UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

“Estruturas secretoras em sicônios de espécies de *Ficus* L. (Moraceae)”

Camila Devicaro de Souza

**Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como
parte das exigências para obtenção de título de
Mestre em Ciências, Área: Biologia Comparada.**

RIBEIRÃO PRETO – SP

2014

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Camila Devicaro de Souza

Orientadora: Profa. Dra. Simone de Pádua Teixeira

Colaborador: Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira

“Estruturas secretoras em sicônios de espécies de *Ficus* L. (Moraceae)”

Versão corrigida

RIBEIRÃO PRETO – SP

2014

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Catálogo na Publicação

Serviço de Documentação

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Souza, Camila Devicaro

Estruturas secretoras em sicônios de espécies de *Ficus* L. (Moraceae). Ribeirão Preto, 2014. 49p.

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área: Biologia Comparada.

Orientadora: Simone de Pádua Teixeira

1. anatomia, 2. glândulas, 3. laticíferos, 4. óleos voláteis, 5. osmóforos, 6. tecidos fenólicos

FOLHA DE APROVAÇÃO

Camila Devicaro de Souza

Estruturas secretoras em sicônios de
espécies de *Ficus* L. (Moraceae)

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como
parte das exigências para obtenção de título de
Mestre em Ciências, Área: Biologia Comparada.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Assinatura _____

Aos meus pais, Carlos e Maria do Carmo,
ao meu irmão, Felipe, e ao meu amor, Rafael,
pela força que representam em minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre guiar meus passos.

À Profa. Dra. Simone de Pádua Teixeira, pela orientação, pelo exemplo de profissionalismo e pelos momentos de convivência harmoniosa e de aprendizagem. Obrigada por me aceitar desde o primeiro momento e por me guiar pelos caminhos da academia.

Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Comparada pela oportunidade de realizar este trabalho. Aos professores do programa que sempre se mostraram prontos a ajudar e partilhar o conhecimento. Às secretárias do programa, Vera Cassia de Lucca e Renata Aparecida de Andrade Cavallari, pela disponibilidade e auxílio.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira pela colaboração no trabalho e por partilhar de seu conhecimento.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho (processo nº 2012/01247-7).

Ao Departamento de Ciências Farmacêuticas (FCFRP/USP), por disponibilizar o espaço físico para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao técnico do laboratório de Botânica (FCFRP/USP), Edmárcio da Silva Campos pela amizade e apoio técnico.

Aos técnicos José Augusto Maulin da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Rodrigo Ferreira Silva da Faculdade de Química de Ribeirão Preto, pela colaboração e concessão de equipamentos para a realização deste trabalho.

A João Paulo Basso Alves pela ajuda na confecção das filogenias.

Aos amigos do laboratório de Botânica, Ana Paula, Cristina, Giseli, João Paulo, Juliana Milani, Juliana Paulino, Liana, Marina, Priscila, Raquel, Thais e Viviane, pelos momentos de aprendizagem, pela amizade e pelos momentos de descontração partilhados no convívio diário.

Aos meus pais, ao meu irmão e ao Rafael pelo carinho, amor incondicional, incentivo e apoio. Obrigada por me dar a força necessária para seguir em frente nos momentos difíceis e nunca me deixar desistir.

Às amigas que encontrei na graduação e que me acompanham até hoje, Camila Palma, Damily, Geisa, Joana, Laís, Rafaella e Raquel, pela amizade, companheirismo e apoio em todos estes anos.

Enfim, a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram com este trabalho e para o meu crescimento pessoal e profissional.

Resumo. Espécies de *Ficus* e suas vespas polinizadoras representam um dos sistemas mutualísticos mais especializados e estudados atualmente, no qual cada representante depende diretamente do outro para sua reprodução. As vespas que recém-emergem de um figo carregam grãos de pólen em seu corpo e são atraídas pelo odor produzido no sicônio (= inflorescência), em fase receptiva, de outro indivíduo. Ao entrar no sicônio através de sua abertura (ostíolo), as vespas não só depositam seus ovos, como também polinizam as flores femininas abertas, iniciando um novo ciclo de vida. Apesar de inúmeros estudos envolvendo questões químicas, filogenéticas, ecológicas, coevolutivas e reprodutivas desse mutualismo, são raros os estudos abrangendo a anatomia do sicônio e as estruturas secretoras presentes nesta inflorescência. Assim, o objetivo deste trabalho consistiu em localizar e caracterizar as estruturas secretoras ativas em sicônios em fase receptiva de nove espécies, representando diferentes linhagens do gênero, esperando-se encontrar as glândulas responsáveis pela produção das fragrâncias atrativas às vespas polinizadoras, e também estruturas que secretam substâncias atuantes na proteção desta inflorescência. Sicônios de *Ficus auriculata*, *F. citrifolia*, *F. lyrata*, *F. microcarpa*, *F. montana*, *F. obtusiuscula*, *F. pumila*, *F. tikoua* e *F. variegata* em fase receptiva foram coletados e processados de acordo com as técnicas usuais para análise em microscopias fotônica e eletrônica de varredura. Grande diversidade de estruturas secretoras foi encontrada nos sicônios das espécies investigadas. Pela primeira vez os sítios produtores de fragrâncias atrativas às vespas foram identificados e consistem em glândulas de odor (osmóforos) de localização distinta: nas brácteas do ostíolo e no receptáculo da inflorescência. Ambos os osmóforos aparentemente atuam na etapa de atração das vespas a longas distâncias; porém o osmóforo presente no receptáculo da inflorescência parece atuar também na quimioestimulação por contato das vespas polinizadoras que pousam no sicônio receptivo, estimulando-as a entrar na inflorescência. Estas glândulas teriam surgido no gênero *Ficus*, não ocorrendo em linhagens ancestrais na mesma família, corroborando a importância dos voláteis na manutenção do mutualismo figo-vespa de figo. Além das glândulas de odor, os sicônios das espécies de *Ficus* apresentam outras estruturas secretoras não relacionadas à atração de polinizadores, como laticíferos, idioblastos fenólicos, epiderme fenólica e tricomas secretores de compostos fenólicos, nas brácteas do ostíolo, no receptáculo da inflorescência e em tecidos florais. Estas estruturas devem atuar na proteção do sicônio, estrutura de extrema importância que garante a continuidade dos ciclos de gerações tanto da espécie vegetal quanto de seus polinizadores. A interação com um grande número de fitófagos e o elevado custo da herbivoria para o sucesso reprodutivo da espécie provavelmente foram os fatores que levaram à seleção destas estruturas ao longo da evolução do grupo.

Palavras-chave: anatomia, glândulas, laticíferos, óleos voláteis, osmóforos, tecidos fenólicos.

Abstract. *Ficus* species and their pollinating wasps represent one of the most specialized and currently studied mutualistic systems, in which each representative directly depends on the other for its reproduction. Wasps that newly emerged from a fig carry pollen on their bodies and are attracted by the scent produced by another plant's syconium (= inflorescence), in its receptive phase. Upon entering the syconium through its opening (ostiole), not only the wasps lay their eggs, but also pollinate the open female flowers, starting a new life cycle. Despite numerous studies involving chemical, phylogenetic, ecological, coevolutionary and reproductive issues regarding this fig-fig wasp mutualism, studies comprising syconium's anatomy and secretory structures present in this inflorescence are rare. Therefore the aim of this study was to locate and characterize the active secretory structures in receptive phase of syconia in nine species, representing different lineages of the genus. We intended to find the glands responsible for the production of fragrances that are attractive to pollinating wasps, and also structures that secrete substances acting in syconium protection. Receptive syconia of *F. auriculata*, *F. citrifolia*, *F. lyrata*, *F. microcarpa*, *F. montana*, *F. obtusiuscula*, *F. pumila*, *F. tikoua* and *F. variegata* were collected and processed according to the usual techniques for analyses in photonic and scanning electron microscopies. Great diversity of secretory structures was found in syconia of investigated species. For the first time, the sites producing attractive fragrances were identified and consist of scent glands (osmophores) of distinct location: ostiolar bracts and inflorescence receptacle. Both osmophores apparently act on the attraction of wasps over long distances, but the osmophore of the inflorescence receptacle seems to also act in chemostimulation by contact – pollinating wasps land on receptive syconium and are encouraged to enter the inflorescence. These glands would have arisen in the genus *Ficus* (they do not occur in ancestral lineages in the same family), which confirms the importance of volatiles in the maintenance of fig-fig wasp mutualism. In addition to the scent glands, syconia of *Ficus* species present other secretory structures that are not associated to the attraction of pollinators: laticifers, phenolic idioblasts, phenolic epidermis and phenolic-secreting trichomes, occurring in ostiolar bracts, inflorescence receptacle and floral tissues. These structures must act in the protection of the syconium, an extremely important structure that ensures the continuity of generations' cycles of plant species and their pollinators. The interaction with a large number of phytophagous animals and the high cost of herbivory for the reproductive success of the species were probably the factors that led to the selection of these structures along the evolution of the group.

Keywords: anatomy, glands, laticifers, volatile oils, osmophores, phenolic tissues.

Sumário

Introdução	1
Material e Métodos	6
Resultados	12
Glândulas de odor	12
Laticíferos.....	16
Idioblastos fenólicos	17
Epiderme fenólica	20
Tricomas secretores de compostos fenólicos.....	23
Discussão	28
Estruturas secretoras envolvidas na atração das vespas polinizadoras.....	28
Estruturas secretoras envolvidas na proteção do sicônio	33
Conclusões.....	36
Referências bibliográficas.....	37

Introdução

Estruturas secretoras, também denominadas glândulas, são células ou tecidos especializados na formação, no isolamento e, na maioria das vezes, na liberação de importantes produtos naturais como néctar, mucilagem, resinas, óleos voláteis, compostos fenólicos e látex (Fahn 1979, 2000, Castro & Machado 2012). Tais estruturas encontram-se classificadas de diferentes maneiras na literatura: quanto ao trabalho celular envolvido no processo secretor (Fahn 1979), quanto à posição que ocupam no corpo do vegetal (Esau 1974), ou quanto à natureza química do exsudato (Lüttge 1971).

As células secretoras podem ser individualizadas, como idioblastos e tricomas unicelulares, ou podem constituir estruturas multicelulares de tipos morfológicos diversos, como epiderme, tricomas, emergências, cavidades, canais, nectários, laticíferos e osmóforos (Fahn 2000, Castro & Machado 2012). Apesar da morfologia distinta, todas estas estruturas são constituídas por células secretoras caracterizadas pela presença de vacúolos pequenos e numerosos, núcleo conspícuo e numerosas mitocôndrias com cristas bem desenvolvidas. A frequência de outras organelas e compartimentos celulares varia de acordo com o material secretado (Lüttge 1971, Fahn 1988, 2000, Castro & Machado 2012).

As estruturas secretoras encontram-se dispersas em diversos órgãos ao longo do corpo do vegetal, podendo liberar diferentes exsudatos de acordo com o órgão ou espécie na qual ocorrem (Fahn 1988, 2000, Castro & Machado 2012). As substâncias secretadas desempenham um papel importante ao promoverem a interação dos vegetais que as produzem com os animais em seu ambiente, garantindo a atração de

polinizadores e dispersores ou a repelência de animais herbívoros (Fahn 1979, 1988, 2000, 2002). A maior parte das células e tecidos secretores é capaz de realizar as duas funções, dependendo de sua localização, do exsudato liberado e da fase de desenvolvimento na qual o vegetal se encontra no período de liberação do exsudato (Fahn 2002).

Algumas famílias de angiospermas são amplamente investigadas e caracterizadas pela ocorrência de determinadas estruturas secretoras em seus representantes, como é o caso dos tricomas urticantes em Urticaceae (Fahn 1979, Corsi 1992, Friis 1993, Souza & Lorenzi 2012, Castro & Machado 2012), tricomas secretores de óleos essenciais em Lamiaceae (Fahn 1979, 1990, Werker 1993, Ascensão *et al.* 1995, Serrato-Valentini *et al.* 1997, Ascensão *et al.* 1999) e osmóforos em Orchidaceae (Pridgeon & Stern 1983, 1985, Vogel 1990, Curry *et al.* 1991, Stpiczyńska 2001; Teixeira *et al.* 2004; Ascensão *et al.* 2005; Pansarin *et al.* 2009; Wiemer *et al.* 2009; Melo *et al.* 2010). Já outras famílias apresentam um pobre registro na literatura quanto à presença de estruturas secretoras, como é o caso de Moraceae. Apesar da incrível diversidade morfológica, principalmente com relação à arquitetura de suas inflorescências (Berg 2001, Datwyler & Weiblen 2004, Clement & Weiblen 2009), raros são os estudos que ilustram a presença de estruturas secretoras nos órgãos reprodutivos de espécies desta família, sendo que tricomas secretores, idioblastos e laticíferos foram registrados em inflorescências de apenas seis espécies (Galil *et al.* 1970, Verkerke 1986, 1987, Souza & Rosa 2005, Jacomassi *et al.* 2010; Machado *et al.* 2013).

Dentre os 37 gêneros da família Moraceae, *Ficus* L. é o que apresenta a maior riqueza de espécies (~ 750 distribuídas em 19 seções – Rønsted *et al.* 2008), de hábito

e ampla distribuição geográfica, e seus representantes são caracterizados pela inflorescência denominada figo ou sicônio. Tal inflorescência possui formato de urna, constituída por um receptáculo revestido internamente por flores unissexuais numerosas e pequenas, e que se abre para o exterior através de uma pequena abertura, chamada ostíolo, revestida de brácteas involucrais (Datwyler & Weiblen 2004, Dudareva & Pichersky 2006). Esta inflorescência altamente especializada permite uma interação intrínseca das espécies de *Ficus* com seus polinizadores exclusivos, vespas da família Agaonidae, resultando em uma das interações mutualísticas mais bem estudadas até hoje (Galil & Eisikowitch 1968, Galil *et al.* 1970, Janzen 1979, Herre 1989, Hossaert-McKey *et al.* 1994, Ware & Compton 1994, Anstett *et al.* 1997, Gibernau *et al.* 1998, Herre *et al.* 1999, Weiblen 2002, Cook & Rasplus 2003, Datwyler & Weiblen 2004, van Noort 2004, Herre *et al.* 2008, Rønsted *et al.* 2008, Cruaud *et al.* 2012).

As vespas Agaonidae dependem dos figos para sua reprodução, pois sua prole se desenvolve nas flores; já os figos se beneficiam pela produção vespas fêmeas polinizadoras que irão transferir o pólen de um indivíduo para outro garantindo a produção de sementes viáveis (Weiblen 2002). Quando o sicônio se encontra em fase receptiva (fase na qual as flores pistiladas estão abertas e o estigma receptivo), o odor liberado pela inflorescência é o responsável pela atração das vespas fêmeas recém-emergidas dos sicônios de outra árvore (Ware *et al.* 1993). Estas vespas, quando se aproximam do figo, são estimuladas a entrar através do ostíolo e depositam seus ovos nos ovários de algumas flores; neste processo, elas transferem o pólen para as flores pistiladas, resultando em produção de sementes em parte das flores. Após a oviposição/polinização, as larvas das vespas e as sementes do figo se desenvolvem por

algumas semanas. A emergência da prole de vespas coincide com o amadurecimento das flores estaminadas. As vespas fêmeas coletam pólen e se dispersam do figo natal, em busca de outra árvore com figos na fase receptiva, recomeçando o ciclo (Galil & Eisikowitch 1968).

Os odores liberados pelos sicônios são fundamentais no mutualismo figo-vespa de figo, já que orientam as vespas polinizadoras e constituem o fator principal no isolamento reprodutivo de espécies simpátricas, uma vez que cada espécie de vespa parece responder a compostos químicos específicos liberados pela espécie visitada (Chen & Song 2008, Chen *et al.* 2009). De fato, outros mecanismos de isolamento reprodutivo são pouco importantes em *Ficus* e híbridos viáveis são facilmente produzidos por manipulação experimental e eventualmente de forma natural (Ramírez 1994, Parrish *et al.* 2003). Mais de 40 espécies de *Ficus* foram investigadas quanto à composição química dos voláteis liberados pelos sicônios, que consistem principalmente de mono e sesquiterpenos (Grison *et al.* 1999, Grison-Pigé *et al.* 2002, Dudareva & Pichersky 2006, Hossaert-McKey *et al.* 2010).

Se por um lado a inflorescência especializada das espécies de *Ficus* permite a intrínseca interação das figueiras e seus polinizadores, gerando um ambiente estável e protegido para o desenvolvimento das larvas destes animais (ver Janzen 1979), por outro, este micro-habitat também se torna propício para a instalação de uma microbiota fitófaga (Rocha 2012).

Apesar de inúmeros estudos envolvendo questões químicas, filogenéticas, ecológicas, coevolutivas e reprodutivas do mutualismo de figos e vespas polinizadoras, são raros os que abrangem a anatomia do sicônio e suas estruturas secretoras, estruturas estas que garantiriam a atração de vespas polinizadoras e a proteção da

inflorescência contra possíveis herbívoros. Desde o surgimento do mutualismo figo-vespa de figo, é provável que certas estruturas secretoras presentes nos sicônios tenham sido preservadas, já estando presentes em outros membros da linhagem de Moraceae, e que outras tenham surgido e sido selecionadas, garantindo a interação dos figos com seus polinizadores exclusivos e a proteção da inflorescência. O sicônio é de extrema importância na manutenção dos ciclos de vida das espécies correlacionadas, já que produz vespas, sementes e pólen e constitui a unidade de dispersão. Porém, os poucos estudos anatômicos existentes focam-se apenas nas questões morfológicas, anatômicas e ontogênicas de flores e sementes no interior da inflorescência (Condit 1932, Johri & Konar 1956, Galil *et al.* 1970, Verkerke 1986, 1987, 1988, 1989, Neves & Isaias 1987, Basso-Alves 2011). A única espécie investigada com o intuito de identificar a presença de estruturas secretoras em sicônios foi *Ficus enormis* (Machado *et al.* 2013).

Tendo em vista a grande diversidade de estruturas secretoras em angiospermas e a importância delas na manutenção de mutualismos e na proteção do vegetal, bem como a escassez de estudos que ilustrem a presença e importância de tais estruturas nos sicônios de espécies de *Ficus*, o objetivo deste trabalho consiste em localizar e caracterizar as estruturas secretoras nos figos em fase receptiva de nove espécies do gênero, pertencentes a diferentes linhagens. Espera-se encontrar as glândulas responsáveis pela produção das fragrâncias atrativas às vespas polinizadoras, e também as que secretam substâncias atuantes na proteção do sicônio. A fim de melhor compreender a evolução de estruturas secretoras nos sicônios de *Ficus*, inflorescências de *Castilla elastica*, pertencente à tribo Castilleae (grupo-irmão da tribo

Ficeae, à qual as espécies de *Ficus* pertencem - Clement e Weiblen 2009) também foram utilizadas no estudo.

Material e Métodos

Nove espécies, abrangendo linhagens distintas do gênero *Ficus* (Figuras 1 e 2, Tabela 1), foram selecionadas para este estudo com base na hipótese filogenética mais recente proposta para o grupo (Cruaud *et al.* 2012). Embora *F. auriculata* e *F. tikoua* pertençam à mesma linhagem (Figura 1), foram escolhidas por exibirem diferentes formas de vida, tamanhos de sicônio e números de flores (Tabela 1).

As coletas dos sicônios foram realizadas em indivíduos cultivados no campus da USP e nos arredores de Ribeirão Preto, SP, no período de março a outubro de 2012, e os materiais testemunha (Tabela 1) foram depositados no Herbário SPFR pertencente à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP/USP). Apenas *Ficus variegata* foi coletada na Universidade das Filipinas em maio de 2012 e o material testemunha (Tabela 1) depositado no herbário PUH (Universidade das Filipinas).

Os sicônios foram coletados na fase em que as flores pistiladas alcançam sua maturidade e o estigma se torna receptivo, correspondendo ao estágio de atração das vespas polinizadoras pela produção e emissão de voláteis, segundo Galil & Eisikowitch (1968). Para confirmar se os sicônios se encontravam nesta fase, foi realizado um teste com papel reagente (Peroxtesmo KO) que detecta a atividade de esterases, enzimas presentes nos estigmas receptivos (Dafni & Maués 1998). Pequenos pedaços do papel reagente foram umedecidos em água destilada e colocados em contato com as flores

pistiladas com o auxílio de uma pinça. O papel apresenta coloração azulada quando detecta a atividade enzimática.

Os sicônios coletados foram cortados em metades e fixados em FNT (Formalina Neutra Tamponada - Lillie 1965) por aproximadamente 72 horas, lavados em água destilada, desidratados em série etanólica e conservados em álcool 70%.

Para a caracterização anatômica das estruturas secretoras, parte dos sicônios fixada foi submetida a cortes a mão livre e outra parte foi desidratada em série etanólica e incluída em historresina (Gerrits 1991) para confecção de seções em micrótomo rotativo (5 µm de espessura). As seções foram coradas com azul de Toluidina 0,05% em tampão fosfato (pH = 6,8) para análise geral dos tecidos e detecção de compostos fenólicos (O'Brien *et al.* 1964), cloreto férrico para a detecção de compostos fenólicos (Johansen 1940), Sudan III (Sass 1951) e Sudan black B (Pearse 1980) para a detecção de substâncias lipofílicas, reagente de Nadi (David & Carde 1964) para detectar óleos essenciais, reagente de PAS (Feder & O'Brien 1968) para detectar polissacarídeos e xilidine de Ponceau (Vidal 1977) para detecção de proteínas. As seções anatômicas foram observadas e fotografadas em um fotomicroscópio Leica DM 4500 B acoplado a uma câmera digital Leica DFC 320, com as escalas nas mesmas condições ópticas.

Para checar a presença de estruturas secretoras na superfície externa e interna dos sicônios, foram empregadas análises em microscopia eletrônica de varredura. Materiais previamente fixados foram desidratados em série etanólica (Tucker 1993), submetidos ao ponto crítico em um aparelho Bal Tec CPD 030, montados em suportes metálicos, colocados sobre fita adesiva de Carbono e cobertos com Ouro em um metalizador Bal Tec SCD 050 por 350 segundos. As imagens foram obtidas no

Laboratório Multiusuário de Microscopia Eletrônica, pertencente à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, em um microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM-6610LV.

Com o intuito de melhorar a compreensão da distribuição e evolução de estruturas secretoras em *Ficus*, os resultados obtidos no presente estudo foram plotados em árvores filogenéticas (modificadas da filogenia proposta por Cruaud *et al.* 2012), utilizando-se *Castilla elastica*, espécie pertencente à tribo Castilleae (grupo irmão da tribo Ficeae, à qual as espécies de *Ficus* pertencem) como o grupo externo. Inflorescências pistiladas de *Castilla elastica* foram coletadas em março de 2013 no Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Campinas, SP e submetidas aos mesmos procedimentos citados para as espécies de *Ficus*.

Os caracteres plotados nas filogenias e seus respectivos estados estão listados na Tabela 2.

Figura 2. Inflorescências das espécies estudadas de *Ficus* e *Castilla*. A. *F. auriculata*. B. *F. citrifolia*. C. *F. lyrata*. D. *F. microcarpa*. E. *F. montana*. F. *F. obtusiuscula*. G. *F. pumila*. H. *F. tikoua*. I. *F. variegata* (créditos da imagem: J.-Y. Rasplus). J. *C. elastica* (créditos da imagem: V. G. Leite). Barras: 1 cm (A-J).

Tabela 1. Espécies de *Ficus* e *Castilla* selecionadas para o estudo, locais de coleta, materiais testemunha e características biológicas. 1 = Ribeirão Preto, SP, Brasil. 2 = Manila, Filipinas. 3 = Campinas, SP, Brasil.

Espécie	Seção (segundo Cruaud <i>et al.</i> 2012)	Local de coleta	Material testemunha	Forma de vida	Sistema sexual	Modo de polinização	Número de inflorescências amostradas	Inflorescência estudada	Tamanho da inflorescência receptiva (cm)
<i>F. obtusiuscula</i> (Miq.) Miq.	<i>Pharmacosycea</i>	Campus da USP (1)	S.P. Teixeira <i>et al.</i> 82	Autoportante	Monoica	Passiva	5 a 10		1
<i>F. microcarpa</i> L. f.	<i>Conosycea</i>	Campus da USP (1)	S.P. Teixeira <i>et al.</i> 81	Hemiepífita	Monoica	Ativa	5 a 10		0,6
<i>F. lyrata</i> Warb.	<i>Galoglychia</i>	Campus da USP (1)	S.P. Teixeira <i>et al.</i> 80	Autoportante	Monoica	Ativa	3 a 6		3,3
<i>F. citrifolia</i> Mill.	<i>Americana</i>	Campus da USP (1)	S.P. Teixeira <i>et al.</i> 79	Hemiepífita	Monoica	Ativa	5 a 10		1
<i>F. variegata</i> Blume*	<i>Sycocarpus</i>	University of the Philippines Diliman (2)	PUH1653	Autoportante	Ginodioica	Ativa	3 a 6	Feminina	1,5
<i>F. auriculata</i> Lour.	<i>Sycomorus</i>	Campus da USP (1)	S.P. Teixeira & C.D. Souza 78	Autoportante	Ginodioica	Ativa	3 a 6	Feminina	3,5
<i>F. tikoua</i> Bureau*	<i>Sycomorus</i>	Bairro Jardim Recreio (1)	S.P. Teixeira <i>et al.</i> 84	Arbustiva	Ginodioica	Passiva	5 a 10	Feminina	1
<i>F. montana</i> Burm. f.	<i>Sycidium</i>	Campus da USP (1)	S.P. Teixeira & C.D. Souza 85	Arbustiva	Ginodioica	Ativa	5 a 10	Masculina	0,5
<i>F. pumila</i> L.*	<i>Ficus</i>	Bairro Jardim Recreio (1)	S.P. Teixeira <i>et al.</i> 83	Trepadeira	Ginodioica	Passiva	3 a 6	Masculina	3
<i>Castilla elastica</i> Sessé		Instituto Agrônomo de Campinas (3)	M.B. Carvalho 122 & J.F. Benedito	Autoportante	Androdioica		2	Feminina	2,5

*De acordo com a classificação atual do grupo (Figweb), *F. variegata* estaria na seção *Sycomorus*, *F. tikoua* na seção *Ficus* e *F. pumila* na seção *Rhizocladus*. Porém, seguimos o posicionamento destas espécies na filogenia mais recente (Cruaud *et al.* 2012, ver Figura 1), pela qual *F. variegata* está incluída no clado da seção *Sycocarpus*, *F. tikoua* no clado da seção *Sycomorus* e *F. pumila* no clado da seção *Ficus*.

Tabela 2. Caracteres e seus respectivos estados, provenientes das estruturas secretoras nos sicônios de *Ficus*, plotados nas filogenias.

Glândulas de odor	Ocorrência (ausência ou presença)
	Localização (brácteas do ostíolo e receptáculo da inflorescência)
Idioblastos	Localização (brácteas da inflorescência, receptáculo da inflorescência e pistilo)
Epiderme secretora	Ocorrência (ausência ou presença)
	Localização (brácteas, paredes externa e interna da inflorescência; sépalas, ovário e nucelo)
Tricomas secretores	Ocorrência (ausência ou presença)
	Localização (parede externa e interna da inflorescência)

Resultados

Diversas estruturas secretoras foram encontradas nas inflorescências das espécies estudadas: glândulas de odor (= osmóforos), laticíferos, idioblastos, epiderme e tricomas secretores. No geral, tais estruturas secretam terpenos, outras substâncias lipofílicas e compostos fenólicos. Nenhuma estrutura secretora de polissacarídeos ou proteínas foi encontrada nas inflorescências na fase investigada. Os resultados serão apresentados a seguir, por tipo de estrutura secretora.

Glândulas de odor

Dois sítios de produção de fragrâncias foram observados nas espécies de *Ficus* de acordo com o teste de histolocalização de terpenos: as brácteas mais externas do ostíolo e o receptáculo do sicônio (Figura 3); porém, estes sítios não ocorrem em *Castilla elastica*.

Em todas as espécies de *Ficus*, exceto *F. citrifolia*, a produção de óleos voláteis ocorre nas brácteas do ostíolo (Figuras 4A-H). Nestas brácteas, apenas as células do mesofilo estão envolvidas na produção dos voláteis em *F. obtusiuscula* e *F. variegata*; ou tanto células epidérmicas quanto mesofílicas desempenham tal função nas demais espécies (Tabela 3). Em *F. auriculata* e *F. pumila*, tanto a epiderme na face adaxial quanto na abaxial das brácteas ostiolares participam da produção dos terpenos; em *F. lyrata* e *F. microcarpa*, são apenas as células epidérmicas na face adaxial das brácteas; já em *F. montana* e *F. tikoua*, apenas células epidérmicas na face abaxial das brácteas auxiliam em tal produção.

Células do receptáculo da inflorescência também são produtoras de óleos essenciais em grande parte das espécies (Figuras 5A-F), com exceção de *Ficus auriculata*, *F. lyrata* e *F. variegata*. Gotas de terpenos foram observadas em células epidérmicas e em células subepidérmicas em *F. montana* e *F. pumila*. Em *F. citrifolia*, *F. microcarpa*, *F. obtusiuscula* e *F. tikoua*, apenas células subepidérmicas produzem terpenos (Tabela 3).

A variação na ocorrência e localização das glândulas de odor nas espécies estudadas pode ser observada na figura 6.

Figura 3. Esquemas dos sicônios de espécies de *Ficus* indicando a localização das glândulas de odor nas brácteas do ostíolo (A) e no receptáculo (B). Crédito das figuras: J. P. Basso-Alves.

Figura 4. Fotomicrografias de células secretoras de terpenos nas brácteas do ostíolo em espécies de *Ficus*. A. *F. auriculata*. B. *F. lyrata*. C. *F. microcarpa*. D. *F. montana*. E. *F. obtusiuscula*. F. *F. pumila*. G. *F. tikoua*. H. *F. variegata*. Cabeças de seta brancas indicam gotas de terpeno no mesofilo das brácteas; cabeças de seta pretas indicam os terpenos em células epidérmicas. Reagente de Nadi. Barras: 100 μ m (A), 20 μ m (B, C, D, E, F, G, H).

Figura 5. Fotomicrografias de células secretoras de terpenos no receptáculo dos sicônios em espécies de *Ficus*. A. *F. citrifolia*. B. *F. microcarpa*. C. *F. montana*. D. *F. obtusiuscula*. E. *F. pumila*. F. *F. tikoua*. Cabeças de seta brancas indicam gotas de terpeno em camadas subepidérmicas do receptáculo; cabeça de seta preta indica terpenos em células epidérmicas. Reagente de Nadi. Barras: 20 μm (A, C, D, F), 50 μm (B, E).

Figura 6. Hipótese filogenética modificada de Cruaud *et al.* (2012) com os ramos coloridos mostrando a ocorrência e localização das glândulas de odor nas espécies estudadas de *Ficus*. *Castilla elastica* foi utilizada como grupo externo.

Laticíferos

Laticíferos ramificados, com paredes delgadas (Figuras 7A, B), foram encontrados dispersos pelos tecidos parenquimáticos e próximos aos feixes vasculares tanto no receptáculo de todas as espécies estudadas quanto nas brácteas ostiolares das espécies de *Ficus* e nas brácteas da inflorescência de *Castilla elastica* (Tabela 3). Sete das nove espécies de *Ficus* apresentam substâncias lipofílicas na composição do látex (*F. auriculata*, *F. citrifolia*, *F. microcarpa*, *F. montana*, *F. obtusiuscula*, *F. pumila* e *F. variegata*) (Figuras 7C, D) e em três destas espécies (*F. auriculata*, *F. montana* e *F. variegata* - Figura 7E) também foram detectados terpenos.

Figura 7. Fotomicrografias dos laticíferos ramificados presentes nas inflorescências de espécies de *Ficus* e *Castilla elastica*. A e B. Laticíferos de *F. montana* e *Castilla elastica*, respectivamente, evidenciando a parede delgada e as ramificações (reagente: azul de Toluidina). C e D. Conteúdo lipofílico evidenciado nos laticíferos de *F. pumila* (reagente: Sudan III) e *F. auriculata* (reagente: Sudan black B), respectivamente. E. Laticífero com conteúdo terpênico em *F. variegata* (reagente de Nadi). Barras: 100 μm (A, C), 50 μm (B), 25 μm (D), 12,5 μm (E).

Idioblastos fenólicos

Idioblastos fenólicos foram encontrados em diversos tecidos da inflorescência e das flores das espécies de *Ficus* e *Castilla elastica*. Em todas as espécies de *Ficus* estudadas, ocorrem no mesofilo das brácteas do ostíolo (Figuras 8A, B, Tabela 3), e em *Castilla elastica*, nas brácteas da inflorescência (Tabela 3). Com exceção de *Ficus montana*, ocorrem dispersos pelo tecido parenquimático do receptáculo das espécies de *Ficus* (Figuras 8C, D, Tabela 3) e *C. elastica* (Figura 8E, Tabela 3). Em *F. auriculata*, *F.*

citrifolia, *F. obtusiuscula*, *F. pumila* e *C. elastica* (Figura 8F) são observados nos estigmas e tecidos subepidérmicos do estilete (Tabela 3).

A variação na ocorrência e localização dos idioblastos nas espécies estudadas pode ser observada na figura 9.

Figura 8. Fotomicrografias de idioblastos fenólicos em inflorescências de espécies de *Ficus* e *Castilla elastica* e epiderme fenólica em sicônios de espécies de *Ficus*. A. Bráctea do ostíolo de *F. citrifolia*. B. Bráctea do ostíolo de *F. auriculata*. C. Receptáculo de *F. obtusiuscula*. D. Receptáculo de *F. lyrata*. E e F. Idioblastos fenólicos dispersos pelo receptáculo e estigma de *C. elastica*, respectivamente. G-I. Flores pistiladas de *F. citrifolia*, *F. pumila* e *F. tikoua*, respectivamente. Note a epiderme fenólica nas sépalas (G-I) e no ovário (I). Reagentes: azul de Toluidina em A, C e E-I e cloreto férrico em B e D. Legendas: * – idioblastos fenólicos; eab – epiderme na face abaxial; ead – epiderme na face adaxial; e – epiderme; s – sépala; o – ovário. Barras: 50 µm (A, C, E), 1 mm (B), 100 µm (D, F), 250 µm (G), 200 µm (H, I).

Figura 9. Hipótese filogenética modificada de Cruaud *et al.* (2012) com os ramos coloridos mostrando a localização dos idioblastos nas espécies estudadas de *Ficus*. *Castilla elastica* foi utilizada como grupo externo.

Epiderme fenólica

As brácteas do ostíolo (Figuras 8A, B), o receptáculo do sicônio (Figura 8C) e tecidos florais (Figuras 8G-I) das espécies de *Ficus* apresentaram epiderme uniestratificada secretora de substâncias fenólicas. Este tecido secretor não ocorre em *Castilla elastica* (Tabela 3).

As brácteas ostiolares mais externas das nove espécies apresentaram tanto a face abaxial quanto a adaxial composta por epiderme fenólica. Nas brácteas mais internas, a localização da epiderme fenólica é variável, estando presente em ambas as faces da bráctea em *Ficus auriculata*, *F. lyrata*, *F. montana*, *F. tikoua* e *F. variegata*; apenas na face abaxial em *F. citrifolia*, *F. microcarpa* e *F. obtusiuscula*; e apenas na face adaxial em *F. pumila*.

A parede externa do receptáculo da inflorescência de *Ficus auriculata*, *F. lyrata*, *F. obtusiuscula* e *F. tikoua* é revestida por epiderme fenólica. Já em *F. pumila*, apenas a epiderme interna do receptáculo é secretora. Em *F. variegata*, tanto a epiderme que recobre o receptáculo externamente quanto a que o recobre internamente são fenólicas (Tabela 3).

As sépalas das flores também apresentaram epiderme fenólica em todas as espécies, exceto *Ficus montana*. Células da parede do ovário das flores de *F. tikoua* e *F. variegata*, bem como da camada de células mais externa do nucelo das flores de *F. montana* também são fenólicas. Em *F. microcarpa*, tanto células da parede do ovário quanto da camada mais externa do nucelo das flores são fenólicas (Tabela 3).

A variação na ocorrência e localização da epiderme secretora nas espécies estudadas pode ser observada na figura 10.

Figura 10. Hipóteses filogenéticas modificadas de Cruaud *et al.* (2012) com os ramos coloridos mostrando a ocorrência de epiderme secretora nas brácteas (A), na parede externa (B) e interna (C) do receptáculo, nas sépalas (D), no ovário (E) e no nucelo (F) das espécies estudadas de *Ficus*. *Castilla elastica* foi utilizada como grupo externo.

Tricomas secretores de compostos fenólicos

Tricomas secretores agrupados foram observados entre as brácteas mais internas do ostíolo, na base e entre as sépalas e o ovário das flores em *Ficus citrifolia* e *F. microcarpa* (Figuras 11A-F, Tabela 3). Tais tricomas são constituídos de um pedúnculo curto não secretor (apenas uma célula em *F. citrifolia* e uma ou duas células em *F. microcarpa*) e cabeça alongada bisseriada com quatro ou mais células secretoras de compostos fenólicos (Figuras 11B, D, F).

Com exceção de *Ficus pumila* e *Castilla elastica*, as demais espécies estudadas também exibiram tricomas secretores dispersos por toda a parede externa do receptáculo da inflorescência (Figuras 12A-K, Tabela 3). Em todas elas, os tricomas são constituídos por um pedúnculo unicelular e cabeça secretora de substâncias fenólicas com número variável de células: duas a quatro em *F. auriculata*; três a quatro em *F. montana*; duas em *F. citrifolia*, *F. tikoua* e *F. variegata*; e uma em *F. lyrata*. Não foi possível identificar o número de células da cabeça e o conteúdo do tricoma secretor em *F. microcarpa* e *F. obtusiuscula*.

A variação na ocorrência e localização dos tricomas secretores nas espécies estudadas pode ser observada na figura 13.

Figura 11. Eletromicrografias (A, C, E) e fotomicrografias (B, D, F) dos tricomas secretores de compostos fenólicos de *Ficus citrifolia* (A-D) e *F. microcarpa* (E-F). A e B. Tricomas secretores entre as brácteas do ostíolo. C. Tricomas secretores na base da flor. D. Tricomas secretores entre a sépala e o ovário da flor. E. Tricomas secretores entre as brácteas do ostíolo. F. Tricomas secretores na base das flores. Reagentes: azul de Toluidina em B e D e cloreto férrico em F. Barras: 100 µm (A, E, F), 50 µm (B, C, D).

Figura 12. Eletromicrografias (A, C, E-I, K) e fotomicrografias (B, D, J) dos tricomas secretores de compostos fenólicos presentes na superfície externa do receptáculo da inflorescência de espécies de *Ficus*. A-B. *F. auriculata*. C-D. *F. citrifolia*. E. *F. lyrata*. F. *F. microcarpa*. G. *F. montana*. H. *F. obtusiuscula*. I-J. *F. tikoua*. K. *F. variegata*. Note a cabeça secretora de compostos fenólicos em B, D e J (reagente: azul de Toluidina). Barras: 10 μm (A, C, F, G, H, I, K), 20 μm (B), 25 μm (D, E), 50 μm (J).

Figura 13. Hipótese filogenética modificada de Cruaud *et al.* (2012) com os ramos coloridos mostrando a ocorrência e localização de tricomas secretores nas espécies estudadas de *Ficus*. *Castilla elastica* foi utilizada como grupo externo.

Tabela 3. Distribuição das estruturas secretoras encontradas nas inflorescências de *Ficus* e *Castilla elastica*. Símbolos: + = presença, - = ausência, 0 = não se aplica (a inflorescência de *Castilla elastica* não apresenta ostíolo e nem flores com sépalas).

Espécies	Glândulas de odor				Laticíferos		Idioblastos fenólicos			Epiderme fenólica						Tricomas secretores fenólicos			
	Brácteas ostiolares		Receptáculo		Brácteas ostiolares	Receptáculo	Mesofilo das brácteas ostiolares	Receptáculo	Estigma e camada subepidérmica do estilete	Brácteas ostiolares	Receptáculo		Sépalas	Ovário	Camada de células mais externa do nucelo	Entre brácteas ostiolares	Base da flor	Entre sépala e ovário	Parede externa da inflorescência
											Parede externa	Parede interna							
C. elastica	0	0	-	-	0	+	0	+	+	0	-	-	0	-	-	0	-	0	-
F. obtusiuscula	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
F. microcarpa	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
F. lyrata	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
F. citrifolia	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
F. variegata	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
F. auriculata	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+
F. tikoua	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
F. montana	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
F. pumila	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-

Discussão

Os sicônios de todas as espécies de *Ficus* estudadas exibem pelo menos 50% dos tipos de estruturas secretoras registrados em angiospermas (ver Fahn 1979, 1988, 1990, 2000, 2002), sendo eles glândulas de odor, laticíferos, idioblastos, epiderme secretora e tricomas secretores. Estas estruturas encontram-se ativas nos sicônios em fase receptiva, na qual as flores pistiladas apresentam-se totalmente desenvolvidas, com os estigmas prontos para receber os grãos de pólen (Galil & Eisikowitch 1968). O conteúdo detectado nas estruturas secretoras (ver Fahn 2002) apoia o papel das glândulas de odor na atração das vespas polinizadoras e, portanto, no mutualismo figo-vespa de figo, e sugere a importância dos laticíferos, dos idioblastos, da epiderme secretora e dos tricomas secretores na proteção da inflorescência e das flores em seu interior contra animais fitófagos, especialmente insetos.

Estruturas secretoras envolvidas na atração das vespas polinizadoras

As glândulas de odor identificadas nas brácteas do ostíolo e/ou no receptáculo dos sicônios de *Ficus* enquadram-se no conceito de Fahn (1979), Vogel (1990) e Dudareva & Pichersky (2006), pelo qual são constituídas por células especializadas na produção e liberação simultânea de óleos essenciais em forma de pequenas gotas, cuja quantidade se mantém constante na fase de liberação. O conjunto das brácteas ostiolares produtoras de fragrâncias constituem uma glândula de odor, ou osmóforo, do tipo restrito (ver Fahn 1979, Vogel 1983, 1990, Endress 1994, Marinho *et al.* 2014), considerando que a produção

é restrita e localizada. Já as glândulas de odor presentes no receptáculo da inflorescência constituem glândulas de odor, ou osmóforos, do tipo difuso (ver Fahn 1979, Vogel 1983, 1990, Endress 1994, Marinho *et al.* 2014), pois são compostas por células secretoras de fragrâncias distribuídas de maneira difusa ao longo do eixo da inflorescência.

Tais glândulas de odor atuam na produção de voláteis responsáveis pela atração das vespas polinizadoras, que ocorre, segundo Gibernau *et al.* (1998), em duas etapas. Na primeira etapa, vespas recém-emergidas de um sicônio são inicialmente levadas, sem direção definida, por correntes de vento. Quando encontram uma corrente de voláteis vindos de uma árvore que carrega figos receptivos, voam em direção a esta fonte de odor (Ware & Compton 1994) produzido nas brácteas do ostíolo e no receptáculo da inflorescência (presente estudo). Ao pousarem nos figos, inicia-se a segunda etapa, na qual as vespas exploram a superfície do sicônio. Estímulos químicos vindos da parede do sicônio, provavelmente os voláteis produzidos nas glândulas de odor (presente estudo), sinalizam que ele está receptivo; assim a vespa inicia a procura pelo ostíolo (Frank 1984, Hossaert-McKey *et al.* 1994, Gibernau *et al.* 1997, Gibernau *et al.* 1998). Em espécies que não apresentam glândulas de odor no receptáculo da inflorescência, é provável que outros estímulos (que não químicos), como a ornamentação da cutícula ou a presença e posição de tricomas (eretos ou procumbentes) na parede externa do sicônio sejam os responsáveis pela orientação das vespas. Assim, as fragrâncias em *Ficus* parecem atuar tanto na atração a longa distância, quanto na orientação mais precisa a curta distância. Essa situação é diferente da maioria dos grupos de fanerógamas polinizadas por animais,

nas quais as fragrâncias atuam na atração a longa distância e atrativos visuais agem na orientação à flor (Giurfa & Lehrer 2001, Raguso 2001).

A presença de dois sítios de produção de voláteis ocorrendo juntos no mesmo sicônio em *Ficus microcarpa*, *F. montana*, *F. obtusiuscula*, *F. pumila* e *F. tikoua* pode gerar um gradiente de odor, constituído por buquês diferentes, que orientaria os polinizadores em direção ao ostíolo, como relatado em *Sauromatum guttatum* (Araceae) (Hadacek & Weber 2002). No caso desta espécie de Araceae, os animais são direcionados para as flores receptivas na inflorescência.

A ocorrência simultânea de osmóforos nas inflorescências parece não ser comum na natureza. De fato, essa característica não foi encontrada em todas as espécies investigadas no presente estudo. *Ficus auriculata*, *F. lyrata* e *F. variegata* apresentam glândulas de odor apenas nas brácteas do ostíolo, e *F. citrifolia* apresenta apenas no receptáculo da inflorescência. No entanto, a ocorrência de um único sítio produtor de fragrâncias não apresentou relação com o tamanho do sicônio, mostrando que a presença simultânea de dois sítios produtores não aumentaria a capacidade de atração em espécies com sicônios pequenos. Isto indica, portanto, que é a qualidade dos voláteis liberados (ou seja, a composição química e proporção dos compostos), e não a quantidade, o principal fator que regula a resposta do polinizador (Chen & Song 2008).

Em *Ficus*, a produção e emissão de fragrâncias atrativas aos polinizadores foram transferidas do perianto floral (ver Fahn 1979, Vogel 1990, Dudareva & Pichersky 2006) para partes mais externas da inflorescência, provavelmente devido ao encerramento das flores diminutas dentro de uma estrutura em forma de urna com uma pequena abertura

para o exterior. A produção de fragrâncias nas brácteas do ostíolo e receptáculo seria mais efetiva na distribuição do odor pelo ambiente externo ao figo. Apesar de filogeneticamente distante das espécies de *Ficus*, em *Sauromatum guttatum* (Araceae), a função de produção de fragrâncias também foi transferida das flores numerosas e pequenas encerradas em um eixo (Weberling 1989, Souza & Lorenzi 2012) aos apêndices no ápice da espádice e aos órgãos claviformes próximos às flores pistiladas (Vogel 1990, Skubatz *et al.* 1996, Hadacek & Weber 2002). A palmeira *Chamaerops humilis* (Arecaceae), que possui flores pequenas sem atrativos visuais conspícuos, representa um caso extremo de mudança do local de emissão de fragrâncias atrativas, sendo as glândulas de odor localizadas nas folhas as responsáveis pela atração do besouro polinizador (Dufaÿ *et al.* 2003). Parece, portanto, que a transferência da localização dos osmóforos e o surgimento de sistemas especiais e mais complexos de atração de polinizadores se desenvolveram em espécies que apresentam flores inconspícuas e menos atrativas.

A onipresença de glândulas de odor em espécies de *Ficus* e sua ausência em *Castilla elastica* sugerem que o surgimento de estruturas especializadas na produção de fragrâncias teria se dado na linhagem de *Ficus*, corroborando o papel essencial do odor no mutualismo figo-vespa de figo. Considerando-se que não foi possível relacionar a localização das glândulas de odor com o posicionamento filogenético das espécies estudadas (ver figura 6) sugere-se que tenha ocorrido evolução rápida dessa característica devido ao seu elevado valor funcional. Assim, a distribuição das glândulas de odor no sicônio provavelmente é resultado de pressões seletivas particulares a cada espécie. De fato, *Ficus* apresenta grande diversidade de formas de vida, sistema reprodutivo e

características ecológicas (Weiblen 2002; Pereira & Peng 2008). Essas diferenças nas características biológicas (sistema sexual, modo de polinização, forma de vida) ou ecológicas (densidade populacional, distribuição espacial, características das vespas polinizadoras) certamente determinam os atributos reprodutivos das espécies de *Ficus*, gerando pressões seletivas particulares. *Ficus auriculata* e *F. tikoua*, ambas pertencentes à mesma linhagem (Cruaud *et al.* 2012, Li *et al.* 2012) representam bem essa variação: *F. auriculata* possui porte arbóreo, cauliflora, com sicônios grandes formados por milhares de flores; *F. tikoua* tem hábito rasteiro, geocarpia e sicônios menores, formados por um número bem menor de flores.

A localização e caracterização das estruturas secretoras responsáveis pela produção de fragrâncias constituem dados inéditos para *Ficus*, já que na literatura constam trabalhos dedicados apenas à análise da composição química dos voláteis que compõem tais fragrâncias (exemplos são Grison *et al.* 1999, Grison-Pigé *et al.* 2002, Dudareva & Pichersky 2006, Hossaert-McKey *et al.* 2010). Algumas tentativas de localizar a região responsável pela produção de fragrâncias foram realizadas em estudos experimentais de van Noort *et al.* (1989) com *Ficus burtt-davyi* e de Hossaert-McKey *et al.* (1994) com *F. carica*. No entanto, o presente estudo é o primeiro que utiliza ferramentas mais precisas de investigação (anatomia e histolocalização de substâncias) para localizar as estruturas secretoras responsáveis pela produção das fragrâncias no grupo.

Estruturas secretoras envolvidas na proteção do sicônio

O controle da microbiota fitófaga que pode se instalar nos sicônios e, consequentemente, a proteção de toda a unidade de polinização representada por esta inflorescência devem ser realizados pelos laticíferos, idioblastos, epiderme e tricomas secretores de compostos fenólicos, estruturas frequentemente associadas à proteção contra herbívoros e patógenos (laticíferos: Pickard 2008, Agrawal & Konno 2009, Konno 2011; demais estruturas: Castro & Demarco 2008).

A presença de laticíferos, considerada sinapomorfia de Moraceae (Judd *et al.* 2009), é confirmada neste trabalho com a ampliação de estudos para outras 10 espécies. A composição do látex é conhecida em algumas espécies de *Ficus*, sendo encontradas substâncias bioativas que atuam na redução da herbivoria, como proteases digestivas, oxidases e alcaloides (Fahn 1979, Pickard 2008, Agrawal & Konno 2009, Konno 2011, Castro & Machado 2012). Outras substâncias comumente encontradas no látex de angiospermas são os terpenos, aqui registrados em *F. auriculata*, *F. montana* e *F. variegata*. Um tipo de terpeno muito conhecido em plantas laticíferas é a borracha, que ocorre em forma de partículas de tamanho variável em suspensão coloidal, inclusive relatada em grande quantidade em *F. elastica*, espécie conhecida como planta indiana de borracha (Esau 1974, Fahn 1979, Castro & Machado 2012).

As estruturas secretoras de compostos fenólicos são amplamente distribuídas e predominam nos tecidos dos sicônios de espécies de *Ficus*. Estes compostos apresentam grande diversidade química e podem desempenhar outras funções, além da defesa (Harborne 1999, Carvalho *et al.* 2007, Castro & Demarco 2008, Taiz & Zeiger 2009, Castro

& Machado 2012). Alguns tipos de compostos fenólicos já foram identificados na fragrância liberada por glândulas de odor, participando assim da atração de polinizadores (Skubatz *et al.* 1996, Jurgens *et al.* 2006, Knudsen *et al.* 2006, Castro & Demarco 2008). Nas espécies de *Ficus*, porém, compostos fenólicos nunca foram identificados entre os voláteis (ver Grison *et al.* 1999, Grison-Pigé *et al.* 2002, Dudareva & Pichersky 2006, Hossaert-McKey *et al.* 2010), descartando-se então a hipótese de que participariam da produção de fragrâncias.

Interessante notar que a presença de laticíferos e idioblastos fenólicos dispersos pelo receptáculo, além de tricomas secretores na parede externa do sicônio (exceto em *Ficus pumila*) é condição comum nas espécies de *Ficus*, observada nas espécies estudadas e também em *F. sycomorus* (Galil *et al.* 1970), *F. ottoniifolia* (Verkerke 1986) e *F. asperifolia* (Verkerke 1987).

Ficus citrifolia, *F. microcarpa* (presente trabalho) e *F. enormis* (Machado *et al.* 2013) compartilham a presença de tricomas secretores localizados internamente nos sicônios. Apesar das semelhanças morfológicas e de posição, o exsudato produzido, no entanto, apresenta composição química diferente. Em *F. enormis* é composto de substâncias mucilaginosas, que atuam na lubrificação dos órgãos em desenvolvimento dentro do sicônio e durante a movimentação das brácteas para abertura ou fechamento do ostíolo (Machado *et al.* 2013).

Tricomas secretores no interior do sicônio parecem ser onipresentes na seção *Americana*, pois, além de *Ficus citrifolia* e *F. enormis*, foram também observados em outras 15 espécies pertencentes a esta mesma seção (*F. carautana*, *F. calyptroceras*, *F.*

clusiifolia, *F. crocata*, *F. cyclophylla*, *F. eximia*, *F. gomelleira*, *F. guianensis*, *F. luschnathiana*, *F. mariae*, *F. mathewsii*, *F. obtusifolia*, *F. pertusa*, *F. roraimensis* e *F. trigona* - dados não publicados). No entanto, não seriam estruturas exclusivas deste grupo, já que ocorrem em representantes de outras quatro seções: *F. microcarpa* (seção *Conosycea*) (presente estudo), *F. hispida* (seção *Sycocarpus*), *F. racemosa* (seção *Sycomorus*) e *F. religiosa* (seção *Urostigma*) (J.P. Basso-Alves, dados não publicados). Tricomas secretores apresentam variações em morfologia, número, localização e função, e por isso são bastante utilizados com finalidades taxonômicas (Esau 1974, Glover & Martin 2000, Werker 2000, Alquini *et al.* 2003, Souza 2003).

A distribuição das estruturas secretoras relacionadas à defesa em *Ficus* é bastante variável. O sicônio destas espécies consiste em uma inflorescência especializada, representando uma unidade de polinização, o que certamente aumenta o custo exercido por animais fitófagos. Nesse sentido, a unidade de polinização pode ser inviabilizada por uma herbivoria mesmo que relativamente pequena. Esse elevado custo provavelmente não ocorre em espécies de plantas com inflorescências menos especializadas, nas quais a herbivoria em uma parte da inflorescência não comprometeria a unidade toda. Assim, os resultados desse estudo sugerem que as diversas estruturas de proteção (laticíferos, idioblastos, epiderme e tricomas secretores de compostos fenólicos) presentes nas espécies estudadas teriam sido selecionadas pela pressão generalizada de animais fitófagos.

A hipótese de que essas estruturas de proteção estejam relacionadas ao elevado custo da herbivoria no sicônio é apoiada pela comparação a uma espécie de *Castilla*,

gênero irmão de *Ficus*, cuja inflorescência é discoide, menos especializada, já que sua relação com o inseto polinizador (tripes) é aparentemente menos estreita que em *Ficus* (Sakai 2001), e apresentou uma diversidade menor de estruturas de defesa.

Conclusões

Conclui-se que as espécies de *Ficus* apresentam grande diversidade de estruturas secretoras importantes na manutenção da interação com seus polinizadores e também na sua proteção. Pela primeira vez os sítios produtores das fragrâncias atrativas às vespas polinizadoras foram identificados e consistem de osmóforos presentes nas brácteas do ostíolo e no receptáculo da inflorescência. Aparentemente estas estruturas teriam surgido no gênero, já que não foram observadas em *Castilla elastica*, fato que corrobora a importância dos voláteis na manutenção do mutualismo em questão. Além das glândulas de odor, as espécies investigadas apresentam outras estruturas secretoras, especialmente de compostos fenólicos, que teriam função na proteção do sicônio, estrutura de extrema importância que garante a continuidade dos ciclos de gerações tanto da espécie vegetal quanto de seus polinizadores. A interação com um grande número de fitófagos e o elevado custo da herbivoria para o sucesso reprodutivo da espécie provavelmente foram os fatores que levaram a seleção destas estruturas ao longo da evolução do grupo.

A ampliação no número de espécies e seções de *Ficus* estudadas preencheria lacunas na filogenia, permitindo traçar a evolução de caracteres provenientes das

estruturas secretoras no grupo e checar as hipóteses de relações entre elas e o mutualismo.

Referências bibliográficas

- AGRAWAL, A. A. & KONNO, K. 2009. Latex: a model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of plant defense against herbivory. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, v.40, pp.311-331.
- ALQUINI, Y.; BONA, C.; BOEGER, M. R. T.; COSTA, C. G.; BARROS, C. F. 2003. Epiderme. In: Appezzato-da-Glória, B. & Carmello-Guerreiro, S. M. (eds.) *Anatomia Vegetal*, 2ª ed. Viçosa: Editora UFV, pp.87-107.
- ANSTETT, M. C.; HOSSAERT-McKEY, M.; KJELLBERG, F. 1997. Figs and fig pollinators: evolutionary conflicts in a coevolved mutualism. *Trends in Ecology & Evolution*, v.12, n.3, pp.94-98.
- ASCENSÃO, L.; FRANCISCO, A.; COTRIM, H.; PAIS, M. S. 2005. Comparative structure of the labellum in *Ophrys fusca* and *O. lutea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, v.92, pp.1059-1067.
- ASCENSÃO, L.; MARQUES, N.; PAIS, M. S. 1995. Glandular trichomes on vegetative and reproductive organs of *Leonotis leonorus* (Lamiaceae). *Annals of Botany*, v.75, pp.619-626.

- ASCENSÃO, L.; MOTA, L.; CASTRO, M. M. 1999. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. *Annals of Botany*, v.84, pp.437-447.
- BASSO-ALVES, J. P. 2011. Desenvolvimento floral e expressão sexual em espécies de *Ficus* L. (Moraceae). 71 p. Dissertação – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2011.
- BERG, C. C. 2001. Moreae, Artocarpeae, and Dorstenia (Moraceae). *Flora Neotropica*. Monograph 83. New York: New York Botanical Garden Press.
- CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. 2007. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª ed. Porto Alegre: Editora UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, pp.519–535.
- CASTRO, M. M. & DEMARCO, D. 2008. Phenolic compounds produced by secretory structures in plants: a brief review. *Natural Product Communications*, v.3, n.8, pp.1273-1284.
- CASTRO, M. M. & MACHADO, S. R. 2012. Células e tecidos secretores. In: Appezzato-da-Glória, B. & Carmello-Guerreiro, S. M. (eds.) *Anatomia Vegetal*. 3ª ed. Viçosa: Editora UFV, pp.169-191.
- CHEN, C. & SONG, Q. 2008. Responses of the pollinating wasp *Ceratosolen solmsi marchali* to odor variation between two floral stages of *Ficus hispida*. *Journal of Chemical Ecology*, v.34, n.12, pp.1536-1544.

- CHEN, C.; SONG, Q.; PROFFIT, M.; BESSIÈRE, J. M.; LI, Z.; HOSSAERT-McKEY, M. 2009. Private channel: a single unusual compound assures specific pollinator attraction in *Ficus semicordata*. *Functional Ecology*, v.23, n.5, pp.941-950.
- CLEMENT, W. L. & WEIBLEN, G. D. 2009. Morphological evolution in the mulberry family (Moraceae). *Systematic Botany*, v.34, pp.530-552.
- CONDIT, I. J. 1932. The structure and development of flowers in *Ficus carica* L. *Hilgardia*, v.6, n.14, pp.443-481.
- COOK, J. M. & RASPLUS, J. Y. 2003. Mutualists with attitude: coevolving fig wasps and figs. *Trends in Ecology & Evolution*, v.18, n.5, pp.241-248.
- CORSI, G. 1992. The stinging hair of *Urtica membranacea* Poirlet (Urticaceae). II. Histochemistry. *Phyton*, v.32, pp. 247-253.
- CRUAUD, A.; RØNSTED, N.; CHANTARASUWAN, B.; CHOU, L. S.; CLEMENT, W. L.; COULOUX, A.; COUSINS, B.; GENSON, G.; HARRISON, R. D.; HANSON, P. E.; HOSSAERT-McKEY, M.; JABBOUR-ZAHAB, R.; JOUSSELIN, E.; KERDELHUÉ, C.; KJELLBERG, F.; LOPEZ-VAAMONDE, C.; PLEEBES, J.; PENG, Y. Q.; PEREIRA, R. A. S.; SCHRAMM, T.; UBAIDILLAH, R.; van NOORT, S.; WEIBLEN, G. D.; YANG, D. R.; YODPINYANEE, A.; LIBESKIND-HADAS, R.; COOK, J. M.; RASPLUS, J. Y.; SAVOLAINEN, V. 2012. An extreme case of plant-insect codiversification: figs and fig-pollinating wasps. *Systematic Biology*, v.61, n.6, pp.1029-1047.
- CURRY, K.; McDOWELL, L. M.; JUDD, W. S.; STERN, W. L. 1991. Osmophores, floral features and systematics of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, v.78, pp.610-623.

- DAFNI, A. & MAUÉS, M. M. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sexual Plant Reproduction*, v.11, pp.177-180.
- DATWYLER, S. L. & WEIBLEN, G. D. 2004. On the origin of the fig: phylogenetic relationships of Moraceae from *ndhF* sequences. *American Journal of Botany*, v.91, n.5, pp.767-777.
- DAVID, R. & CARDE, J. P. 1964. Coloration différentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du *Pin maritime* au moyen du reactif Nadi. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l' Academie des Sciences, Paris*, D258, 1338-1340.
- DUDAREVA, N. & PICHERSKY, E. 2006. *Biology of floral scent*. Boca Raton: Taylor & Francis Group.
- DUFAÏ, M.; HOSSAERT-McKEY, M.; ANSTET, M. C. 2003. When leaves act like flowers: how dwarf palms attract their pollinators. *Ecology Letters*, v.6, pp.28-34.
- ENDRESS, P. K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge: Cambridge University Press.
- ESAU, K. 1974. *Anatomia das plantas com sementes*. São Paulo: Edgard Blucher.
- FAHN, A. 1979. *Secretory tissues in plants*. London: Academic Press.
- FAHN, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist*, v.108, n.3, pp.229-257.
- FAHN, A. 1990. *Plant anatomy*. 4^a ed. New York: Pergamon.
- FAHN, A. 2000. Structure and function of secretory cells. *Advanced Botanical Research*, v.31, pp.37-75.

- FAHN, A. 2002. Functions and location of secretory tissues in plants and their possible evolutionary trends. *Israel Journal of Plant Sciences*, v.50, pp.S-59–S-64.
- FEDER, N. & O'BRIEN, T. P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany*, v.55, pp.123-142.
- FIGWEB. Classification within the genus *Ficus*. Disponível em: <http://www.figweb.org/Ficus/Classification_of_figs/index.htm> Acesso: 24 fev. 2014.
- FRANK, S. A. 1984. The behavior and morphology of the fig wasps *Pegoscapus assuetus* and *P. jimenezi*: descriptions and suggested behavioral characters for phylogenetic studies. *Psyche*, v.91, pp.289-308.
- FRIIS, I. 1993. Urticaceae. In: Kubitzki, K.; Rohwer, J. G.; Bittrich, V. (eds.). The families and genera of vascular plants – II. Flowering plants – Dicotyledons, Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid families. Berlin: Springer Verlag, v.2, pp.612-630.
- GALIL, J. & ESIKOWITCH, D. 1968. On the pollination ecology of *Ficus sycomorus* in east Africa. *Ecology*, v.49, n.2, pp.259-269.
- GALIL, J.; DULBERGER, R.; ROSEN, D. 1970. The effects of *Sycophaga sycomori* L. on the structure and development of the syconia in *Ficus sycomorus* L. *New Phytologist*, v.69, pp.103-111.
- GERRITS, P. O. 1991. The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles. Netherlands: Department of Anatomy and Embryology, State University Groningen.

- GIBERNAU, M.; BUSER, H. R.; FREY, J. E.; HOSSAERT-McKEY, M. 1997. Volatile compounds from extracts of figs of *Ficus carica*. *Phytochemistry*, v.46, n.2, pp.241-244.
- GIBERNAU, M.; HOSSAERT-McKEY, M.; FREY, J.; KJELLBERG, F. 1998. Are olfactory signals sufficient to attract fig pollinators? *Ecoscience*, v.5, n.3, pp.306-311.
- GIURFA, M. & LEHRER, M. 2001. Honeybee vision and floral displays: from detection to close-up recognition In: Chittka, L. & Thomson, J. D. (eds.) *Cognitive ecology of pollination: animal behavior and floral evolution*. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press, pp.61-82.
- GLOVER, B. J. & MARTIN, C. 2000. Specification of epidermal morphology. *Advances in Botanical Research*, v.31, pp.193-217.
- GRISON, L.; EDWARDS, A. A.; HOSSAERT-McKEY, M. 1999. Interspecies variation in floral fragrances emitted by tropical *Ficus* species. *Phytochemistry*, v.52, pp.1293-1299.
- GRISON-PIGÉ, L.; HOSSAERT-McKEY, M.; GREEFF, J. M.; BESSIÈRE, J. M. 2002. Fig volatile compounds - a first comparative study. *Phytochemistry*, v.61, pp.61-71.
- HADACEK, F. & WEBER, M. 2002. Club-shaped organs as additional osmophores within the *Sauromatum* inflorescence: odour analysis, ultrastructural changes and pollination aspects. *Plant Biology*, v.4, pp.367-383.
- HARBORNE, J. B. 1999. Recent advances in chemical ecology. *Natural Product Reports*, v.16, pp.509-523.
- HERRE, E. A. 1989. Coevolution of reproductive characteristics in 12 species of New World figs and their pollinator wasps. *Experientia*, v.45, pp.637-647.

- HERRE, E. A.; KNOWLTON, N.; MUELLER, U. G.; REHNER, S. A. 1999. The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. *Trends in Ecology & Evolution*, v.14, n.2, pp.49-53.
- HERRE, E. A.; JANDÉR, K. C.; MACHADO, C. A. 2008. Evolutionary ecology of figs and their associates: recent progress and outstanding puzzles. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v.39, pp.439-458.
- HOSSAERT-McKEY, M.; GIBERNAU, M.; FREY, J. E. 1994. Chemosensory attraction of fig wasps to substances produced by receptive figs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v.70, pp. 185-191.
- HOSSAERT-McKEY, M.; SOLER, C.; SCHATZ, B.; PROFFIT, M. 2010. Floral scents: their roles in nursery pollination mutualisms. *Chemoecology*, v.20, pp.75-88.
- JACOMASSI, E.; MOSCHETA, I. S.; MACHADO, S. R. 2010. Morfoanatomia e histoquímica de órgãos reprodutivos de *Brosimum gaudichaudii* (Moraceae). *Revista Brasileira de Botânica*, v.33, n.1, pp.115-129.
- JANZEN, D. H. 1979. How to be a fig. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v.10, pp.13-51.
- JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc.
- JOHRI, B. M. & KONAR, R. N. 1956. The floral morphology and embryology of *Ficus religiosa* Linn. *Phytomorphology*, v.6, pp.97-111.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. 2009. *Sistemática Vegetal, um enfoque filogenético*. 3ª ed. Artmed, Porto alegre.

- JURGENS, A.; DOTTERL, S.; MEVE, U. 2006. The chemical nature of fetid floral odours in stapeliads (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae). *New Phytologist*, v.172, pp.452-468.
- KNUDSEN, J. T.; ERIKSSON, R.; GERSHENZON, J.; STÅHL, B. 2006. Diversity and distribution of floral scent. *Botanical Review*, v.72, n.1, pp.1-120.
- KONNO, K. 2011. Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein. *Phytochemistry*, v.72, pp.1510-1530.
- LI, H. Q.; WANG, S.; CHEN, J. Y.; GUI, P. 2012. Molecular phylogeny of *Ficus* in China based on four DNA regions. *Journal of Systematics and Evolution*, v.50, n.5, pp. 422-432.
- LILLIE, R. D. 1965. Histopathologic technique and practical histochemistry. 3^a ed. New York: McGraw-Hill Book Company.
- LÜTTGE, U. 1971. Structure and function of plant glands. *Annual Review of Plant Physiology*, v.22, pp.23-44.
- MACHADO, A. F. P.; SOUZA, A. M.; LEITÃO, C. A. E. 2013. Secretory structures at syconia and flowers of *Ficus enormis* (Moraceae): a specialization at ostiolar bracts and the first report of inflorescence colleterers. *Flora*, v.208, n.1, pp.45-51.
- MARINHO, C. R.; SOUZA, C. D.; BARROS, T. C.; TEIXEIRA, S. P. 2014. Scent glands in legume flowers. *Plant Biology*, v.16, pp.215-226.
- MELO, M. C.; BORBA, E. L.; PAIVA, E. A. S. 2010. Morphological and histochemical characterization of the osmophores and nectaries of four species of *Acianthera*

- (Orchidaceae: Pleurothallidinae). *Plant Systematics and Evolution*, v. 286, pp.141-151.
- NEVES, L. J. & ISAIAS, R. M. S. 1987. Ocorrência de agente galhador em flores de *Ficus microcarpa* L. f. *Bradea*, v.4, n.40, pp.327-330.
- O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, v.59, n.2, pp.368-373.
- PANSARIN, L. M., CASTRO, M. M.; SAZIMA, M. 2009. Osmophores and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.159, pp.408-415.
- PARRISH, T. L.; KOELEWIJN, H. P.; van DIJK, P. J. 2003. Genetic evidence for natural hybridization between species of dioecious *Ficus* on island populations. *Biotropica*, v.35, n.3, pp.333-343.
- PEARSE, A. G. E. 1980. *Histochemistry, theoretical and applied: preparative and optical technology*. 4ª ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, v.1, pp.439.
- PEREIRA, R. A. S. & PENG, Y. Q. 2008. Uma árvore versátil. *Ciência Hoje*, v.42, n.249, pp.70-72.
- PICKARD, W. F. 2008. Laticifers and secretory ducts: two other tube systems in plants. *New Phytologist*, v.177, pp.877-888.
- PRIDGEON, A. M. & STERN, W. L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, v.70, pp. 1233-1243.
- PRIDGEON, A. M. & STERN, W. L. 1985. Osmophores of *scaphosepalum* (Orchidaceae). *Botanical Gazette*, v.146, pp.115-123.

- RAGUSO, R. A. 2001. Floral scent, olfaction, and scent-driven foraging behavior. In: Chittka, L. & Thomson, J. D. (eds.) Cognitive ecology of pollination: animal behavior and floral evolution. 1ª ed. Cambridge: Cambridge University Press, pp.83-105.
- RAMÍREZ, B. W. 1994. Hybridization of *Ficus religiosa* with *F. septica* and *F. aurea* (Moraceae). Revista de Biología Tropical, v.42, pp.339-342.
- ROCHA, L. P. 2012. Fauna de insetos associada a figueiras Neotropicais: novas perspectivas na associação entre figueiras e insetos. 65 p. Dissertação – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto 2012.
- RØNSTED, N.; WEIBLEN, G. D.; CLEMENT, W. L.; ZEREGA, N. J. C.; SAVOLAINEN, V. 2008. Reconstructing the phylogeny of figs (*Ficus*, Moraceae) to reveal the history of the fig pollination mutualism. Symbiosis, v.45, pp.45-55.
- SASS, J. E. 1951. Botanical microtechnique. 2ª ed. Ames: The Iowa State College Press.
- SAKAI, S. 2001. Thrips pollination of androdioecious *Castilla elastica* (Moraceae) in a seasonal tropical forest. American Journal of Botany, v.88, pp.1527–1534.
- SERRATO-VALENTI, G.; BISIO, A.; CORNARA, L.; CIARALLO, G. 1997. Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. Annals of Botany, v.79, pp.329-336.
- SKUBATZ, H.; KUNKEL, D. D.; HOWALD, W. N.; TRENKLE, R.; MOOKHERJEE, B. 1996. The *Sauromatum guttatum* appendix as an osmophore: excretory pathways, composition of volatiles and attractiveness to insects. New Phytologist, v.134, pp.631-640.

- SOUZA, L. A. 2003. Morfologia e anatomia vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântula. Ponta Grossa: UEPG.
- SOUZA, L. A. & ROSA, S. M. 2005. Morfo-anatomia do fruto em desenvolvimento de *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burger, Lanjow & Boer (Moraceae). Acta Scientiarum Biological Sciences, v.27, n.4, pp.423-428.
- SOUZA, V. C. & LORENZI, H. 2012. Botânica Sistemática. 3ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- STPICZYŃSKA, M. 2001. Osmophores of the fragrant orchid *Gymnadenia conopsea* L. (Orchidaceae). Acta Societatis Botanicorum Poloniae, v.70, pp.91-96.
- TAIZ, L. & ZEIGER, E. 2009. Metabólitos secundários e defesa vegetal In: Taiz, L. & Zeiger, E. (eds.) Fisiologia Vegetal. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, pp.342-372.
- TEIXEIRA, S. P.; BORBA, E. L.; SEMIR, J. 2004. Lip anatomy and its implications for the pollination mechanisms of *Bulbophyllum* species (Orchidaceae). Annals of Botany, v.93, pp.499-505.
- TUCKER, S. C. 1993. Floral ontogeny in Sophoreae (Leguminosae, Papilionoideae). I *Myroxylon* (Myroxylon group) and *Castanospermum* (Angylocalyx group). American Journal of Botany 80: 65-75.
- van NOORT, S. 2004. How fig trees are pollinated. Veld & Flora, v.90, pp.13-15.
- van NOORT, S.; WARE, A. B.; COMPTON, S. G. 1989. Pollinator-specific volatile attractants released from the figs of *Ficus burtt-davyi*. South African Journal of Science, v.85, pp.323-324.

- VIDAL, B. C. 1977. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. *Cell Molecular Biology*, v.22, pp.45-64.
- VERKERKE, W. 1986. Anatomy of *Ficus ottoniifolia* (Moraceae) syconia and its role in the fig-fig wasp symbiosis. *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, v.89, n.4, pp.443-469.
- VERKERKE, W. 1987. Syconial anatomy of *Ficus asperifolia* (Moraceae), a gynodioecious tropical fig. *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, v.90, n.4, pp.461-492.
- VERKERKE, W. 1988. Flower development in *Ficus sur* Forsskål (Moraceae). *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, v.91, n.2, pp.175-195.
- VERKERKE, W. 1989. Structure and function of the fig. *Experientia*, v.45, pp.612-622.
- VOGEL S. 1983. Ecophysiology of Zoophilic Pollination In: Lange, O. L.; Nobel, P. S.; Osmond, C. B.; Ziegler H. (eds.) *Physiological plant ecology III. Encyclopedia of plant physiology, New Series*, v. 12C. Berlin: Springer-Verlag, pp.559-624.
- VOGEL S. 1990. The role of scent glands in pollination: on the structure and function of osmophores. 1^a ed. Washington: Smithsonian Institution Libraries.
- WARE, A. B.; KAYE, P. T.; COMPTON, S. G.; van NOORT, S. 1993. Fig volatiles: their role in attracting pollinators and maintaining pollinator specificity. *Plant Systematics and Evolution*, v.186, pp.147-156.
- WARE, A. B. & COMPTON, S. G. 1994. Responses of fig wasps to host plant volatile cues. *Journal of Chemical Ecology*, v.20, n.3, pp.785-802.

- WEBERLING, F. 1989. Morphology of flowers and inflorescences. Cambridge: Cambridge University Press.
- WEIBLEN, G. D. 2002. How to be a fig wasp. Annual Review of Entomology, v.47, pp.299-330.
- WERKER, E. 1993. Function of essential oil-secreting glandular hairs in aromatic plants of the Lamiaceae – A review. Flavor and Fragrance Journal, v.8, pp.249-255.
- WERKER, E. 2000. Trichome diversity and development. Advances in Botanical Research, v.31, pp.1-35.
- WIEMER, A. P.; MORÉ, M.; BENITEZ-VIEYRA, S.; COCUCCHI, A. A.; RAGUSO, R. A.; SÉRSIC, A. N. 2009. A simple floral fragrance and unusual osmophore structure in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). Plant Biology, v.11, pp.506-514.