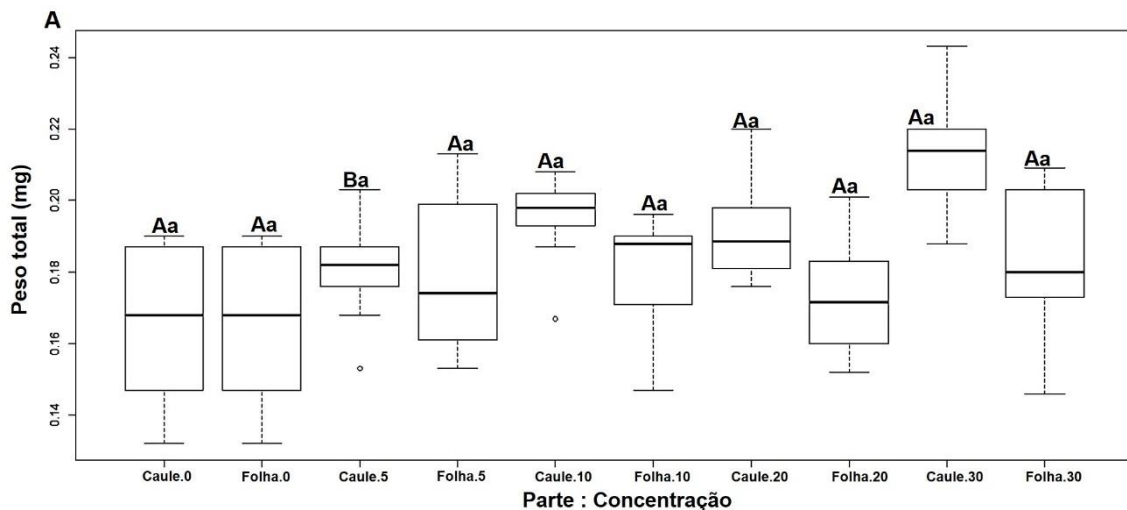


Figura 6. Efeito do extrato de *Peperomia macrostachya* em sementes de *Cucumis sativus*. Peso total: *Peperomia macrostachya* (A). Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância, em cada concentração. Na presença de interação entre os parâmetros, letras maiúsculas compara-se as partes (caule/folha) e letras minúsculas compara-se as concentrações.

Alelopatia ecológica

A remoção de plântulas foi diferente entre a planta mutualística e não mutualística ($t = 10.519$; $p < 0,05$). Foram removidas 53% das plântulas administradas ($N = 67$). Deste total, 46% do total de plântulas removidas foram de espécies não mutualísticas ($N = 58$) (Figura 4), e só 7% das espécies mutualísticas ($N = 9$) (Figura 5). Quanto ao tempo, após 15 min ($N = 7$) ou 3 horas ($N = 10$) a taxa de remoção foi exclusivamente de espécies não mutualísticas.



Figura 7. Experimento de alelopatia ecológica com plântulas de espécies não mutualística (*Cucumis sativus*) sendo cortadas pelas formigas (círculo amarelo).

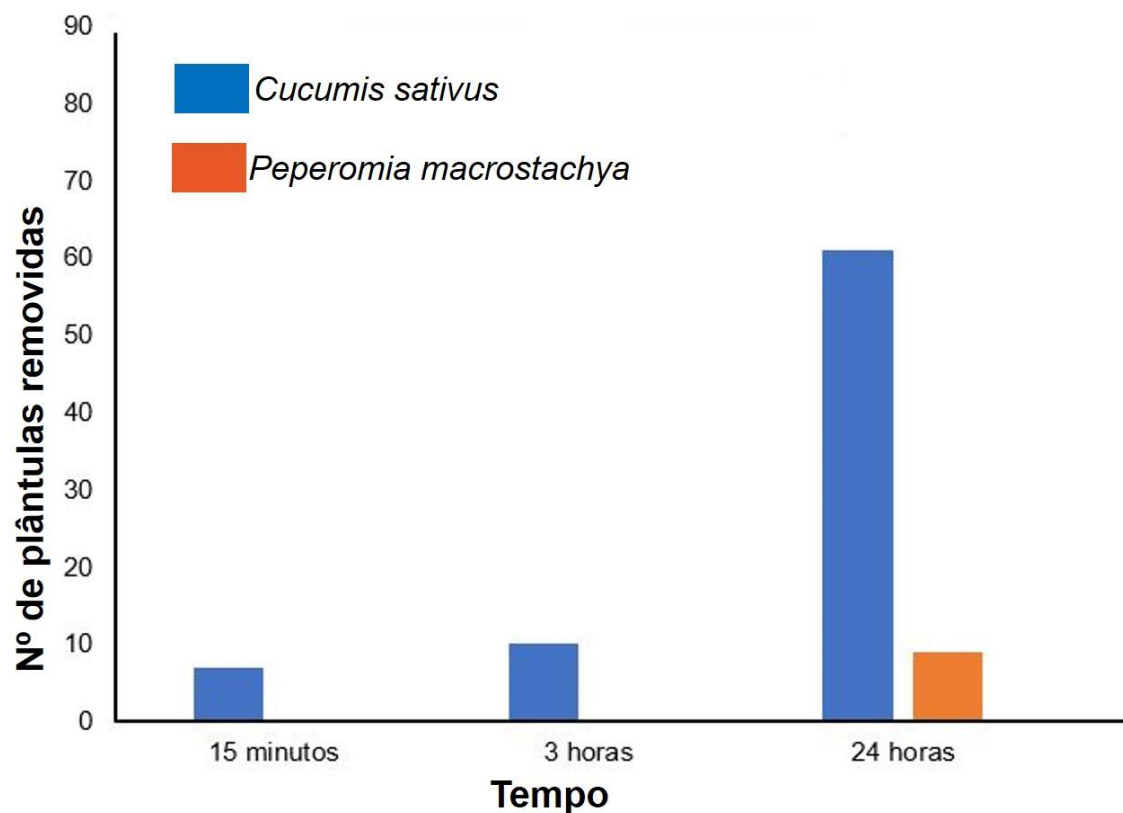


Figura 8. Gráfico com o número de plântulas de *Peperomia macrostachya* (espécie mutualística) e plântulas de *Cucumis sativus* (não mutualística) removidos durante o experimento de alelopatia ecológica.

Discussão

Neste trabalho, vemos que tanto as epífitas mutualistas *Peperomia macrostachya* e *Codonanthe calcarata* quanto as formigas parabióticas *Camponotus femoratus* e *Crematogaster levior*, que ocorrem em Jardins-de-formigas ao longo da Amazônia, desempenham processo alelopático. Também, salientamos que a alelopatia química que as epífitas desempenham age de forma negativa nos parâmetros de germinação, positiva nos parâmetros de crescimento e atua de forma irrelevante no crescimento de plântulas anormais. Enquanto isso, as formigas agem de forma seletiva, cortando as espécies não mutualistas.

Nos resultados dos testes de alelopatia química o extrato das espécies das epífitas mutualistas *Peperomia macrostachya* e *Codonanthe calcarata*, diminuíram os índices de velocidade de germinação (IVG) e a porcentagem de germinação em relação ao controle. A redução no IVG pode ser explicada pelas reações que podem ocorrer entre os metabólitos secundários do extrato e do conteúdo celular das sementes retardando as reações bioquímicas necessárias para iniciar o processo de germinação das sementes (FERREIRA & BORGHETTI, 2004). A porcentagem de germinação geralmente é considerada menos sensível aos aleloquímicos (FERREIRA & AQUILA, 2000; FERREIRA & BORGHETTI, 2004), o que justifica a pequena diferença entre as concentrações e a amplitude de variação dentro dos níveis do tratamento encontrado nesse estudo. Mesmo com esses atenuantes, tanto o extrato de *C. calcarata* quanto *P. macrostachya* apresentaram efeito alelopático sobre esses parâmetros.

Os efeitos alelopáticos que ocorreram para os parâmetros de comprimento e peso, tanto peso e comprimento total, quanto das partes isoladamente, nos indicou que houve uma influência positiva dos extratos estimulando o desenvolvimento da plântula de *Cucumis sativus*. É comum os compostos com atividade alelopática atuarem como inibidores de crescimento (EINHELLIG, 1999; FERREIRA & ÁQUILA, 2000) agindo como um fator essencial na competição interespecífica (UESUGI et al., 2019; BIEBERICH et al., 2018; DHUNGANA et al., 2019). Porém, existem alguns trabalhos que relatam estímulos no crescimento das plântulas (RICE, 1984; LIN et al., 2004; CRUZ-SILVA et al., 2009; SAUSEN et al., 2009; SILVA et al., 2011).

Há poucas explicações a respeito do estímulo de crescimento de plântulas em testes alelopáticos. Dentre as encontradas, uma sugere que ocorra interferência dos aleloquímicos nos fitormônios (AQÜILA et al., 1999), e a outra, que há presença de compostos como açúcares, aminoácidos e sais no extrato (SAUSEN et al., 2009) estimulando o crescimento das plântulas. Mas os efeitos benéficos de uma planta sobre outra não devem ser desvinculados do conceito de alelopatia (RICE, 1979). Portanto, nos Jardins-de-formigas, as sementes têm sua germinação afetada por substâncias alelopáticas podendo ter suas chances de germinação diminuídos. As que germinam, são favorecidas quanto ao seu desenvolvimento. Estudos futuros devem identificar se foram hormônios que estimularam o crescimento ou que o extrato funcionou como nutriente. Também devemos considerar que as condições ambientais em que as plantas são encontradas em campo, podem afetar a produção de aleloquímicos, a estrutura química, o grau de atividade de substâncias liberadas no meio e a sua disponibilidade para as plantas vizinhas (HADACEK, 2002; MACÍAS et al. 2007, REIGOSA et al., 2013).

As formigas demonstraram alelopatia ecológica, apresentando efeito seletivo negativo para as plantas não mutualistas. Isso porque as formigas removeram quase que exclusivamente as plântulas de espécies não mutualistas, chegando ao total de 92% das plântulas de espécies não mutualistas fixadas. Um dos primeiros estudos que utiliza o termo alelopatia para remoção de plantas competidora por formigas, demonstrou que formigas do gênero *Azteca* que vivem associadas a árvores do gênero *Cecropia* cortavam as extremidades dos ramos de lianas que tocavam sua espécie mutualista. O termo alelopatia foi utilizado porque as formigas agem da mesma forma que os aleloquímicos produzidos pelas plantas para inibir o desenvolvimento de plantas competidoras (JANZEN, 1969).

As formigas praticam a poda de espécies não mutualistas, tratada como alelopatia ecológica neste trabalho, protegendo as plantas hospedeiras contra o crescimento excessivo de plantas competidoras, reduzindo assim, a competição por água, luz e nutrientes (JANZEN, 1969; MORAWETZ et al., 1992; TANAKA & ITIOKA, 2011). Esses fatores são tão importantes para as plantas, que influenciam na sobrevivência e na distribuição das plantas (HEIL & MCKEY,

2003; CHAMBERLAIN & HOLLAND, 2009). A poda pode também isolar a planta impedindo a invasões de formigas concorrentes (DAVIDSON et al., 1988; FEDERLE et al, 2002). A poda das plantas competidoras pode aumentar o fitness da planta, que investe mais recursos em crescimento da planta hospedeira beneficiando as formigas com mais abrigos e oferta de alimentos (RENNER & RICKLEFS, 1998; AMADOR-VARGAS, 2011).

Como visto, este é o primeiro estudo a avaliar tanto a alelopatia química quanto a alelopatia ecológica (poda) em Jardins-de-formigas, pois a maioria dos estudos possui enfoque em um dos mecanismos isoladamente. Ainda, a maioria desses estudos são realizados em sistemas biológicos diferentes de Jardins-de-formigas, como por exemplo, sistemas de produção no caso de alelopatia química e mirmecófitas em alelopatia ecológica. Os dados deste estudo em um sistema considerado complexo, demonstram que epífitas e formigas agem de forma complexa na composição das epífitas presentes em Jardins-de-formigas, pois enquanto a epífita inibe parâmetros de germinação e favorece o crescimento de plantas, as formigas cortam plantas. Porém, para o sistema esses dados são complementares e podem ser um dos principais motivos pelo qual os Jardins-de-formigas são um sistema robusto onde as epífitas inibem a germinação de plantas não mutualistas, e quando estas tapeiam o mecanismo as formigas cortam essas plantas que poderiam colonizar o ninho sem trazer benefícios para o sistema, e por fim, as epífitas ao perderem estruturas de seu corpo vegetativo ao longo de seu ciclo de vida, fornecem benefícios ao serem reabsorvidos pelo sistema.

Considerações finais

Nossas hipóteses de que as plantas de Jardins-de-formigas apresentassem alelopatia química inibindo a germinação e o desenvolvimento de plantas foi confirmada, pois o extrato de ambas as epífitas diminuiu a velocidade e porcentagem de sementes germinadas enquanto beneficiou o desenvolvimento das plântulas germinadas de *Cucumis sativus*. A hipótese de que as formigas demonstrassem alelopatia ecológica, removendo as plântulas de plantas não mutualísticas dos Jardins-de-formigas também foi confirmada pois ocorreu alelopatia ecológica onde as formigas cortaram as plântulas não mutualísticas dos jardins. Sendo assim, acreditamos que tanto as epífitas quanto as formigas atuam na composição florística dos ninhos.

Referências Bibliográficas

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE-MORAES-GONÇALVES, J. L.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, N. 6, p. 711–728, 2013.

AMADOR-VARGAS, S. Plant killing by mutualistic ants increases the density of host species seedlings in the dry forest of Costa Rica. **Psyche: A Journal of Entomology**, v. 2012, 2011.

AQUILA, M. E. A.; UNGARETTI, J. A. C.; MICHELIN, A. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, Argentina, v. 502, p.383-388, 1999.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237 p.

BIEBERICH, J.; LAUERER, M.; DRACHSLER, M.; HEINRICHS, J.; MÜLLER, S.; FELDHAAR, H. Species-and developmental stage-specific effects of allelopathy and competition of invasive *Impatiens glandulifera* on co-occurring plants. **PloS one**, v. 13, n. 11, 2018.

BLÜTHGEN, N.; SCHMIT-NEUERBURG, V.; ENGWALD, S.; BARTH-LOTT, W. Ants as epiphyte gardeners: comparing the nutrient quality of ant and termite canopy substrates in a Vene-zuelan lowland rain forest. **Journal of Tropical Ecology**, v. 17, n. 6, p. 887-894, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 399p.

CHAMBERLAIN, S. A.; HOLLAND, J. N. Quantitative synthesis of context dependency in ant–plant protection mutualisms. **Ecology**, v. 90, n. 9, p. 2384-2392, 2009.

CRUZ, C.D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

CRUZ-SILVA, C. T. A.; SANTORUM, M.; BINI, F. V. Efeito alelopático de extratos aquosos de *Senecio brasiliensis* (Spreng) Less sobre a germinação e o desenvolvimento de plântulas. **Cultivando o Saber**, v. 2, n. 1, p. 62-70, 2009.

DAVIDSON, D. W. Ecological studies of neotropical ant gardens. **Ecology**, v. 69, n. 4, p. 1138-1152, 1988.

DEJEAN, A.; CORBARA, B.; ORIVEL, J.; SNELLING, R. R.; DELA-BIE, J. H. C.; BELIN-DEPOUX, M. The importance of ant gardens in the pioneer vegetal formations of French Guiana. **Sociobiology**, v. 35, n. 3, p. 425-440, 2000.

DHUNGANA, S. K.; KIM, I. D.; ADHIKARI, B.; KIM, J. H.; SHIN, D. H. Reduced germination and seedling vigor of weeds with root extracts of maize and soybean, and the mechanism defined as allelopathic. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, v. 22, n. 1, p. 11-16, 2019.

EINHELLIG, F. A. An integrated view of allelochemicals amid multiple stresses. **Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions**, p. 479-494, 1999.

FEDERLE, W.; MASCHWITZ, U.; HÖLLDOBLER, B. Pruning of host plant neighbours as defence against enemy ant invasions: *Crematogaster* ant partners of *Macaranga* protected by "wax barriers" prune less than their congeners. **Oecologia**, v. 132, n. 2, p. 264-270, 2002.

FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 316p

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. ALELOPATIA: Uma Área Emergente Da Ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n.1, p. 175-204, 2000.

FREDERICKSON, M. E. Ant species confer different partner benefits on two neotropical myrmecophytes. **Oecologia**, v. 143, n. 3, p. 387-395, 2005.

GRESSEL, J. B.; HOLM, L. G. Chemical inhibition of crop germination by weed seed and the nature of the inhibition by *Abutilon theophrasti*. **Weed Research**, v.4, p.44-53, 1964.

HADACEK, F. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 21, n. 4, p. 273-322, 2002.

HEIL, M; MCKEY, D. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 34, n. 1, p. 425-553, 2003.

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapa da vegetação brasileira**. 3ª edição. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. 2004.

JANZEN, D. H. Allelopathy by myrmecophytes: the ant *Azteca* as an allelopathic agent of *Cecropia*. **Ecology**, v. 50, n. 1, p. 147-153, 1969.

KAUFMANN E.; MASCHWITZ U. Ant-gardens of tropical Asian rainforests. **Naturwissenschaften**, v. 93, p. 216-227, 2006.

KLEINFELDT, S. E. Ant-gardens: mutual exploitation. Pp. 283–294 in: Juniper, B., & T.R.E. Southwood (eds.). **Insects and the plant surface**. Edward Arnold, London, 1986.

KLEINFELDT S. E. Ant-gardens: the interaction of *Codonanthe crassifolia* (Gesneriaceae) and *Crematogaster longispina* (Formicidae). **Ecology**, v. 59, n. 3 p. 449-456, 1978.

LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. **Anais ...**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 2, p. 263-284, 1976.

LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: **Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling**. Eds. I. Olkin, H. Hotelling. 1960.

LIN, D. Z.; TSUZUKI, E.; SUGIMOTO, Y.; DONG, Y. J.; MATSUO, M.; TERAU, H. Allelopathic effects of aqueous Aloe vera leaf extracts on selected crops. **Allelopathy Journal**, v. 13, n. 1, p. 67-74, 2004.

MACIAS, F. A.; MOLINILLO, J. M.; VARELA, R. M.; GALINDO, J. C. Allelopathy-a natural alternative for weed control. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 63, n. 4, p. 327-348, 2007.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor 1. **Crop science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MARINI-FILHO, O. J. Distribution, composition, and dispersal of ant gardens and tending ants in three kinds of central Amazonian habitats. **Tropical Zoology**, v. 12, n. 2, p. 289-296, 1999.

MORAWETZ, W.; HENZL, M.; WALLNÖFER, B. Tree killing by herbicide producing ants for the establishment of pure *Tococa occidentalis* populations in the Peruvian Amazon. **Biodiversity & Conservation**, v. 1, n. 1, p. 19-33, 1992.

ORIVEL, J.; DEJEAN, A. Selection of epiphyte seeds by ant-garden ants. **Ecoscience**, v. 6, n. 1, p. 51-55, 1999.

ORIVEL J.; LEROY C. The diversity and ecology of ant gardens (Hymenoptera: Formicidae, Spermatophyta: Angiospermae). **Myrmecol News**, v. 14, p. 73–85, 2011.

PAOLUCCI, L. N.; SOLAR, R. R. C; LEAL, L. C. Proximity shapes similarity in epiphytic composition of Neotropical ant gardens. **Journal of Tropical Ecology**, v. 32, n. 4, p. 325-329, 2016.

REIGOSA, M.; GOMES, A. S.; FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Allelopathic research in Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 4, p. 629-646, 2013.

RENNER, S. S.; RICKLEFS, R. E. Herbicidal activity of domatia-inhabiting ants in patches of *Tococa guianensis* and *Clidemia heterophylla*. **Biotropica**, v. 30, n. 2, p. 324-327, 1998.

RICE, E. L. **Allelopathy**. 2 ed. New York: Academic Press, 1984. 353 p.

RICE, E. L. Allelopathy: an update. **The Botanical Review**, v. 45, n. 1, p. 15-109, 1979.

SANTOS, M. J. L.; MACHADO, I. C. Biologia floral e heterostilia em *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy (Clusiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 12, n. 3, p. 451-464, 1998.

SAUSEN, T. L.; LÖWE, T. R.; FIGUEIREDO, L. S.; BUZATTO, C. R. Evaluación de la actividad alelopática del extracto acuoso de las hojas de *Eugenia involucrata* DC. y *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret. **Polibotanica**, n. 27, p. 145-158, 2009.

SILVA, V. S. D.; CÂNDIDO, A. C. D. S.; MULLER, C.; LAURA, V. A.; FACCENDA, O., SIMIONATTO, E.; PERES, M. T. L. P. Potencial fitotóxico de *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw. (Gleicheniaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 1, p. 95-104, 2011.

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MARTINS, D. E.; ROSOLEM, C. A. Efeito alelopático de Capim-Braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 657-668, 2006.

TANAKA, H. O.; ITIOKA, T. Ants inhabiting myrmecophytic ferns regulate the distribution of lianas on emergent trees in a Bornean tropical rainforest. **Biology letters**, v. 7, n. 5, p. 706-709, 2011.

TEAM, R. C. R: **A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2014.

UESUGI, A.; JOHNSON, R.; KESSLER, A. Context-dependent induction of allelopathy in plants under competition. **Oikos**, v. 128, n. 10, p. 1492-1502, 2019.

VANTAUX, A.; DEJEAN, A.; DOR, A.; ORIVEL, J. Parasitism versus mutualism in the ant-garden parabiosis between *Camponotus femoratus* and *Crematogaster levior*. **Insectes Sociaux**, v. 54, n. 1, p. 95-99, 2007.

VICENTE, R. E.; DAMBROZ, J.; BARRETO, M. New distribution record of *Daceton boltoni* Azorsa and Sosa-Calvo, 2008 (Insecta: Hymenoptera) ant in the Brazilian Amazon. **Check List**, v. 7, n. 6, p. 878-879, 2011.

VICENTE, R. E., DÁTTILO, W.; IZZO, T. J. Differential Recruitment of *Camponotus femoratus* (Fabricius) Ants in Response to Ant Garden Herbivory. **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 6, p. 519-525, 2014.

WEIR, T. L.; NEWBOLD, S.; VIVANCO, J. M.; VAN HAREN, M.; FRITCHMAN C.; DOSSEY, A. T.; BARTRAM, S.; BOLAND, W.; COSIO, E. G.; KOFER, W. Plant-inhabiting ant utilizes chemical cues for host discrimination. **Biotropica**, v. 44, n. 2, p. 246-253, 2012.

YU, D. W. The structural role of epiphytes in ant gardens. **Biotropica**, v. 26, n. 2
p. 222-226, 1994

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

As epífitas identificadas no inventário florístico são frequentemente relatadas em outros estudos com jardins-de-formigas de *Camponotus femoratus* e *Crematogaster levior* ao longo da Amazônia. A presença de raízes estruturadoras, nectários extraflorais, tricomas glandulares, compostos metabólicos são estruturas dessas epífitas que são atrativas para formigas. A mucilagem, hipoderme e o velame são características anatômicas encontradas nas epífitas que facilitam a vida nas clareiras torna-as bem adaptadas a esse ambiente e consequentemente aos jardins-de-formigas assim favorecendo a coocorrência entre elas. Além dessas características biológicas que atuam selecionando a composição das epífitas dos jardins, as epífitas *Peperomia macrostachya*, *Codonanthe calcarata* e as formigas parabióticas agem como alelopáticos químicos e ecológicos, respectivamente, sobre a composição florística dos ninhos. Esses fatores atuam como filtros para a colonização dos ninhos, o que justifica a pequena porcentagem das espécies de epífitas neotropicais disponíveis no *pool* de espécies locais ocorrendo em jardins-de-formigas.