



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



PRISCILLA PACHECO

**O SISTEMA *FICUS ADATHODIFOLIA* SCHOTT
(MORACEAE) – *TETRAPUS* SP. (CHALCIDOIDEA –
AGAONIDAE):**

DESENVOLVIMENTO DO SICÔNIO E HISTOLOGIA DA GALHA FLORAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de Concentração: Anatomia Vegetal

BELO HORIZONTE – MG

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



PRISCILLA PACHECO

**O SISTEMA *FICUS ADATHODIFOLIA* SCHOTT
(MORACEAE) – *TETRAPUS* SP. (CHALCIDOIDEA –
AGAONIDAE):**

DESENVOLVIMENTO DO SICÔNIO E HISTOLOGIA DA GALHA FLORAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de Concentração: Anatomia Vegetal

Orientador: Prof(a). Dr(a). Rosy Mary dos Santos Isaias

Universidade Federal de Minas Gerais

BELO HORIZONTE – MG

2016

Dissertação defendida e aprovada, em 24 de junho de 2016, pela banca examinadora constituída pelos professores:



Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias (UFMG)



Dr. Hildeberto Caldas de Souza (UFOP)



Dra. Anete Teixeira Formiga (UFMG)

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, ao Instituto de Ciências Biológicas e à Universidade Federal de Minas Gerais, pela oportunidade de realizar este trabalho. A FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa) pela bolsa. Ao CNPq, CAPES, FAPEMIG, sou grata pelo suporte financeiro fundamental para a realização deste estudo.

À Profa. Dra. Rosy Mary dos Santos Isaias, pelo acolhimento, paciência e compreensão. Por nos receber com carinho na graduação, por nos apresentar as galhas com estima e por nos fazer acreditar que somos capazes. Obrigada pelos puxões de orelha, pela disponibilidade, pela orientação e por todos os ensinamentos.

Aos membros da banca, Dr(a). Fernando Henrique Vale e Prof. Dr. Hildeberto Caldas de Souza e aos suplentes, principalmente à Anete Teixeira Formiga, por terem aceitado ler e contribuir com este trabalho.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Augusto Santinelo Pereira pelas sugestões e pela identificação dos insetos, juntamente com o Dr. Fernando Henrique Antonioli Farache. Ao Ernesto Oliveira, por nos apresentar espécies possíveis para o trabalho e por garantir nosso acesso às plantas.

Ao Prof. Dr. Renê Gonçalves da Silva Carneiro, por me receber no laboratório e por me ensinar grande parte do que aprendi das técnicas da anatomia vegetal. Às queridas Anete Formiga e Cibele Bedetti pela disponibilidade e pelas conversas na hora do almoço. Ao grupo Galhas: André Portugal, Ariane Castro, Bruno Garcia, Cristiane Trindade, Danielle Alvarenga, Franciele Carvalho, Gracielle Bragança, Nina de Castro, Sofia Avritzer, Sofia Velasquez, Thiago Magalhães e Vinicius Morais, por me acolher e ajudar. Ao Vinnicius Moreira, por toda ajuda, pela força e pela amizade que construímos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pelos ensinamentos e disponibilidade. À Denise Monteiro, pelos favores prestados com sorriso e voz suave. Aos demais colegas: Ana Marques, Alexandre Aires, Camila Magalhães, Cíntia Almeida, Cristiane Sarmiento, Deborah Soares, Gabriel Penalzoza, Igor Ballego, Leandro, Letícia Figueiredo,

Mariana Dias, Nayara Trevisani, Rafaella Ribeiro, Sarah Reis e Thamara Silva pelo convívio.

Ao Wagner Rocha, pelas dicas constantes, pela ajuda com o processamento do material e por garantir a manutenção do laboratório. À Selminha, pela companhia das manhãs e pela função essencial e tantas vezes imperceptível.

Ao André, pela companhia na vida e nas coletas, por ter me feito mãe e por me ajudar de todas as formas que pôde. Aos meus pais, pelo apoio incondicional, pela presença e por tudo que sempre fizeram por mim. Às minhas amigas, Adriana, Fernanda, Íria, Keylla e Poliana por tornarem tudo muito mais suave e alegre. Ao meu filhote, por ter revirado a minha vida, deixando-a às vezes muito mais difícil, mas, sem dúvida, bem mais gostosa.

Dedico essa trajetória e esse aprendizado à minha avó.

“Não queremos perder, nem deveríamos perder: saúde, pessoas, posição, dignidade ou confiança. Mas perder e ganhar faz parte do nosso processo de humanização.”

(Lya Luft)

Sumário

	Página
Resumo	1
Abstract	2
Introdução	3
Materiais e métodos	6
Resultados	9
Discussão	28
Referências Bibliográficas	34

1 **O sistema *Ficus adathodifolia* Schott (Moraceae) – *Tetrapus* sp.**
2 **(Chalcidoidea – Agaonidae):** desenvolvimento do sicônio e histologia da
3 galha floral

4 **Resumo**

5 A relação mutualística de polinização dos figos (*Ficus* spp.) estabeleceu-se a
6 partir de uma série de adaptações entre o sicônio e as vespas polinizadoras
7 (Hymenoptera, Chalcidoidea, Agaonidae), que se desenvolvem no ovário das
8 flores. Nos sistemas *Ficus* spp.-Agaonidae, as plantas disponibilizam parte de
9 suas estruturas reprodutivas como recompensa para seus polinizadores, sob a
10 forma de sítios de oviposição e de nutrição para as larvas. As galhas florais de
11 *Ficus* spp. são induzidas por meio da oviposição das vespas entre o tegumento
12 interno e o nucelo. A larva única se desenvolve e se alimenta do endosperma,
13 com evidências de que o processo de formação da galha possa ser
14 independente da fertilização. Para a interação *Ficus adathodifolia*-*Tetrapus* sp.,
15 foram avaliadas a fenologia do sicônio e suas alterações morfológicas, durante
16 o processo de formação das galhas florais. Houve produção de figos em
17 diferentes fases de desenvolvimento em todos os meses do ano, com maiores
18 taxas de frutificação em épocas mais quentes e úmidas. O figo é um
19 receptáculo floral, com ápice arredondado, delimitado por brácteas ostiolares.
20 Essas brácteas se expandem na maturação, para saída das vespas adultas,
21 diferentemente do que ocorre na maioria das relações figos-vespas em que é
22 necessário que os machos cavem túneis através da parede do receptáculo. A
23 parede do receptáculo apresenta natureza eminentemente parenquimática,
24 altamente vascularizada, onde se formam esclereídes dispersas, a partir da
25 fase de maturação. As brácteas ostiolares e as camadas celulares mais
26 externas da parede do sicônio produzem substâncias voláteis responsáveis por
27 atrair as vespas polinizadoras. No interior do figo, o comprimento do estilete é
28 fator limitante para a oviposição, de maneira que as flores longo-estiladas
29 dificilmente serão galhadas. Os tecidos formadores da galha derivam dos
30 tecidos da flor e do óvulo, mantendo características semelhantes aos da flor
31 polinizada.

32 **Palavras-chave:** desenvolvimento do sicônio, receptáculo floral, galha floral

1 ***Ficus adathodifolia* Schott (Moraceae) – *Tetrapus* sp. (Chalcidoidea –**
2 **Agaonidae) system: Syconium development and histology of the floral**
3 **gall**

4 **Abstract**

5 The mutualistic pollinating relationship in figs (*Ficus* spp.) was established
6 throughout a series of adjustments between the syconium and their pollinating
7 wasps (Hymenoptera, Chalcidoidea, Agaonidae), which take place in the floral
8 ovary. In *Ficus* spp.-Agaonidae systems, the plants offer part of their
9 reproductive structures as a reward to their pollinators namely, sites for
10 oviposition and sites for larva nutrition. Floral galls of *Ficus* spp. are induced by
11 wasps oviposition between the integument and the nucellus. A single larva
12 develops and feeds in the endosperm, with evidences that the process of gall
13 formation may be independent of fertilization. The model of current study is the
14 *Ficus adhatodifolia*-*Tetrapus* system, to which the phenology of the syconium
15 and the morphological changes during the formation of floral galls were
16 evaluated. Fig production and all developmental stages were observed all over
17 the year, with higher fruiting rates in warmer and humid periods. The fig has a
18 floral receptacle with round apex, bounded by ostiolar bracts. These bracts
19 expand in fig maturation, for the emergence of adult female wasps. The
20 receptacle wall presents essentially parenchymatic cells, it is highly
21 vascularized, with interspersed sclereids in maturation phase. The ostiolar
22 bracts and the outer cell layers of the syconium wall produce volatiles to attract
23 pollinating wasps. Inside the fig, the style length is a limiting factor to
24 oviposition, in a way that long-styled flowers should never form galls. Gall
25 tissues are derived from the flower and ovule tissues, keeping characteristics of
26 the pollinated flower.

27
28 **Key-words:** syconium development, floral receptacle, floral gall

1 **Introdução**

2 A maioria dos insetos que se alimentam de pólen ou néctar é
3 generalista, ao passo que insetos galhadores são especialistas fortemente
4 relacionados com suas plantas hospedeiras (Raman 2007). Desse modo,
5 herbívoros galhadores são sensíveis a diversas modificações químicas,
6 fisiológicas e fenológicas na planta hospedeira (Espírito-Santo *et al.* 2007,
7 Campos *et al.* 2010, Carneiro *et al.* 2013). Variações nas condições climáticas
8 afetam a fenologia da planta e podem conseqüentemente alterar o ciclo de vida
9 e a distribuição de insetos galhadores (Fernandes 1992, Lara e Fernandes
10 1996, Fernandes *et al.* 1997, Santana e Isaias 2014). Além do mais, a provável
11 sincronia entre as fenofases da planta hospedeira e o ciclo de vida dos
12 herbívoros galhadores é um evento crítico, que determina a quantidade e
13 qualidade de recursos nutricionais e a abundância de indivíduos (Yukawa
14 2000). Galhas florais são fenologicamente ainda mais restritas do que galhas
15 em órgãos vegetativos, devido à sazonalidade de aparecimento das flores e à
16 sua curta duração (Mani 1964).

17 As galhas são formadas por crescimento vegetal atípico, com
18 determinação de tamanho, forma e metabolismo sob controle do organismo
19 fitófago associado (Dreger-Jaufret e Shorthouse 1992, Raman 2007, Isaias *et*
20 *al* 2013). As galhas florais, por sua vez, apresentam especializações ecológicas
21 não encontradas em galhas de outros órgãos, embora sejam estruturas
22 relativamente simples (Mani 1964). Enquanto a maioria dos insetos indutores
23 estimula o desenvolvimento das galhas a partir de sua atividade alimentar,
24 espécies de Hymenoptera induzem suas galhas a partir da oviposição no óvulo
25 das flores pistiladas de *Ficus* spp.. Apenas os ovos depositados entre o
26 tegumento interno e o nucelo eclodem e uma única larva se desenvolve e se
27 alimenta do endosperma nas galhas (Weiblen 2002).

28 A relação mutualística de polinização dos figos (*Ficus* spp.), então,
29 estabeleceu-se a partir de uma série de adaptações entre o sicônio e as
30 vespas polinizadoras (Hymenoptera, Chalcidoidea, Agaonidae), que se
31 desenvolvem no ovário das flores (Galil 1977, Center *et al.* 1999). Na maioria
32 dos casos, há apenas uma espécie de vespa polinizadora para cada espécie
33 de figueira (Janzen 1979, Farache 2010). Nesse sentido, as figueiras e as

1 comunidades de vespas que colonizam os figos constituem um notável sistema
2 para investigação de determinantes da estrutura da comunidade e da evolução
3 da especialização (Jansen-González *et al* 2014).

4 O sicônio se desenvolve na gema axilar da folha ou da bráctea e é
5 protogínico, ou seja, as flores pistiladas amadurecem antes das flores
6 estaminadas (Galil 1977). Durante a antese das flores pistiladas, quando seus
7 estigmas se tornam receptivos, o figo libera substâncias voláteis responsáveis
8 por atrair as vespas polinizadoras (Souza *et al.* 2015). As brácteas mais
9 externas do ostíolo apresentam glândulas produtoras de terpenos, são
10 túrgidas, resistentes e imbricadas e limitam a entrada das vespas. Devido à
11 especificidade das substâncias voláteis e à sua estrutura única, o ostíolo pode
12 ser considerado um órgão extremamente seletivo (Galil 1977).

13 Uma vez dentro do sicônio, a vespa polinizadora é capaz de produzir
14 centenas de ovos. Contudo, mesmo que todas as flores pistiladas possam
15 abrigar uma larva, o desenvolvimento da vespa não ocorre em todas elas,
16 sendo muito variável para cada inflorescência (Anstett 2001). Algumas das
17 flores femininas são sésseis, com estiletes longos, enquanto outras flores
18 apresentam pedúnculos de comprimentos variados e estiletes mais curtos.
19 Dessa maneira, todos os estigmas localizam-se aproximadamente à mesma
20 distância da parede interna do sicônio, formando uma superfície contínua na
21 cavidade do sicônio, o *sinstigma* ou *estigma coletivo* (Galil e Eisikowitch 1968,
22 Galil 1977). Geralmente, as sementes se desenvolvem nos ovários mais
23 externos, próximos à parede do figo, enquanto as larvas habitam os ovários
24 mais próximos à cavidade do sicônio (Anstett 2001).

25 Além das especializações morfológicas supracitadas, mudanças
26 teciduais e químicas estão relacionadas aos valores adaptativos e funcionais
27 do sicônio. Estudos recentes avaliaram a composição química (Grison-Pigé *et*
28 *al.* 2002, Dudareva e Pichersky 2006, Hossaert-McKey *et al.* 2010) e o papel
29 das substâncias voláteis na orientação dos polinizadores (Chen e Song 2008,
30 Chen *et al.* 2009). A localização e descrição da estrutura das glândulas
31 responsáveis pela produção de substâncias voláteis foi apontada por Souza *et*
32 *al.* (2015) como tópico central para a compreensão da relação mutualística figo-
33 vespa. Soma-se ao acúmulo de pigmentos, açúcares, ácidos orgânicos e

1 aromas uma série de mudanças na textura dos frutos (Brummell 2006). Desse
2 modo, alterações na composição e distribuição dos componentes da parede
3 celular também estão relacionadas aos valores adaptativos dos tecidos
4 vegetais (Suzuki 2015).

5 O sistema *F. adathodifolia-Tetrapus* sp é considerado um caso de
6 simbiose, em que as plantas disponibilizam parte de seus tecidos reprodutivos
7 como recompensa para seus polinizadores, como sítios de oviposição e
8 nutrição das larvas (Herre *et al* 2008; Jansen-González *et al* 2012). Os sicônios
9 são verdes e pedunculados, se formam nas gemas axilares e contém centenas
10 de flores uniovuladas, com seus estigmas voltados para o centro da estrutura,
11 conforme descrito por Herre *et al* (2008). O comprimento relativo do estilete
12 varia: as flores longo-estiladas geralmente desenvolvem-se em frutos e
13 sementes, enquanto as flores com estilete mais curto são mais propícias à
14 formação da galha (Center *et al.* 1999, Herre *et al* 2008). O *sinstigma* é como
15 um emaranhado, pouco organizado, que faz com que a vespa se desequilibre
16 em suas tentativas de oviposição e polinize passivamente algumas flores
17 (Verkerke 1989). Nesse sentido, a chance de um ovo ser depositado em uma
18 flor não fertilizada é maior em uma espécie com polinização passiva e seu
19 estudo, portanto, provê informações sobre as especializações morfológicas que
20 favorecem a polinização e fecundação de flores sem ovos (Jousselin *et al*
21 2004; Jansen-González *et al* 2012).

22 Há evidências de que a transformação do ovário em galha é
23 independente da fertilização (Galil e Eisikowitch 1968, Verkerke 1989). No
24 entanto, foi demonstrado que o desenvolvimento da vespa polinizadora pode
25 ser fortemente dependente da polinização (Jansen-González 2012). Esse
26 mesmo autor também descreve alterações histológicas causadas por vespas
27 não polinizadoras, não dependentes da polinização (Jansen-González *et al.*
28 2014). Além disso, as estruturas florais podem ser afetadas pela presença de
29 nematódios parasitas, com descrição, por exemplo, de hipertrofia celular e
30 necrose de tecidos (Center *et al.* 1999).

31 O modelo proposto para avaliação das alterações morfológicas que
32 ocorrem nos sicônios, durante o processo de formação das galhas florais, é a
33 interação entre vespas polinizadoras/galhadoras com sua espécie mutualística

1 de figueira, *Ficus adathodifolia* Schott. A biologia da galha floral e suas
2 relações com a fenologia da planta hospedeira são avaliadas com foco na
3 caracterização do sistema *Ficus*-Agaonidae, na verificação da existência de
4 sincronia entre as espécies associadas ao longo do ciclo de um ano, na
5 caracterização anatômica da parede do sicônio e das galhas florais.

6

7 **Materiais e métodos**

8 *Área de estudo e coleta*

9 No presente estudo, foram analisados indivíduos ($n = 10$) de *Ficus*
10 *adathodifolia* localizados no Parque Municipal das Mangabeiras (19°57'04.8"S
11 43°54'21.7"O), em Belo Horizonte, Minas Gerais.

12

13 *Fenologia*

14 Foram coletados aleatoriamente sicônios ($n \geq 5$ por indivíduo), com
15 periodicidade mensal, entre maio de 2014 e abril de 2015.

16 Nas visitas à área, utilizando ficha fenológica, foram registrados para
17 cada planta marcada 1. ausência de sicônios, 2. sicônios jovens, 3. sicônios
18 femininos (fase receptiva), 4. sicônios incubados (fase interfloral), 5. sicônios
19 masculinos (fase de emissão) e 6. sicônios maduros (fase pós-floral)
20 (McPherson *et al.* 2005; Galil 1973; Galil & Eisikowitch 1968 a e b), sendo
21 calculado o índice de atividade destas fenofases. As fenofases foram divididas
22 em cinco categorias: 0 = ausência da fenofase; 1 = 1-25% da fenofase; 2 = 26-
23 50% da fenofase; 3 = 51-75% da fenofase; e 4 = 76-100% da fenofase
24 (Fournier e Carpantier 1975). Esse método estima a porcentagem de indivíduos
25 da população que apresentam sincronia em determinada estação do ano
26 (Bencke e Morellato 2002).

27 Os figos foram medidos em seus diâmetros vertical e horizontal com
28 paquímetro digital (Mitutoyo). As fases florais foram avaliadas em laboratório
29 com abertura dos sicônios sob estereomicroscópio (Olympus SHZ). As análises
30 estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Past 3.x.

31

1 *Anatomia*

2 Para o estudo da ontogênese das flores, das galhas e dos frutos,
3 sicônios jovens, sicônios femininos (fase receptiva), sicônios incubados (fase
4 interfloral), sicônios masculinos (fase de emissão) e sicônios maduros (fase
5 pós-floral) ($n \geq 10$, para cada estágio) foram coletados e processados. Todas
6 as amostras foram fixadas em FAA (formalina, ácido acético, etanol 50%,
7 1:1:18) (Johansen 1940) ou solução de Karnovsky (paraformaldeído 4.5% e
8 glutaraldeído 2.5% (pH 7.2) (Karnovsky 1965, modificado para tampão fosfato
9 (PBS) 0,1M) e posteriormente submetidas a vácuo.

10 Análises anatômicas foram feitas em amostras previamente fixadas,
11 incluídas em Paraplast® (Kraus & Arduin 1997) ou Historesina (Leica®
12 Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany). Para inclusão em Paraplast®, o
13 material foi desidratado em série butílica (Johansen 1940). O seccionamento foi
14 feito em micrótomo rotatório (12-18 μm) (Leica® Jung BIOCUT 2035), e a
15 afixação das seções às lâminas foi realizada com adesivo de Bissing (Bissing
16 1974). Para retirada do Paraplast®, as lâminas contendo os cortes foram
17 imersas em acetato de butila a 40°C em banho-maria, desparafinizadas e
18 desidratadas em série etílica. As seções foram coradas com azul de Astra e
19 safranina, na proporção de 9:1 (v/v) (Bukatsch 1972, modificado para 0,5%) e
20 montadas em verniz vitral (Paiva *et al.* 2006). Para a infiltração em historesina
21 Leica® (Leica® Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany), amostras
22 previamente fixadas foram desidratadas até etanol 95%, submetidas a pré-
23 infiltração com etanol 95% e resina pura, 1:1 (v/v), por 3 dias, seguidas de
24 infiltração em resina pura por 24 horas. O polimerizador foi misturado a resina
25 pura 1:15 (v/v) (conforme instruções do fabricante) e as amostras foram
26 emblocadas em moldes plásticos. Procedeu-se a montagem e posteriormente
27 secção (6 μm) dos blocos em micrótomo rotatório (Leica® Jung BIOCUT 2035).
28 As seções foram aderidas às lâminas com água, coradas com azul de
29 toluidina 0,05% em tampão fosfato 0,1M (pH 6.8) (O'Brien *et al.* 1964) e
30 montadas em água. Os resultados obtidos foram registrados com câmera
31 digital (Canon® Power Shot A650) acoplada ao microscópio ótico (Zeiss®
32 Primo Star).

33

1 *Histoquímica*

2 Sicônios em diferentes estágios de desenvolvimento foram fixados em
3 Karnovsky (O'Brien e McCully 1981), desidratados em série etílica (Johansen
4 1940), e incluídos em glicolmetacrilato (Leica®). Seções (6-10 µm) (n ≥ 3 por
5 estágio) foram submetidas à reação de cloreto férrico 10% para detecção de
6 polifenóis (Johansen 1940), Sudan red B (Brundett *et al.* 1991)) para detecção
7 de lipídios, reagente de NADI (David e Carde 1964) para detecção de terpenos,
8 Xilidine Ponceau (Vidal 1970) para detecção de proteínas, em comparação
9 com o trabalho de Souza *et al.* (2015), além da detecção de ligninas com
10 reagente de Wiesner (Johansen 1940) e de açúcares redutores com o teste de
11 Fehling (Johansen 1940).

12 *Imunocitoquímica*

13 Sicônios em diferentes estágios de desenvolvimento (A, C e E) foram
14 fixados em Karnovsky (O'Brien e McCully 1981), desidratados em série etílica
15 (Johansen 1940), e incluídos em glicolmetacrilato (Leica®). Seções (6-10 µm)
16 (n ≥ 3 por estágio) foram incubadas em solução bloqueadora de leite em pó
17 (3%) em PBS, por 30 minutos e lavadas com PBS. Em seguida, foi feita
18 incubação por 2h em anticorpos monoclonais LM15, LM 19 e LM20 (Centre for
19 Plant Sciences, University of Leeds, UK). Esses anticorpos primários ligam-se
20 preferencialmente a xiloglucanos (LM15), homogalacturonanos (HGAs) não
21 esterificados (LM19) e HGAs metil-esterificados (LM20). O controle negativo foi
22 mantido em solução bloqueadora, sem os anticorpos monoclonais. Todas as
23 lâminas foram lavadas com PBS e então incubadas em FITC Goat anti-rat
24 (Sigma®) diluído em solução bloqueadora (1:10), também por 2h, no escuro.
25 Após nova lavagem com PBS, as lâminas foram montadas com glicerina 50%.
26 As análises foram realizadas no microscópio confocal Zeiss 5 Live, com
27 excitação do laser DPSS de comprimento de onda de 488 nm e filtro de
28 emissão de 505-530nm.

29 *Identificação dos insetos galhadores*

30 A retirada das vespas associadas aos sicônios foi feita por dissecação
31 sob estereomicroscópio (Olympus SHZ). As vespas foram fixadas em etanol
32 70% e encaminhadas para identificação. Os insetos foram depositados na

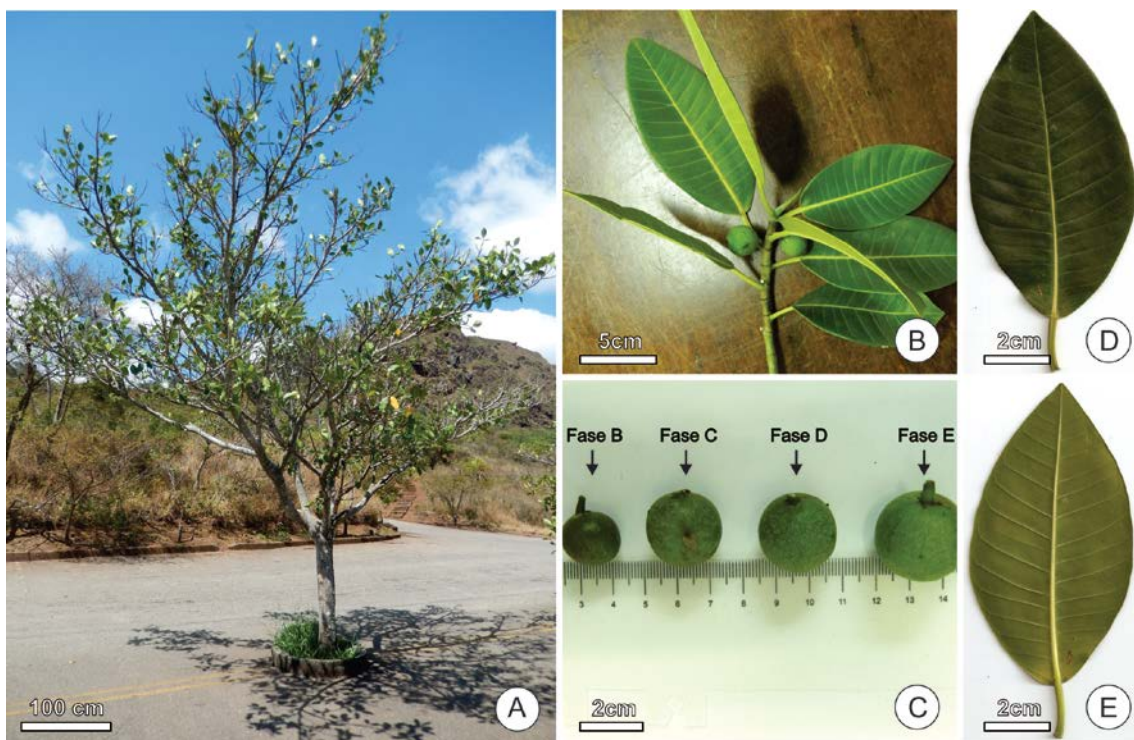
1 coleção entomológica do Laboratório de Biologia Reprodutiva de *Ficus* da USP
2 Ribeirão Preto.

3

4 **Resultados**

5 *Características gerais*

6 *Ficus adathodifolia* é uma planta de porte arbóreo, com folhas simples,
7 alternas, de formato elíptico, margem lisa, estípulas terminais, com nervuras
8 secundárias arqueadas, sem nervura marginal (Fig. 1 e 2). As inflorescências
9 formam sicônios solitários e globosos, pedunculados, verdes, macios quando
10 maduros. O acesso às flores se dá através de um ostíolo arredondado (Fig. 2),
11 circular, revestido por brácteas. A espécie é monoica e protogínica, com
12 produção de sementes, liberação de vespas e emissão de pólen em um único
13 figo. As flores estaminadas e pistiladas são pediceladas: 5 tépalas livres, alvas
14 a rosadas, 2 estames, estigma liso, reto, de comprimento variado. Drupas
15 ovais. Sementes alvo-amareladas.



16

17 Figura 1 – *Ficus adathodifolia* Schott. A- Visão geral da planta; B- Ramo com sicônios;
18 C- Detalhe de sicônios em diferentes fases de desenvolvimento; D- Face adaxial da
19 folha; E- Face abaxial da folha.

20

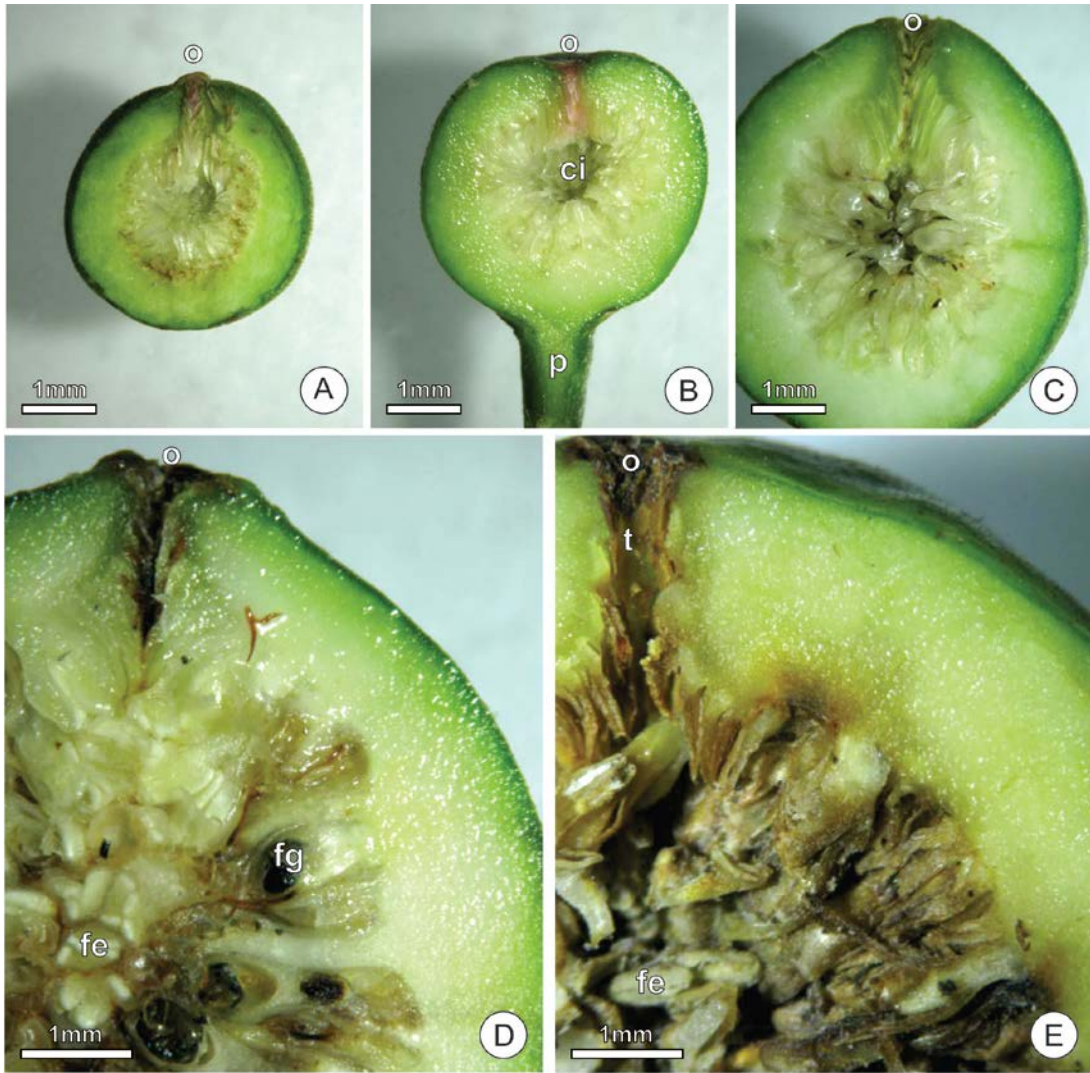


1
 2 Figura 2 – Ramo de *Ficus adathodifolia* Schott. A- Sicônios solitários e pedunculados;
 3 B- Vespa de figo em detalhe. Seta branca = glândula baselaminar; seta preta = ápice
 4 do receptáculo arredondado.
 5

6 O figo ou sicônio é um receptáculo floral com seu ápice delimitado por
 7 brácteas ostiolares. Internamente, a parede do receptáculo é revestida por
 8 flores unissexuadas e por brácteas interflorais. Na fase A, o figo contém os
 9 primórdios florais e as brácteas que formam e bloqueiam o ostíolo (Fig. 3A).
 10 Pouco antes da fase receptiva, uma cavidade começa a se desenvolver no
 11 interior do sicônio. Na fase B (Fig. 3B), as flores femininas estão
 12 completamente desenvolvidas, com seus estigmas voltados para a cavidade
 13 interna, e as brácteas do ostíolo se afastam, permitindo a entrada das vespas.
 14 Apesar de ser muitas vezes considerado um fruto, na fase C o figo passa a ser
 15 uma infrutescência que abriga os frutos verdadeiros, galhas e flores
 16 estaminadas jovens (Fig. 3C), quando o ostíolo se fecha, bloqueando a entrada
 17 de insetos não polinizadores. Os frutos são produzidos a partir da maturação
 18 dos ovários e as sementes são envolvidas por uma camada endocárpica
 19 resistente. Na fase D (Fig. 3D), galhas e frutos atingem seu maior tamanho, o
 20 ostíolo começa a se dilatar, formam-se espaços vazios entre as flores que
 21 permitem a livre movimentação das vespas adultas emergentes. Ao fim dessa
 22 fase masculina, ocorre a antese das anteras, com maior liberação de pólen nas
 23 proximidades do ostíolo. Na fase E (Fig. 3E), as vespas fêmeas deixam o

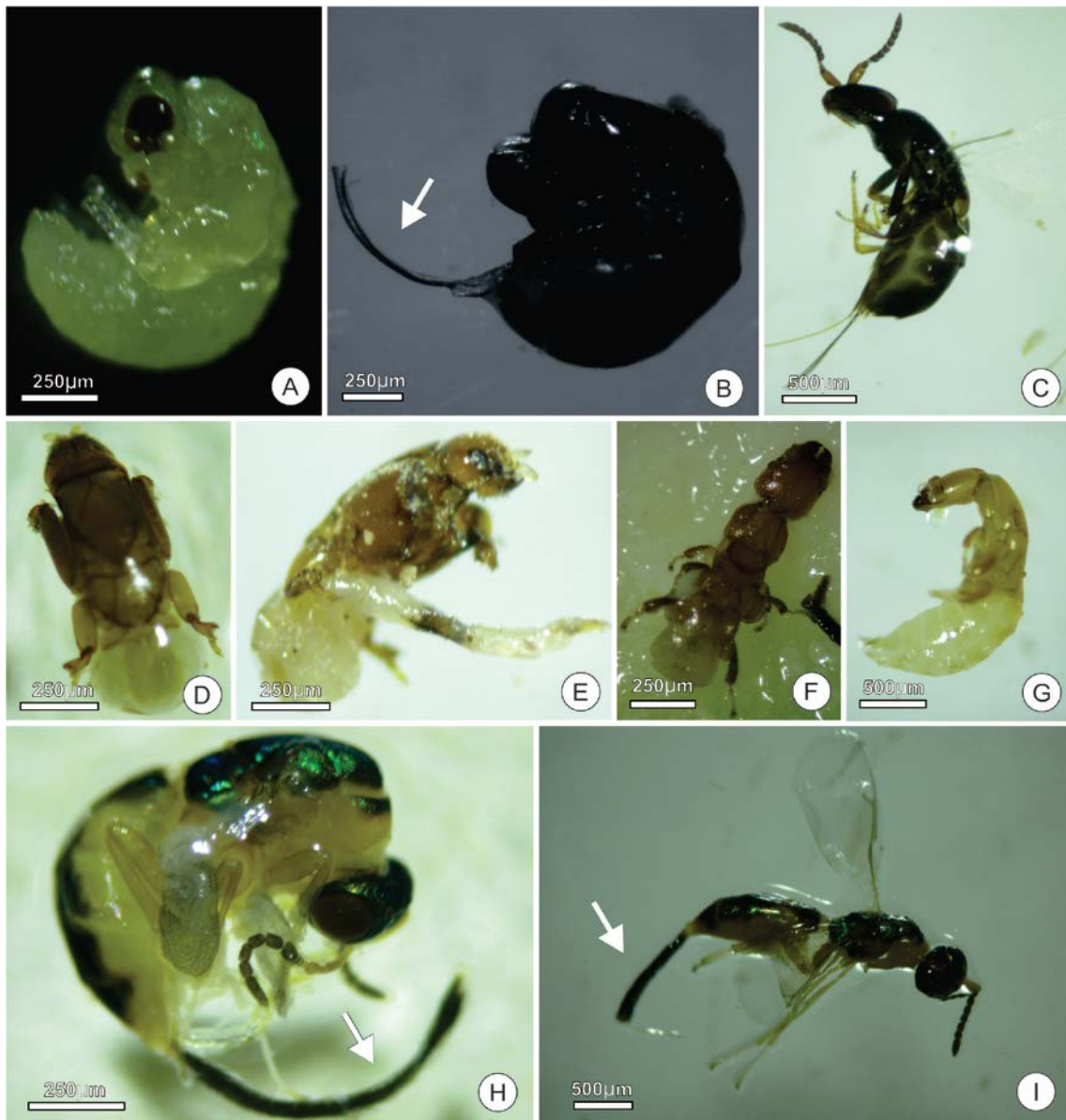
1 sicônio pelo canal do ostíolo e o figo amadurece. A coloração da parede do
2 sicônio vai se modificando, de verde (fases A e B) para alvo-esverdeada (fases
3 C e D) e amarelada (fase E).

4 As galhas florais em *F. adathodifolia* são induzidas pela oviposição de
5 *Tetrapus* sp. (Hymenoptera: Chalcidoidea) (Fig. 4A-C) predominantemente no
6 ovário das flores curto-estiladas, no interior do sicônio. Apenas um ovo é posto
7 em cada flor, de forma que uma única larva se desenvolve por flor galhada. As
8 larvas de *Tetrapus* sp. se desenvolvem em sincronia com a formação das
9 sementes de *F. adathodifolia* e atingem a maturidade na fase masculina do
10 sicônio (fase D). Os machos (Fig. 4D-G) emergem primeiro para a cavidade do
11 figo e utilizam suas fortes mandíbulas para perfurar a parede das galhas com
12 fêmeas. A cópula ocorre com as fêmeas ainda no interior de suas galhas. Após
13 emergirem pelas aberturas feitas pelos machos, as vespas fêmeas esbarram
14 nas flores masculinas maduras e ficam cobertas de pólen. As vespas deixam o
15 figo através do próprio ostíolo do sicônio, que se expande. Na senescência das
16 galhas, os figos amadurecem e apresentam maciez ao toque, sendo fonte de
17 recursos para a fauna local.



1

2 Figura 3 – Fases de desenvolvimento do sicônio. Cortes longitudinais do sicônio em:
 3 A- Fase A (pré-floral); B- Fase B (receptiva); C- Fase C (inter-floral); D- Fase D
 4 (masculina); E- Fase E (pós-floral). ci = cavidade interna; fe = flor estaminada; fg = flor
 5 galhada; o = ostiolo; t = túnel.



1
 2 Figura 4 – Vespas encontradas nos sicônios de *Ficus adathodifolia*. A-C- Vespa fêmea
 3 polinizadora, *Tetrapus* sp.; D-G- Machos; H-I- Vespa fêmea, não polinizadora,
 4 *Critogaster pinnata* Mayr. Setas indicam o ovipositor.

5
 6
 7
 8
 9
 10
 11

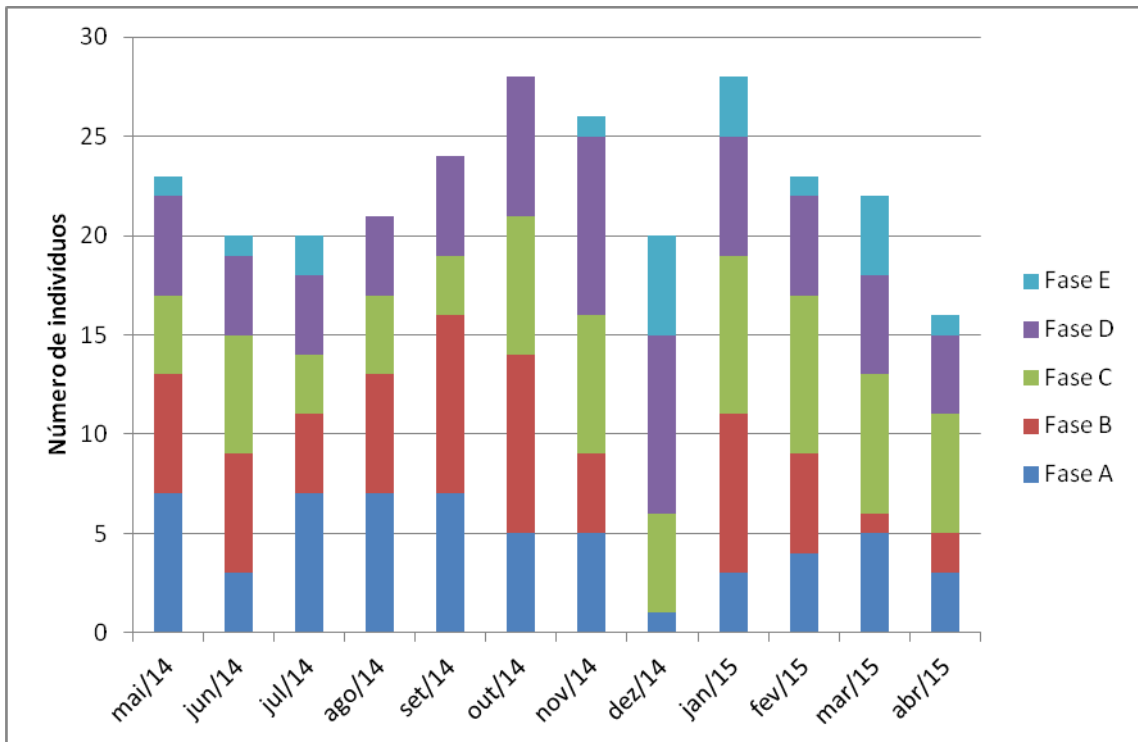
1 *Fenologia do sicônio*

2 *Ficus adathodifolia* é uma planta perene que apresenta pouca
3 demarcação entre as fases de floração e frutificação, as quais ocorrem
4 concomitantemente. O início de florescimento foi observado em todos os
5 meses do estudo, com oscilações ao longo do ano e sem sazonalidade
6 aparente. Em média, ao menos cinco indivíduos do grupo estudado
7 apresentavam os sicônios em início de florescimento ao longo do ano (Fig.5). A
8 maior porcentagem de sicônios nessa fase foi observada em agosto de 2014 (~
9 50%) (Fig. 6).

10 Sicônios receptivos foram registrados ao longo do ano de estudo, com
11 exceção do mês de dezembro de 2014 (Fig. 6). Além disso, as fases de
12 florescimento do sicônio (A e B) são as de maior duração, podendo os sicônios
13 nesta fase permanecerem na árvore por aproximadamente um a dois meses.
14 Quando não há a entrada da vespa pelo ostíolo, seguida de polinização, os
15 figos receptivos são abortados.

16 A presença de árvores em frutificação foi registrada em todas as coletas,
17 porém com maior número de indivíduos frutificando entre novembro de 2014 e
18 abril de 2015 (Fig. 5). Esse período coincide com o registro de maior
19 precipitação total e maiores temperaturas médias na cidade (Fig. 7). A fase
20 interfloral apresentou menor frequência entre agosto e outubro de 2014 (Fig. 6).
21 O maior número de indivíduos em fase C foi observado entre fevereiro e abril
22 de 2015 (Fig. 5). Em média, cerca de dois indivíduos do grupo estudado
23 apresentavam os sicônios na fase masculina. A maior porcentagem de sicônios
24 nessa fase foi observada em dezembro de 2014 (~70%) (Fig. 6). Figs
25 maduros não foram observados nos meses de agosto, setembro e outubro de
26 2014 (Fig. 6). A ocorrência de figos na fase E apresentou menores valores
27 porque os sicônios caem das árvores quando maduros e não são incluídos na
28 coleta.

29



1

2

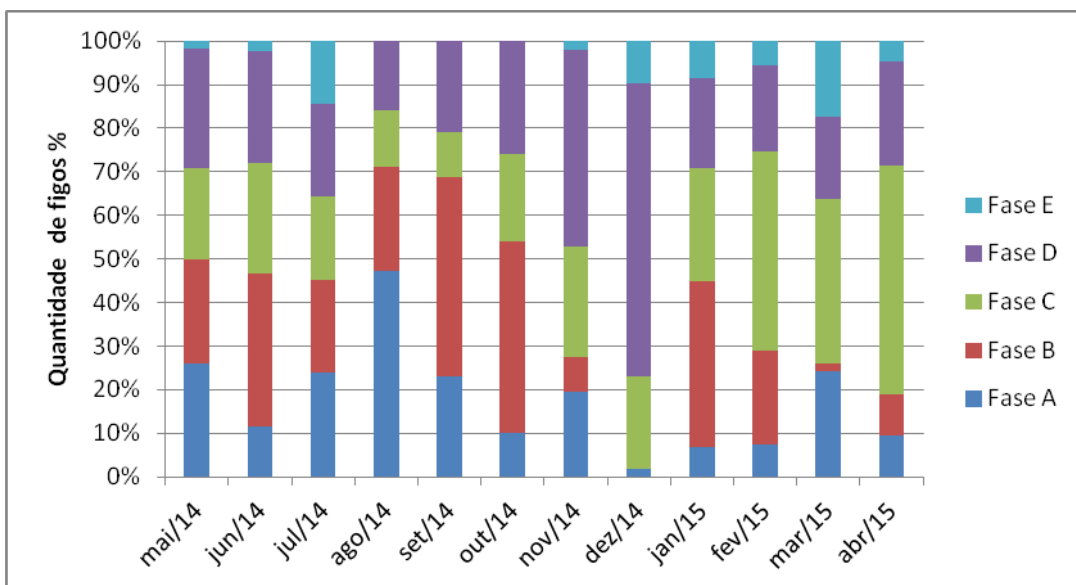
3

4

5

6

Figura 5 – Comportamento fenológico de floração e frutificação da população de *Ficus adathodifolia* (Moraceae) no Parque das Mangabeiras – MG medido através do índice de atividade das fenofases dos sicônios ao longo de um ano.



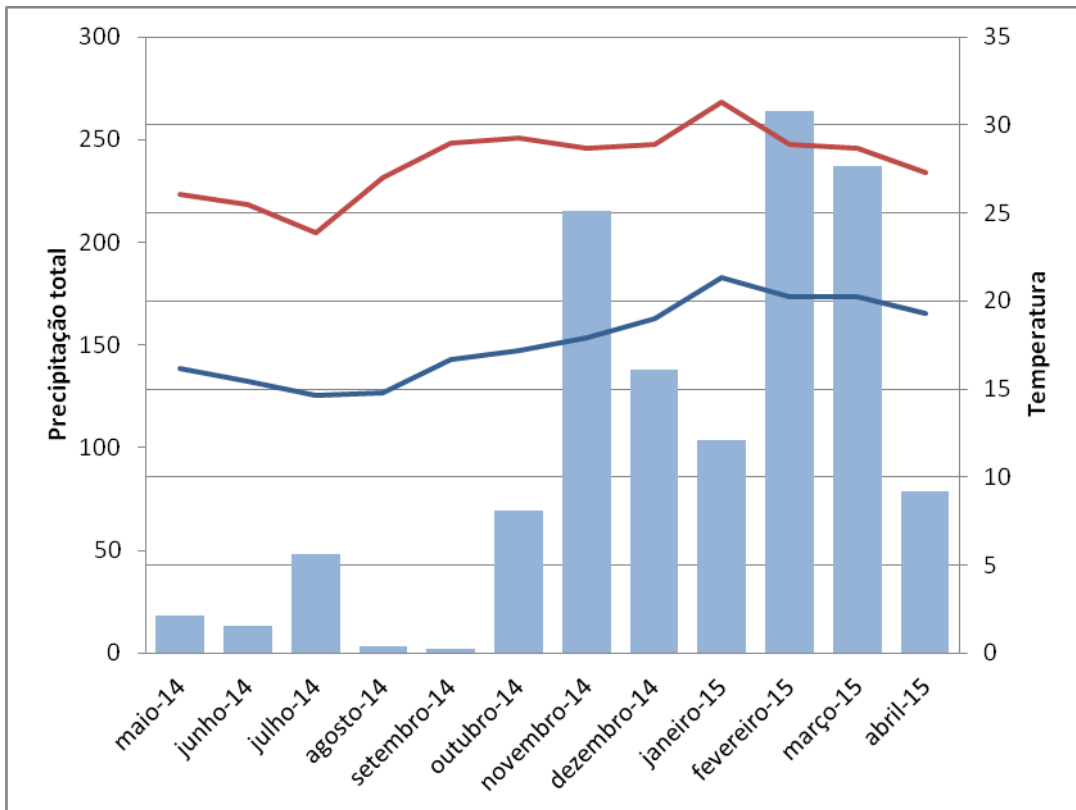
7

8

9

10

Figura 6 – Comportamento fenológico de floração e frutificação da população de *Ficus adathodifolia* (Moraceae) no Parque das Mangabeiras – MG medido através da frequência das fenofases dos sicônios ao longo de um ano.



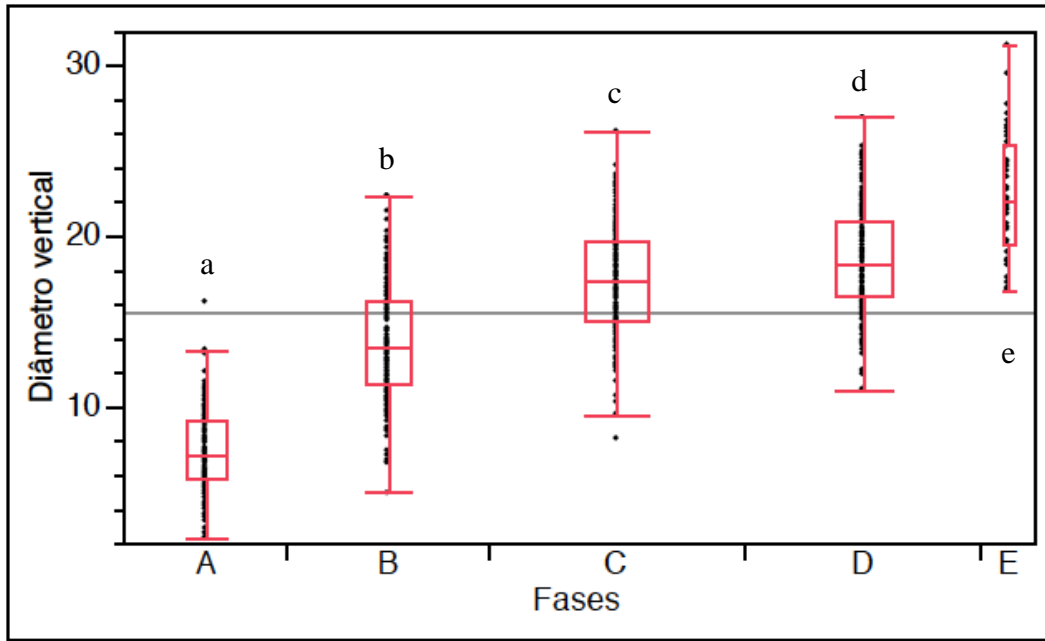
1

2 Figura 7 – Dados meteorológicos de precipitação total (barras), temperatura mínima
 3 média (linha azul) e temperatura máxima média (linha vermelha) para o período do
 4 estudo. Fonte: INMET-BDMEP.

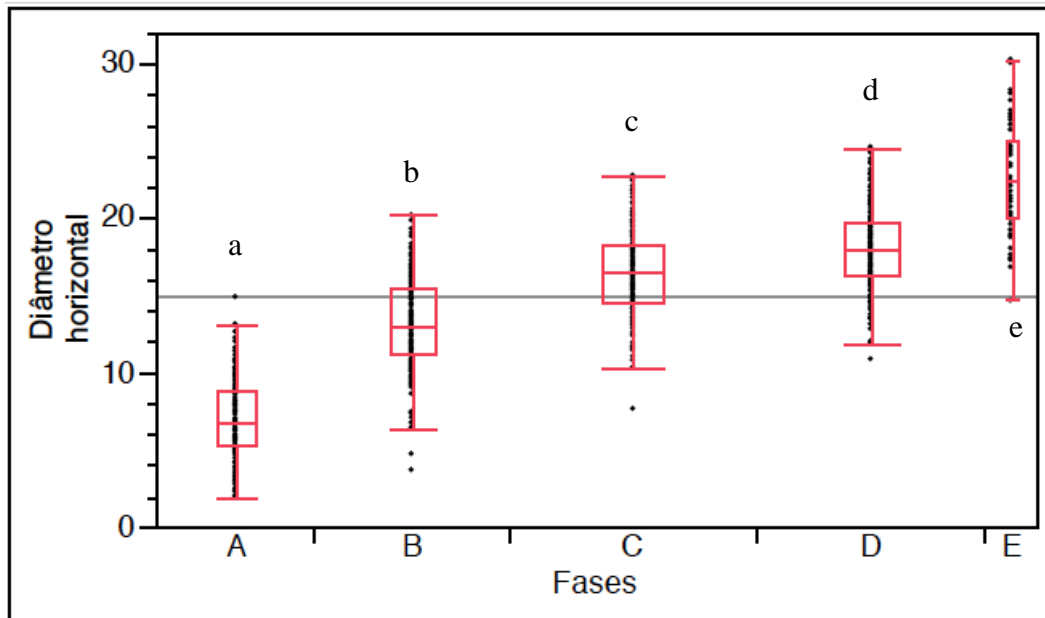
5

6 *Caracterização anatômica*

7 Foi observado um aumento gradativo do tamanho dos sicônios ao longo
 8 do desenvolvimento das fases, com diferença significativa entre elas (Fig. 8). A
 9 correlação entre os diâmetros vertical e horizontal reforça o crescimento
 10 isodiamétrico dos sicônios (Fig. 9).

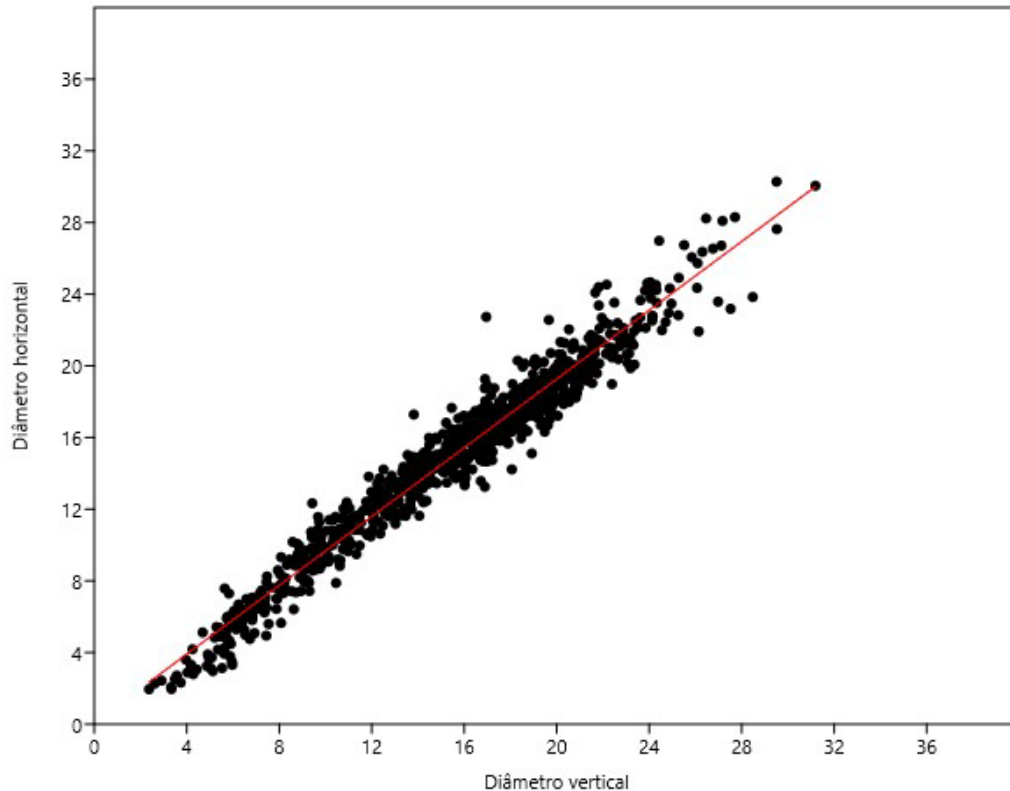


1



2

3 Figura 8 – Relação entre o estágio de desenvolvimento e os diâmetros vertical e
 4 horizontal dos sicônios de *Ficus adathodifolia* (Moraceae). Medidas em milímetros.
 5 Letras diferentes indicam diferença significativa entre as fases (teste de Tukey).



1

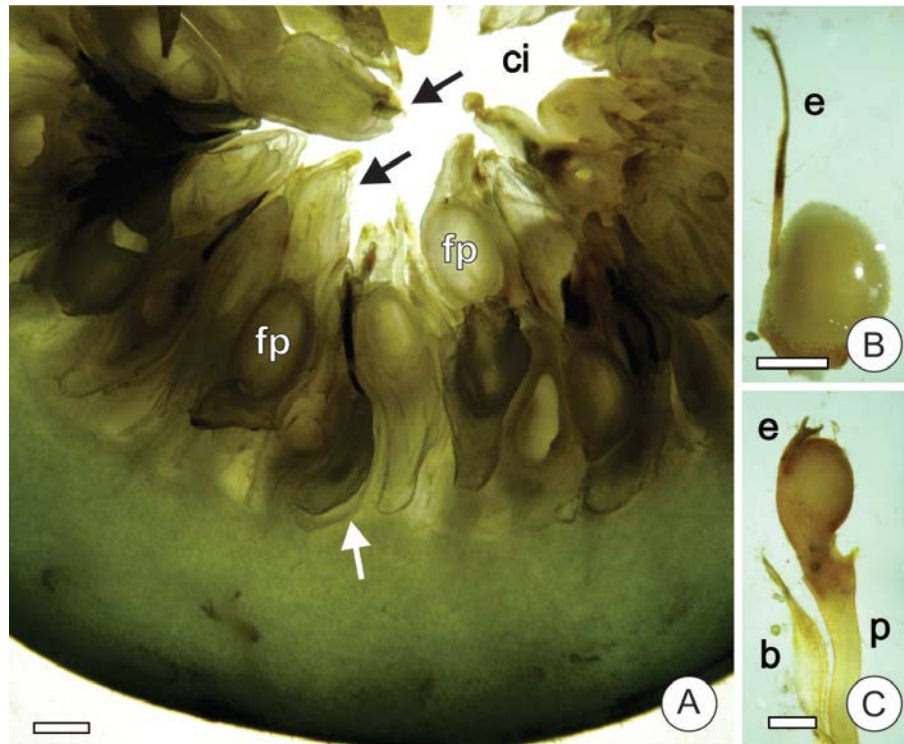
2 Figura 9 – Regressão linear simples da relação entre o diâmetro vertical e o diâmetro
 3 horizontal dos sicônios de *Ficus adathodifolia* (Moraceae). Medidas em milímetros.
 4 (correlação positiva, Pearson, $r = 0,97$).

5

6 No interior do sicônio, há uma preponderância de flores femininas em
 7 relação às flores masculinas. Há uma diferença de maturação entre elas: as
 8 flores pistiladas estão completamente desenvolvidas na fase B; enquanto a
 9 antese das flores estaminadas ocorre ao final da fase D, pouco antes de as
 10 vespas deixarem o figo. Não há um posicionamento definido para cada uma
 11 delas (Fig. 10), as flores masculinas estão dispersas por entre as flores
 12 pistiladas, ambas entremeadas por brácteas interflorais. Na fase B, a cavidade
 13 interna do sicônio é revestida pelos estigmas das flores femininas, em um único
 14 plano, denominado *sinstigma*. Para que esses estigmas se apresentem no
 15 mesmo plano, o comprimento dos estiletes das flores varia em um contínuo
 16 entre curto e longo. As flores curto-estiladas apresentam-se galhadas ou
 17 frutificaram enquanto as flores longo-estiladas desenvolveram apenas
 18 sementes (Tabela 1).

19 O figo é um receptáculo floral, com ápice arredondado (Fig. 11),
 20 delimitado por brácteas ostiolares. Essas brácteas se expandem na maturação,

1 para saída das vespas adultas, diferentemente do que ocorre na maioria das
 2 relações figos-vespas em que é necessário que os machos cavem túneis
 3 através da parede do receptáculo.



4
 5 Figura 10 – Flores de *Ficus adathodifolia* Schott na fase interfloral (Fase C). A-
 6 Distribuição das flores no interior do receptáculo em corte longitudinal; B- Flor longo-
 7 estilada; C- Flor curto-estilada pedicelada, com bráctea interfloral. b = bráctea; ci =
 8 cavidade interna; e = estilete; fp = flor pistilada; p = pedicelo; setas pretas = flor
 9 estaminada; seta branca = flor não polinizada ou não galhada. Barras = 1mm.

10

11 Tabela 1 – Relação entre o comprimento do estilete e a formação de galha ou
 12 fruto no sicônio de *Ficus adhatodifolia* Schott (n = 25)

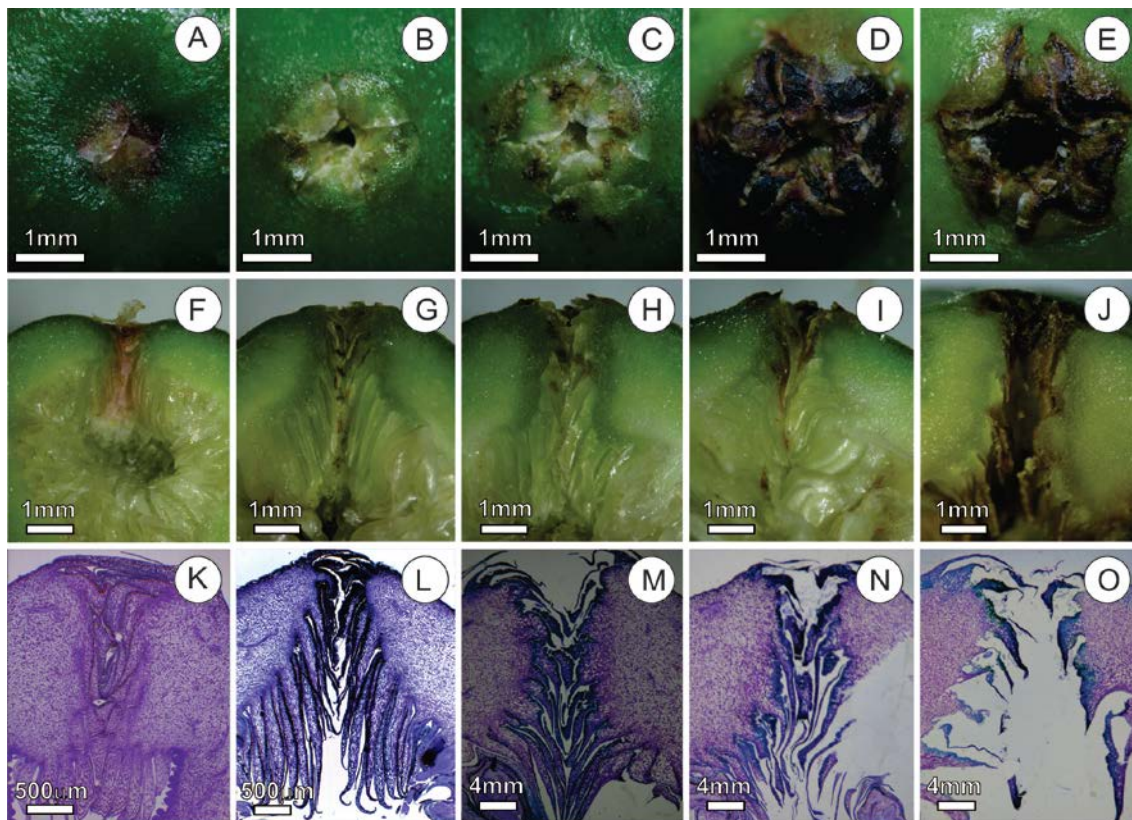
13

ESTILETES	Galhas	Frutos	Flores não- polinizadas / não-galhadas
Curtos (n = 04)	3		1
Médios (n = 10)	8	1	1
Longos (n = 11)		11	

14

15 O receptáculo da inflorescência apresenta epiderme unisseriada, com
 16 células ricas em compostos fenólicos, tricomas secretores unicelulares,
 17 estômatos e cutícula espessa. Internamente à epiderme, seguem-se 6 a 10
 18 camadas de um tecido colenquimático, com células alongadas e paredes

1 primárias, com espessamento desigual. O colênquima é adjacente a um
2 parênquima com várias camadas de células, homogêneo, sem espaços
3 intercelulares, entremeado por laticíferos e feixes vasculares. O arranjo dos

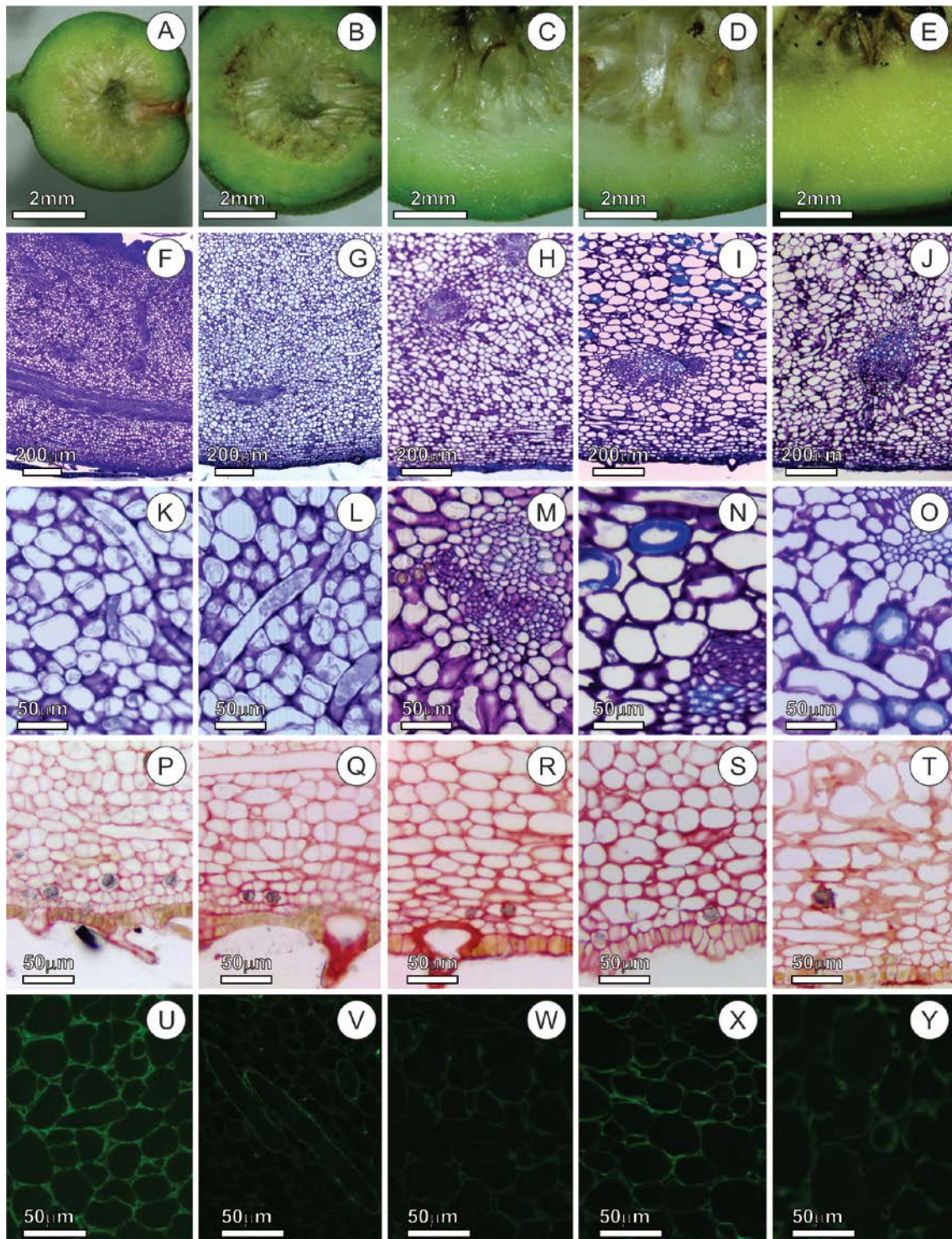


4

5 Figura 11 – Alterações morfológicas no ostíolo do sicônio de *Ficus adathodifolia* Schott
6 ao longo de seu desenvolvimento. A-E- Visão frontal do ostíolo correspondente às
7 fases A, B, C, D e E, respectivamente. A- Ostíolo fechado pelas brácteas externas,
8 com as brácteas inferiores direcionadas para o centro do sicônio; B- Ostíolo aberto e
9 brácteas inferiores afastadas. C- Ostíolo fechado pelas brácteas internas. D- Ostíolo
10 começando a se dilatar. E- Ostíolo com túnel de passagem para as vespas. F-O- Vista
11 do ostíolo na porção apical em cortes longitudinais. F-J – Aspectos morfológicos. K-O-
12 Aspectos anatômicos.

13

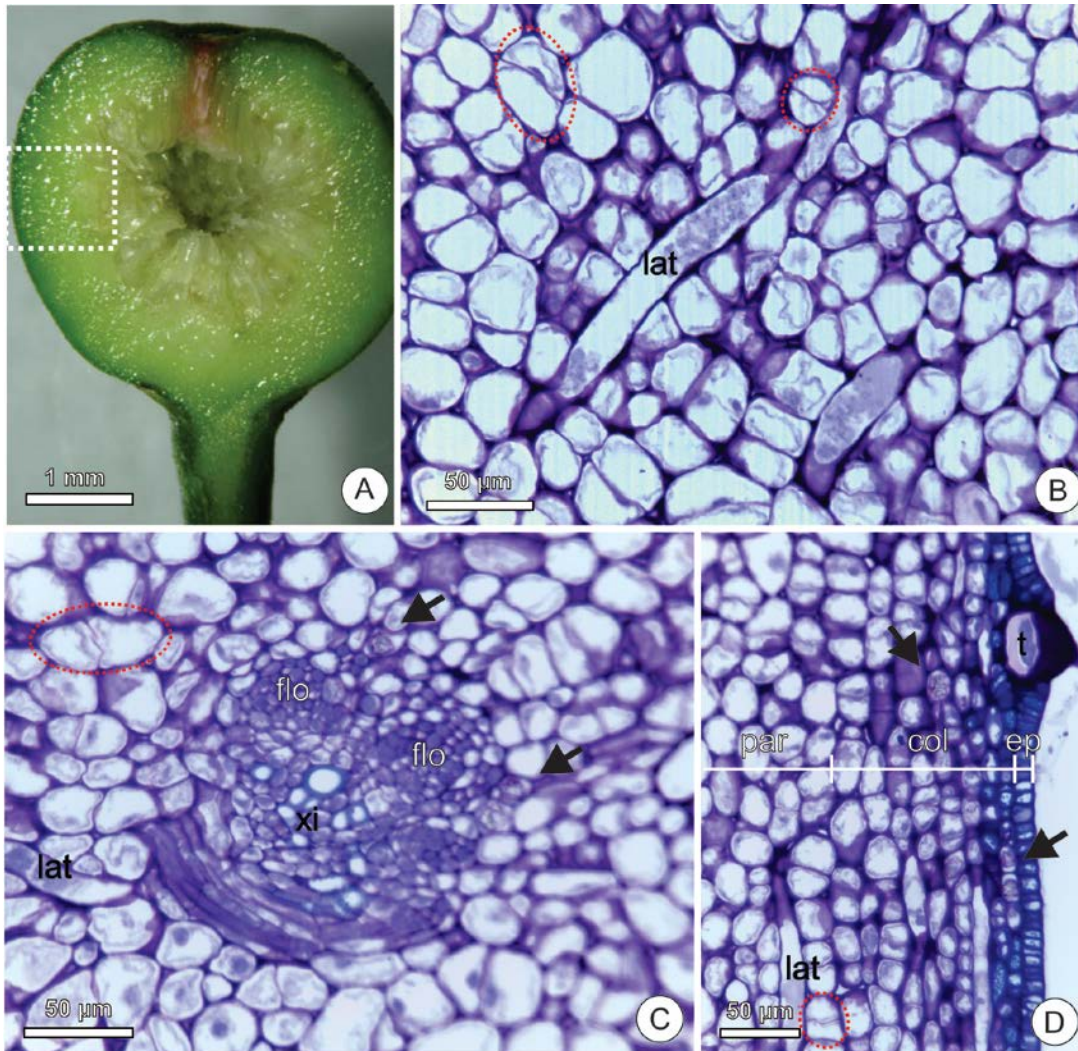
14 feixes vasculares é colateral. É possível observar também a presença de
15 muitos cristais, eventualmente formando drusas, principalmente próximos à
16 epiderme e na bainha dos feixes vasculares. O parênquima é seguido
17 internamente pelos tecidos das flores, que se direcionam para a cavidade
18 interna do sicônio. A espessura da parede do receptáculo e o tamanho das
19 células parenquimáticas aumentam com o crescimento do sicônio (Fig. 12). O
20 figo é relativamente macio ao toque na fase receptiva (Fase B), tornando-se
21 rígido nas fases C (interfloral) e D (masculina) e novamente mais macio quando
22 maduro.



1

2 Figura 12 – Alterações na parede do sicônio de *Ficus adathodifolia* Schott ao longo de
 3 seu desenvolvimento. A-E- Corte longitudinal do sicônio correspondente às fases A, B,
 4 C, D e E, respectivamente. F-J- Seções transversais da parede do receptáculo
 5 evidenciando natureza parenquimática e vascularização; K-O- Detalhes evidenciando
 6 laticíferos e feixes vasculares; P-T- Reação positiva ao vermelho de rutênio
 7 evidenciando a natureza péctica das paredes celulares e idioblastos com drusas; U-Y-
 8 Homogalcturonanos não-metil-metilesterificados marcados pelo LM19 nas paredes
 9 celulares em diferentes intensidades.

10

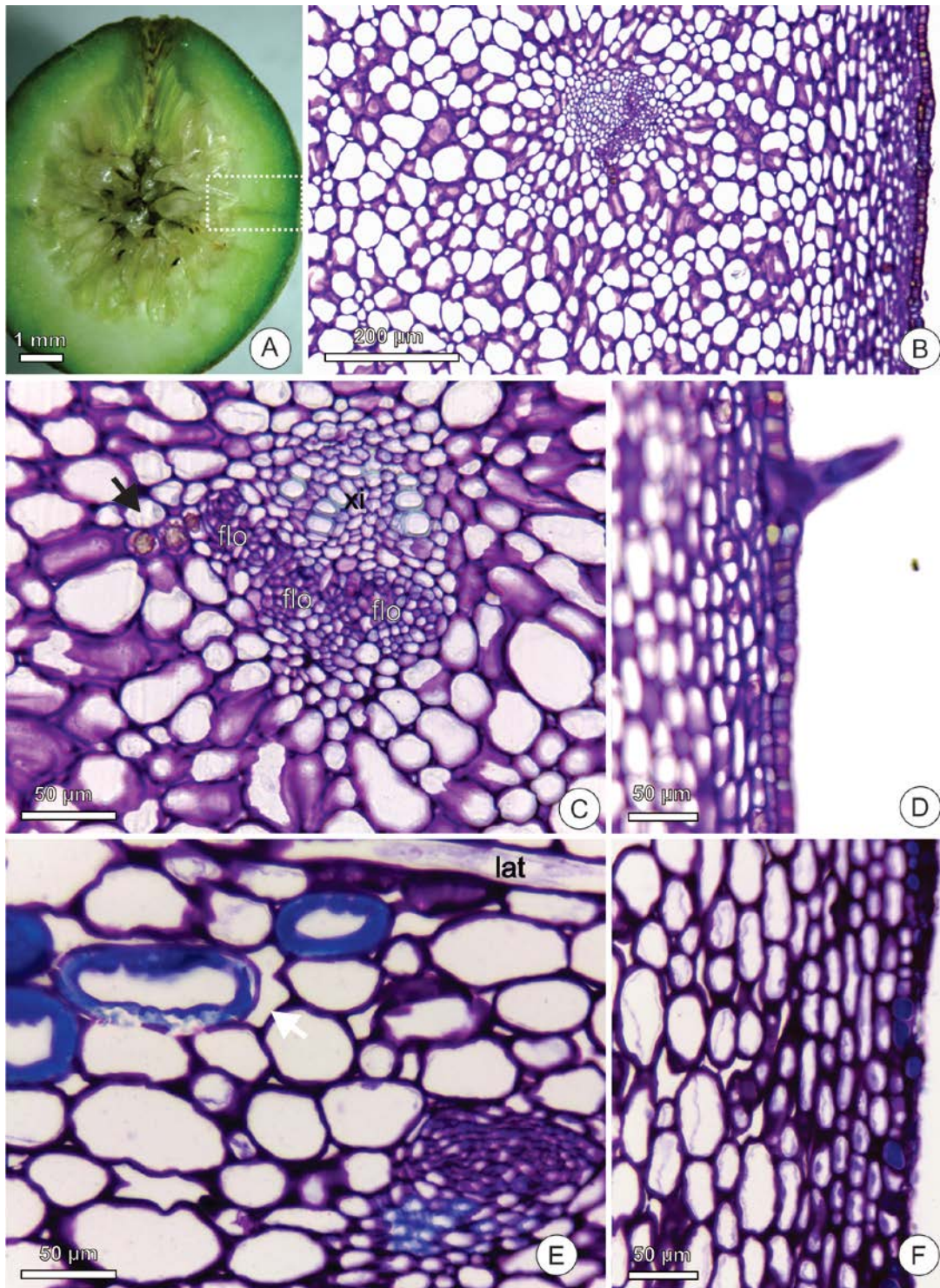


1

2 Figura 13 – Sicônio de *Ficus adathodifolia* Schott nas fases anteriores à polinização e
 3 oviposição. A- Corte longitudinal do sicônio; B- Tecido parenquimático com células em
 4 divisão (demarcadas) e laticíferos; C- Feixe vascular em desenvolvimento; D-
 5 Camadas celulares mais externas do receptáculo. col = colênquima; ep = epiderme; flo
 6 = floema; lat = laticífero; t = tricoma; xi = xilema; setas pretas = cristais.

7

8 As fases iniciais do sicônio (préfloral e receptiva), com flores não
 9 galhadas e não polinizadas, apresentam células em divisão celular e grande
 10 número de laticíferos (Fig. 13). Após a entrada das vespas no sicônio, fica
 11 evidente a expansão celular durante as fases interfloral e masculina (Fig. 14). A
 12 concentração de laticíferos na parede do receptáculo diminui. Nas fases
 13 masculina e senescente, é possível notar células esclerenquimáticas isoladas e
 14 dispersas pelo parênquima, que passa a apresentar também espaços
 15 intercelulares evidentes.



1

2 Figura 14 – Sicônio de *Ficus adathodifolia* Schott nas fases interfloral e madura. A-
 3 Corte longitudinal do sicônio; B- Seção transversal da parede do receptáculo; C- Feixe
 4 vascular; D- Epiderme externa na fase interfloral e camadas colenquimáticas
 5 subepidérmicas; E- Esclereídes (seta branca) formadas na fase de maturação do
 6 sicônio; F- Camadas celulares mais externas na fase madura. col = colênquima; ep =
 7 epiderme; flo = floema; lat = laticífero; t = tricoma; xi = xilema; seta preta = cristais.

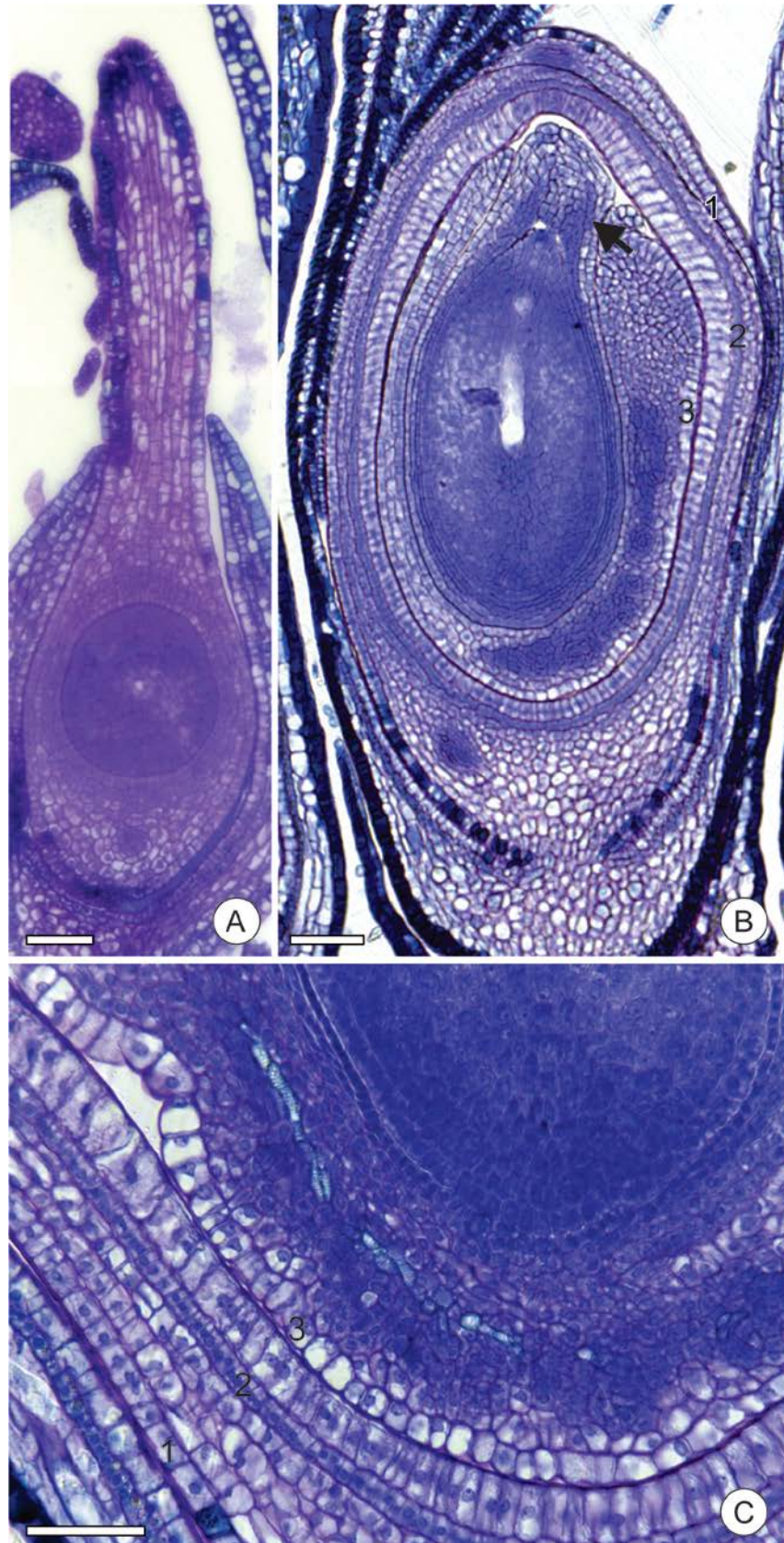
8

1 Na reação com vermelho de rutênio (Fig. 12P-T), as pectinas se
 2 apresentaram mais concentradas nas camadas celulares mais próximas à
 3 epiderme externa do receptáculo, em todos os estágios de desenvolvimento.
 4 Houve marcação, com variações na intensidade e na distribuição, para
 5 epitopos pécticos de homogalacturonanos não-metil-esterificados pelo
 6 anticorpo LM19. Esse anticorpo reconheceu fortemente os epitopos pécticos
 7 das paredes celulares no parênquima e nas esclereídes. Os epitopos dos
 8 homogalacturonanos metil-esterificados marcados pelo anticorpo LM20 não
 9 foram evidenciados. Os epitopos dos xiloglucanos marcados pelo LM15
 10 decrescem em intensidade de marcação na epiderme, no colênquima e no
 11 parênquima. A marcação pelo LM15 é fraca nos feixes vasculares, variável nos
 12 laticíferos e forte nas esclereídes do figo maduro (Tabela 2).

13 Nas fases A e B, a parede das flores apresenta epiderme abaxial,
 14 mesofilo e epiderme adaxial. No óvulo, tegumento interno, nucelo, micrópila e
 15 calaza (Fig. 15). As paredes das flores de *Ficus adhatodifolia* apresentam
 16 quatro tecidos diferenciados, além de duas camadas adicionais revestindo as
 17 sementes (Fig. 16, 17 e 18). A camada de células mais externa das flores é a
 18 epiderme externa, unisseriada. Adjacente à epiderme, encontramos o
 19 mesocarpo, de natureza parenquimática, com 1 a 3 camadas de células. O
 20 terceiro tecido observado é a subepiderme interna, com células pequenas e
 21 esclerificadas, de lúmen reduzido. Em seguida, o endocarpo está presente
 22 tanto nas flores galhadas quanto nos frutos.

23 Tabela 2 – Imunocitoquímica dos epitopos pécticos das paredes celulares do
 24 receptáculo de *Ficus adhatodifolia* Schott (Moraceae) com intensidade de
 25 marcação representada por + (fraca), ++ (moderada), +++ (intensa).

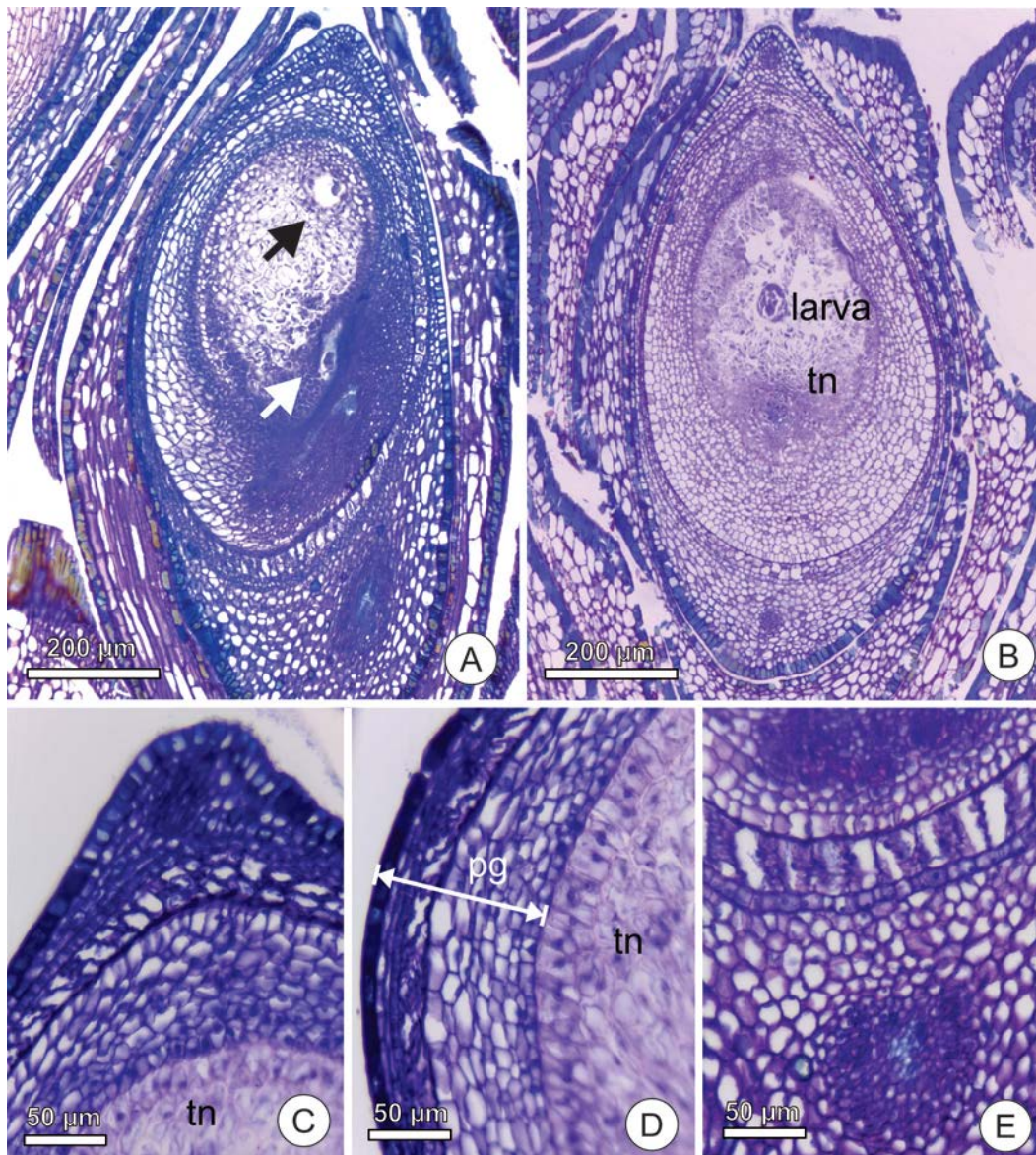
Fases	LM15				LM19			
	B	D	E	A	B	C	D	E
Epiderme	++	+	-	-	+	-	-	-
Colênquima	++	+	-	-	-	-	-	-
Feixes	+	+	+	+++	-	-	-	+
Esclereídes		+++	+++				+	+++
Laticíferos	++	+++	+	+	+	-	+	++
Parênquima	+++	++	+	+++	+	+++	+	++



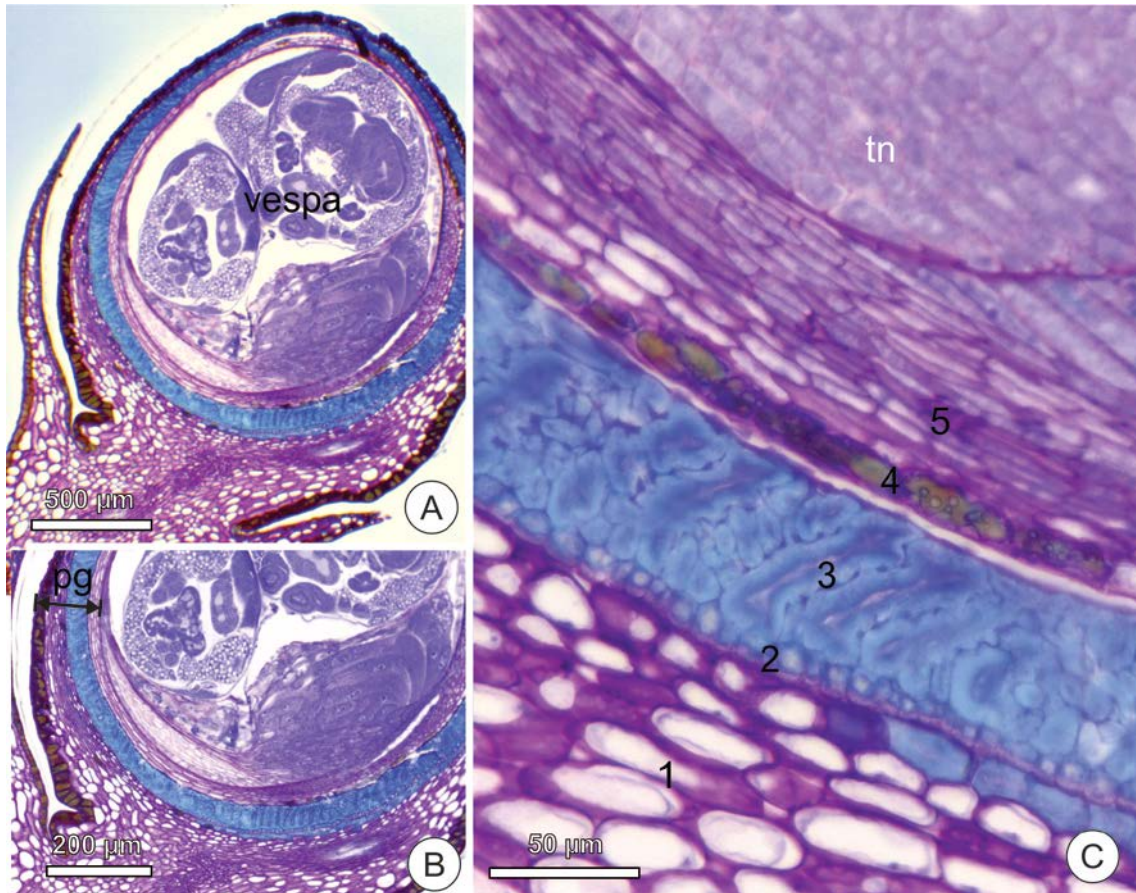
1
 2
 3
 4
 5

Figura 15 – Anatomia da flor pistilada de *Ficus adathodifolia* Schott nas fases anteriores à polinização e oviposição. A- Seção longitudinal da flor; B- Formação da micrópila (seta preta); C- Detalhe da vascularização da calaza. 1 = perianto; 2 = carpelo; 3 = tegumento externo. Barras: A = 500 μ m; B = 200 μ m; C = 50 μ m.

1 As células do endocarpo são grandes e retangulares, com parede
 2 secundária espessa, laminação distinta e pontoações. Os dois tecidos mais
 3 internos são o tegumento externo e interno do embrião. O tegumento externo é
 4 tanífero e torna-se comprimido com o desenvolvimento da galha ou da
 5 semente. O tegumento interno apresenta células bastante comprimidas,
 6 especialmente nas flores com vespas.



7
 8 Figura 16 – Anatomia da galha de *Ficus adathodifolia* Schott induzida por *Tetrapus* sp.
 9 na fase interfloral. A-B Seções longitudinais da galha evidenciando tecido nutritivo; C-
 10 Ápice da galha; D- Porção mediana; E- Base. pg = parede da galha; tn = tecido
 11 nutritivo. Seta branca = ovo; seta preta = espaço do megasporângio.



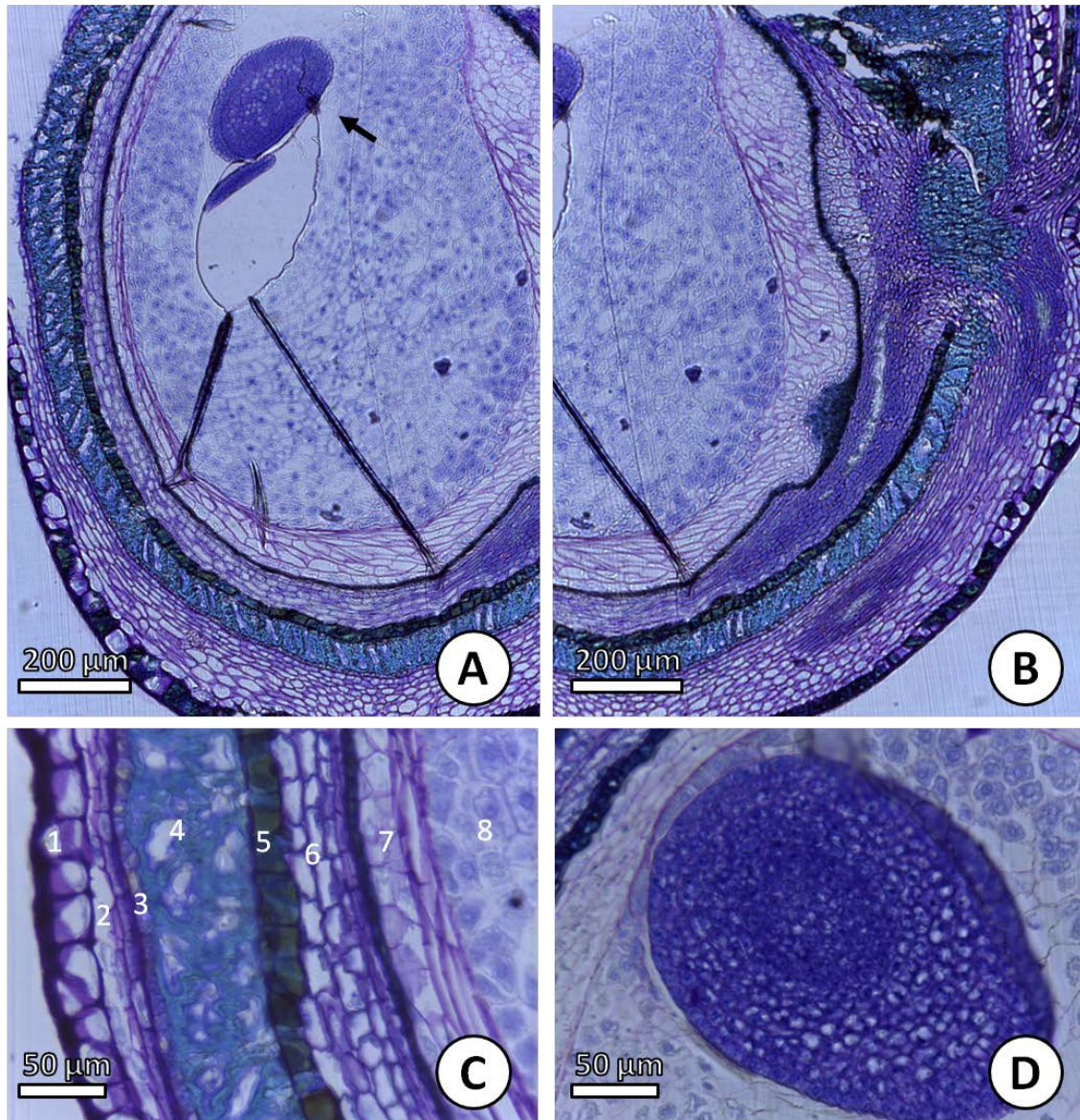
1

2 Figura 17 – Seção longitudinal da galha de *Ficus adathodifolia* Schott na fase pós-
 3 floral. A- Visão geral; B-C- Detalhes da parede evidenciando camadas celulares com
 4 paredes celulósicas (1), originadas do perianto e paredes lignificadas (2-3), originadas
 5 do carpelo. As camadas internas (4-5) são derivadas dos tegumentos do óvulo. pg =
 6 parede da galha; tn = tecido nutritivo.

7

8

9 Figura 18 – Seção longitudinal do fruto de *Ficus adathodifolia* Schott na fase pós-floral.
 10 A-B Visão geral; C- Detalhe da parede do f



1
 2 ruto; D- Megasporângio. 1 = perianto; 2-4 = pericarpo; 5-6 = testa; 7 = tegmen; 8 =
 3 tecido nutritivo.

4

5 **Discussão**

6 *O sistema Ficus X Tetrapus*

7 *Ficus adathodifolia* e *F. insipida* são espécies muito similares cuja
 8 sobreposição dos caracteres apontados por Carauta & Diaz (2002) e Berg &
 9 Villavicencio (2004) para separação das espécies foram destacados por
 10 Mendonça-Souza (2006) para o material estudado no Estado de São Paulo.
 11 Inicialmente, a espécie do presente estudo foi identificada com *F. insipida*,
 12 tendo sido posteriormente redefinida a partir da distribuição geográfica das
 13 duas espécies e da diferenciação sugerida por Pederneiras (2014). *F.*

1 *adathodifolia* se distribui principalmente no leste do Brasil, do Ceará a
2 Argentina e Bolívia, passando por Goiás, Distrito Federal e Mato Grosso,
3 enquanto que *F. insipida* ocorre na região amazônica desde a bacia amazônica
4 até a América Central (Pelissari 2012). *F. adhatodifolia* possui receptáculo com
5 ápice arredondado e *F. insipida*, receptáculo com ápice cuneado (Pederneiras
6 2014).

7 As vespas associadas às árvores do presente estudo foram identificadas
8 como pertencentes ao gênero *Tetrapus*, não apresentando estruturas corporais
9 especializadas no transporte de pólen. Espécies de *Tetrapus* realizam
10 polinização passiva (Nazareno *et al.* 2007; Jansen-González 2013) e devem
11 ser capazes de induzir galhas em flores não polinizadas (Jousselin *et al.* 2004).
12 Nesse caso, a deposição do pólen é aleatória e possivelmente direcionada pela
13 estrutura do ostíolo (Nefdt e Compton 1996), pela quantidade de óvulos
14 disponíveis (Bronstein 1988, Nefdt e Compton 1996) e pelas variações
15 morfológicas das flores pistiladas (Jousselin *et al.* 2004).

16

17 *Fenologia do sicônio*

18 As figueiras (*Ficus* spp.) dependem das vespas (Agaonidae) para sua
19 polinização e, por isso, desenvolveram adaptações para favorecer a
20 manutenção da comunidade desses insetos polinizadores ao longo de todo o
21 ano nos trópicos (Janzen 1979). As vespas polinizadoras adultas vivem
22 somente dois ou três dias (Ware and Compton 1994), o que requer a rápida
23 localização de figos receptivos como essencial para a manutenção da
24 população (Bronstein 1989, Bronstein *et al.* 1990). Tendo em vista que sicônios
25 receptivos foram coletados ao longo do ano, com exceção do mês de
26 dezembro de 2014, a presença de outros espécimes de *F. adathodifolia* na
27 área de estudo, o Parque das Mangabeiras, é essencial para garantir a
28 presença de sicônios em fase receptiva (fase B) para as possíveis vespas
29 adultas emergentes nesse período. No contexto evolutivo e da seleção
30 individual, árvores com sicônios receptivos na mesma época em que suas
31 vizinhas estão liberando vespas adultas cobertas de pólen podem garantir
32 maior sucesso reprodutivo do que árvores em sincronia com as vizinhas
33 (Janzen 1979). No conjunto de árvores observadas, houve produção de figos

1 em diferentes fases de desenvolvimento a cada coleta, embora um indivíduo
2 tenha apresentado sincronia fenológica, com todos os sicônios no mesmo
3 estágio, fato já relatado por Bronstein e Patel (1992) para *F. aurea*.
4 Diferentemente do encontrado para *F. guaranitica* (Pereira 1995), as maiores
5 taxas de frutificação ocorreram em épocas mais quentes e úmidas, o que
6 coincide com o registrado por Mcpherson (2005).

7

8 *Desenvolvimento do sicônio*

9 Segundo Verkerke (1989), o sicônio é formado a partir do alongamento e
10 dobramento de um disco plano e da formação de uma série de brácteas. As
11 brácteas mais externas se encontram e fecham o ostíolo do receptáculo. Uma
12 cavidade siconial se desenvolve pouco antes da fase receptiva (fase B), após a
13 abertura estar completamente preenchida por brácteas ostiolares, na fase A.
14 Essa cavidade é, então, totalmente preenchida pelo crescimento e
15 desenvolvimento das drupas e das galhas, na fase interfloral. Com o
16 crescimento do figo (fase D), novos espaços surgem entre suas estruturas
17 internas, de modo a permitir às vespas emergirem e se movimentarem. O
18 caminho de saída das vespas fêmeas adultas pela parede do sicônio varia em
19 *Ficus* seção *Pharmacosycea*. Embora na maioria das relações figo-vespas seja
20 necessário que os machos cavem túneis de saída através da parede do
21 sicônio, em *F. insipida*, há expansão das brácteas do ostíolo (Verkerke 1989).
22 A similaridade de *F. adathodifolia* com *F. insipida* e a não observação de canais
23 de saída nas paredes do sicônio, permite supor que o mecanismo de liberação
24 das fêmeas seja semelhante nas duas espécies.

25 A natureza eminentemente parenquimática e altamente vascularizada da
26 parede do sicônio coincide com o descrito por Neves (1987) e Verkerke (1989).
27 A densidade dos pelos e sua diminuição proporcional ao longo
28 desenvolvimento do receptáculo também são caracteres coincidentes às
29 descrições anteriores. De acordo com Verkerke (1989), várias camadas de
30 tecido esclerificado podem ocorrer, sendo sua presença ou ausência
31 significativas para a taxonomia. Na espécie estudada, embora não ocorra a
32 formação de estratos celulares lignificados contínuos, são observadas
33 esclereídes dispersas no parênquima a partir da fase D.

1 É possível que a demetilesterificação (Wolf *et al.* 2009) dos
2 homogalacturonanos ocorra muito rápido no desenvolvimento das paredes
3 celulares do receptáculo, o que determina a maior marcação dos epitopos
4 pépticos pelo anticorpo LM19 em relação ao LM20. Os homogalacturonanos
5 não metilesterificados conferem rigidez e estabilidade à parede celular,
6 principalmente durante os processos de hiperplasia (Carneiro *et al.* 2015). A
7 marcação dos epitopos dos xiloglucanos pelo LM15 decresceu nas paredes
8 primárias de células de diferentes tecidos (epiderme, colênquima e
9 parênquima) além dos laticíferos, ao longo das fases de desenvolvimento,
10 sendo possível reforçar sua função de manter a estrutura da parede celular
11 primária. Essenciais para o crescimento da planta, os xiloglucanos são as
12 hemiceluloses mais abundantes nas paredes celulares, com a função de
13 manter as microfibrilas de celulose ligadas (Marcus *et al.* 2008).

14 Na fase receptiva, o figo libera substâncias voláteis responsáveis por
15 atrair as vespas polinizadoras (Ware *et al.* 1993), estas substâncias são
16 específicas para cada espécie de figueira, o que pode ser considerado um fator
17 crucial para o a manutenção do mutualismo (Chen e Song 2008, Chen *et al.*
18 2009). Dois sítios de produção de voláteis foram observados em espécies de
19 figueiras, as brácteas ostiolares externas e as camadas mais externas de
20 células do receptáculo (Souza *et al.* 2015). Além dos voláteis, a produção de
21 fenólicos pelas brácteas ostiolares e pelas camadas externas do receptáculo e
22 de mucilagem pelos tricomas na epiderme interna do figo parece estar
23 associada à biologia do sicônio. Os fenólicos garantem proteção às flores,
24 frutos e sementes contra o ataque de herbívoros e patógenos (Jansen-
25 González *et al.* 2012), além de atuar como barreira contra raios ultravioletas e
26 infravermelhos (Silva *et al.* 2014). A mucilagem, por sua vez, é produzida por
27 tricomas localizados na epiderme interna do figo, documentados anteriormente
28 em *F. citrifolia*, *F. microcarpa* (Souza *et al.* 2015) e *F. enormis* (Machado *et al.*
29 2013). Estes tricomas estariam envolvidos na lubrificação de órgãos em
30 desenvolvimento (Machado *et al.* 2013). A detecção de fenólicos e mucilagem
31 em *F. adathodifolia*, nas fases iniciais, parece corroborar estas funções
32 biológicas.

1 Como em outras espécies de *Ficus* (Galil e Eisikowitch 1968, Verkerke
2 1989, Bronstein *et al.* 1990, Herre e West 1997, Jousselin *et al.* 2004, Souza *et*
3 *al.* 2015), as flores estaminadas de *F. adathodifolia* apresentaram-se maduras
4 algumas semanas após a antese das flores femininas. Em muitos casos, as
5 flores masculinas se localizam mais próximas ao ostíolo (Galil e Eisikowitch
6 1968, Verkerke 1989), mas também podem estar dispersas entre as flores
7 femininas, como ocorre na espécie estudada. Na polinização passiva, os figos
8 produzem maior número de flores estaminadas, com a liberação do pólen em
9 sincronia com a emergência das vespas fêmeas adultas (Jousselin *et al.* 2003).
10 Ao deixarem o figo, essas vespas estão cobertas de pólen e o transferem para
11 as flores pistiladas do figo receptivo.

12 O estilete longo evita que a fêmea alcance o ovário durante a
13 oviposição, o que garante o desenvolvimento do embrião da planta hospedeira
14 (Center *et al.* 1999, Weiblen 2002). Nesse sentido, em uma análise breve (n =
15 25) da relação entre o comprimento do estilete e a formação de galhas ou
16 frutos, foi possível observar que todas as flores longo-estiladas avaliadas
17 formaram frutos, enquanto as flores curto-estiladas e médio-estiladas formaram
18 galhadas, em sua maioria. O comprimento do estilete nas flores de *Ficus*,
19 portanto, é um fator determinante na proporção de flores galhadas e flores que
20 produzem sementes (Ganeshiah *et al.* 1999, Nefdt e Compton 1996, Jousselin
21 *et al.* 2001, Otero e Ackerman 2002). Contudo, alguns estudos demonstraram
22 que não há apenas duas categorias de flores, longo-estiladas e curto-estiladas,
23 mas uma distribuição normal e contínua de comprimentos do estilete (Bronstein
24 1988, Nefdt 1989, Ganeshiah *et al.* 1995). Em *F. maxima* (Jousselin *et al.*
25 2004), assim como em outras espécies monoicas, as flores curto-estiladas são
26 mais suscetíveis à receber os ovos das vespas. A inserção e orientação do
27 ovipositor das vespas seriam dificultadas em um canal estilar mais longo e
28 estreito (Verkerke 1989). Nesse sentido, estigmas longos associados às flores
29 longo-estiladas também limitariam a acessibilidade ao óvulo (Jousselin *et al.*
30 2004). Esses trabalhos sugerem que o estudo da morfologia e do comprimento
31 do estilete-estigma é relevante e pode ser aprofundado para *F. adhatodifolia*.

32 A histologia das flores do sicônio e das suas estruturas derivadas foi
33 caracterizada, em relação ao parasitismo (Center *et al.* 1999). A nomenclatura

1 utilizada no presente estudo baseou-se nos resultados da autora. Existem
2 também semelhanças teciduais entre as galhas de *F. citrifolia* (Jansen-
3 Gonzalez 2012) e *F. adhatodifolia*, mas as características das células que
4 compõem estes tecidos parecem variar. As células do endocarpo de *F.*
5 *adhatodifolia* são mais retangulares e alongadas, por exemplo, enquanto as
6 células do tegumento externo de *F. citrifolia* aparentam ser maiores do que as
7 da espécie aqui descrita. O contrário ocorre com o nucelo/tecido nutritivo: o
8 tecido como um todo ocupa maior espaço em relação à galha e suas células
9 são maiores em *F. adhatodifolia*, se comparadas à *F. citrifolia*.

10 Jansen-González (2012) sugere a necessidade de estudos mais
11 detalhados do desenvolvimento da vespa e da galha para compreensão da
12 exploração de recursos e das adaptações adquiridas pelas espécies de
13 figueiras e vespas de figo. Nesse contexto, Jansen-González (2012) sugere
14 que as estratégias de oviposição e, conseqüentemente, de polinização podem
15 estar associadas às modificações teciduais nas galhas. O autor conclui que *F.*
16 *citrifolia* é parcialmente dependente da polinização (polinizadora ativa), porque
17 a larva se alimenta do endosperma, derivado do embrião vegetal. Contudo, as
18 vespas do sistema *F. adhatodifolia-Tetrapus* também se alimentam do tecido
19 nutritivo derivado do megasporângio. Esta constatação torna interessante a
20 investigação da necessidade de polinização pelo viés ecológico e não apenas
21 anatômico para corroborar a hipótese de dependência da polinização.

22

23

24

25

26

27

28

29

30

1 Referências

- 2 Anstett, M.C. 2001. Unbeatable strategy, constraint and coevolution, or how to
3 resolve evolutionary conflicts: the case of fig/wasp mutualism. *Oikos* 95:
4 476-484.
- 5 Benke C.S.A. & Morellato L.P.C. 2002. Estudo comparativo de nove espécies
6 arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. *Revista*
7 *Brasileira de Botânica* 25: 23-248.
- 8 Berg, C.C., Villavicencio, X. 2004. Taxonomic studies on *Ficus* (Moraceae) in
9 the West Indies, extra-Amazonian Brazil, and Bolivia. *Ilicifolia* 5: 1-177.
- 10 Bronstein, J.L. 1988. Mutualism, antagonism and the fig pollinator interaction.
11 *Ecology* 69: 1298-1302.
- 12 Bronstein, J.L. 1989. A mutualism at the edge of its range. *Experientia* 45: 622-
13 637.
- 14 Bronstein, J.L., Gouyon, P.H., Gliddon, C., Kjellberg, F., Michaloud, G. 1990.
15 The ecological consequences of flowering asynchrony in monoecious
16 figs: a simulation study. *Ecology* 71(6): 2145-2156.
- 17 Bronstein, J.L., Patel, A. 1992. Causes and consequences of within-tree
18 phenological patterns in the florida strangling fig, *Ficus aurea*
19 (Moraceae). *American Journal of Botany* 79(1): 41-48.
- 20 Brummell, D.A. 2006. Primary cell wall metabolism during fruit ripening. *New*
21 *Zealand Journal of Forestry Science* 36(1): 99-111.
- 22 Campos, P.T., Costa, M.C.D., Isaias, R.M.S., Moreira, A.S.F.P., Oliveira, D.C.,
23 Lemos-Filho, J.P. 2010. Phenological relationships between two insects
24 galls and their host plants: *Aspidosperma australe* and *A. spruceanum*
25 (Apocynaceae). *Acta bot. bras.* 24(3): 727-733.
- 26 Carauta, J.P.P., Diaz B.E. 2002. Figueiras no Brasil. Rio de Janeiro, RJ: Editora
27 UFRJ.
- 28 Carneiro, R.G.S., Burckhardt, D., Isaias, R.M.S. 2013. Biology and systematics
29 of gall-inducing trioizids (Hemiptera: Psylloidea) associated with *Psidium*
30 spp. (Myrtaceae). *Zootaxa* 3620(1): 129-146.
- 31 Carneiro, R.G.S., Pacheco, P., Isaias, R.M.S. 2015. Could the extended
32 phenotype extend to the cellular and subcellular levels in insect-induced
33 galls? *Plos One* DOI: 10.1371/journal.pone.0129331.
- 34 Center, B.J., Giblin-Davis, R.M., Herre, E.A., Chung-Schickler, G.C. 1999.
35 Histological comparisons of parasitism by *Schistonchus* spp. (Nemata:
36 Aphelenchoididae) in neotropical *Ficus* spp.. *Journal of Nematology*
37 31(4):393-406.
- 38 Chen, C., Song, Q. 2008. Responses of pollinating wasp *Ceratosolen solmsi*
39 *marchali* to odor variation between two floral stages of *Ficus hispida*.
40 *Journal of Chemical Ecology* 34: 1536-1544.
- 41 Chen, C., Song, Q., Proffit, M., Bessièrè, J.M., Li, Z., Hossaert-McKey, M. 2009.
42 Private channel: A single unusual compound assures specific pollinator
43 attraction in *Ficus semicordata*. *Functional Ecology* 23: 941-950.
- 44 Dreger-Jaufret, F., Shorthouse, J.D. 1992. Diversity of gall-inducing insects and
45 their galls. In: Shorthouse J.D., Rohfritsch O. (eds) *Biology of insect-*
46 *induced galls.* Oxford University, Oxford, pp 8–33.
- 47 Dudareva, N., Pichersky,, E. 2006. *Biology of floral scent.* Taylor & Francis,
48 Boca Raton, Florida, USA.

- 1 Dufay, M, Anstett M–C. Conflicts between plants and pollinators that reproduce
2 within inflorescences: evolutionary variations on a theme. *Oikos* 2003;
3 100, 3–14.
- 4 Espírito-Santo, M.M., Neves, F.S., Andrade-Neto, F.R., Fernandes, G.W. 2007.
5 Plant architecture and meristem dynamics as the mechanisms determining
6 the diversity of gall inducing insects. *Oecologia* 153:353-364.
- 7 Farache, F.H.A. 2010. Comunidade de vespas (Hymenoptera, Chalcidoidea)
8 associadas a algumas espécies neotropicais de *Ficus* (Moraceae).
9 Dissertação de mestrado, USP, Ribeirão Preto.
- 10 Fernandes, G.W. 1992. Plant family size and age effects on insular gall-forming
11 species richness. *Global Ecology and Biogeography* 2: 71-74.
- 12 Fernandes, G.W., Araújo, R.C., Araújo, S.C., Lombardi, J.A., Paula, A.S.,
13 Loyola Júnior, R., Cornelissen, T.G. 1997. Insect galls from savanna and
14 rocky fields of the Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. *Naturalia*
15 22: 221-244.
- 16 Galil J. 1977. Fig biology. *Endeavour* 1: 52-56.
- 17 Galil J. Eisikowitch D. 1968a. On the pollination ecology of *Ficus sycomorus* in
18 Eas Africa. *Ecological Society of America* v. 49, n. 2: 259-269.
- 19 Galil J. Eisikowitch D. 1968b. Flowering cycles and fruit types of *Ficus*
20 *sycomorus* in Israel. *New Phytologist* 67: 745-758.
- 21 Grison-Pigé, L., Bessière, J.M., Hossaert-McKey, M. 2002. Specific attraction of
22 fig pollinating wasps: role of volatile compounds released by tropical figs.
23 *Journal of Chemical Ecology* 28(2): 283-295.
- 24 Herre, E.A., West, S.A. 1997. Conflict of interest in a mutualism: documenting
25 the elusive fig wasp-seed trade off. *Proc. R. Soc. Lond. B* 264: 1501-
26 1507.
- 27 Herre, E.A., Jandér, C.K., Machado, C.A. 2008. Evolutionary ecology of figs and
28 their associates: recent progress and outstanding puzzles. *Annu. Rev.*
29 *Ecol. Evol. Syst.* 39: 439-58.
- 30 Hossaert-McKey, M, Soler, C., Schatz, B., Proffit, M. 2010. Floral scents: Their
31 roles in nursery pollination mutualisms. *Chemoecology* 20:75-88.
- 32 Jansen-González, S. Teixeira, S.P., Pereira, R.A.S. 2012. Mutualism from the
33 inside: coordinated development of plant and insect in na active
34 pollinating fig wasp. *Arthropod-Plant Interactions* 6:601-609.
- 35 Jansen-González, S. 2013. Estratégias de uso de sementes como recurso
36 alimentar em Chalcidoidea (Hymenoptera). Tese de Doutorado,
37 Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- 38 Jansen-González, S., Teixeira, S.P., Kjellberg, F., Pereira, R.A.S. 2014. Same
39 but different: larval development and gall-inducing processo f a non-
40 pollinating fig wasp compared to that of pollinating fig-wasps. *Acta*
41 *Oecologica* 57:44-50.
- 42 Janzen, D.H. 1979. How to be a fig. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 10: 13-51.
- 43 Jusselin E., Hossaert-Mickey, M., Herre, E.A., Kjellberg, F. 2003. Why do fig
44 wasps actively pollinate monoecious figs? *Oecologia* 134: 381-387.
- 45 Jusselin E., Kjellberg F., Herre E.A. 2004. Flower Specialization in a Passively
46 Pollinated Monoecious Fig: A Question of Style and Stigma? *Int. J. Plant*
47 *Sci.*; 165(4):587–93.
- 48 Lara, A.C.F., Fernandes, G.W. 1996. The highest diversity of galling insects:
49 Serra do Cipó, Brazil. *Biodiversity Letters* 3: 111-114.

- 1 Machado, C.A., Jousselin, E., Kjellberg, F., Compton, S.G., Herre, E.A. 2001.
2 Phylogenetic relationships, historical Proc. R. Soc. Lond. B 268: 685-694.
- 3 Mani, M.S. 1964. Ecology of plant galls. Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
- 4 McPherson, J.R. 2005. Phenology of six *Ficus* L., Moraceae, species and its
5 effects on pollinator survival, in Brisbane, Queensland, Australia.
6 Geographical Research 43(3): 297-305.
- 7 Marcus, S.E., Verhertbruggen, Y., Hervé, C., Ordaz-Ortiz, J.J., Farkas, V.,
8 Pedersen, H.L., Willats, W.G.T., Knox, P. 2008. Pectic
9 homogalacturonan masks abundant sets of xyloglucan epitopes in plant
10 cell walls. BMC Plant Biology 8:60.
- 11 Nazareno, A.G., Silva, R.B.Q., Pereira, R.A.S. 2007. Fauna de Hymenoptera
12 em *Ficus* spp. (Moraceae) na Amazônia Central, Brasil. Iheringia, Sér.
13 Zool., Porto Alegre, 97(4) 441-446.
- 14 Nefdt, R.J.C, Compton, S.G. 1996. Regulation of seed and pollinator production
15 in the fig-fig wasp mutualism. J. Anim. Ecol. 65: 170-182.
- 16 Neves, L.J. 1987. Morfologia, desenvolvimento e anatomia de *Ficus tomentella*
17 Miq. (Moraceae). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São
18 Paulo-SP.
- 19 Otero, J.T., Ackerman, J.D. 2002. Flower style length and seed production in
20 two species of *Ficus* (Moraceae) in Puerto Rico. Caribbean Journal of
21 Science 38(3-4): 249-251.
- 22 Pederneiras, L.C. 2014. Filogenia, revisão taxonômica e biogeografia de *Ficus*
23 sect. *Pharmacosyceae* (Moraceae). Tese de Doutorado, Instituto de
24 Botânica da Secretaria Estadual do Meio Ambiente, São Paulo.
- 25 Pelissari, G. 2012. *Ficus* L. (Moraceae) da Serra da Mantiqueira. Dissertação
26 de Mestrado, Instituto de Botânica da Secretaria Estadual do Meio
27 Ambiente, São Paulo.
- 28 Pereira, R.A.S., Rodrigues, E., Menezes Júnior, A.O. 1995. Fenologia de *Ficus*
29 *guaranitica* Chodat & Vischer. Semina: Ci. Agr., Londrina, v.16, n.1, p.
30 129-135.
- 31 Raman, A. 2007. Insect-induced plant galls of India: unresolved questions. Curr,
32 Sci. 92(6):748-757.
- 33 Ramírez, W. 1970. Host specificity of fig wasps (Agaonidae). Evolution 24: 680-
34 91.
- 35 Santana, A. P., Isaias, R.M.S. 2014. Gallig insects are bioindicators of
36 environmental quality in a Conservation Unit. Acta bot. bras. 28(4): 594-
37 608.
- 38 Silva, D.B., Turatti, C.C., Gouveia, D.R., Ernst, M., Teixeira, S.P., Lopes, N.P.
39 2014. Mass spectrometry of flavonoid vicenin-2, based sunlight barriers in
40 *Lychnophora* species. Scientific Reports 4:4309.
- 41 Souza, C.D., Pereira, R.A.S., Marinho, C.R., Kjellberg, F., Teixeira, S.P. 2015.
42 Diversity of fig glands is associated with nursery mutualism in fig trees.
43 American Journal of Botany 102(10):1-14.
- 44 Suzuki, A.Y.M. 2015. Desenvolvimento estrutural e implicações metabólicas no
45 sistema *Lonchocarpus cultratus*-Cecidomyiidae. Dissertação de
46 Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG.
- 47 Verkerke, W. 1989. Structure and function of the fig. Experientia 45:612-622.
- 48 Ware, A.B., Kaye, P.T., Compton, S.G., van Noort, S. 1993. Fig volatiles: Their
49 role in attracting pollinators and maintaining pollinator specificity. Plant
50 Systematics and Evolution 186: 147-156.

- 1 Ware, A.B., Comptom, S.G. 1994. Responses of fig wasps to host plant volatile
- 2 cues. *Journal of Chemical Ecology* 20: 785-802.
- 3 Weiblen, G.D. 2002. How to be a fig wasp. *Annu. Rev. Entomol.* 47:299-330.
- 4 Wolf, S., Mouille, G., Pelloux, J. 2009. Homogalacturonan methyl-esterification
- 5 and plant development. *Molecular Plant* 5(2): 851-860.
- 6 Yukawa J. 2000. Synchronization of gallers with host plant phenology.
- 7 *Population Ecology* 42: 105-113.
- 8