

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS-UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA – ICET
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS QUÍMICA E BIOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - TCC

CADMA FERREIRA COELHO

**GLÂNDULAS EM *Parkia discolor*: MORFOANATOMIA DOS COLÉTERES E
NECTÁRIOS ATRATIVOS DE FORMIGAS E MORCEGOS**

ITACOATIARA-AM

2022

CADMA FERREIRA COELHO

**GLÂNDULAS EM *Parkia discolor*: MORFOANATOMIA DOS COLÉTERES E
NECTÁRIOS ATRATIVOS DE FORMIGAS E MORCEGOS**

O presente Trabalho de Conclusão de Curso segue as normas da Revista Ciência e Natura

Trabalho apresentado para avaliação na disciplina de Trabalho de conclusão de curso, do curso de Licenciatura Ciências: Química e Biologia, da Universidade Federal do Amazonas.

Orientador: Prof^a Isabel Reis Guesdon

ITACOATIARA-AM

2022

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C672g Coelho, Cadma Ferreira
Glândulas em *Parkia discolor*: morfoanatomia dos coléteres e nectários atrativos de formigas e morcegos / Cadma Ferreira Coelho . 2022
25 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Isabel Reis Guesdon
TCC de Graduação (Licenciatura Plena em Ciências - Química e Biologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Néctar. 2. Polinizador. 3. Estruturas secretoras. 4. Anatomia vegetal. 5. Histoquímica. I. Guesdon, Isabel Reis. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA – ICET
Curso de Licenciatura em Ciências: Química e Biologia

ATA DE AVALIAÇÃO

1. Dados de Identificação

1.1. Aluna: Cadma Ferreira Coelho

1.2. Ano/Semestre: 2021/1 Turma: 5 Período: 10

1.3. Título do Trabalho: "GLÂNDULAS EM *Parkia discolor*: MORFOANATOMIA DOS COLÉTERES E NECTÁRIOS ATRATIVOS DE FORMIGAS E MORCEGOS"

1.4. Professor Orientador: Isabel Reis Guesdon

| Avaliação dos Arguidores | Monografia (escrito) | Defesa (Oral) | Médias |
|-----------------------------|-------------------------|------------------|--------|
| Maiara de Souza Nunes Ávila | 9,6 | 9,6 | 9,6 |
| Valéria Ferreira Fernandes | 9,2 | 9,0 | 9,1 |
| Isabel Reis Guesdon | 9,5 | 9,5 | 9,5 |

Média Final $\frac{(1+2+3)}{3} = 9,4$

3

Assinaturas:

1º Arguidor:

2º Arguidor:

Orientador:

Itacoatiara (AM), 04 de maio de 2022.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 7 |
| 2 METODOLOGIA..... | 9 |
| 2.1 Coleta do Material Botânico..... | 10 |
| 2.2 Coleta de dados em campo | 10 |
| 2.3 Análise morfoanatômica e histoquímica..... | 10 |
| 2.3.1 Morfoanatomia..... | 10 |
| 2.3.2 Histoquímica..... | 10 |
| 2.3.3 Documentação fotográfica..... | 11 |
| 3 RESULTADO E DISCUSSÃO..... | 11 |
| 3.1 Morfologia dos nectários das folhas..... | 12 |
| 3.2 Morfologia da inflorescência e nectário da flor..... | 12 |
| 3.3 Observações de campo..... | 13 |
| 4 ANATOMIA DOS NECTÁRIOS DAS FOLHAS E BRACTEAS..... | 15 |
| 4.1 Primeiro registro de coléter nas brácteas de <i>Parkia discolor</i> | 15 |
| 4.2 Anatomia do nectário da floral..... | 16 |
| 4.3 Química do néctar..... | 18 |
| 4.4 Histoquímica..... | 18 |
| 5 Considerações Finais..... | 21 |
| Agradecimentos..... | 22 |
| Referências..... | 22 |

Glands in *Parkia discolor*: morphoanatomy of colleters and attractive nectaries for ants and bats

Glândulas em *Parkia discolor*: morfoanatomia dos coléteres e nectários atrativos de formigas e morcegos

Cadma Ferreira Coelho^I  Isabel Reis Guesdon^{II} 

^I Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia, Itacoatiara, AM, Brasil

^{II} Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, Brasil

RESUMO

As espécies de *Parkia* (Fabaceae) se distribuem em matas e áreas alagadas da Amazônia e possuem estruturas secretoras nas folhas e flores. O presente trabalho visa descrever a morfoanatomia e histoquímica das estruturas secretoras das folhas, e inflorescências de *Parkia discolor* Spruce ex Benth. O material botânico foi coletado no igapó do Rio Carú, Itacoatiara-AM. Os consumidores do néctar foram observados em campo. Amostras das folhas e inflorescências foram coletadas e fixadas, seguindo protocolos usuais de inclusão em resina e para análise anatômica e histoquímica. Foram observados nectários no pecíolo e ráqui das folhas e nas brácteas do pedúnculo da inflorescência, nectários e coléteres. O coléter é do tipo padrão, e este é o primeiro registro para o gênero. Os nectários do pecíolo, ráqui e brácteas são constituídos de epiderme secretora em paliçada, cutícula espessa e parênquima secretor vascularizado. O nectário da flor nectarífera está localizado internamente na base dos estames. A liberação do néctar da flor ocorre no período da noite, formando gotas volumosas. Morcegos foram observados consumindo o néctar em curtas visitas e formigas, foram vistas nos nectários extraflorais. Os testes histoquímicos revelaram a presença de proteínas, lipídeos e compostos fenólicos. Os nectários extraflorais produzem néctar atrativos para formigas, que exercem atividade de proteção anti-herbivoria e nos florais, o néctar é ofertado aos seus potenciais polinizadores.

Palavras-chave: Estruturas secretoras; Néctar; Polinizador

ABSTRACT

Parkia species (Fabaceae) are distributed in forests and flooded areas of the Amazon and have secretory structures in leaves and flowers. The present work aims to describe the morphoanatomy and histochemistry of the secretory structures of the leaves and inflorescences of *Parkia discolor* Spruce ex Benth. The botanical material was collected in the igapó of Rio Carú, Itacoatiara-AM. Nectar consumers were observed in the field. Samples of leaves and inflorescences were collected and fixed, following usual protocols for inclusion in resin and for anatomical and histochemical analysis. Nectaries were observed on the petiole and rachis of the leaves and on the inflorescence peduncle bracts, nectaries and colleters. The colleter is of the standard type, and this is the first record for the genus. The nectaries of the petiole, rachis and bracts are composed of a palisade secretory epidermis, thick cuticle and vascularized secretory parenchyma. The nectary of the nectariferous flower is located internally at the base of the stamens. The release of nectar from the flower occurs at night, forming voluminous drops. Bats were observed consuming the nectar on short visits and ants were seen in the extrafloral nectaries. Histochemical tests revealed the presence of proteins, lipids and phenolic compounds. Extrafloral

nectars produce nectar attractive to ants, which exert anti-herbivory protection activity and in floral nectars, nectar is offered to their potential pollinators.

Keywords: Secretory structures; Nectar; Pollinator

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Parkia* está circunscrito na subfamília Mimosoideae, uma das três que compõem a família Fabaceae (Leguminosae) (OLIVEIRA, 2015). Aproximadamente 34 espécies estão reunidas neste gênero Pantropical, distribuídas em florestas tropicais do Neo e Paleotrópico. A Amazônia é o centro de diversidade do grupo, abrigando espécies que se distribuem em matas de terra firme, bem como em áreas alagadas (HOPKINS 1986; RIBEIRO et al., 1999).

As folhas em *Parkia* são bipinadas, opostas, alternadas ou em espirais, os foliólulos de espécies neotropicais são alongados a lineares, e desiguais na base, a nervura central é paralela em relação à margens dos foliólulos, sendo curvado apenas no ápice e na base, o pecíolo e a ráqui podem apresentar nectários em diferentes posições (HOPKINS, 1986). As inflorescências são capitulares e de arranjo variável, sendo eretas ou pendentes. Em geral as inflorescências em *Parkia* são muito chamativas, reunindo centenas de pequenas flores tubulosas vermelhas ou amarelas que podem ser férteis, nectaríferas ou neutras (HOPKINS, 1986; RIBEIRO et al., 1999). A partir da morfofuncionalidade das inflorescências, Hopkins (1986) reconhece três seções. Em *Sphaeroparkia* as inflorescências reúnem apenas flores férteis, em *Platyparkia*, ocorrem flores férteis e nectaríferas, e na seção *Parkia* os três tipos são encontrados na inflorescência, flores férteis, flores nectaríferas e flores neutras formando estaminódios.

Na seção *Parkia*, as flores nectaríferas se distribuem na base do capítulo e são polinizadas por morcegos (HOPKINS, 1986). As espécies de *Parkia* podem ser polinizadas por morcegos, sobretudo *Glossoghaga discolor*, ou por abelhas noturnas do tipo *Megalopta* (RIBEIRO et al., 1999). Segundo Grunmeier (1990) as flores de um mesmo

capítulo se abrem por uma única noite e a oferta do néctar é uma importante fonte de recurso para os morcegos.

O néctar é uma solução constituída majoritariamente por água, sacarose, glicose e frutose, além de outros carboidratos, proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, compostos fenólicos, alcaloides e lipídios (BAKER; BAKER, 1983). A composição, concentração e volume do néctar variam entre as espécies vegetais. O néctar floral é um dos recursos oferecidos como recompensa no mutualismo entre plantas e animais, sendo a principal fonte de atração não apenas para polinizadores, mas também atraindo defensores como formigas (BRANDENBURG et al., 2009.)

Os nectários são estruturas secretoras compostas por tecidos especializados na secreção de néctar. São registrados em diferentes órgãos de diversas famílias de Angiospermas e exibem diferentes padrões morfológicos e anatômicos (ZIMMERMANN 1932; ELIAS 1983; NEPI, 2007).

A diversidade morfológica de nectários é bastante pronunciada nas folhas das espécies da família Leguminosae. Anatomicamente são constituídos por parênquima vascularizado e epiderme secretora recoberta por cutícula, podendo estar imersos nos tecidos foliares ou elevados por um pedúnculo em diferentes graus (GONZALES; MARAZZI, 2018). Tais estruturas vem sendo morfoanatomicamente descritas, subsidiando a taxonomia (COUTINHO et al., 2016) e o entendimento da natureza química da secreção (COUTINHO; MEIRA, 2015). Em contraste, os nectários florais na família são ainda pouco compreendidos anatomicamente.

A subfamília Mimosoideae possui notável presença de estruturas secretoras foliares e florais. Além das flores nectaríferas associadas à atração de polinizadores, as folhas das espécies de *Parkia* também apresentam estruturas secretoras de néctar nas folhas, variando em número e forma. Tais estruturas são frequentemente visitadas por formigas, que provavelmente oferecem proteção contra herbívoros em troca do recurso (HOPKINS, 1986; RIBEIRO et al., 1999). Hopkins (1986) ainda registra a ocorrência de uma glândula de tamanho desenvolvido nas brácteas, distribuídas ao longo da ráqui da inflorescência. Além disso, projeções glandulares no conectivo das

anteras são descritas por Wee; Rao (1980), ocorrendo nas flores nectaríferas e neutras da maioria das espécies neotropicais de *Parkia* (OLIVEIRA, 2015).

Ancibor (1969) relata que existem poucas evidências do tecido secretor nas flores de *Parkia*. Estudo comparativo das flores nectaríferas em oito espécies de *Parkia* (FREITAS, 2017), registraram diferenças no padrão anatômico das flores quiropterófilas e entomófilas. Porém, apesar de ter identificado material denso em células do tubo floral, ainda é obscura a caracterização do tecido secretor.

Estudos comparativos de nectários florais e extraflorais da mesma espécie são escassos (NICOLSON, 2007). Logo, o presente trabalho traz importantes registros para a literatura das estruturas secretoras em leguminosas.

Estudos comparativos de nectários florais e extraflorais da mesma espécie são escassos (NICOLSON, 2007). Logo, o presente trabalho traz importantes registros para a literatura das estruturas secretoras em leguminosas. O trabalho objetivou descrever a morfoanatomia dos nectários foliares e florais em *Parkia discolor* Spruce ex Benth, assim como registrar outras estruturas secretoras na espécie. Os resultados visam contribuir para o entendimento estrutural e funcional destas glândulas, assim como a constituição da secreção e seus consumidores.

2 METODOLOGIA

2.1 Coleta do Material Botânico

Amostras de *Parkia discolor* Spruce ex Benth foram coletadas em Itacoatiara-AM, em área alagadas de igapó do Rio Carú. Indivíduos de uma população foram monitorados para a coleta do material fértil e para observações de campo. Ramos férteis da espécie foram depositados no Herbário da Universidade Estadual do Amazonas-UEA (HERBIT).

Amostras das folhas e inflorescências foram fixadas em FNT (formalina neutra tamponada) e Metanol. Após submeter estas amostras ao vácuo, parte

permaneceram no fixador em geladeira (JOHANSEN, 1940) e outra seguiu para a desidratação em série etílica e armazenamento em álcool 70%.

2.2 Coleta de dados em campo

Para observação dos consumidores do néctar, foram realizadas visitas de campo diurnas e noturnas, durante o início da floração (Janeiro e fevereiro de 2020). Durante as visitas de campo, a secreção dos nectários foi submetida a testes preliminares, como da fita de uroanálise (Uroclin 10®), para detectar glicose e proteína. O néctar foi analisado em refratômetro analógico (Incoterm) com precisão óptica, para detectar concentração de açúcares totais.

2.3 Análise morfoanatômica e histoquímica

O estudo morfoanatômico e histoquímico foi realizado no Laboratório de Botânica do ICET.

2.3.1 Morfoanatomia

Os diferentes nectários foram observados na lupa (estereomicroscópio modelo Leica®), descritos, mensurados (comprimento e largura ou diâmetro) e ilustrados. Fragmentos das folhas, das brácteas e das flores nectaríferas foram incluídos, emblocados em historesina (Historesin Leica®) e seccionados em micrótomo rotativo manual (Spencer American Optical®) em planos transversal e longitudinal. Após coloração em azul de toluidina pH 4.7 (O'BRIEN et al. 1964) as lâminas permanentes foram montadas em Permout® (Fisher Scientific, NJ, USA).

2.3.2 Histoquímica

Para a identificação da natureza química dos componentes estruturais das células secretoras e da secreção, cortes de amostras fixadas em FNT foram submetidos aos seguintes testes histoquímicos: Sudan Red para detecção de componentes lipídicos (JOHANSEN, 1940), azul de Coomassie para proteínas

(FISHER, 1968) e PAS (reagente de Schiff e ácido periódico) para polissacarídeos totais (McMANUS, 1948) e para pectinas/mucilagem com vermelho de rutênio (JOHANSEN, 1940). A presença de compostos fenólicos totais foi analisada nos cortes corados em azul de Toluidina (O'BRIEN et al., 1964).

2.3.3 Documentação fotográfica

Os registros de campo diurnos e noturnos foram feitos em máquina fotográfica Olympus E-420. O laminário e os resultados dos testes histoquímicos foram documentados em microscópio de luz (DM500Leica®) com câmera digital acoplada (Nikon A100) e a escala calibrada com lâmina micrometrada.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 Morfologia dos nectários das folhas

Nas folhas bipinadas de *Parkia discolor* (Fig.1.A), foram observadas diversas glândulas. Um nectário ocorre no meio do pecíolo (Fig. 1.B) e vários outros ao longo da ráquis entre os pulvinos (Fig. 1.D), sendo mais comuns na região distal da folha. Hopkins (1986) descreve a ocorrência de nectários no pecíolo e ráquis em algumas espécies, como em *Parkia multijuga*.

Os nectários da folha possuem cor esverdeada (Fig.1.B-D-F-G) apresentando variações de tamanho de acordo com seu estágio de desenvolvimento. Pereira; Ferreira (2017) descrevem apenas as glândulas da folha, como glândulas esféricas. Porém, foi observado que as glândulas do pecíolo são ovaladas e da ráquis são ovaladas na base e anguladas no ápice (Fig.1. B-D). Os nectários peciolares jovens (Fig.1.B), em média, medem entre 1 cm de comprimento por 0,4 mm de largura, já os da ráquis medem 2 mm de largura por 4 mm de comprimento (Fig.1.D).

3.2 Morfologia da inflorescência e nectário da flor

Segundo Hopkins (1986), a estrutura reprodutiva de *Parkia discolor* Benth é formada por um eixo composto em posição terminal dos ramos (Fig.1.A), onde os pedúnculos das inflorescências capitulares são sustentados por um eixo primário não ramificado (Fig. 1.E). Na bráctea do pedúnculo da inflorescência na face adaxial ocorre um nectário de cor esverdeada e forma ovalada (Fig. 1.F-G), ocupando grande parte da extensão da estrutura, medindo entre 3 mm de largura por 4 mm de comprimento. Tais brácteas são caducas e caem ao longo do desenvolvimento. Hopkins (1986), cita o nectário apenas nas brácteas de *P. pendula*, *P. nítida* e *P. igneiflora*, sendo este um novo registro para *P. discolor*.

Na descrição feita por Hopkins (1986) a inflorescência capitular da sessão *Parkia* possui três tipos morfológicos e funcionais de flores: as flores masculinas na região apical, flores nectaríferas na região mediana e as flores femininas na região basal (Fig. 1.H-I). A região nectarífera das inflorescências de *P. discolor* analisadas neste trabalho, apresentam flores pentâmeras de cor vermelha, medindo cerca de 0,7 mm de comprimento (Fig. 1.J). A flor nectarífera é tubulosa, apresentando as sépalas conadas entre si até o ápice da corola, onde se dividem em cinco lobos. O androceu é formado por dez estames, os filetes são longos e conados basalmente entre si e adnatos às pétalas, porém são inclusos e apenas as anteras são visíveis na garganta da corola. As anteras são de cor amarela e ativas na produção de pólen (Fig. 1.J). O nectário floral observado em *Parkia discolor* é bem internalizado na flor secretora de néctar e pouco distinto. O tecido secretor está localizado na região basal da zona estaminal, assim como registrado por Hopkins (1986), que observou uma área espessa onde abriga o nectário. Nas flores dissecadas neste trabalho, foi possível observar a região secretora nas bases dos filetes, em uma região de fusão do androceu e gineceu (androgínóforo) (Fig. 1.J). Ancibor (1969) descreve que na subfamília Mimosoideae, os nectários se localizam na região intra- estaminal, entre as bases dos filetes e a base do ovário ou do ginóforo; ou nas bases fundidas dos filetes, que pode ainda estar fundido à corola.

Em contraste à descrição de Ancibor (1969), que classifica os nectários florais de *Parkia auriculata* e *P. multijuga* como não projetados, o presente trabalho registrou uma pequena projeção na base dos filetes em *P. discolor* (Fig. 1. J). No entanto, tal projeção é mais pronunciada em espécies como *Pentaclethra macroloba* (ANCIBOR, 1969).

Hopinks (1986) reconhece as flores nectaríferas da seção *Parkia* como flores masculinas modificadas, e raramente um gineceu não funcional está presente. Assim como registrado pelo mesmo autor em *P. nítida*, no presente trabalho foi observado um gineceu atrofiado (Fig.1.J). O mesmo autor complementa que o pólen encontrado nessas flores está mais relacionado à oferta de recursos ao morcego do que à polinização.

3.3 Observações de campo

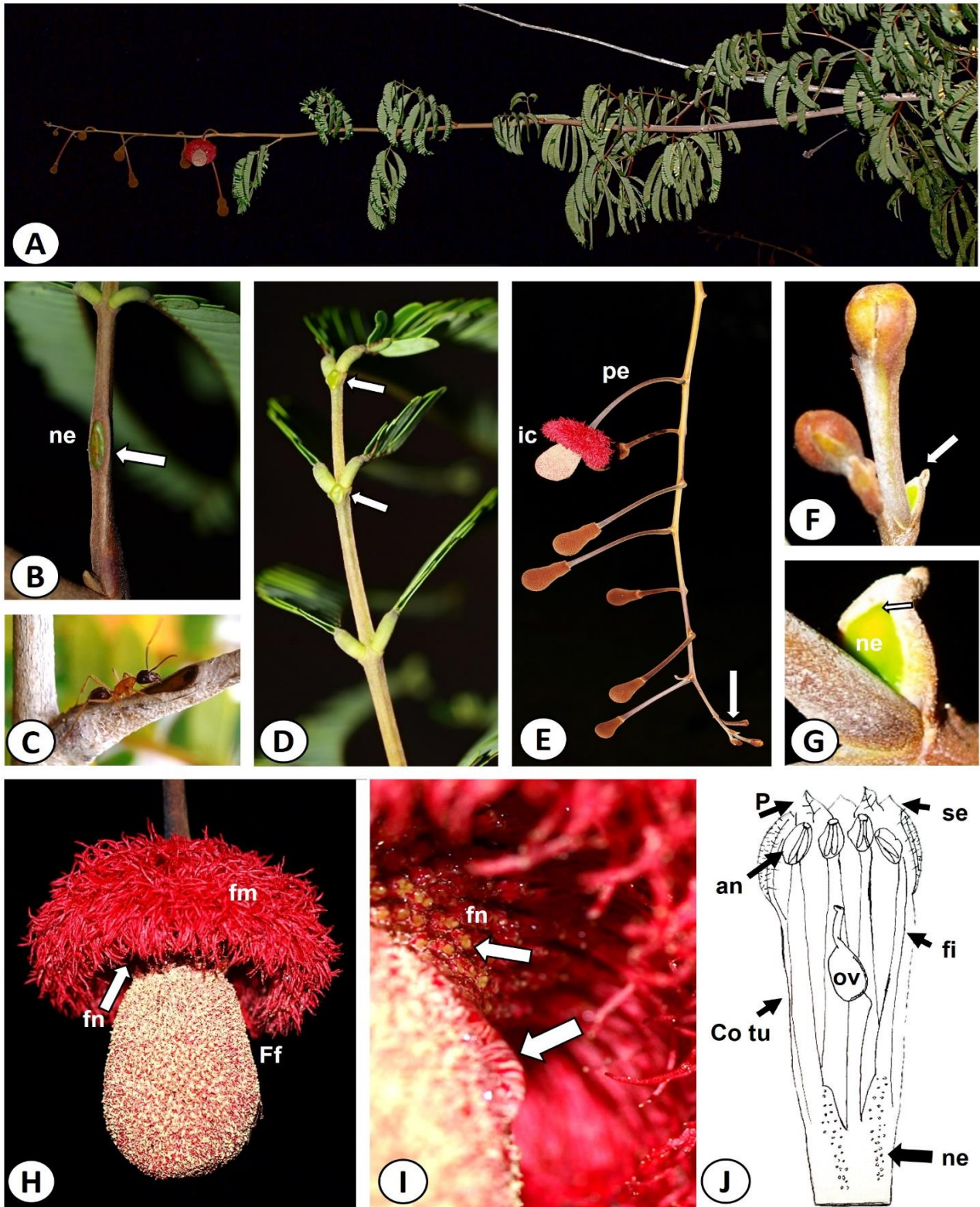
Em visitas ao campo no período diurno foi possível observar formigas nos nectários das folhas e brácteas (Fig 1.C). É comum o consumo de néctar extrafloral por formigas, reduzindo as visitas danosas de insetos nas folhas e flores, exercendo uma importante proteção anti-herbivoria (NICOLSON, 2007).

Nas visitas em campo durante a noite (Fig. 1.A), os morcegos foram vistos sobre voando a planta e realizando rápidas visitas nas inflorescências. Devido a esse comportamento característico em visitar várias inflorescências rapidamente, os morcegos são polinizadores muito eficazes, já que visitam mais flores e transportam mais pólen (CROME; IRVINE, 1986). Este comportamento também foi registrado nos estudos em *Parkia decussata* e *P. pendula*, onde os morcegos foram vistos lambendo o néctar produzido pelas flores nectaríferas (RIBEIRO et al., 1999) bem como em espécies de *Inga* (CRUZ, 2007).

No decorrer da noite, foi observada a intensificação da secreção nas inflorescências, produzindo néctar copioso (Fig. 1.I). Em *Parkia pendula*, espécie polinizada por morcegos, Piechowski (2007) registrou durante uma noite, volume de 4,5 a 21 ml de néctar por capítulo. Em *Parkia* os morcegos, como da espécie

Glossoghaga discolor são os polinizadores de terra firme (RIBEIRO et al., 1999), sendo escassos os estudos sobre polinizadores em áreas alagáveis.

Figura 1- Documentação fotográfica de *Parkia discolor* Spruce ex Benth



Fonte: acervo particular dos autores (2022)

Legenda: (A)- Registro noturno de *P. discolor*. (B)- Folha *P. discolor* com um nectário no meio do pecíolo. (C)- Formiga visitando o nectário do pecíolo. (D)-Distribuição dos nectários ao longo da ráqui, com detalhe do nectário no canto superior. (E)- Eixo primário não ramificado formado por pedúnculos que suportam as inflorescências capitulares, evidência de brácteas do pedúnculo no final da inflorescência. (F)- Detalhe das inflorescências capitulares jovens do meristema reprodutivo e presença de brácteas no pedúnculo (seta). (G)- Detalhe da bráctea do pedúnculo, localização da glândula esverdeada, na face adaxial, onde foram encontrados os coléteres (seta). (H)- Localização das flores masculinas, femininas e região de flores nectaríferas (I)-Detalhe da região mediana, com flores nectaríferas secretando néctar. (J)- Ilustração da vista de um corte longitudinal da flor nectarífera. Cortes em detalhes corados com azul de Toluidina células fortemente azuis mostram compostos fenólicos ep: Eixo primário não ramificado ic: Inflorescência pe: Pedúnculo capitar ne: Nectário fm: flores masculinas, Ff: flores femininas, fn: flores nectaríferas, Co tu: Corola tubular, p: pétala, se: sépala, an: antera, fi: filete, ov: ovário atrofiado

4 Anatomia dos nectários das folhas e brácteas

Nos estudos anatômicos em *P. discolor*, a estrutura dos tecidos que compõem os nectários do pecíolo (Fig. 2.A), da ráquis (Fig. 2.C), e bractéa (Fig. 2.D) é constituída por uma cutícula espessa, uma epiderme secretora em paliçada, um parênquima secretor e um feixe vascular composto por floema (Fig. 2.B-F). Tal constituição é comum em nectários extraflorais são vistos em Fabaceae por Gonzales; Marazzi (2018).

Nas amostras analisadas, compostos fenólicos são acumulados no entorno de todo o tecido secretor do nectário floral de *Parkia discolor*. Essa ocorrência também foi relatada nas flores de *Hymenaea stigonocarpa* (PAIVA; MACHADO, 2008).

4.1 Primeiro registro de coléter nas brácteas de *Parkia discolor*

Nos cortes realizados na bráctea do pedúnculo no meristema reprodutivo (Fig. 2.D), além do nectário, uma nova ocorrência de coléteres foi registrada no ápice da bráctea(Fig. 2. D-G-H-I). Dessa forma, este trabalho descreve os coléteres pela primeira vez no gênero, sendo do tipo padrão com um eixo central parenquimático e uma camada de epiderme secretora em paliçada e uma base marcada pela presença de compostos fenólicos (Fig.2. G-H). Nos estudos feitos por

Vinoth (1991), os coléteres são vistos em Leguminosas, apenas nas subfamílias Mimosoideae e Faboideae, e em Caesalpinioideae são ausentes.

Os coléteres são citados por Solereder (1908) em estípulas de espécies de Mimosoideae e em Faboideae, estão presentes no pecíolo, Rutishauser (1989) encontra em Faboideae a presença coléteres também nas estípulas. Pesquisas sobre coléteres na família Fabaceae são carentes e restritos a poucos gêneros (DE-PAULA; OLIVEIRA, 2007). Tricomas, foram observados por todo eixo da inflorescência e na bractéola próximo aos coléteres. Freitas (2017) em estudos anatômicos nas flores nectaríferas de *P. discolor*. evidenciaram a presença de tricomas na superfície da corola.

Durante a fase inicial da senescência dos coléteres do meristema, foi evidenciado o acúmulo de compostos fenólicos na região do pedúnculo, sendo observado a presença de uma coloração esverdeada (Fig. 2.G). Tais eventos de senescência de coléteres estão em concordância com estudos nas lâminas foliares de *Casearia sylvestris* Sw, onde é notório a formação de uma zona de abscisão na base do coléter com o acúmulo de compostos fenólicos e posteriormente o seu colapso (FERNANDES et al., 2017).

4.2 Anatomia do nectário floral

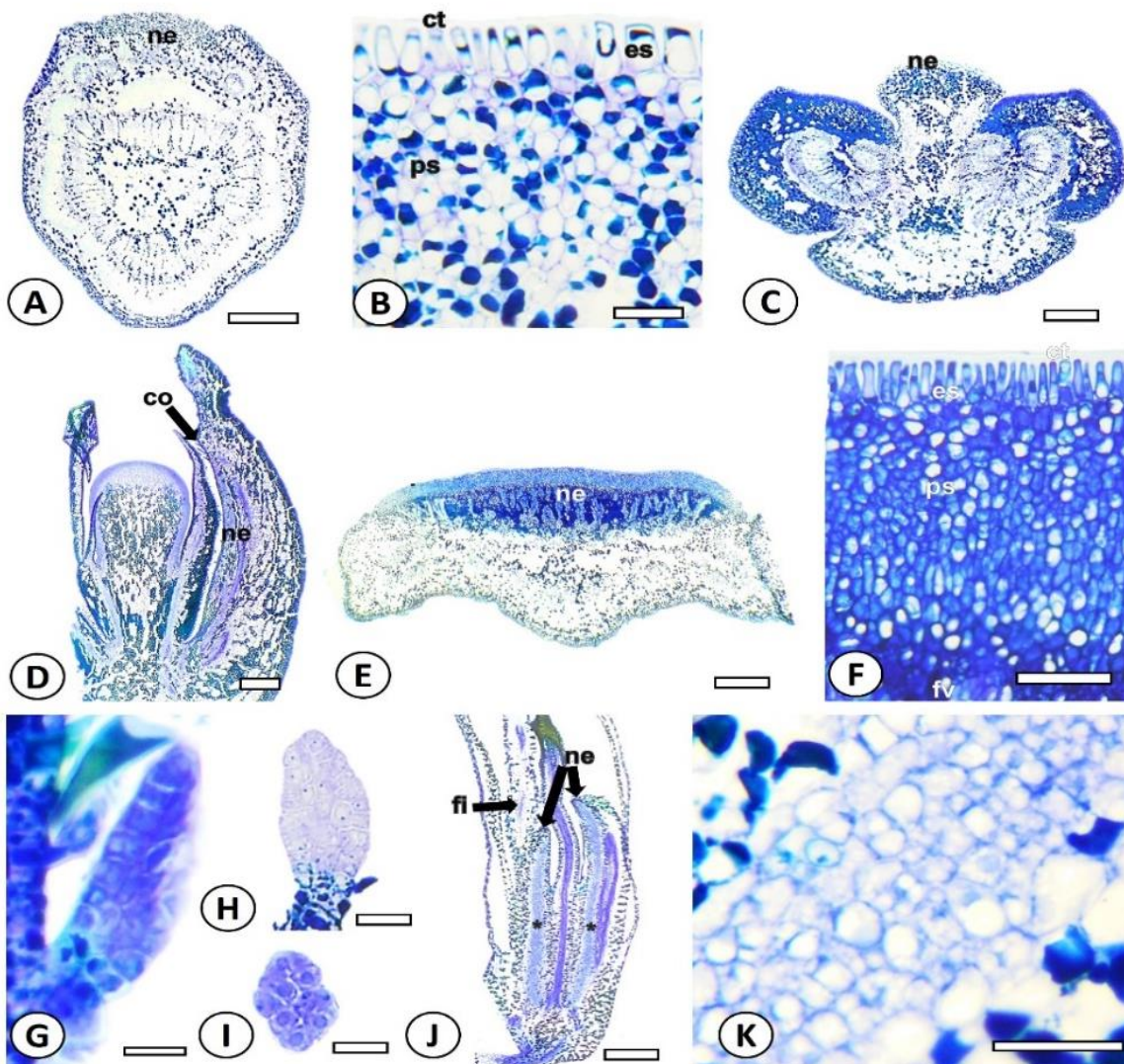
Em vista longitudinal das flores nectaríferas de *P. discolor*, na região do androginóforo, o nectário está localizado na base dos filetes, se estendendo até a base da flor (Fig. 2.J). O tecido secretor é formado por um parênquima que se destaca por apresentar células de citoplasma denso e núcleo pronunciado (Fig. 2.J). Em geral, a anatomia dos nectários florais em leguminosas é constituída por três tecidos básicos: epiderme, parênquima especializado e um sistema vascular abundante em floema (HORNER et al., 2003; NEPI, 2007; PAIVA, 2008).

Paiva (2008) descreve o nectário floral de uma espécie de Fabaceae no interior do hipanto, sem uma epiderme secretora em paliçada, composto apenas por um parênquima vascularizado, e a liberação da secreção ocorrendo

provavelmente via estômatos. Em *Parkia discolor*, uma vez que não foi observada epiderme em paliçada, é possível que a liberação do néctar também ocorra por meio dos estômatos, que foram observados na epiderme da projeção basal dos filetes. Apesar de Freitas (2017) afirmar que os estômatos são ausentes na anatomia floral da seção *Parkia*, Ancibor (1969) cita a presença de estômatos grandes e numerosos na superfície do nectário floral de espécies de Mimosoideae.

Apesar de outros trabalhos registrarem nectários florais na família Fabaceae, sua constituição anatômica ainda é pouco compreendida (PAIVA; MACHADO, 2008). Os estudos escassos sobre a biologia reprodutiva floral em Mimosoideae, provavelmente seja decorrente das dificuldades de observação, gerando obstáculos metodológicos devido às flores diminutas (BORGES, et al., 2017).

Figura 2- Anatomia das estruturas secretoras de *Parkia discolor* Spruce ex Benth



Fonte: acervo particular do autor (2022)

Legenda: (A)- Corte transversal do pecíolo e região do nectário. (B)- Detalhe do nectário foliar presença de cutícula, epiderme secretora e parênquima secretor. (C)-Corte transversal da ráquis, evidenciando no ápice a região do nectário. (D)- Corte longitudinal da bráctea do pedúnculo no meristema reprodutivo, presença dos coléteres no ápice (seta preta) e do nectário na base região. (E)- Detalhe do corte transversal da bráctea do pedúnculo evidenciando a região do nectário. (F)- Detalhe dos tecidos do nectário da bráctea do meristema reprodutivo, formado por cutícula, epiderme secretora e parênquima secretor e evidência do feixe vascular. (G-H)- Corte longitudinal do coléter localizado nas brácteas do pedúnculo; (I)- corte transversal do coléter. (J)- Corte longitudinal da flor nectarífera, evidenciando região do nectário entre os filetes. (K)- Detalhe das células parenquimáticas com citoplasma denso e núcleo pronunciado do tecido secretor do nectário floral. Siglas: ne: nectário (*) tecido secretor co: coléter es: epiderme secretora ps: parênquima secretor fe: feixe vascular. Barras: 250µm (A); 50µm (B); 200µm (C, E); 300µm (D, J), 25 µm (F); 20 µm (G, H, I); 15 µm (K).

4.3 Química do néctar

O néctar dos nectários da folha e brácteas submetidos à fita de uroanálise (Uroclin 10®), registrou reação positiva a presença de glicose e proteínas (Tab. 1). A presença de proteínas contribui para atração de formigas para os nectários extraflorais (LANZA, 1991), e os açúcares em forma líquida nos nectários extraflorais são as principais fontes de alimento das formigas (NICOLSON, 2007).

Os testes realizados em campo em diferentes horários, submetendo o néctar das flores nectaríferas à fita de uroanálise (Uroclin 10®) (Tab. 1), indicaram alta concentração de glicose > 2000 mg/dL, bem como traços de proteínas. A análise com o refratômetro marcou concentração de açúcares totais de 17 % °Brix. Estudos realizados nas flores de *Mimosa lewisii* uma mimosoideae quiropterófila, indicam concentrações elevadas de açúcares no néctar (DIAS 2017). Nicolson (2007), descreve que flores que apresentam secreção de néctar noturna e com concentração abundante de hexoses são associadas à polinização por morcegos. Helversen (1993) registrou que na dieta dos morcegos nectaríferos, o néctar apresenta concentração de açúcares que varia entre 18% a 21%.

4.4 Histoquímica

Os resultados dos testes histoquímicos estão expressos na Tabela 1. Os nectários da folha e bráctea reagiram positivamente, confirmando a produção de proteínas, polissacarídeos, lipídeos (Fig. 3.A-C). Dados similares foram registrados

nos estudos dos nectários extraflorais de *Chamaecrista ramosa* (DA SILVA PEREIRA et al., 2018). O néctar enriquecido com proteínas e lipídios beneficia de forma nutricional as demandas dos visitantes (BAKER, 1977), e as proteínas podem atuar inibindo o crescimento microbiano (PACINI; NICOLSON, 2007). A presença de lipídios no néctar não floral também pode ser considerada como um recurso de alimento para a atração de formigas (HEIL; MCKEY, 2003). Resultados similares sobre a presença de lipídeos em nectários foliares foram relatados por Coutinho e Meira (2015) em *Chamaecrista* spp.

Apesar de PAIVA e MACHADO, (2008) demonstrarem a presença de polissacarídeos no parênquima das flores de *Hymenaea stigonocarpa*, em *P. discolor* a reação do teste PAS foi suave. Por outro lado, foi constatada a produção de proteínas no tecido secretor do nectário floral de *P. discolor*. O néctar com proteínas pode ser uma fonte adicional ao polinizador, já que morcegos normalmente acessam outras fontes de proteínas (Baker, 1977). A presença de lipídeos no nectário floral da espécie em estudo (Fig. 3.F), pode funcionar como componente volátil para atrair polinizadores (BUCHMANN, 1987).

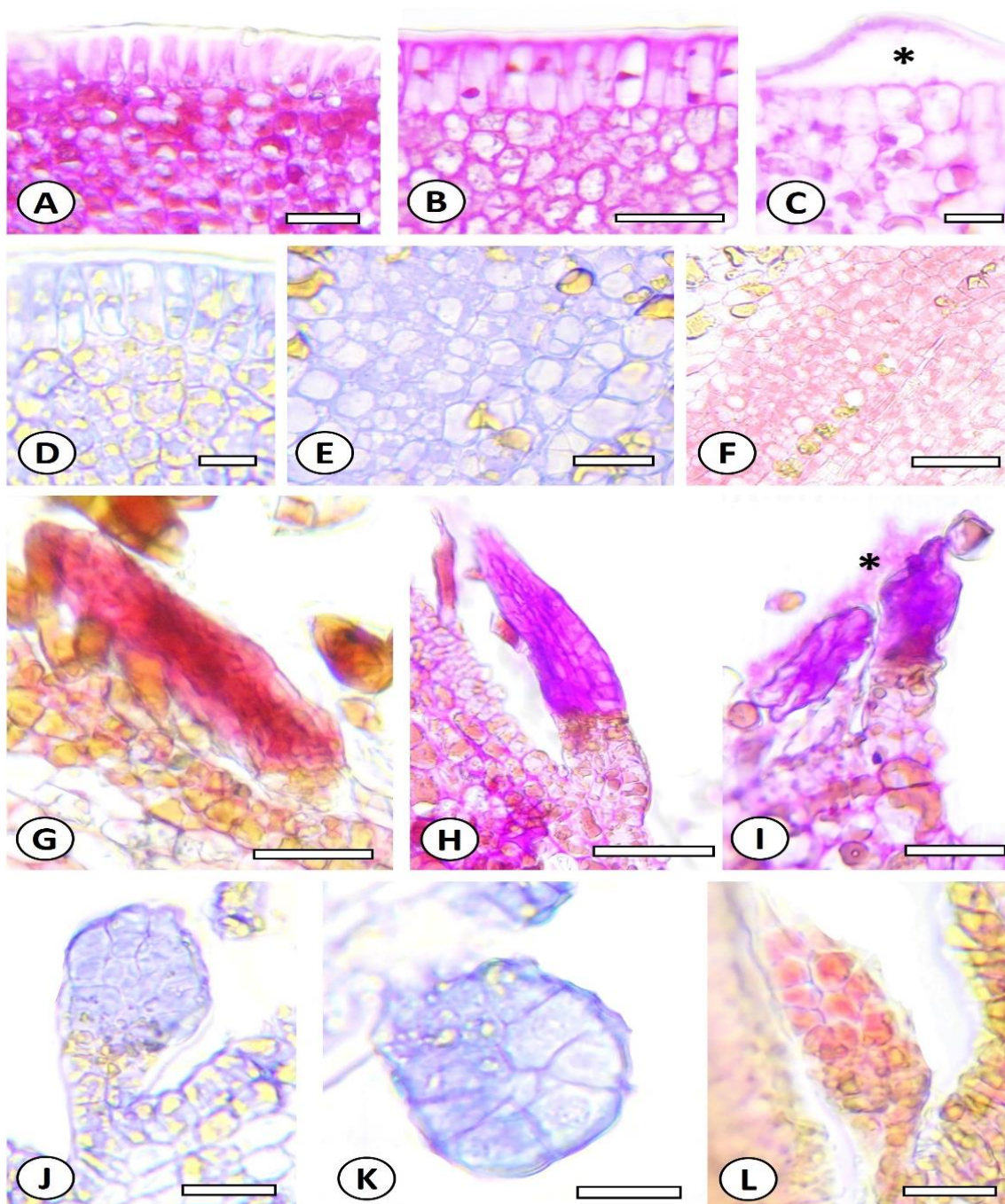
Os coléteres da bráctea de *P. discolor* reagiram positivamente para a produção de proteínas, polissacarídeos, lipídios, pectinas/mucilagem (Fig. 3.G-L). Registros dessa mesma natureza química foram vistos nos coléteres das brácteas e sépalas de espécies de *Chamaecrista* (COUTINHO, et. al., 2015). A presença de polissacarídeos, pectinas e mucilagens são determinantes para diminuir a desidratação dos órgãos, já que são capazes de absorver água (Al-Tardeh et al., 2008).

Estes coléteres da bráctea de *P. discolor*, podem atuar na proteção do meristema reprodutivo, prevenindo a desidratação do órgão em desenvolvimento (VINOTH 1991; COUTINHO et al., 2015), após a queda dos coléteres, o nectário da bractéola madura exerce função protetora contra herbívora das inflorescências.

Os cortes corados em Azul de Toluidina registraram a produção de compostos fenólicos no entorno e no parênquima secretor dos nectários da folha,

bráctea e flor, bem como no coléter (Fig. 2. A-J). Os compostos fenólicos têm importância na interação das plantas com os animais, pois são adstringentes que promovem impalatabilidade, protegendo a planta contra lesões causadas por herbívoros e fitófagos (FRANCINO et al., 2006), também são encontrados nos nectário das folhas de outras leguminosas como *Chamaecrista desvauxii* (CUNHA, 2016).

Figura 2- Resultados dos testes histoquímicos em *Parkia discolor* Spruce ex Benth



Fonte: acervo particular do autor (2022)

Legenda: Resultados dos testes histoquímicos submetidos nos nectários das folhas (A), brácteas (B-D), flores (E e F) e nos coléteres (G-L) *Parkia discolor*. Resultado teste PAS mostrando reação positiva para polissacarídeos nos nectários das folhas e bráctea (A-C), espaço subcuticular em detalhe (*). Reação positiva com Azul de Coomassie para proteínas nos nectários das brácteas e flores nectaríferas (D e E). Presença positiva de lipídios com Sudan Red nos nectários florais (F). Reação positiva nos cortes longitudinal e transversal nos coléteres da bráctea de *Parkia discolor*: Vermelho de Rutênio evidenciando pectinas/mucilagem (G), PAS mostrando polissacarídeos totais (H e I) e secreção (*), Azul de Coomassie evidenciando proteínas (J e K) e Sudan Red confirmando produção de lipídeos (L). Barras: 50µm (A); 15µm (B, F); 5µm (C, D, K); 10µm (E, J, L), 20 µm (G, H, I).

TABELA 1: Testes Histoquímicos e químicos submetidos nos nectários e secreções de *Parkia discolor*.

| TESTE | CLASSE QUÍMICA | COLÉTER | NECTÁRIO | | |
|---------------------|----------------------|---------|----------|---------|------|
| | | | FOLHA | BRÁCTEA | FLOR |
| Fita reagente | Glicose | x | + | + | + |
| Azul de Coomassie | Proteínas | | + | + | + |
| PAS | Polissacarídeos | + | + | + | - |
| Fita reagente | Proteínas | | + | + | + |
| Sudan Red | Lipídios | + | + | + | + |
| Azul de toluidina | Compostos fenólicos | + | + | + | + |
| Vermelho de Rutênio | Pectinas e mucilagem | + | x | x | x |

Fonte: Coelho (2022)

+: resultado positivo; - resultado negativo; x não foi realizado.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados dos estudos da morfologia e anatomia dos nectários das folhas, brácteas e flores nectaríferas de *Parkia discolor* o presente trabalho reúne dados inéditos de grande valor para a família Fabaceae. Além disso, os resultados das observações de campo comprovaram os componentes da secreção e seus respectivos consumidores. O trabalho ainda fez um relato inédito, o primeiro registro de coléteres nas brácteas para o gênero *Parkia*.

Os nectários das folhas e brácteas de *Parkia discolor* produzem néctar envolvido na atração de insetos, principalmente formigas que forneçam atividade anti-herbivoria, protegendo a planta. Os morcegos são os visitantes noturnos das

inflorescências, consumindo o néctar secretado pelas flores nectaríferas, como recompensa a estes potenciais polinizadores.

AGRADECIMENTOS [SE HOVER]

Agradeço a Deus que me sustentou, me deu forças durante todo o curso, à minha mãe Franciléia, irmãos Callyne, Cadmo, Calebe e meu cônjuge Lucas, por me incentivarem durante a graduação, compreendendo minha ausência enquanto me dedicava aos estudos. Em especial minha orientadora Isabel Reis pela dedicação, paciência e oportunidade, que junto a FAPEAM me proporcionaram a bolsa de PIBIC onde iniciamos esse projeto. E por fim, aos amigos e familiares que me ajudaram de alguma forma a viver esse momento.

REFERÊNCIAS

- AL-TARDEH, S., SAWIDIS, T., DIANNELIDIS, B. E., & DELIVOPOULOS, S. Water content and reserve allocation patterns within the bulb of the perennial geophyte red squill (Liliaceae) in relation to the Mediterranean climate. **Botany**, 86(3), p. 291-299. 2008
- ANCIBOR, E. Los nectarios florales en Leguminosas-Mimosoideas. **Darwiniana**. 15: p. 128- 142. 1969.
- BAKER, H. G. Non-sugar chemical constituents of nectar. **Apidologie**, v. 8, n. 4, p. 349-356, 1977.
- BAKER, H.G.; BAKER, I. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: JONES CE, LITTLE RJ. eds. **Handbook of experimental pollination biology**. New York: Van Nostrand Reinhold, p.117–141. 1983.
- BORGES, L. A.; MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. Bee pollination and evidence of substitutive nectary in *Anadenanthera colubrina* (Leguminosae Mimosoideae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, n. 3, p. 263-271, 2017.
- BRANDENBURG, A.; et al. The sweetest thing: advances in nectar research. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p.486–490, 2009.
- BUCHMANN, S. L. The ecology of oil flowers and their bees. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, n. 1, p. 343-369, 1987.
-

COUTINHO, I.A.C.; MEIRA, R.M.S.A. Structural diversity of extrafloral nectaries in *Chamaecrista* sect. *Apoucouita*. **Botany**, v. 93, p. 379–388, 2015.

COUTINHO, I.A.C.; RANDO, J.G.; CONCEIÇÃO, A.; MEIRA, R.M.S.A. A study of the morphoanatomical characters of the leaves of *Chamaecrista* (L.) Moench sect. *Apoucouita* (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, p. 205–221, 2016.

CUNHA, A. L. **Morfologia, micromorfologia e anatomia de nectários extraflorais em espécies de *Senna mill.* e *Chamaecrista moench* (leguminosae, cassinae)**. 2016. 65 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016

CROME, F.H.J.; IRVINE, A.K. "Two Bob Each Way": The Pollination and Breeding System of the Australian Rain Forest Tree *Syzygium cormiflorum* (Myrtaceae). **Biotropica**, p. 115-125, 1986.

CRUZ NETO, O. **Fenologia, biologia reprodutiva e eficiência dos visitantes florais de espécies simpátricas de *Inga* (Leguminosae-Mimosoideae) em remanescente de floresta atlântica no nordeste do Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2007

DA SILVA PEREIRA, P. et al. Extrafloral nectaries of four varieties of *Chamaecrista ramosa* (Vogel) HS Irwin & Barneby (Fabaceae): anatomy, chemical nature, mechanisms of nectar secretion, and elimination. **Protoplasma**, v. 255, n. 6, p. 1635-1647, 2018.

DIAS, M.R. P. **Anatomia floral e nectários substitutivos em *Mimosa lewisii*, leguminosae endêmica do Nordeste do Brasil polinizada por morcegos**. 52 p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.) - UFPE/CB, Recife, 2017.

DE-PAULA, Orlando Cavalari; OLIVEIRA, Denise Maria Trombert. Ocorrência de coléteres em embriões de três espécies de *Chamaecrista Moench* (Fabaceae: Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. supl 1, p. 348-350, 2007.

ELIAS, T. S. Extrafloral nectaries: their structure and distribution. **The biology of nectaries**, v. 174, p. 203, 1983.

FERNANDES, V. F. et al. Secretory structures in *Casearia sylvestris* Sw.(Salicaceae): diversity, mechanisms of secretion, and exudate complexity. **International Journal of Plant Sciences**, v. 178, n. 4, p. 288-301, 2017.

FISHER, D.B. Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. **Histochemie**, v. 16, n. 1, p. 92-96, 1968.

FRANCINO, D. M. T. et al. Anatomia foliar e caulinar de *Chamaecrista trichopoda* (Caesalpinioideae) e histoquímica do nectário extrafloral. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 695-705, 2006.

FREITAS, A.S.H. de J. **Morfoanatomia e histoquímica de nectários florais de *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) e suas relações com os sistemas de polinização do gênero.** 56 p. 56, Dissertação de Mestrado (Mestre em Ciências Botânica) - INPA, Manaus, 2017.

GONZALEZ, A. M., & MARAZZI, B.. Extrafloral nectaries in Fabaceae: filling gaps in structural and anatomical diversity in the family. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 187, p.26–45, 2018.

GRUNMEIER, R. Pollination by bats and non-flying mammals of the African tree *Parkia bicolor* (Mimosaceae). In Gottsberger, G. & Prance, G. T. (eds). Reproductive biology and evolution of tropical woody angiosperms. **Memoirs of the New York Botanical Garden**.v. 55, p.83-104, 1990.

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.

HELVERSEN, O. V.. Adaptations of flowers to the pollination by *Glossophaginae* bats. Animal-plant interactions in tropical environments (W. Barthlott, C. M. Naumann, K. Schmitt-Loske, and K. L. Schumann, eds.). **Museum Alexander Koenig**, Bonn, Germany. p. 41–59, 1993.

HOPKINS, H.C.F. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae), Monografia. **Flora Neotropica**, New York Botanical Garden. 43, p.74-77. 1986.

HORNER, H. T., Healy, R. A., Cervantes-Martinez, T., & Palmer, R. G. Floral nectary fine structure and development in *Glycine max* L.(Fabaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v. 164, p.675-690, 2003.

LANZA, J. Response of fire ants (Formicidae: *Solenopsis invicta* and *S. gerrinata*) to artificial nectars with amino acids. **Ecological Entomology**, v. 16, n. 2, p. 203-210, 1991.

Mc JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: Mc Graw-Hill Book Co. Inc., 1940.

Mc MANUS, J. F. A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain technology**, v. 23, n. 3, p. 99-108, 1948.

NEPI, M. Nectary structure and ultrastructure. Pp. 129–166.In: Nicolson SW, Nepi M, Pacini E.eds. Nectaries and nectar. **Dordrecht: Springer**, 2007.

Mc NICOLSON, S. W., NEPI, M., & PACINI, E. (Eds.). **Nectaries and nectar** (Vol. 4). Dordrecht: Springer. 2007

O'BRIEN, T., FEDER, N.; MCCULLY, M E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

- OLIVEIRA, L. C. **Filogenia de *Parkia R. Br.* (Leguminosae: Mimosoideae) baseada em sequências de DNA de cloroplasto.** Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Dissertação de Mestrado em Botânica, Manaus, 2015.
- PACINI, E.; NICOLSON, S. W. Introduction. In: NICOLSON, S. W.; NEPI, M.; PACINI, E. eds. **Nectaries and nectar.** Dordrecht: Springer, p. 1–11, 2007.
- PAIVA, E. A. S., & MACHADO, S. R. The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): structural aspects during floral development. **Annals of Botany**, v.101, n. 1, p. 125-133, 2008.
- PEREIRA, S. A., & FERREIRA, S. A. D. N. Fruit and seed biometry and seedling morphology of *Parkia discolor* (Spruce ex Benth.). **Revista Árvore**, v. 41. 2017.
- PIECHOWSKI, D. **Reproductive ecology, seedling performance, and population structure of *Parkia pendula* in an Atlantic forest fragment in Northeastern Brazil.** Tese de Doutorado. Universität Ulm, 2007.
- RIBERIRO, J. E. L. S. *et al.* **Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra Firme na Amazônica Central.** DFID, INPA, Manaus, Brazil, 1999.
- RUTISHAUSER, R., & DICKISON, W. C. 1989. Developmental morphology of stipules and systematics of the Cunoniaceae and presumed allies. I: Taxa with interpetiolar stipules. **Botanica Helvetica**, 99 (2), 147-169, 1989
- SOLEREDER, H. Systematic anatomy of the dicotyledons (trans. by LA Boodle and FE Fritsch). **Revis. DH Scott.** Oxford, 1908.
- VINOTH T. Structural, Functional and Phylogenetic Aspects of the Colleter, **Annals of Botany**, Gujarat – Índia, Volume 68, Issue 4, Pages 287–305, October 1991.
- WEE, YC ; RAO, AN. Antese e variações na estrutura floral de *Parkia javanica*. **Forester da Malásia** , v. 43, n. 4, pág. 493-499, 1980.
- ZIMMERMANN, R. C. W. Zum Proömium der hesiodischen Theogonie. **Philologus**, v. 87,n. 4, p. 421-429. 1932
-