



EDUARDO OLIVEIRA SILVA

**ESTUDOS TAXONÔMICOS E ANATÔMICOS EM ESPÉCIES
DE *PASSIFLORA* L. (PASSIFLORACEAE S.L.)**

**Lavras-MG
2020**

EDUARDO OLIVEIRA SILVA

**ESTUDOS TAXONÔMICOS E ANATÔMICOS EM ESPÉCIES DE *PASSIFLORA* L.
(PASSIFLORACEAE S.L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Botânica Aplicada, para a obtenção do
título de Doutor.

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro
Orientador

Prof^a. Dr^a. Michaele Alvim Milward-de-Azevedo
Coorientadora

**Lavras-MG
2020**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Eduardo Oliveira.

Estudos taxonômicos e anatômicos em espécies de
Passiflora L. (Passifloraceae *s.l.*) / Eduardo Oliveira Silva. - 2020.
78 p. : il.

Orientador(a): Evaristo Mauro de Castro.

Coorientador(a): Michaele Alvim Milward-de-Azevedo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Taxonomia. 2. Glândulas foliares. 3. Nectários extraflorais. I.
de Castro, Evaristo Mauro. II. Milward-de-Azevedo, Michaele
Alvim. III. Título.

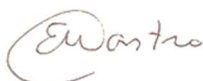
EDUARDO OLIVEIRA SILVA

**ESTUDOS TAXONÔMICOS E ANATÔMICOS EM ESPÉCIES DE *PASSIFLORA* L.
(PASSIFLORACEAE S.L.)**

Taxonomic and anatomical studies in species of *Passiflora* L. (Passifloraceae s.l.)

APROVADO em 18 de Junho de 2020.

Prof. Dr. Thiago Alves Magalhães	UFLA
Prof. Dr. Manuel Losada Gavilanes	UFLA
Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning	UFLA
Prof. Dr. Advanio Inácio Siqueira Silva	UFOPA



Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro
Orientador

Prof^ª. Dr^ª. Michaele Alvim Milward-de-Azevedo
Coorientadora

Lavras-MG

2020

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada pela oportunidade de realização do doutoramento.

À Universidade Federal do Maranhão, em especial ao colegiado do curso de Licenciatura em Ciências Naturais (campus VII), pelo afastamento concedido.

Ao Prof. Dr. Evaristo Castro, pela orientação, amizade e disposição.

À professora Marinês Pires por todo apoio prestado durante o doutoramento.

À minha coorientadora, Prof^ª. Dr^ª. Michaele Alvim, pela amizade, parceria e todo aprendizado que tenho tido com sua pessoa sobre as passifloráceas.

Aos professores Dr. Thiago Magalhães, Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning, Dr. Manuel Losada Gavilanes e Dr. Advanio Inácio Siqueira Silva por comporem a banca examinadora deste trabalho.

Ao Dr. Rogério Silva (Museu Paraense Emílio Goeldi), pela identificação das formigas e ao Dr. Willian Leslie Overal (Museu Paraense Emílio Goeldi), pela identificação das borboletas.

Aos professores Dr. Eduardo Van Den Berg, Dr^ª Suzana Maria e Dr. Thiago Magalhães por comporem a banca do exame de qualificação.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, pelos ensinamentos em cada disciplina cursada, em especial à Dra. Flávia Coelho pela amizade cultivada.

Ao técnico Ítalo Fernandes pelo acompanhamento no laboratório de Botânica Estrutural.

Aos técnicos Silvino Intra e Aline Norberto pelo acompanhamento no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME).

Ao Dr. Filipe Almendagna Rodrigues (Departamento de Agricultura, Laboratório Cultura de Tecidos) pela colaboração em ter cedido diversas vezes ramos de *P. pohlii*.

Ao amigo Dr. Vinicius Politi Duarte, pelo auxílio em vários momentos durante a elaboração prática e textual desse trabalho.

Ao técnico do herbário ESAL, Antônio Massensini, pela colaboração em diversos momentos em que usei a coleção de Passifloraceae.

A todos os colegas do programa pela convivência, em especial ao Iago Arruda, por ter plantado em sua residência uma das espécies.

Aos meus pais e familiares pelo carinho, apoio e intercessão.

A Deus pela vida, cuidado e provisão!

RESUMO GERAL

Passifloraceae Jussieu ex Kunth. é composta por cerca de 600 espécies, distribuídas em 17 gêneros, sendo *Passiflora* L. o mais representativo em número de espécies. A família tem distribuição nas regiões tropicais das Américas, África e Ásia. O Brasil, é um dos seus principais centros de diversidade, com aproximadamente 150 espécies distribuídas em quatro gêneros: *Ancistrothyrus* Harms, *Dilkea* Mast, *Mitostemma* Mast e *Passiflora*, sendo este último o gênero mais representativo na família. Passifloraceae apresenta elevado potencial alimentício, ornamental e medicinal. Entretanto, carece de estudos taxonômicos, anatômicos e ecológicos relacionados principalmente a distribuição da espécie, variabilidade foliar, natureza e tipo de estruturas secretoras foliares. Dessa forma, nesse estudo abordamos aspectos taxonômicos que traz dois novos registros de *Passiflora* para o Brasil, sendo *P. auriculata* Kunth para o estado do Tocantins e *P. cisnana* Harms para o estado de Alagoas. Também, essas duas espécies são registradas como redescobertas para o Maranhão, por terem sido recoletadas em seu território várias décadas após os primeiros registros documentados para o estado. Também, apresentamos um estudo anatômico de glândulas foliares em três espécies de *Passiflora*, nas quais, caracterizou-se a morfologia e anatomia dessas glândulas, enfatizando o papel ecológico dessas estruturas com base em sua fauna associada, o que permitiu identificá-las como nectários extraflorais.

Palavras-chave: Estruturas secretoras. Glândulas foliares. Nectários extraflorais. Novas ocorrências. Problemas taxonômicos.

ABSTRACT

Passifloraceae Jussieu ex Kunth. has ca. 600 species distributed among 17 genera, of which *Passiflora* L. is the most species-rich. The family is distributed across tropical regions of the Americas, Africa and Asia. Brazil, one of its major centers of diversity, has approximately 150 species distributed among four genera: *Ancistrothyrsus* Harms, *Dilkea* Mast, *Mitostemma* Mast, and *Passiflora*. Passifloraceae species have high food, ornamental and medicinal potentials. However, taxonomic, anatomical and ecological studies on the group are scarce, especially regarding species distribution, foliar variability, and the nature and type of leaf secretory structures. Thus, in this study we approached taxonomic aspects of the group, which enabled us to report two new records of *Passiflora* to Brazil, namely *P. auriculata* Kunth to Tocantins state and *P. cissnana* Harms to Alagoas state. These two species are also reported herein as rediscovered to Maranhão state, as they have been recollected in the state territory several decades after the first documented records to the state. In addition, we performed an anatomical analysis on the foliar glands of three *Passiflora* species aiming to characterize gland morphology and anatomy; the analysis revealed important aspects of the ecological role these structures play in the relationships with the associated fauna, which allowed us to classify such structures as extrafloral nectaries.

Keywords: Secretory structures. Foliar glands. Extrafloral nectaries. New occurrences. Taxonomic problems.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

PRIMEIRA PARTE

Figura 1 - Representação esquemática de <i>Passiflora edulis</i> Sims.....	17
Figura 2 - Glândulas foliares em <i>Passiflora acuminata</i> (A e B), <i>P. nitida</i> (C e D) e <i>P. foetida</i> (E e F)	20
Figura 3 - Fauna Lepidoptera (Nymphalidae, Heliconiinae) associada a <i>Passiflora</i>	21
Figura 4 - Estabelecimento de hifas fúngicas em NEF oceleolar de <i>P. vesperilio</i> L.....	22

ARTIGO 1

Figure 1 - <i>Passiflora auriculata</i>	37
Figure 2 - <i>Passiflora cispiana</i>	38
Figure 3 - Geographic distribution of <i>Passiflora auriculata</i> in brazilian territory.....	39
Figure 4 - Herborized specimen of <i>Passiflora auriculata</i>	40
Figure 5 - Geographic distribution of <i>Passiflora cispiana</i> in brazilian territory.....	41
Figure 6 - Herborized specimen of <i>Passiflora cispiana</i>	42

ARTIGO 2

Figura 1- a-n. Morfologia e interação em <i>Passiflora cincinnata</i> , <i>P. picturata</i> e <i>P. pohlii</i>	72
Figura 2- a-k. Aspectos estruturais dos NEFs peciolares de <i>P. cincinnata</i> e <i>P. picturata</i>	73
Figura 3- a-m. Aspectos estruturais dos NEFs de <i>P. cincinnata</i> , <i>P. picturata</i> e <i>P. pohlii</i>	74
Figura 4-a-j. Aspectos estruturais das fases secretora e pós-secretora dos NEFs de <i>P. cincinnata</i> , <i>P. picturata</i> e <i>P. pohlii</i>	75
Figura 5-a-l. Hifas fúngicas sobre NEFs de <i>P. cincinnata</i> , <i>P. picturata</i> e <i>P. pohlii</i>	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 (Primeira parte) - Descrições de glândulas foliares em estudos taxonômicos e anatômicos* em espécies de <i>Passiflora</i>	18
Tabela 1 (Segunda parte) - Descrição taxonômica dos NEFs das três espécies deste estudo.....	54

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 Sistemática da família.....	12
2.2 Aspectos florísticos.....	13
2.3 Descrição do gênero <i>Passiflora</i>	15
2.4 Terminologia morfológica em Passifloraceae.....	16
2.5 Estudos interdisciplinares envolvendo nectários extraflorais em Passifloraceae <i>s.l.</i>	17
REFERÊNCIAS.....	24
APÊNDICE	31

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 – Rediscovery and new records of <i>Passiflora auriculata</i> Kunth and <i>P. cissana</i> Harms (Passifloraceae) in Brazil.....	34
Artigo publicado na revista Check List.	
ARTIGO 2 – Caracterização morfoanatômica de nectários extraflorais em espécies de <i>Passiflora</i> L., (Passifloraceae) <i>sensu stricto</i>	45
Artigo a ser submetido à revista Rodriguésia.	
TERCEIRA PARTE – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	77

“Descreveu [o rei Salomão] as plantas, desde o cedro do Líbano até o hissopo que brota nos muros. Também dissertou sobre os animais, as aves, os répteis e os peixes.”

(1 Reis 4:33)

1 INTRODUÇÃO

Estudos botânicos assumem um papel essencial para o conhecimento, gerenciamento e preservação de recursos naturais, pois servem de base para diversos outros estudos que envolvam a flora.

A família Passifloraceae *sensu lato*, tem no Brasil um importante centro de endemismo, e apesar da grande importância do gênero *Passiflora* L. nos ambientes tropicais, na cultura popular, pelo potencial alimentício e uso fitoterápico, estudos taxonômicos envolvendo espécies de *Passiflora* são fragmentários, já que em muitas localidades, o gênero foi tratado apenas em levantamentos de floras regionais (DEGINANI, 2001), o que torna necessárias ações de coleta para atualização de ocorrências do grupo, principalmente em áreas prioritárias para conservação.

As informações sobre a flora do Maranhão, como integrante dos Domínios Amazônia e Cerrado, são escassas e fragmentadas. Isso se deve predominantemente à sua diversidade e riqueza e ao número restrito de botânicos que estudem essas áreas. Além disso, os poucos estudos botânicos existentes no Maranhão são em geral de cunho florístico ou etnobotânico (SILVA et al., 2016a), sendo praticamente inexistentes estudos envolvendo aspectos morfoanatômicos de espécies de plantas dessa região. Dessa forma, ressalta-se a importância de trabalhos como os de Farinazzo e Salimena (2007), Milward-de-Azevedo e Valente (2004) e Silva, Santos e Dias (2013), todos envolvendo a família Passifloraceae em Unidades de Conservação.

Em geral, são poucos os estudos que abordam os aspectos morfoanatômicos das espécies de *Passiflora* (DETTKE, 2009), sendo os mais comuns estudos envolvendo estruturas secretoras como os nectários extraflorais (NEFs). Os NEFs são estruturas produtoras de néctar, que secretam principalmente açúcares e aminoácidos, localizados nas partes vegetativas e reprodutivas de muitas espécies de plantas (DURKEE, 1982; MCLAIN, 1983) e que, ao contrário de nectários florais, não estão diretamente relacionados com a polinização (COGNI, FREITAS e OLIVEIRA, 2003), mas na atração de insetos, que estabelecem importantes relações mutualísticas com as plantas (APPLE; FEENER, 2001; PIRES et al., 2017).

Dada a importância das glândulas foliares na taxonomia de Passifloraceae *s.l.*, muitos estudos mencionam essas estruturas como NEFs apenas baseado na morfologia e no histórico de ocorrência dessas glândulas no grupo. Isso se deve porque muitas espécies podem ser diferenciadas pelo número e posição dessas glândulas nas estruturas vegetativas como pecíolo, limbo e margem das folhas. Entretanto, estudos interdisciplinares que identificaram glândulas foliares como NEFs foram realizados apenas em algumas espécies (CARDOSO-GUSTAVSON et al., 2013; DURKEE, 1982; LEMOS; SILVA; MELO-DE-PINNA, 2017; SILVA et al., 2016b). Dessa forma, novos

estudos são recomendados para outras espécies do gênero *Passiflora*, visto que, a partir do trabalho realizado por Durkee, Baird e Cohen (1984), estruturas antes descritas como NEFs (ROTH 1968, 1974) na verdade correspondiam a glândulas lipofílicas.

As espécies desse trabalho são aqui estudadas em dois momentos. *Passiflora auriculata* Kunth e *P. cispnana* Harms. apresentam lacunas em suas distribuições geográficas, embora sendo espécies de amplo alcance dentro da América do Sul, ainda não possuem ocorrências comprovadas em algumas regiões. Essas espécies, juntamente com *P. pohlii* Mast. pertencem à *Passiflora* subg. *Decaloba*, onde podem ocorrer nectários extraflorais em muitas espécies. *Passiflora auriculata* possuem NEFs no pecíolo, confirmado através de estudos de interação formiga-planta (APPLE; FEENER, 2001). *Passiflora pohlii*, juntamente com *P. cincinnata* Mast. e *P. picturata* Ker Gawl. (*P.* subg. *Passiflora*), possuem glândulas foliares ainda não caracterizadas do ponto de vista morfoanatômico. Diante do exposto, nesse trabalho objetivamos responder: a) Qual é a atual distribuição e status de conservação de *Passiflora auriculata* e *P. cispnana* dentro de seu alcance natural no território brasileiro? e b) Seriam as glândulas foliares de *P. cincinnata*, *P. picturata* e *P. pohlii* nectários extraflorais?

Esse trabalho encontra-se estruturado em três capítulos, sendo o primeiro uma introdução geral, abordando os aspectos relacionados aos capítulos que o compõe, seguido de uma fundamentação teórica, que reúne uma discussão acerca dos principais trabalhos desenvolvidos sobre os aspectos taxonômicos e anatômicos envolvendo NEFs de Passifloraceae. Encontra-se formatado segundo as normas do Manual de Normalização e Estrutura de Trabalhos Acadêmicos, UFLA (2016). Já os capítulos seguintes são correspondentes aos artigos e estão organizados conforme as normas dos periódicos Check List e Rodriguésia.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sistemática da família

Passifloraceae *sensu lato*, é uma classificação recente dentro de um contexto filogenético, sendo composta por Passifloraceae *sensu stricto*, Turneraceae e Malesherbiaceae (APG IV, 2016). Com essa nova circunscrição, a família passou a englobar cerca de 935 espécies, 27 gêneros e a compor três subfamílias: Passifloroideae Burnett, Malesherbioideae Burnett e Turneroideae (Kunth ex de Candolle) Eaton (APG IV, 2016).

Estruturas reprodutivas como androginóforo, corona e arilo nas sementes tem sido características chave na delimitação das três famílias (TOKUOKA, 2012), além de vários estudos

envolvendo dados moleculares que confirmam essa nova classificação (CHASE et al., 2002; THULIN et al., 2012; TOKUOKA, 2008).

Conhecida como a família do maracujá, Passifloraceae Jussieu ex Kunth é facilmente reconhecida por apresentar hábito escandente, grande variabilidade foliar e floral, folhas alternas, gavinhas axilares, venação palmada, pecíolo com glândulas, flores com simetria radial, androginóforo e uma coroa, que consiste de uma até várias séries de filamentos geralmente coloridas (KILLIP, 1938; MUSCHNER, 2005), o que segundo Judd et al. (1999), confirma a monofilia do grupo.

Passifloraceae *s.s* pertencia a ordem Violales pelo sistema de Cronquist (1981) e atualmente está posicionada em Malpighiales pelo sistema APG IV (2016). A sistemática de Passifloraceae não encontra-se concluída do ponto de vista taxonômico (FEUILLET; MACDOUGAL, 1999), já que suas numerosas espécies encontram-se agrupadas em subgêneros, seções e/ou séries, formando um complexo sistema de classificação proposto por Killip (1938).

Os trabalhos taxonômicos mais abrangentes envolvendo *Passiflora* são os tratados de Killip (1938) e Ulmer e MacDougal (2004). No primeiro, Killip em sua monografia “The American Species of Passifloraceae” publicou 365 espécies de *Passiflora* para a América, sendo 101 para o Brasil. Nela, são citados quatro gêneros para o Novo Mundo: *Dilkea* Mast., *Mitostemma* Mast., *Tetrastylis* Barb. Rodr. e *Passiflora*, esse último, dividido em 22 subgêneros, e por sua vez, subdividido em várias seções e/ou séries. Posteriormente, Escobar (1988) dividiu a família Passifloraceae em duas tribos (*Paropsieae* e *Passiflorieae*) e acrescenta dois novos subgêneros, além de outras seções para o subgênero *Tacsonia* Juss.

Com base em caracteres morfológicos e ecológicos, Feuillet e MacDougal (2003) reorganizaram todo esse sistema de classificação, resumindo os subgêneros de Killip e Escobar em apenas quatro: *Astrophea* (DC.) Mast., *Deidamioides* (Harms) Killip, *Decaloba* (DC.) Rchb. e *Passiflora*. Essa nova classificação infragenérica do gênero *Passiflora*, vem sendo corroborada por trabalhos recentes de sistemática filogenética (HANSEN et al., 2006; MUSCHNER, 2005; MUSCHNER et al., 2003; YOCKTENG; NADOT, 2004; ZAMBERLAN, 2007). Mais recentemente, Krosnick e Ford (2009), adicionaram o subgênero *Tetrapathea* (DC.) P.S.Green, à classificação de Feuillet e MacDougal (2003).

2.2 Aspectos florísticos

A família possui 17 gêneros e cerca de 560 espécies, com ampla distribuição em regiões tropicais a temperadas, sendo o gênero *Passiflora*, o mais representativo em número de espécies,

abrangendo cerca de 520 espécies (FEUILLET; MACDOUGAL, 2007), com o maior número delas ocorrendo no Neotrópico (MÄDER et al., 2009).

Entre os gêneros de Passifloraceae s.s., quatro ocorrem no Brasil: *Dilkea*, *Mitostemma*, *Ancistrothyrus* Harms e *Passiflora*, onde os estados do Amazonas, Minas Gerais e Pará são os mais representativos em números de espécies (BFG, 2015; FLORA DO BRASIL, 2019). *Ancistrothyrus* e *Dilkea* ocorrem exclusivamente na Amazônia (SACCO, 1980; BERNACCI, VITTA e BAKKER, 2013), e *Mitostemma* ocorre na Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL 2020, (2019)); já o gênero *Passiflora*, é bem representado no Brasil, principalmente no Centro-Norte do País (LOPES, 1991), porém, com uma gradual diminuição do número de espécies à medida que a distribuição avança para o Sul (FREITAS, 2011).

No Brasil, como importante centro de diversidade e endemismo de *Passiflora*, se destacam as revisões de Cervi (1997), onde foram descritas 50 espécies e duas variedades de *Passiflora* subg. *Passiflora*; Milward-de-Azevedo, Baumgratz e Gonçalves-Esteves (2012), que realizaram a revisão taxonômica das espécies de *P.* subg. *Decaloba*, e Mezzonato-Pires et al. (2017) com a distribuição de espécies de *P.* subg. *Astrophea*.

Também, diversos estudos de flora com Passifloraceae podem ser citados. No domínio Amazônico do Norte do País, se destacam os trabalhos de Hopkins e Sousa (1999) na Reserva Ducke, e Cruz et al. (2013) na Província Petrolífera de Uruca, Coari, ambos no Amazonas; Silva, Santos e Dias (2013) para a Área de Proteção Ambiental de Belém, e Koch e Ilkiu-Borges (2016) em áreas de cangas da Serra dos Carajás, no estado do Pará. Na região Nordeste, destacam-se os trabalhos de Nunes e Queiroz (2001; 2006), para a flora da Chapada Diamantina e flora da Bahia; Costa, Nunes e Melo (2015) na Paraíba; Araújo e Alves (2013) para a Usina São José, Igarassu, Pernambuco, e Silva et al. (2018) em diferentes fitofisionomias no Maranhão.

Abrangendo áreas de Cerrado do Centro-Oeste, tem-se os trabalhos de Cervi (1986) no estado de Goiás, e Imig (2013) no Distrito Federal. Na região Sudeste, pode ser citado Bernacci, Vitta e Bakker (2003) para a flora de São Paulo; Milward-de-Azevedo e Baumgratz (2004) para a flora da Região Sudeste; Milward-de-Azevedo (2007) para o Parque Estadual de Ibitipoca; Mezzonato-Pires, Salimena e Bernacci (2013); Vitta e Pirani (2015) e Imig, Milward-de-Azevedo e Cervi (2018), todos estes em MG; Milward-de-Azevedo (2014) para o estado do RJ; Borges (2016) e Borges e Milward-de-Azevedo (2017), para o Parque Estadual da Cachoeira da Fumaça no Espírito Santo. Na região Sul, Sacco (1980) para a flora de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul; Cervi (1981), para a flora do Paraná; Cervi e Linsigen (2008) para o complexo de cerrado no estado do Paraná, e Mondin, Cervi e Moreira (2011) para o Rio Grande do Sul.

Todos esses inventários florísticos contribuem para o aumento do conhecimento sobre as espécies de Passifloraceae nas diferentes fitofisionomias do País. No estado do Maranhão, por exemplo, as informações sobre sua flora representam um potencial a ser descoberto, pela variedade de ambientes que ocorrem no estado (cerrados, campos inundáveis, babaquais e florestas de grande porte) e por serem pouco pesquisados do ponto de vista botânico.

Mesmo assim, tem havido um aumento no número de espécies conhecidas no Maranhão, com as recentes adições de *Passiflora tholozanii* Sacco (KOCH; CARDOSO; ILKIU-BORGES, 2014) e *P. pedata* L. (SILVA et al., 2016a) em remanescentes de floresta amazônica no estado; *P. mansoi* (Mart.) Mast. (MEZZONATO-PIRES et al., 2017), *P. cincinnata* Mast., *P. picturata* Ker Gawl. e *P. vesperilio* L. (SILVA et al., 2018) em áreas de Cerrado, e *P. auriculata* Kunth (MILWARD-DE-AZEVEDO, 2019), em áreas de vegetação litorânea no estado.

2.3 Descrição do gênero *Passiflora*

Passiflora L., Sp. pl. 2: 955 (1753)

ESPÉCIE TIPO: *Passiflora incarnata* L.

Espécie Ilustrativa: *Passiflora edulis* Sims (Fig. 1A-H).

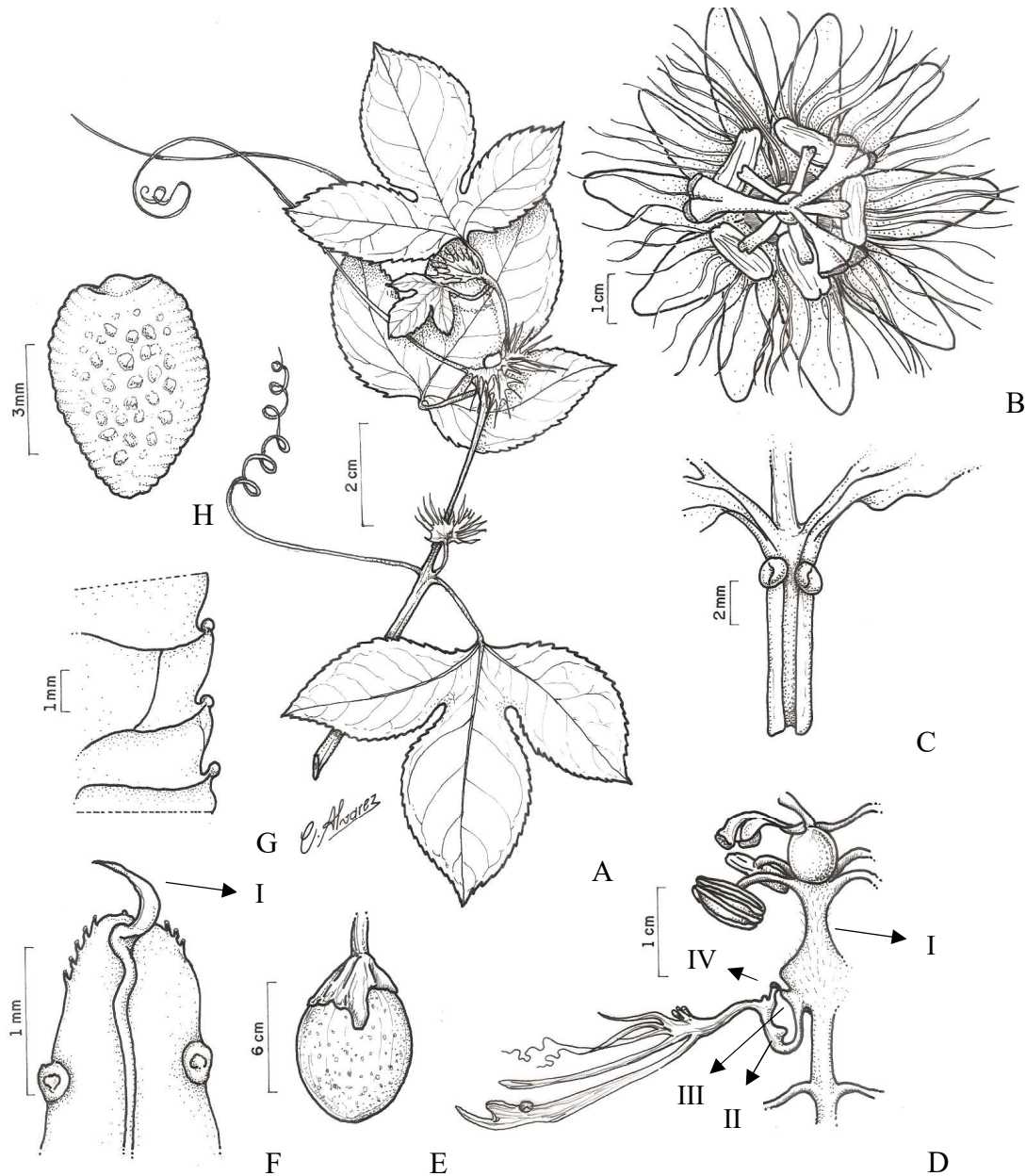
Trepadeiras escandentes mediante gavinhas axilares, herbáceas ou lenhosas, raramente árvores, pequenas ou arbustos. Caule cilíndrico, anguloso ou subanguloso, raramente quadrangular, normalmente estriado longitudinalmente, por vezes sulcado. Folhas alternas, simples, inteiras ou lobadas, lobos variáveis, raramente compostas; margem inteira, denteadas, serrilhadas ou glandular serrilhadas; limbo, às vezes com glândulas oclares na superfície abaxial. Pecíolos em geral com glândulas nectaríferas em número, forma e posição variáveis. Estípulas setáceas, lineares ou foliáceas, persistentes ou caducas, de margem inteira, denteadas ou partidas. Brácteas pequenas ou foliáceas, setáceas, elípticas, oblongas ou ovadas, dispersas ou verticiladas, de margens inteiras, serrilhadas ou lacinadas, as vezes ausentes. Flores actinomorfas, andróginas, geralmente isoladas ou aos pares, axilares, raramente em inflorescências, normalmente vistosas. Tubo do cálice pateliforme, campanulado, infundibuliforme ou cilíndrico, verde, esverdeado ou colorido. Sépalas carnosas, subcoriáceas ou membranáceas, lineares, oblongas, espatuladas ou ovadas, as vezes corniculadas dorsalmente ou aristadas imediatamente abaixo do ápice. Pétalas membranáceas, alternas com as sépalas, às vezes ausentes, nascendo na margem do tubo do cálice, brancas, esverdeadas ou coloridas. Corona formada por uma a várias séries de filamentos de comprimento, forma e coloração variada; filamentos individualizados ou mais ou menos soldados, raramente

tubulares. Opérculo interior e inferior à corona, membranoso, liso ou plicado, inteiro, lacerado ou filamentososo na margem, ereto ou pendente, raramente ausente. Limen geralmente presente, envolvendo a base do androginóforo. Anel nectarífero constituído por uma proeminência anular interior e inferior ao opérculo, quando presente. Androginóforo em geral reto. Androceu isostêmone, cinco estames, livres no extremo superior e mais ou menos unidos na base; filetes dorsifixos; anteras lineares, ovadas ou oblongas, biloculares. Gineceu de ovário súpero, unilocular, multiovulado; rudimentos seminiais anátropos, com três placentas parietais; globoso ou ovóide, raramente trígono ou hexagonal, situado sobre um androginóforo. Estiletes em três, livres ou unidos na base, cilíndricos ou clavados; estigmas capitados, orbiculares ou reniformes. Fruto indeiscente, raramente deiscente (cápsula) quando maduro, forma de baga, globoso ou ovóide, raramente fusiforme, contendo em seu interior uma polpa mucilaginosa. Sementes envolvidas por um arilo mucilaginoso, mais ou menos comprimidas, alveoladas, foveoladas, reticuladas ou sulcadas transversalmente.

2.4 Terminologia morfológica em Passifloraceae

Corona: processos filiformes dispostos em uma ou mais séries circulares que partem do tubo do cálice, com tamanhos e aspectos variados (ligulados, filiformes, subulados, etc) usualmente coloridos (Fig. 1B). **Opérculo:** pequena membrana circular, situado um pouco abaixo da corona de filamentos, no interior do tubo do cálice, sendo às vezes carnosa ou membranácea, lisa ou plicada verticalmente e de margem inteira, denticulada ou serrilhada. Pode estar ausente em algumas espécies ou estar constituído por um verticilo de filamentos muito curtos e comprimidos (Fig. 1D/IV). **Anel nectarífero:** situado na base do tubo do cálice, abaixo do opérculo, podendo estar ausente em algumas espécies (Fig. 1D/II). **Limen:** constituído por um anel ou uma membrana em forma de taça que rodeia a base do androginóforo, situada na base do tubo do cálice (Fig. 1D/III). **Androginóforo:** coluna ereta de tamanho variável que parte da base do tubo do cálice, sendo portador dos estames e do pistilo, os quais estão dispostos na sua parte superior. Pode ainda apresentar um espessamento acima do limen chamado tróclea (Fig 1D/I). **Arista:** projeção membranácea ou cornicular na região subapical dorsal das sépalas (Fig. 1F/I) (DEGINANI, 2001; CERVI, 1997; MONDIN; CERVI; MOREIRA, 2011).

Figura 1 - Representação esquemática de *Passiflora edulis* Sims (MG nº 46525, EOSilva).



Legenda: **A.** hábito; **B.** flor; **C.** NEFs no ápice do pecíolo; **D.** detalhe interno da flor em seção longitudinal com androginóforo (I), anel nectarífero (II), limen (III), opérculo (IV); **E.** fruto; **F.** ápice abaxial da bráctea com arista (I); **G.** margem foliar com NEFs; **H.** semente. Fonte: Do autor (2012).

2.5 Estudos interdisciplinares envolvendo nectários extraflorais em *Passifloraceae s.l.*

Uma característica marcante em *Passiflora* é a variabilidade foliar que este gênero apresenta, o que para MacDougal (1994) é a maior encontrada entre as Angiospermas. Essa variabilidade foliar contribui para a discordância de vários autores em relação à identidade de muitas

espécies, e também, dificulta um claro posicionamento hierárquico das espécies em níveis infragênicos (DETTKE, 2009). Esses fatores tornam a classificação taxonômica de Passifloraceae bastante complexa (MUSCHNER, 2005).

Em *Passiflora*, as margens denteadas e serreadas das folhas são uma sinapormorfia compartilhada entre as famílias de Malpighiales (JUDD et al., 2009). Como exemplo, tem-se a atual circunscrição de Turneraceae em Passifloraceae *s.l.* (APG IV, 2016), já que ambas as famílias compartilham glândulas foliares. Nessas famílias, as folhas de várias espécies são mencionadas em descrições taxonômicas com pecíolos glandulares, pecíolos com nectários, margens foliares denteadas, serreadas ou margens glandulares. Alguns casos estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 - Descrições de glândulas foliares em estudos taxonômicos e anatômicos* em espécies de *Passiflora*.

Táxon	Descrição	Autor
<i>P. amethystina</i>	pecíolo com 3-8 glândulas curto-estipitadas; margem inteira ou levemente glandular-serreadas nos sinus dos lóbulos e na base;	Cervi (1997)
	pecíolo com 4-8 nectários, estipitados ou ligulados	Bernacci, Vittá e Bakker (2003)
	as glândulas foliares são identificadas como NEFs	*Rocha et al. (2009)
<i>P. edulis</i>	pecíolo com duas glândulas sésseis, ou curtamente estipitadas; 1 par de nectários côncavos, próximos ao ápice.	Cervi (1997); Bernacci, Vittá e Bakker (2003)
<i>P. glandulosa</i>	Pecíolo com 2 glândulas sésseis no terço inferior do pecíolo; biglandular no terço inferior.	Cervi; Dunaiski Junior (2004); Silva, Santos e Dias (2013)
	Pecíolo com um par de nectários extraflorais na base	*Silva et al. (2016)

Margens denteadas/serrilhadas de órgãos foliares, podem ser assim mencionadas, por apresentarem desde simples recorte do limbo a projeções elevadas nos bordos foliares, constituindo as glândulas foliares, e estas, podem pertencer a diferentes categorias de estruturas secretoras (hidatódios, NEFs, coléteres). Esses aspectos são relevantes, do ponto de vista taxonômico e anatômico, visto que dessa forma, uma simples descrição de margem denteada pode ser

complementada/melhorada, diante da possibilidade de identificação dessas estruturas, que ocorrem nessa região da folha.

A presença ou ausência de glândulas foliares, sua diversidade em forma e localização, são extensivamente usados na identificação taxonômica, como é observado nas descrições de Cervi (1997), Bernacci, Vitta e Bakker (2003) e Nunes e Queiroz (2006) para muitas espécies que apresentam essas glândulas. Outro exemplo, são os ocelos, presentes em muitas espécies de *P.* subg. *Decaloba* como *P. misera* Kunth e *P. vespertilio*. Essas estruturas são NEFs inseridos na superfície abaxial das folhas (Silva et al. 2016), de formato circular (dispersos na lâmina foliar) ou obovado (entre as nervuras da base foliar). A falta desses nectários ocelares caracteriza alguns grupos, tais como a seção *Xerogona* (Raf.) Killip de *P.* subg. *Decaloba*, a qual pertence *P. auriculata* Kunth e *P. cisnana* Harms, representantes desse estudo.

Em *Passiflora* subg. *Passiflora*, a presença ou ausência de glândulas nas margens das folhas foi utilizado por Silva, Santos e Dias (2013) na separação de *P. nitida* Kunth e *P. acuminata* DC., espécies da Superseção *Laurifolia* (Cervi, 1997) Feuillet e MacDougal (2003). Essas duas espécies podem ser facilmente confundidas por causa da corona violácea longa nas flores, entretanto, podem ser diferenciadas pela margem foliar inteira em *P. acuminata*, e glandular denteada em *P. nitida* (FIGURA 2A-D).

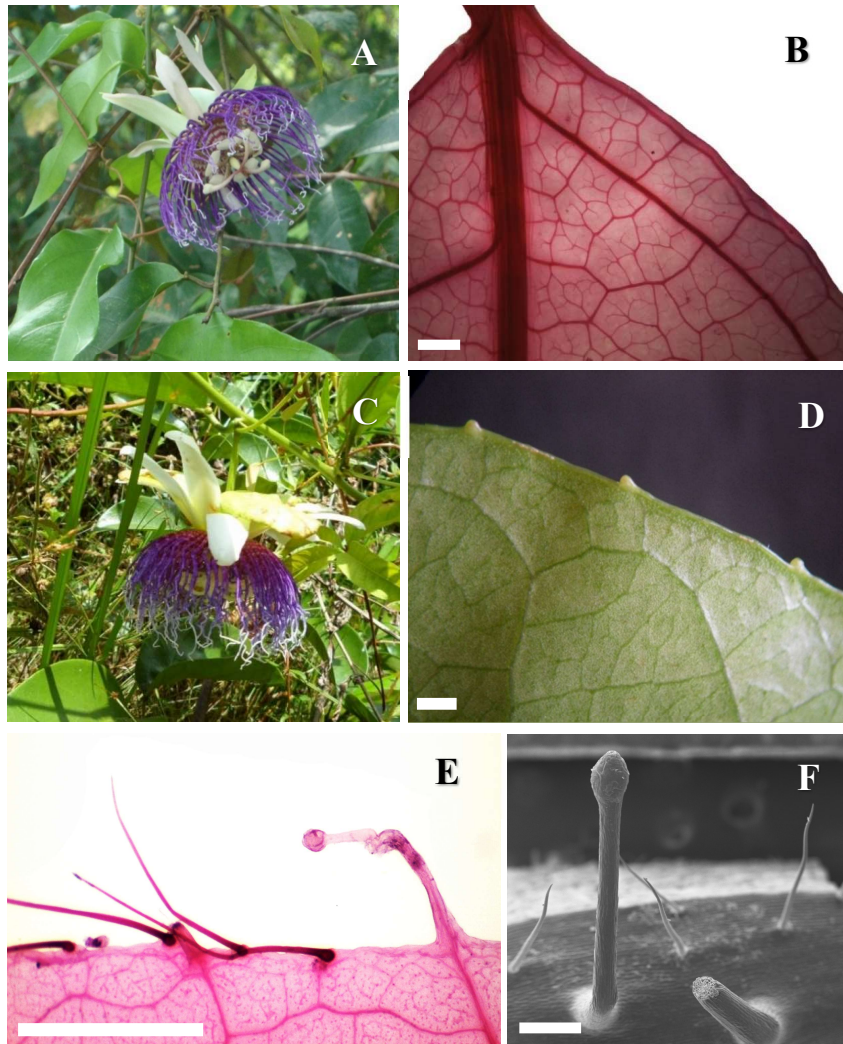
A determinação da natureza de glândulas foliares torna-se importante, pois fornece subsídios para taxonomia do gênero. Outros casos envolvendo glândulas podem ser citados, como as glândulas estipulares de *P. alata*, descritas com margens inteiras a raramente denteadas por Bernacci, Vitta e Bakker (2003), sendo posteriormente identificadas como coléteres por Cardoso (2010). Também, tricomas glandulares de *P. foetida* L. (FIGURA 2E, F), descritos erroneamente como nectários (ROTH, 1968), na verdade correspondem a glândulas lipofílicas (DURKEE, 1982).

Para confirmar ou identificar glândulas foliares como NEFs, podem ser levados em consideração, além dos aspectos morfológicos, a caracterização anatômica, a detecção de açúcar no exsudato, e observações de formigas e hifas fúngicas na superfície secretora dessas estruturas. Estudos interdisciplinares como os mostrados no Apêndice A abordaram todos ou no mínimo dois desses aspectos.

Além desses, outros estudos podem ser citados como o de Apple e Feener (2001), ao observarem que a visitação por formigas nos ramos de *P. auriculata* diminuía quando as glândulas peciolares foram bloqueadas experimentalmente, embora ainda estivessem funcionais, confirmando assim, que essas glândulas se tratavam de NEFs. Semelhantemente, Labeyrie et al. (2001) relataram que ramos de *P. glandulosa*, em que formigas foram excluídas, sofreram maior intensidade de ataques de insetos fitófagos do que os ramos que possuíam visitação por formigas, atraídas pelas

glândulas foliares. Nessa última espécie, Silva et al. (2016b) confirmaram que essas glândulas se tratavam de NEFs, pela caracterização anatômica e detecção de glicose no exsudato, além de visitação por formigas nas glândulas.

Figura 2 – Glândulas foliares em *Passiflora acuminata* (A e B), *P. nitida* (C e D) e *P. foetida* (E e F).



Legenda: Flor com coroa violácea (A); margem foliar lisa (B); Flor com coroa violácea (C); margem foliar glandular denteado (D); Tricomas tectores e glandulares (E e F). Barras: 1mm (B e E); 2 mm (D); 250 μ m (F). Fonte: Do autor (2012).

Glândulas nectaríferas diferem em sua estrutura e localização, e podem atrair diferentes números e espécies de formigas (APPLE; FEENER, 2001). A posição dos NEFs na planta é estratégica e contribui para o êxito de sua função defensiva (WACKERS; BONIFAY, 2004). A própria composição química do néctar extrafloral pode ser considerada como uma adaptação para o

recrutamento de formigas (BENTLEY, 1976). Estas, protegem a planta contra seus eventuais herbívoros, o que reforça a hipótese protecionista e o papel ecológico de estruturas foliares.

Gêneros de formigas são constantemente relatados em glândulas foliares de *Passiflora* (CARDOSO-GUSTAVSON et al., 2013; LEAL et al., 2006; MCLAIN, 1983; SILVA et al. 2016b), assim como em outros grupos (AGUIRRE et al., 2013; POSSOBOM; GUIMARÃES; MACHADO, 2010), em busca de recurso alimentar – açúcares e aminoácidos presentes no exsudato dos NEFs (LANZA, 1988). Estas removem larvas de borboletas, o que revela comportamento territorialista e agressiva do comportamento desses insetos ao forragear os ramos vegetais (MCLAIN, 1983; SMILEY, 1986; MEGA; ARAUJO, 2008; LEAL et al., 2006).

Borboletas da tribo Heliconiini (Nymphalidae) são considerados os herbívoros primários de espécies de *Passiflora* (SMILEY, 1986). Estas põem ovos de forma isolada na superfície adaxial das folhas da planta hospedeira, tendo estes, formato subcilíndrico, base plana, coloração amarela e o ápice levemente afilado no início do desenvolvimento (DELL'ERBA; KAMINSKI; MOREIRA, 2005; SILVA et al., 2006). A associação entre *Passiflora* e alguns táxons de Lepidoptera (Nymphalidae, Heliconiinae) e seus estágios imaturos é evidenciada na Figura 3A-E.

Figura 3 – Fauna Lepidoptera (Nymphalidae, Heliconiinae) associada a *Passiflora*.

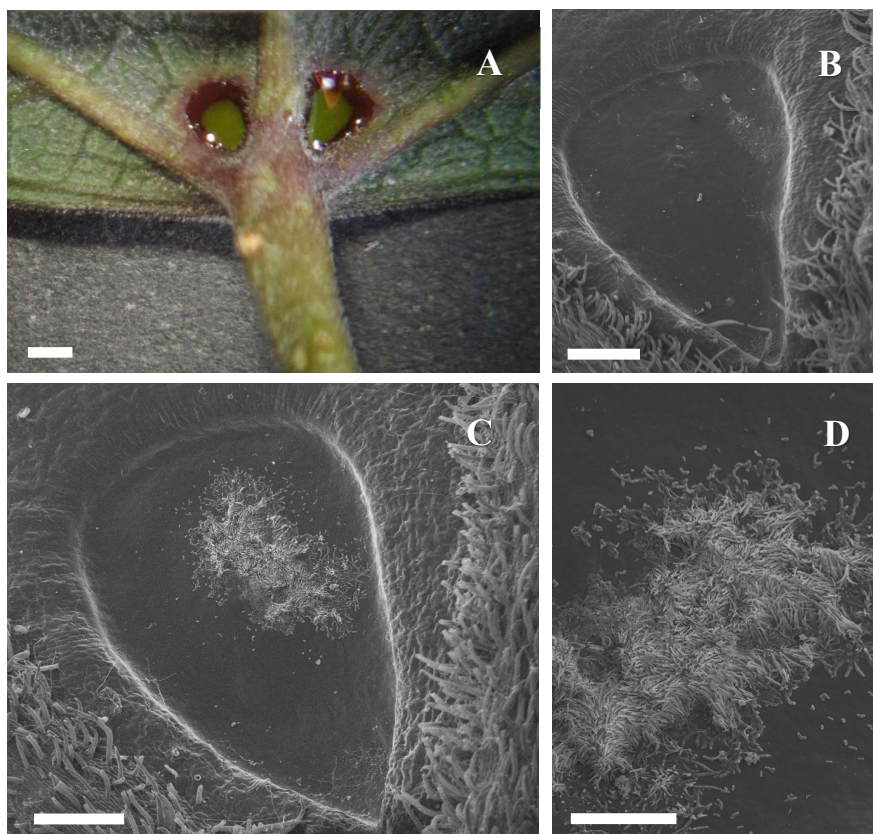


Legenda: borboleta *Agraulis* (Boisduval; Le Conte, 1835) ovipositando em *P. edulis* (A); borboleta *Dryas iulia* (Fabricius, 1775) ovipositando em *P. vespertilio* (B). ovo de Nymphalidae (Heliconiinae) em *P. picturata* (C); larvas de Nymphalidae (Heliconiinae) em *P. glandulosa* e *P. laurifolia* (D e E). Fonte: Do autor (2012/2019).

Para Cardoso-Gustavson et al. (2013), a semelhança na morfologia dos ovos de borboleta com os NEFs peciolares de *P. alata*, permite classificar esses últimos como glândulas *egg mimics* - estruturas miméticas de ovos de borboletas. Conforme a autora, a presença de imitações de ovos de borboletas, e a variação entre o número de NEFs existente no mesmo indivíduo são consideradas respostas à pressão seletiva dessas espécies de helicônios sobre a planta, o que impediria a oviposição por parte das fêmeas helicôneas e evitaria o consumo das plantas por lagartas.

O desenvolvimento de fungos na superfície secretora de NEFs (FIGURA 4A-D) é relatado em alguns estudos de caracterização de glândulas nectaríferas (CARDOSO-GUSTAVSON et al., 2013; DIAS, 2008; PAIVA; MACHADO, 2006; SILVA et al. 2016b), e é considerado por esses autores como critério na identificação de glândulas foliares como NEFs. Fungos ocorrem na região periférica, não secretora, de nectários extraflorais, como menciona Cardoso (2010) em NEFs de *P. alata* e *P. edulis*.

Figura 4 – Estabelecimento de hifas fúngicas em NEF oceolar de *P. vespertilio* L.



Legenda: **A.** ocelos basais secretando néctar; **B.** ocelo em fase pré-secretora; **C e D.** hifas fúngicas se desenvolvendo, evidenciando a fase pós-secretora. Barras: 1mm (A); 350 µm (B); 300 µm (C); 120 µm (D). Do autor (2012).

A proliferação de hifas na superfície secretora, só é relatada posteriormente após a liberação do néctar (fase pós-secretora). Essa inibição inicial segundo Cardoso (2010), é explicado pela: a) ocorrência de idioblastos com conteúdo terpênicos dispersos no parênquima nectarífero dos NEFs; b) presença de metabólitos no néctar como alcaloides, flavonoides e terpenos, que impediriam a proliferação desses microorganismos; e c) constituição ácida das células na superfície secretora, o que indica que o pré-néctar apresenta baixo pH.

Além disso, Paiva e Machado (2006) apontam que a observação de fungos, provavelmente saprófitos, limitados ao tecido secretor nos NEFs não funcionais, podem estar relacionados a maior impregnação de lignina na endoderme, o que permite inferir que essa camada impede ou dificulta a dispersão de microrganismos para os tecidos vivos do mesofilo.

REFERÊNCIAS

- AGUIRRE, A.; COATES, R.; CUMPLIDO-BARRAGÁN, G.; CAMPOS-VILLANUEVA, A.; DÍAZ-CASTELAZO, C. Morphological characterization of extrafloral nectaries and associated ants in tropical vegetation of Los Tuxtlas, Mexico. **Flora**, v. 208, p. 147-156, 2013.
- APG IV - Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n.1, p. 1-20, 2016.
- APPLE, J. L.; FEENER, D. H. Ant visitation of extrafloral nectaries of *Passiflora*: the effects of nectar attributes and ant behavior on patterns in facultative ant-plant mutualisms. **Oecologia**, v. 127, p. 409-416, 2001.
- ARAÚJO, D.; ALVES, M. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Passifloraceae s.s. **Rodriguésia**, v. 64; n. 2, p. 247-254, 2013.
- BARBIERI, J; LONGHI, S. J; SCIPIONI, M. C. Sistema informatizado para manipulação eletrônica de dados de coleções científicas de plantas. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 783-785, 2007.
- BENTLEY, B. L. Plants bearing extrafloral nectarines and the associated ant community interhabitat differences in the reduction of herbivory damage. **Ecology**, v. 57, n. 4, p. 815-820, 1976.
- BENTLEY, B. L. Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 8, p. 407-427, 1977.
- BERNACCI, L. C.; VITTA, F.A.; BAKKER, Y.V. Passifloraceae. In: Wanderley M. G. L.; Shepherd, G. J.; Giulietti, A. M.; Melhem, T. S. (Eds). **Flora Fanerogâmica do estado de São Paulo**, v. 3. FAPESP/RIMA, São Paulo, 247-274, 2003. Disponível em: <https://www.infraestruturameioambiente.sp.gov.br/institutodebotanica/wpcontent/uploads/sites/235/2016/06/FFESP-Volume-III_06_24.pdf> Acesso em: 24 jul. 2019.
- BFG - The Brazil Flora Group 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.
- BORGES, K. F. **Diversidade de Passifloraceae s.s. no Espírito Santo**, 2016. 198 p. Dissertação Mestrado em Produção vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2014. Disponível em: <<http://repositorio.ufes.br/handle/10/7583>> Acesso em: 2 jul. 2019.
- BORGES, K. F.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A. Passifloraceae sensu stricto from Parque Estadual Cachoeira da Fumaça, Espírito Santo, Brazil. **Rodriguésia**, v. 68, n. 5, p. 1939-1949, 2017.
- CARDOSO, P. R. **Estruturas secretoras em órgãos vegetativos aéreos de *Passiflora alata* Curtis e *P. edulis* Sims (Passifloraceae) com ênfase na localização in situ de Compostos bioativos**. 2010. 194p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual

de Campinas, Campinas, 2010. Disponível em:

<<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/315362>>. Acesso em: 2 dez. 2019.

CARDOSO-GUSTAVSON, P.; ANDREAZZA, N. L.; SAWAYA, A. C. H. F.; CASTRO, M. D. M. Only attract ants? The versatility of petiolar extrafloral nectaries in *Passiflora*.

American Journal of Plant Sciences, v. 4, n. 2, p. 460-469, 2013.

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

CERVI, A. C. Passifloraceae. In: Rizzo, S. A (Ed.). **Flora do Estado de Goiás**. Coleção Rizzo, v. 7, 45 p, 1986.

CERVI, A. C. **Revision del genero *Passiflora* L. (Passifloraceae) del Estado de Paraná - Brasil**. 1981. 241p. Tese (Doutorado) - Universitat de Barcelona, 1981.

CERVI, A. C.; DUNAISKI JR. A. Passifloraceae do Brasil: estudo do gênero *Passiflora* L. Subgênero *Distephana* (juss.) Killip. **Revista Estudos de Biologia**, v. 26, n. 55, p. 45-67, 2004.

CERVI, A. C.; LINSIGEN, L. Sinopse taxonômica das Passifloraceae Juss. no complexo de cerrado (savana) no estado do Paraná, Brasil. **Iheringia**, Série Botânica, v. 63, n. 1, p. 145-157, 2008.

CHASE, M. W.; ZMARZTY, S.; LLEDÓ, M. D.; WURDACK, K. J.; SWENSEN, S. M.; FAY, M. F. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequences. **Kew Bulletin**, v. 57, p. 141-181, 2002.

COGNI, R.; FREITAS, A. V. L.; OLIVEIRA, P. S. Interhabitat differences in ant activity on plant foliage: ants at extrafloral nectaries of *Hibiscus pernambucensis* in sandy and mangrove forests. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 107, n. 2, p. 125-131, 2003.

COSTA, E. C. S.; NUNES, T. S.; MELO, J. I. M. Flora da Paraíba, Brasil: Passifloraceae sensu stricto. **Rodriguésia**, v. 66, n. 1, p. 271-284, 2015.

CRONQUIST, A. **An Integrated System of Classification of Flowering Plants**. Columbia University Press, New York, 1981.

CRUZ, A. P. O.; SOUSA, J. S.; BASTOS, M. N. C.; BARBOSA, C. V. O. *Passiflora* (Passifloraceae) na Província Petrolífera de Urucu Coari, Amazonas, Brasil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 1, p. 113-122, 2013.

DEGINANI, N. B. LAS ESPECIES ARGENTINAS DEL GÉNERO PASSIFLORA (PASSIFLORACEAE). **Darwiniana**, v. 39, n. 1-2, p. 43-129, 2001.

DELL'ERBA, R.; KAMINSKI, L. A.; MOREIRA, G. R. P. O estágio de ovo dos Heliconiini (Lepidoptera, Nymphalidae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**, Série Zoologia, v. 95, n. 1: 29-46, 2005.

DETTKE, G. A. **Anatomia Comparada da antera de espécies de *Passiflora* L (Passifloraceae) do Rio Grande do Sul**. 2009. 111 p. (dissertação de Mestrado),

- Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRJ, 2009. Porto Alegre. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/17477>> Acesso em: 18 nov. 2018.
- DIAS, A. C. A. **Estudos morfológicos em cinco espécies de *Polygala* L. (Polygalaceae) com ênfase nas estruturas secretoras.** 2008. 239p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- DURKEE L. T. The ultrastructure of floral and extrafloral nectaries. In: Bentley B., Elias T. (Eds), **The biology of nectaries.** Columbia University Press, New York, USA: p. 1-29, 1983.
- DURKEE, L. T. The floral and extrafloral nectarines of *Passiflora*. II. The extra-floral nectar. **American Journal of Botany**, v. 69, n. 1, p. 1420-1428, 1982.
- DURKEE, L. T.; BAIRD, C. W.; COHEN, P. F. Light and electron microscopy of the resin glands of *Passiflora foetida* (Passifloraceae). **American Journal of Botany**, v. 71, n. 4, p. 596-602, 1984.
- ELIAS T. S. Extrafloral nectaries: their structure and distribution. In: Bentley B. L., Elias T. S. (Eds), **The Biology of Nectaries.** Columbia University Press, New York, p. 174-203, 1983.
- ESCOBAR, L. K. Passifloraceae. In: Pinto, P.; Lozano, G. (Eds.) **Flora de Colombia**, Universidad Nacional de Colombia, v. 10, 138p. 1988.
- FARINAZZO, N. M.; SALIMENA, F. R. G. Passifloraceae na Reserva Biológica da Represa do Gramma, Descoberto, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 58, n. 4, p. 823-833, 2007.
- FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. Infrageneric classification of *Passiflora*. In: Abstracts of **XVI International Botanical Congress.** St. Louis, Missouri, U.S.A., p.173, 1999.
- FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. A new infrageneric classification of *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Passiflora**, v. 14, n. 1, p. 34 - 38, 2003.
- FEUILLET, C.; MACDOUGAL, J. M. Passifloraceae. In: K. Kubitzki (Ed) The families and genera of vascular plants. Vol. 9. Berlin, Springer, Pp. 270-281, 2007.
- FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 17 dez. 2019.
- FREITAS, L. B. História evolutiva das espécies de *Passiflora* L. de ocorrência no Rio Grande do Sul: aspectos genéticos, estrutura populacional e filogenia. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 1, p. 41-47, 2011.
- GONZÁLEZ, A. M. Anatomía y vascularización floral de *Piriqueta racemosa*, *Turnera hassleriana* y *T. joelli* (Turneraceae). **Bonplandia**, v. 7, n. 1-4, p. 143-184, 1993.
- GONZÁLEZ, A. M. Colleters in *Turnera* and *Piriqueta* (Turneraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 128, n. p. 215-228, 1998.
- GONZALEZ, A. M.; OCANTOS, M. N.; Nectarios extraflorales em *Piriqueta* y *Turnera* (Turneraceae). **Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica**, v. 41, n. 3-4, p. 269-284, 2006.
- HANSEN, A. K.; GILBERT, L. E.; SIMPSON, B. B.; DOWNIE, S. R.; CERVI, A. C.; JANSEN, R. K. "Phylogenetic relationships and chromosome number evolution in *Passiflora*," **Systematic Botany**, vol. 31, n. 1, p. 138-150, 2006.

- HOPKINS, M. J. G.; SOUSA, M. A. D. Passifloraceae. In: RIBEIRO, J. E. L. S. et al. Flora da Reserva Ducke. **Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central**. p. 299-306, 1999.
- IMIG, D. C. Estudo taxonômico da família Passifloraceae Juss, no Distrito Federal, Brasil. 2013, 102p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1884/31900>> Acesso em 24 mar. 2019.
- IMIG, D. C.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; CERVI, A. C. Passifloraceae sensu stricto de Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 69, n. 4, p. 1701-1735, 2018.
- JÁUREGUI, D.; GARCÍA, M.; PÉREZ, D. Morfoanatomía de las glándulas em cuatro especies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) de Venezuela. **Caldasia**, v. 24, n. 1, p. 33-40, 2002.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL C. S.; KELLONG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics: A phylogenetic Approach**. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts, USA, 1999.
- KILLIP, E.P. **The American species of Passifloraceae**. Publications of the Field Museum of Natural History Botanical, Chicago, v. 19, n.1-2, p. 1-613, 1938.
- KOCH, A. K.; CARDOSO, A. L. R.; ILKIU-BORGES, A. L. Novelties in Passifloraceae from the Brazilian Amazon. **Check List**, v. 10, n. 2, p. 453-456, 2014.
- KOCH, A. K.; ILKIU-BORGES, A. L. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Passifloraceae. **Rodriguésia**, v. 67, n. 5, p. 1431-1436, 2016.
- KROSNICK, S. E.; FORD, A. J.; FREUDENSTEIN, J. V. Taxonomic revision of *Passiflora* subgenus *Tetrapathea* including the monotypic genera *Hollrungia* and *Tetrapathea* (Passifloraceae), and a new species of *Passiflora*. **Systematic Botany**, v. 34, n. 2, p. 375-385, 2009.
- LABEYRIE, E. L.; PASCAL, L.; DELABIE, J.; ORIVEL, J.; DEJEAN, A.; HOSSAERT-MCKEY, M. Protection of *Passiflora glandulosa* (Passifloraceae) against herbivory: impact of ants exploiting extrafloral nectaries. **Sociobiology**, v. 38, n. 3, p. 317-321, 2001.
- LANZA, J. Ant preferences for *Passiflora* nectar mimics that contain amino acids. **Biotropica**, v. 20, p. 341-344, 1988.
- LEAL, I. R.; FISCHER, K.; CHRISTIAN, M.; TABARELLI, K; WIRTH, R. Ant protection against herbivores and nectar thieves in *Passiflora coccinea* flowers. **Ecoscience**, v. 13, n. 4, p. 431-448, 2006.
- LEMOS, R. C. C.; COSTA, S. D.; MELO-DE-PINNA, F. A. G. A structural review of foliar glands in *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plos One**, v. 12, n. 11, 2017.
- LOPES, S. C. Citogenética do Maracujá, *Passiflora* spp. In: SÃO JOSÉ, A. R.; FERREIRA, F. R.; VAZ, R. L. (Eds.) **A cultura do Maracujá no Brasil**. Jaboticabal: FUNEP. p. 201-209, 1991.
- MACDOUGAL, J. C. Revision of subgenus *Decaloba*, section *Pseudodysosmia* (Passifloraceae). **Systematic Botany Monographs**, v. 41, p. 1-146, 1994.
- MÄDER, G.; LORENZ-LEMKE, A. P.; CERVI, A. C.; FREITAS, L. B. Novas ocorrências e distribuição do gênero *Passiflora* L. no Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, p. 364-367, 2009.

- MCLAIN, K. Ants, extrafloral nectaries and herbivory on the passion vine, *Passiflora incarnata*. **The American Midland Naturalist**, v. 10, n. 2, p. 433-439, 1983.
- MEGA, N. O; ARAÚJO, A. M. Do caterpillars of *Dryas iulia alcionea* (Lepidoptera, Nymphalidae) show evidence of adaptive behaviour to avoid predation by ants? **Journal of Natural History**, v. 42, n 1-2, 129-137, 2008.
- MEZZONATO-PIRES, A. C.; MENDONÇA, C. B. F.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; GONÇALVES-ESTEVEES, V. Distribution extensions for species of the *Passiflora* subgenus *Astrophea* (DC.) Masters from Brazil (Passifloraceae s.s.). **Check List**, v. 13, n. 5, p. 467-473, 2017.
- MEZZONATO-PIRES, A. C.; SALIMENA, F. R. G.; BERNACCI, L. C. Passifloraceae na Serra Negra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 64, n. 1, p. 123-136, 2013.
- MILWARD-DE-AZEVEDO M. A.; VALENTE, M. C. Passifloraceae da Mata de Encosta do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e arredores, Rj. **Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro**, v. 62, n. 4, p. 367-374, 2004.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A. In: BAUMGRATZ, J. F. A, et al. **Catálogo das espécies de plantas vasculares e briófitas do Estado do Rio de Janeiro**, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <<http://florariojaneiro.jbrj.gov.br>>. Acesso em: 18 dez. 2014.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A. New records of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae). **Check List**, v. 15, n. 1, p. 149-159, 2019.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A. Passifloraceae do Parque Estadual de Ibitipoca, Minas Gerais. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 25, n. 1, p. 71-79, 2007.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BAUMGRATZ, J. F. A.; Gonçalves-Esteves, V. A taxonomy revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae) in Brazil. **Phytotaxa**, v. 53, p. 1-68, 2012.
- MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; BAUMGRATZ, J. F. A. *Passiflora* l. Subgenero *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae) na Região Sudeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 55, n. 85, 2004.
- MONDIN, C. A.; CERVI, A. C.; MOREIRA, G. R. P. Sinopse das espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 1, p. 3 - 27, 2011.
- MUSCHNER, V. C. **Filogenia molecular, taxas evolutivas, tempo de divergência e herança organelar em *Passiflora* L. (Passifloraceae)**. 2005. 162 p. (Tese de Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/6772>> Acesso em: 26 dez. 2019.
- MUSCHNER, V. C; LORENZ, A. P.; CERVI A. C; BONATRO S. L., SOUSA-CHIES, T. T; SALZANO F. M.; FREITAS, L. B. A first molecular phylogenetic analysis of *Passiflora* (Passifloraceae), **American Journal of Botany**, v. 90, n. 8, p. 1229-1238, 2003.
- NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. A família Passifloraceae na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Sitientibus**, Série Ciências Biológicas, Feira de Santana, v. 1, n. 1, p. 33-46, 2001.

- NUNES, T. S.; QUEIROZ, L. P. Flora da Bahia: Passifloraceae. **Sitientibus**, Série Ciências Biológicas, v. 6, n. 3, p. 194-226, 2006.
- PAIVA, E. A. S.; MACHADO, S. R. Ontogênese, anatomia e ultraestrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae-Caesalpinioideae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 471-482, 2006.
- POSSOBOM, C. C. F.; GUIMARÃES, E.; MACHADO, S. R. Leaf glands act as nectaries in *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae). **Plant Biology**, v. 12, p. 863-870, 2010.
- PIRES, M. S.; CALIXTO, E. S.; OLIVEIRA, D. C.; DEL-CLARO, K. A new extrafloral nectary-bearing plant species in the Brazilian savanna and its associated ant community: nectary structure, nectar production and ecological interactions. **Sociobiology**, v. 64, n. 3, p. 228-236.
- ROCHA, D. I.; SILVA, L. C.; VALENTE, V. M. M.; FRANCINO, D. M. T.; MEIRA, R. M. S. A. Morphoanatomy and development of leaf secretory structures in *Passiflora amethystina* Mikn (Passifloraceae), **Australian Journal of Botany**, v. 57, n. 7, p. 619-626, 2009.
- ROTH, I. Desarrollo de los nectarios extraflorales en *Passiflora foetida* L. **Acta Biológica Venezolana**, v. 6, 44-49, 1968.
- ROTH, I. Morfologia, anatomia y desarrollo de la hoja pinnada y de las glândulas laminales en *passiflora* (Passifloraceae). **Acta Botánica Venezolana**, v. 9, n. 1-4, p. 363-380, 1974.
- SACCO, J. C. Passifloráceas. In: Reitz, R. (ed.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, 130p, 1980.
- SMILEY, J. Ant constancy at *Passiflora* extrafloral nectaries: effects on Caterpillar survivor. **Ecology**, v. 67, n. 2, p. 516-521, 1986.
- SILVA, D. S.; DELL'ERBA, R.; KAMINSKI, L. A.; MOREIRA, G. R. P. Morfologia externa dos estágios imaturos de heliconíneos neotrópicos: V. *Agraulis vanillae maculosa* (Lepidoptera, Nymphalidae, Heliconiinae). **Iheringia, Série Zoologia**, v. 96, n. 2, p. 219-228, 2006.
- SILVA, E. O.; GUARÇONI, E. A. E.; FERREIRA, A. W. C.; OLIVEIRA, M. S.; OLIVEIRA Jr, C. N. First record of *Passiflora pedata* L. (Passifloraceae) from Maranhão state, northeastern Brazil, **Check List**, v. 12, n. 5, p. 1-4, 2016a.
- SILVA, E. O.; FEIO, A. C.; CARDOSO-GUSTAVSON, P. MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; SANTOS, J. U. M.; DIAS, A. C. A. A. Extrafloral nectaries and plant-insect interactions in *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 40, n. 1, p. 331-340, 2016b.
- SILVA, E. O.; MILWARD-DE-AZEVEDO, M. A.; SÁ, N.A.S.; SOUSA, D. A.; CONCEIÇÃO, G. M. New records of *Passiflora* L. (Passifloraceae) species from Maranhão state and northeastern Brazil. **Check List**, v. 14, n. 2, p. 347-352, 2018.
- SILVA, E. O.; SANTOS, J. U. M.; DIAS, A. C. A. A. Passifloraceae na área de proteção ambiental de Belém, PA, Brasil, **Rodriguésia**, v. 64, n. 4, p. 829-845, 2013.
- SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. Clarendon Press, Oxford, 1908.

THOMAS, V. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. **Annals of Botany**, v. 68, n. 4, p. 287-305, 1991.

THULIN, M.; RAZAFIMANDIMBISON, S. G.; CHAFE, P.; HEIDARI, N.; KOOL, A.; SHORE, J. S. Phylogeny of the Turneraceae clade (Passifloraceae s.l.): Trans-Atlantic disjunctions and two new genera in Africa. **Taxon**, v. 61, n. 2, p. 308-323, 2012.

TOKUOKA, T. Molecular phylogenetic analysis of Violaceae (Malpighiales) based on plastid and nuclear DNA sequences. **Journal of Plant Research**, v. 121, p. 253-260, 2008.

TOKUOKA, T. Molecular phylogenetic analysis of Passifloraceae sensu lato (Malpighiales) based on plastid and nuclear DNA sequences. **Journal of Plant Research**, v. 125, n. 4, p. 489-497, 2012.

ULMER, T.; MACDOUGAL, J. M. **Passiflora: Passionflowers of the world**. Timber Press, Cambridge, 2004.

VITTA, F. A.; PIRANI, J. R. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Passifloraceae. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 33, p. 29-38, 2015.

WACKERS F. L.; BONIFAY, C. How to be sweet? extrafloral nectar allocation by *gossypium hirsutum* fits optimal defense theory predictions. **Ecology**, v. 85, n. 6, p. 1512-1518, 2004.

YOCKTENG, R.; NADOT, S. Phylogenetic relationships among *Passiflora* species based on the glutamine synthetase nuclear gene expressed in chloroplast (ncpGS). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 31, n. 1, p. 379-396, 2004.

ZAMBERLAN, P. M. **Filogenia de *Passiflora* L. (Passifloraceae): questões infra-subgenéricas**. 2007. 105 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/13704/000626430.pdf?sequence=1>> Acesso em: 18 nov. 2018.

APÊNDICE A - Glândulas nos órgãos vegetativos das espécies de Passifloraceae *s.l.* (continua).

Tipo de glândula	Posição da glândula	Táxon	Referência
Glândula de resina	estípula, pecíolo	<i>Passiflora foetida</i> L.	Durkee, Baird e Cohen (1984)
Coléter	folha	<i>Malesherbia</i> Ruíz & Pavón <i>Passiflora</i> L. <i>Streptopetalum</i> Hochst	Thomas (1991)
	estípula, base foliar	<i>Piriqueta</i> Aubl. <i>Turnera</i> L.	Gonzalez (1993, 1998)
Pelos glandulares emaranhados	folha	<i>Malesherbia</i> Ruíz & Pavón <i>Passiflora</i> L. <i>Streptopetalum</i> Hochst.	Solereder (1908)
Nectário extrafloral	folha	<i>Passiflora cuneata</i> Willd.	Roth (1974)
	pecíolo	<i>P. kahlbreyeri</i> Mast. <i>P. suberosa</i> L.	
	limbo	<i>P. platyloba</i> Killip	Bentley (1977)
	limbo	<i>P. tuberosa</i> Jacq.	Jáuregui, García e Pérez (2002)
	pecíolo	<i>P. oerstedii</i> Mast. <i>P. suberosa</i> L.	
	pecíolo	<i>P. biflora</i> Lam. <i>P. helleri</i> Peyr. <i>P. ligularis</i> Juss. <i>P. quadrangularis</i> L. <i>P. seemannii</i> Griseb <i>P. warmingii</i> Mast.	Durkee (1982)
	pecíolo	<i>P. incarnata</i> L.	Elias (1983)
pecíolo, margem	<i>P. caerulea</i> L.	Durkee (1983)	
	<i>Piriqueta capensis</i> (Harvey) Urban <i>P. sidifolia</i> (Camb.) Urban var. <i>sidifolia</i> <i>P. suborbicularis</i> (St Hil. & Naud.) Arbo <i>P. taubatensis</i> (Urban) Arbo <i>Turnera annularis</i> Urban <i>T. aromatica</i> Arbo <i>T. aurantiaca</i> Bentham	Gonzalez e Ocantos (2006)	

APÊNDICE A - Glândulas nos órgãos vegetativos das espécies de Passifloraceae s.l. (continua)

Nectário extrafloral	pecíolo e limbo	<i>T. bahiensis</i> Urban <i>T. blanchetiana</i> Urban var. <i>blanchetiana</i> <i>T. brasiliensis</i> Willd. ex Schultes <i>T. capitata</i> Camb <i>T. cearensis</i> Urban <i>T. kuhlmanniana</i> Arbo <i>T. luetzelburgii</i> Sleumer <i>T. maracasana</i> Arbo <i>T. panamensis</i> Urban <i>T. rubrobracteata</i> Arbo <i>T. sancta</i> Arbo <i>T. stipularis</i> Urban	Gonzalez e Ocantos (2006)
	limbo e margin	<i>P. amethystina</i> Mikan	Rocha et al., (2009)
	pecíolo	<i>P. alata</i> Curtis <i>P. edulis</i> Sims	Cardoso-Gustavson et al. (2013)
	pecíolo	<i>P. acuminata</i> DC. <i>P. nitida</i> Kunth <i>P. tholozanii</i> Sacco	Silva et al. (2016b)
	pecíolo e limbo	<i>P. glandulosa</i> Cav.	
	limbo	<i>P. vespertilio</i> L.	
	pecíolo e margem	<i>P. elegans</i> Mast. <i>P. eichleriana</i> Mast. <i>P. haematostigma</i> Mart. ex Mast. <i>P. edmundoi</i> Sacco <i>P. galbana</i> Mast. <i>P. incarnata</i> L. <i>P. kermesina</i> Link & Otto <i>P. miersii</i> Mart. <i>P. odontophylla</i> Harms ex Glaz <i>P. serratodigitata</i> L. <i>P. sidifolia</i> M. Roem. <i>P. subrotunda</i> Mast. <i>P. watsoniana</i> Mast.	Lemos, Silva e Melo-de-Pinna (2017)
	pecíolo e margem	<i>P. ferruginea</i> Mast. <i>P. contracta</i> Vitta <i>P. coccinea</i> Aubl.	
	pecíolo e limbo	<i>P. misera</i> Kunth <i>P. organensis</i> Gardner	
	limbo		

APÊNDICE A - Glândulas nos órgãos vegetativos das espécies de Passifloraceae s.l. (conclusão)

Nectário extrafloral	pecíolo	<i>P. morifolia</i> Mast. <i>P. suberosa</i> L. <i>P. deidamioides</i> Harms <i>P. actinia</i> Hook <i>P. ambigua</i> Hemsl <i>P. laurifolia</i> L. <i>P. ligularis</i> Juss. <i>P. maliformis</i> L. <i>P. racemosa</i> Brot. <i>P. setacea</i> DC.	Lemos, Silva e Melo-de-Pinna (2017)
	pecíolo e limbo	<i>P. arida</i> (Mast. & Rose) Killip <i>P. foetida</i> L. <i>P. sub lanceolata</i> (Killip) MacDougal <i>P. villosa</i> Vell.	
	margem	<i>P. gardneri</i> Mast. <i>P. umbilicata</i> (Griseb.) Harms	

ARTIGO 1

**Redescobertas e novos registros de *Passiflora auriculata* Kunth e *P. cispnana* Harms
(PASSIFLORACEAE) no Brasil**

Artigo publicado na Revista Check List

<https://checklist.pensoft.net/article/46654/>

Rediscovery and new records of *Passiflora auriculata* Kunth and *P. cisanana* Harms (Passifloraceae) in Brazil

Eduardo Oliveira Silva¹, Michaele Alvim Milward-de-Azevedo², Alessandro Wagner Coelho Ferreira³, Marcos Eduardo Guerra Sobral⁴

1 Federal University of Maranhão, Coordination of Natural Sciences, Codó Campus, Av. Dr. José Anselmo, 2008, São Benedito, CEP 65.400-000, Codó, MA, Brazil. Doctoral student at the Program in Applied Botany, Federal University of Lavras, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brazil. **2** Federal Rural University of Rio de Janeiro, Três Rios Institute, Department of Environmental Sciences, Av. Prefeito Alberto da Silva Lavinhas, 1847, Centro, CEP 25.802-100, Três Rios, RJ, Brazil. **3** Federal University of Maranhão, Department of Biology, Cidade Universitária Dom Delgado, Av. dos Portugueses, 1966, Bacanga, 65.080-805, São Luís, MA, Brazil. **4** Federal University of São João del-Rei, Praça Frei Orlando, 170, Centro, CEP 36307-352, São João del-Rei, MG, Brazil.

Corresponding author: Eduardo Oliveira Silva, silva.eduardo@ufma.br

Abstract

We present here the rediscovery of *Passiflora auriculata* Kunth and *P. cisanana* Harms in Maranhão state, northeastern Brazil, and new reports of occurrence of those species in Alagoas state, northeastern Brazil, and Tocantins state, northern Brazil. We provide taxonomic information, distribution maps, and conservation status of both species, thereby contributing to increasing knowledge on Passifloraceae in those states.

Keywords

Conservation status, distribution, new occurrences, taxonomy.

Academic editor: Rosa Del C. Ortiz | Received 17 September 2019 | Accepted 23 March 2020 | Published 10 April 2020

Citation: Silva EO, Milward-de-Azevedo MA, Ferreira AWC, Sobral MEG (2020) Rediscovery and new records of *Passiflora auriculata* Kunth and *P. cisanana* Harms (Passifloraceae) in Brazil. Check List 16 (2): 441–449. <https://doi.org/10.15560/16.2.441>

Introduction

Passifloraceae *s.l.*, which is currently formed by Passifloraceae, Turneraceae, and Malesherbiaceae, is the most recent classification of the group in a phylogenetic context. This classification is accepted by most researchers since in it the family is clearly monophyletic, as revealed by combined data from DNAr markers and sequences (APG IV 2016; Tokuoka 2012). The families in this clade share several morphological characters such as corona filaments, gynophore, and seed aril (Thulin et al. 2012; Tokuoka 2012).

Passifloraceae *s.s.* is mostly formed by herbaceous or woody vines with tendrils, with only few representatives

being trees or shrubs (Killip 1938). The family is composed of roughly 17 genera, which are distributed across all tropical and subtropical regions of the New and Old Worlds (Feuillet and MacDougal 2007). *Passiflora* L. is not only the largest genus in Passifloraceae *s.s.*, having approximately 570 described species with pantropical distribution (Ulmer and MacDougal 2004; Milward-de-Azevedo 2019; The Plant List 2020), but it is also the most diverse genus of the Americas (Boza et al. 2018). Approximately 150 *Passiflora* species are known to occur in Brazil, especially in the states of Amazonas, Minas Gerais, and Pará, which are the most representative ones in terms of number of species (BFG 2015; Imig et al. 2018; Lista da Flora do Brasil 2020).

Passiflora auriculata Kunth and *P. cissana* Harms are both representatives of *Passiflora* subg. *Decaloba* (DC.) Rchb., the second largest subgenus in *Passiflora*, encompassing about 250 species that include herbaceous vines and lianas with high morphological, biogeographical, and ecological diversity (Boza et al. 2018). Brazilian species in this subgenus have linear-subulate stipules, presence or absence of ocelli on the leaf blade, small flowers (<4 cm in diameter), corona filaments with either one- or two-series, and plicate operculum (Milward-de-Azevedo et al. 2012).

We present here the rediscovery of two species of *P.* subg. *Decaloba* in Maranhão state, northeastern Brazil, and new reports of occurrence of those species in Alagoas state, northeastern Brazil, and Tocantins state, northern Brazil. We also provide descriptions, photographs, conservation status, and comments on the geographic distribution of both species.

Methods

Passiflora auriculata and *P. cissana* were collected during the execution of project Flora do Maranhão during the year of 2016. Both species were found in field expeditions conducted at Mirador State Park (southern Maranhão state), yet only *P. auriculata* was found in expeditions at Jalapão State Park (Tocantins state) in April of 2019. *Passiflora cissana* was reported to Alagoas state based on photographs of voucher specimens deposited in the UFP herbarium at Federal University of Pernambuco. Specimens were collected following usual procedures in plant taxonomy (Fidalgo and Bononi 1989), and were then deposited in the herbarium at the Federal University of Maranhão, Codó Campus, and in the RBR herbarium at Federal Rural University of Rio de Janeiro. Species were identified using identification keys and specialized literature (Killip 1938; Milward-de-Azevedo et al. 2012; Boza et al. 2018; Milward-de-Azevedo 2019).

The known occurrence points and species distribution were based on: published material (Milward-de-Azevedo et al. 2012; Boza et al. 2018; Milward-de-Azevedo 2019); information obtained from labels of photographed voucher specimens, available at the speciesLink database (<http://splink.cria.org.br>) and Brazilian Flora Database–Jabot (<http://jabot.jbrj.gov.br/v2/consulta.php>); photos provided by the UFP and UPGB herbaria; and collections of *Passiflora* consulted in the herbarium MG.

Species distribution maps were obtained using software QGIS 2.18 Las Palmas. We carried out a regional assessment of the conservation status of both *Passiflora auriculata* and *P. cissana*, with focus in Brazil. For this assessment, the area of occupancy (AOO) and extent of occurrence (EOO) were calculated using the Geospatial Conservation Assessment Tool (GeoCAT; <http://geocat.kew.org>). The AOO was based on a defined cell width of 2 km. To estimate the geographical distribution of *P. auriculata* and *P. cissana* in Brazil and to verify the approximation of the reference values of AOO and EOO, we used

geographical occurrences present in the online database speciesLink (2019). We included the two new geographical occurrences of *P. auriculata* for a total of 162 and the three new ones of *P. cissana* for a total of 54 occurrences. The regional risk assessments followed the IUCN Red List Categories and Criteria (2012) in conjunction with the Guidelines for Application of the IUCN Red List Criteria at Regional and National Levels, version 4(2010).

Results

***Passiflora auriculata* Kunth**, Nov. Gen. Sp. 2: 131. 1817

Figure 1A–E

New records. Brazil: Maranhão: Mirador, Mirador State Park (06°31'24"S, 045°28'43"W), 07.II.2016, E.O.Silva and A.W.C. Ferreira 27 (UFMA). Tocantins: Mateiros, Jalapão State Park, Velha Waterfall (10°16'12"S, 046°52'53"W), 21-IV-2019, M. Milward-de-Azevedo 563 (RBR).

Additional examined material: Amazonas: Cucui, alto Rio Negro, 4.V.1975, P. Cavalcante 3108 (MG). Acre: Cruzeiro do Sul, 9-II-1976, O. P. Monteiro and C. Damião 234 (MG). Pará: IPEAN, Mocambo Reserve (01°26'26"S, 048°24'40"W), 10-V-1968, J. M. Pires and N. T. Silva 11698 (IAN); Goianésia do Pará, 10-IV-2003, L.C.B. Lobato and O.C. Nascimento 2993 (MG).

Description. Climbing vine. Stem subterete, striate, green, pubescent. Tendrils simple, well-developed. Stipules 0.5–0.8 cm long, linear-subulate. Petioles 1.3–5 cm long, with one pair of auriculate glands at the lower half. Leaves unlobed (rarely) to slightly 3-lobed, distance between lobes 8 cm, lateral lobes 2.5–9 cm long, midrib 2.5–8 cm long, lobes forming at the leaf upper third, apex acute, base obtuse or rounded, margin entire, ocelli present on the abaxial surface. Flowers with corona biseriate with filiform filaments, ovary ellipsoid, tomentose. Fruit 1–1.5 × 1–2 cm, globose, tomentose. Seeds ca 3.5 × 2.5 mm, obovate, with five to seven transverse grooves.

***Passiflora cissana* Harms**, Bot. Jahrb. Syst. 18 (Beibl. 46): 5. 1894

Figure 2A–C

New records. Maranhão: Formosa da Serra Negra: entrance of the Mirador State Park (06°43'13"S, 045°53'55"W), 06-II-2016, E.O. Silva and A.W.C. Ferreira 26 (UFMA). Alagoas: Grande-Varjão Mountain Range, Coimbra Forest, Coimbra, 13-III-2007, L. Coe and O. Cruz 01 (UFP); Ibateguara: Varjão-Coimbra Grotto (08°58'21.0"S, 035°56'21.8"W), 18-III-2002, M. Oliveira 824 (UFP).

Additional examined material. Minas Gerais: Bandeiras (15°49'30.8"S, 040°31'20.8"W), 30-I-2004, W.W. Thomas et al. 13689 (NY). Rio de Janeiro: Rio de Janeiro (22°54'S, 043°12'W), J.F. Widgren 117 (S, UPS). Pará: Altamira: Cachimbo Mountain Range, XII-2005, M. Sobral & A.G. Oliveira 10.825 (UPCB).



Figure 1. *Passiflora auriculata*. **A.** Leaf slightly 3-lobed. **B.** Leaf simple. **C.** Ocelli on abaxial surface. **D.** Petiole with one pair of auriculate glands. **E.** Seeds with transversal grooves. Scale bar = 1 mm. Photographs by EO Silva.

Description. Climbing vine. Stem subangular, slightly pubescent. Tendrils simple, well-developed. Stipules 0.3–0.5 cm long, linear-subulate to falcate. Petioles 0.8–3 cm long, glands absent. Leaves two-lobed, distance between lobes 4–13 cm, lateral lobes 3–10 cm long, midrib 2–6 cm long, apex of lateral lobes acuminate, central lobe, when present with apex obtuse, base cordate, margin entire, ocelli absent. Flowers not observed. Fruit 1–2.5 × 0.5–1.4 cm, subglobose to ellipsoid or obovoid, hirsute, reddish. Seeds ca 2.5 × 1.7 mm, obovate, with or without distinct projection, with five or six transverse grooves.

Key to *Passiflora auriculata*, *P. cisanana*, and species allied to *P. cisanana*

(Modified from Milward-de-Azevedo et al. 2012; Boza et al. 2018)

- 1. Petioles with glands, ocelli present *P. auriculata*
- 1'. Petioles without glands; ocelli absent2

- 2. Corona uniseriate, filaments liguliform*P. cervii*
- 2'. Corona 1-2-seriate, filaments filiform3
- 3. Corona length between sepals and petals or as long as the petals..... *P. rubra*
- 3'. Corona shorter than petals or in between sepals and petals4
- 4. Fruit fusiform, seeds with a large projection *P. capsularis*
- 4'. Fruit subglobose to obovoid, seeds with or without distinct projection..... *P. cisanana*

Discussion

A particular feature in *Passiflora auriculata* is having its leaves ranging from entire to slightly three-lobed, and such variation is commonly found in a same individual (Killip 1938; Milward-de-Azevedo et al. 2012; Silva et al. 2013; Milward-de-Azevedo 2019).

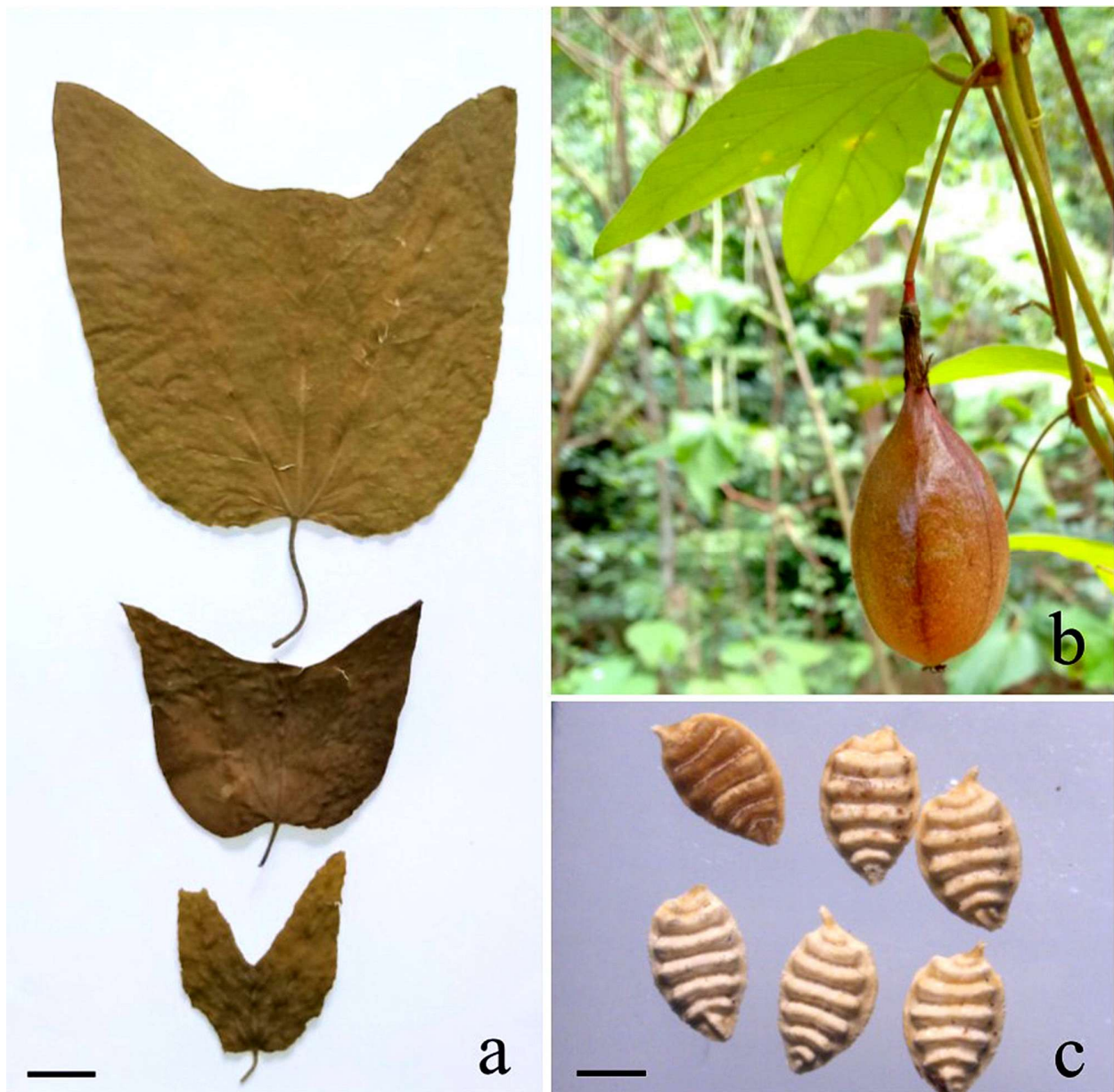


Figure 2. *Passiflora cisanana* A. Leaves: morphological variations. B. Fruit C. Seeds. Scale bar = 1 cm (A), 1 mm (C). Photographs by EO Silva.

Passiflora auriculata occurs in Bolivia, Brazil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, French Guiana, Guyana, Nicaragua, Panama, Peru, Suriname, Trinidad, and Venezuela. In Brazil, the species occurs in the states of Acre, Amapá, Amazonas, Espírito Santo, Maranhão, Mato Grosso, Minas Gerais, Pará, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rondônia, and Roraima (Fig. 3). Having neotropical distribution, *P. auriculata* occurs from the Andean forests, mountain ranges covered by tropical forests, and lowland forests to the typical savanna vegetation (Milward-de-Azevedo 2019).

The material collected of *P. auriculata* (E.O. Silva & A.W.C. Ferreira 27 (UFMA)) represents a rediscovery of the species, as it takes place eight decades after the first collection was made in the state (R. Froés, n. 11741, 1939) (Fig. 4), but only recently reported by Milward-de-Azevedo (2019). The rediscovery in our study (Fig. 1) also represents an expansion of the species distribution

area to approximately 480 km south of the nearest known collection site in the state. Additionally, we report here, for the first time, the species occurrence in Tocantins state (M. Milward-de-Azevedo 563 (RBR)), thereby also expanding the species distribution area in the Brazilian northern region (Fig. 3).

The estimated EOO of the species in Brazilian territory is 7,527,550 km², while its estimated AOO is 336 km². Adopting the random-walk method (Filgueiras et al. 1994) at Mirador State Park (southern Maranhão state), we found, only once, few individuals of *P. auriculata*, sparsely distributed in the interior of a Cerrado forest, near roads, plantations, and sites susceptible to deforestation as well to other anthropic actions. As indicated above, *P. auriculata* has a very wide distribution, with high EOO but a small AOO, hence meets the criteria for being Endangered. However, the taxon is relatively common outside Brazil and has a broad global distribution,

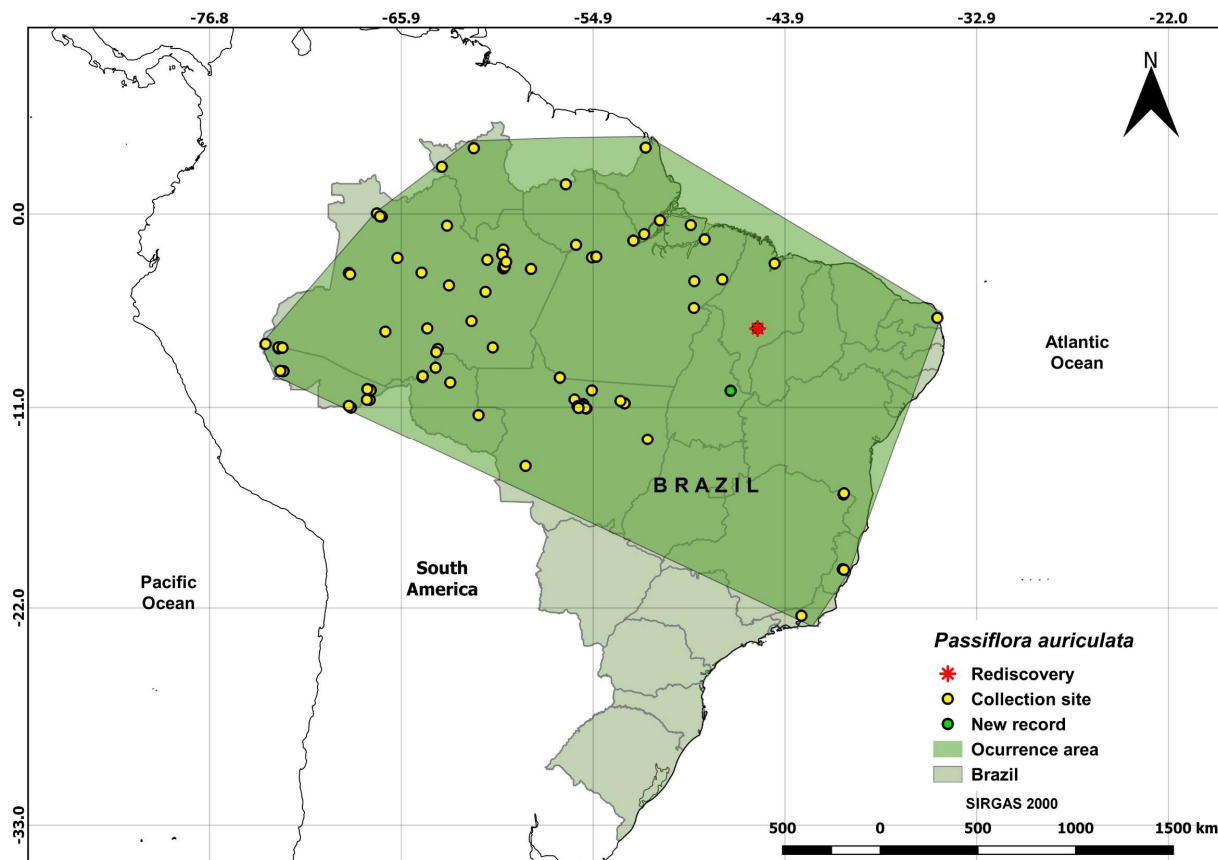


Figure 3. Geographic distribution of *Passiflora auriculata* in Brazilian territory.

thus it is assumed that subpopulations reinforce each other by possible interactions with populations outside that region, and consequently increase the long-term survival of the species (Gärdenfors et al. 2001). Therefore, following the criteria established by the International Union for Conservation of Nature (IUCN 2012) and the recommendations by the IUCN Red List Criteria at Regional and National Levels (2010), *P. auriculata* can be considered at the category of Least Concern (LC).

Passiflora cispnana is notable because the leaves of this species lack ocelli. Another feature is the densely hirsute fruit with reddish color (Killip 1938; Milward-de-Azevedo et al. 2012). *Passiflora cispnana* might be mistaken for *P. capsularis* L., *P. cervi* Milward-de-Azevedo and *P. rubra* L., yet it differs from them in the following morphological features: ovary ellipsoid to obovoid, densely hirsute; fruit subglobose, ellipsoid or obovoid with base abruptly attenuated, the seeds either with no distinct projection or, when present, smaller than 0.4 mm (Boza et al. 2018). *Passiflora cispnana* also differs from the other three species in its geographic distribution.

Passiflora cispnana occurs in Brazil, Bolivia, Colombia, Ecuador, French Guiana, Guyana, Peru, and Venezuela. In Brazil, *P. cispnana* occurs in the states of Bahia, Ceará, Maranhão, Pará, Pernambuco, and Tocantins (Fig. 5). The species is found in ombrophilous forests, savannas, vegetation under influence of marine environments, upper-montane forests, near rivers and waterfalls,

roadsides, and in Restinga vegetation (Milward-de-Azevedo et al. 2012).

In this study, we present the second report of occurrence of the species in Maranhão state (E.O. Silva & A.W.C. Ferreira 26 (UFMA)). Such report constitutes a rediscovery of *P. cispnana*, as it takes place four decades after the first collection of the species was made in the state (Fig. 6). The present report also represents an expansion of the species distribution area to approximately 328 km south of the nearest known collection site. Additionally, our report expands the species distribution area in the Brazilian northeastern region, as we confirm here the species occurrence in Alagoas state (Fig. 5).

Boza et al. (2018) conducted a principal component analysis on the *P. rubra* L. species complex and recognized two species: *P. cispnana*, distributed across South America, and *P. rubra* L., distributed in Caribbean islands.

Boza et al. (2018) reported the occurrence of *P. cispnana* in the Brazilian states of Minas Gerais and Rio de Janeiro (southeastern Brazil). The species occurs in the north and northeastern regions of the country, and the specimens based on which these reports were made (i.e. from Minas Gerais: W.W. Thomas et al. 13689 (NY) and from Rio de Janeiro: J.F. Widgren 117 (S, UPS) are identified here as *P. cervii* Milward-de-Azevedo and *P. capsularis* L., respectively. Boza et al. (2018) also reported the occurrence of *P. cervii* Milward-de-Azevedo in the



Figure 4. Herborized specimen of *Passiflora auriculata*.



Figure 5. Geographic distribution of *Passiflora cispnana* in Brazilian territory.

Carajás Mountain Range in Pará state, northern Brazil; however, here we identify that material as *P. cispnana*. Furthermore, the geographic distribution of *P. cervii* is restricted to the Brazilian south and southeastern regions. Milward-de-Azevedo et al. (2012) added Pará state to the species map of occurrence, but the authors failed to include such information on the description of the species distribution and examined material (Pará, Altamira, Cachimbo Mountain Range, 12/2005, M. Sobral 10.825 (UPCB)).

During field trips taken at Mirador State Park (southern Maranhão state), we found several populations of the species, with fertile individuals, always occurring alongside roads at the edges of dense forest formations. The species estimated EOO and AOO are 1,543,378 km² and 112 km², respectively. Similar to the previous species, *P. cispnana* has broad global distribution, although having a quite low estimated AOO (<500 km²; IUCN 2012) in Brazilian territory. The regional population of *P. cispnana* within the polygonal region formed by EOO (Fig. 5) is separated by large distances from occurrences related to neighboring countries, where the species also generally occurs, but does not appear to be isolated from these other populations in South America, where the species is registered. Although there is no direct evidence about contact with these neighboring populations, this is a widespread species in the American continent, and is likely that, as suggested by Gärdenfors et al. (2001), the immigration from outside the region will tend to reduce

the risk of regional extinction. Therefore *P. cispnana* is here assessed as of Least Concern (LC).

Currently, 23 Passifloraceae species are reported to occur in Maranhão state, 11 occurring in Tocantins, and 14 in Alagoas (Flora do Brasil 2020). These numbers may be considered low in view of the ones reported for other Brazilian states that include in their territories phytogeographic domains such as the Amazon and the Atlantic Forest. At Maranhão state, new records of *Passiflora* species have been reported, namely: *Passiflora pedata* L. (Silva et al. 2016); *P. mansoi* (Mart.) Mast. (Mezzonato-Pires et al. 2017); *P. cincinnata* Mast., *P. picturata* Ker Gawl., *P. vespertilio* L. (Silva et al. 2018); and *P. auriculata* (Milward-de-Azevedo 2019). This increase in the list of species for the state of Maranhão may be justified by the recent explorations to the various diverse habitats that characterizes the state, such as the transition area between the Amazonian and the semi-arid climate, which houses a diversity of environments (cerrados, formations of babassu-palm, and dense forests) (Silva et al., 2018). With this study, we contributed to increase the knowledge on *Passiflora* species from Maranhão state, with two new rediscoveries therein, and to expand the number of occurrences of *Passiflora* species in Alagoas and Tocantins, for a total of 15 and 12 species reported to those states, respectively. However, further floristic surveys remain necessary in states from the Amazon and Atlantic Forest domains, such as Tocantins and Alagoas.



Figure 6. Herborized specimen of *Passiflora cissana*.

Acknowledgements

We thank FAPEMA for funding, through Edital Universal no. 009033/2015; the UFMA (Codó Campus) for providing us with transportation and a driver for the trip to Mirador State Park; to the Program in Applied Botany at UFPA, for providing training and infrastructure in doctoral studies; NYBG and RB herbaria for providing digital material of their collections; and UFP and UPCH herbaria for sending us photographs of exsiccates from their collections.

Author contributions

EOS, AWCF, MAMDA collected the specimens; EOS, MAMDA, identified the specimens, revised herbarium collections and wrote the text; AWCF, MEGS revised the text; MEGS guided the first author's doctorate.

References

- APG IV (Angiosperm Phylogeny Group 2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181 (1):1–20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- BFG (The Brazil Flora Group 2015) Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66 (4): 1085–1113. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201566411>
- Boza ETE, Jørgensen PM, MacDougal JM (2018) A taxonomic revision of *Passiflora* sect. *Xerogona* (Passifloraceae) using principal component analysis. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 103: 258–313.
- Feuillet C, MacDougal JM (2007) Passifloraceae. In: Kubitzki K (Ed.) *The families and genera of vascular plants*. Volume 9. Springer, Berlin, 270–281.
- Flora do Brasil (2020) Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Accessed on: 2019-9-17.
- Fidalgo O, Bononi, VLR (1989) Técnicas de coleta, preservação de material botânico. Série Documentos. Instituto de Botânica, São Paulo, 62 pp.
- Filgueiras TS, Nogueira PE, Brochado AL, Guala GF (1994) Caminhamento: um método expedito para levantamentos florísticos qualitativos. *Cadernos de Geociências* 12: 39–43.
- Gärdenfors U, Hilton-Taylor C, Mace G, Rodríguez JP (2001) The application of IUCN Red List criteria at regional levels. *Conservation Biology* 15: 1206–1212. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2001.00112.x>
- Imig DC, Milward-de-Azevedo MA, Cervi AC (2018) Passifloraceae sensu stricto de Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia* 69: 1701–1735. <http://doi.org/10.1590/2175-7860201869415>
- IUCN (2010) Guidelines for Application of IUCN Red List criteria at regional and national levels: version 4.0. Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 41pp.
- IUCN (2012) Red List categories and criteria: version 3.1., 2nd edition. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. <http://www.iucnredlist.org/>. Accessed on: 2019-6-12.
- JABOT (2019) Banco de dados do herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://rb.jbrj.gov.br/v2/consulta.php>. Accessed on: 2019-6-12.
- Killip EP (1938) The American species of Passifloraceae. *Field Museum of Natural History*. Botanical Series 19: 1–613.
- Mezzonato-Pires AC, Mendonça CBF, Milward-de-Azevedo MA, Gonçalves-Esteves V (2017) Distribution extensions for species of the *Passiflora* subgenus *Astropheia* (DC.) Masters from Brazil (Passifloraceae s.s.). *Check List* 13: 467–473. <https://doi.org/10.15560/13.5.467>
- Milward-de-Azevedo MA, Baumgratz JFA, Gonçalves-Esteves V (2012) A taxonomy revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae) in Brazil. *Phytotaxa* 53: 1–68. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.53.1.1>

- Milward-de-Azevedo M.A (2018) Histórico de *Passiflora* L. com enfoque no subgênero *Decaloba* (DC.) Rchb. (Passifloraceae sensu stricto). *Diversidade e Gestão* 2: 36–45.
- Milward-de-Azevedo MA (2019) New records of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae). *Check List* 15 (1): 149–159. <https://doi.org/10.15560/15.1.149>
- Silva EO, Guarçoni EAE, Ferreira AWC, Oliveira MS, Oliveira Jr CN (2016) First record of *Passiflora pedata* L. (Passifloraceae) from Maranhão state, northeastern Brazil. *Check List* 12 (5): 1–4. <https://doi.org/10.15560/12.5.1958>
- Silva EO, Milward-de-Azevedo MA, Sá NAS, Sousa DA, Conceição GM (2018) New records of *Passiflora* L. (Passifloraceae) species from Maranhão state and northeastern Brazil. *Check List* 14 (2): 347–352. <https://doi.org/10.15560/14.2.347>
- Silva EO, Santos JUM, Dias ACAA (2013) Passifloraceae na área de proteção ambiental de Belém, PA, Brasil, *Rodriguésia* 64 (4): 829–845. <http://doi.org/10.1590/S2175-78602013000400012>.
- SpeciesLink (2019) Base de dados eletrônica. <http://www.splink.org.br>. Accessed on 2019-6-12.
- The Plant List (2020) The Plant List. A working list of all plant species. <http://www.theplantlist.org>. Accessed on 2019-6-12.
- Thulin M, Razafimandimbison SG, Chafe P, Heidari N, Kool Anneleen, Shore JS (2012) Phylogeny of the Turneraceae clade (Passifloraceae s.l.): trans-Atlantic disjunctions and two new genera in Africa. *Taxon* 61 (2): 308–323. <https://doi.org/10.1002/tax.612003>
- Tokuoka T (2012) Molecular phylogenetic analysis of Passifloraceae sensu lato (Malpighiales) based on plastid and nuclear DNA sequences. *Journal of Plant Research* 125 (4): 489–497. <https://doi.org/10.1007/s10265-011-0472-4>
- Ulmer T, MacDougal JM (2004) *Passiflora*: passionflowers of the world. Timber Press, Cambridge, 430 pp.

Appendix

Material used for figures. *Passiflora auriculata*. Brazil: Maranhão: Mirador, Mirador State Park (06°31'24"S, 045°28'43"W), 07.II.2016, E.O. Silva & A.W.C. Ferreira 27 (UFMA), Figure 1A–C; São Luís (02°31'47"S, 044°18'10"W), II/III-1939, R.L. Frôes 11741 (RB). Pará: IPEAN, Mocambo Reserve (01°26'26"S, 048°24'40"W), 10-V-1968, J. M. Pires & N. T. Silva 11698 (IAN), Figure 1D and E; Goianésia do Pará, 10-IV-2003, L.C.B. Lobato & O.C. Nascimento 2993 (MG); *Passiflora cispnana*. Maranhão: Formosa da Serra Negra: entrance of the Mirador State Park (06°43'13"S, 045°53'55"W), 06-II-2016, E.O. Silva & A.W.C. Ferreira 26, (UFMA); Formosa da Serra Negra: entrance of the Mirador State Park (06°43'13"S, 045°53'55"W), 07-II-2016, E.O. Silva & A.W.C. Ferreira 28, (UFMA), Figure 1A–C; Alzilândia, 11-XII-1973, J. Jangoux et R.P. Bahia 342 (RB).

ARTIGO 2

**CARACTERIZAÇÃO MORFOANATÔMICA DE NECTÁRIOS EXTRAFLORAIS EM
ESPÉCIES DE *PASSIFLORA* L., (PASSIFLORACEAE *SENSU STRICTO*)**

Artigo formatado nas normas da Revista Rodriguésia
<https://rodriguesia.jbrj.gov.br/>

Caracterização morfoanatômica de nectários extraflorais em espécies de *Passiflora* L.,
(Passifloraceae *sensu stricto*)

Eduardo Oliveira Silva¹

Michaelae Alvim Milward de Azevedo²

Ítalo Antônio Fernandes³

Silvino Intra Moreira⁴

Evaristo Mauro de Castro⁵

¹Programa de Pós-graduação em Botânica Aplicada, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

²Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto Três Rios, Departamento de Ciências do Meio Ambiente, Av. Prefeito Alberto da Silva Lavinhas 1847, Centro, Três Rios, RJ, Brasil.

³Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia (DBI), Laboratório de Anatomia Vegetal, Lavras, MG, Brasil.

⁴Universidade Estadual Paulista, Campus de Ilha Solteira, Faculdade de Engenharia (FEIS), Av. Brasil Sul, 56 - Centro, Ilha Solteira, SP, Brasil.

⁵Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

Autor correspondente: Eduardo Oliveira Silva: silva.eduardo@ufma.br

Resumo

Glândulas foliares em Passifloraceae *s.l.* são comumente descritas como nectários extraflorais (NEFs), sendo essas estruturas importantes na taxonomia e ecologia desse grupo. Este trabalho objetivou determinar a natureza nectarífera de glândulas peciolares e laminares de *Passiflora cincinnata*, *P. picturata* e *P. pohlii* através de testes com glicofita para verificação de glicose no exsudato, e caracterização anatômica em microscopia de luz (ML), eletrônica de varredura (MEV) e laser confocal. Os resultados mostraram que morfologicamente, os nectários peciolares e das margens, apresentam-se como NEFs elevados em *P. cincinnata* e *P. picturata*. Já os NEFs laminares (oceolos) em *P. pohlii*, estão inseridos na face abaxial da lâmina foliar. Nas três espécies avaliadas os NEFs apresentaram padrão estrutural similar, caracterizado por uma epiderme uniestratificada ou múltipla, parênquima nectarífero com células volumosas, paredes delgadas, núcleos proeminentes, vacúolos grandes de conteúdo denso, idioblastos cristalíferos distribuídos e vascularização. A fase secretora foi evidenciada pela distensão da cutícula. Os aspectos morfoanatômicos, juntamente com a ocorrência de glicose no exsudato e a observação de formigas e fungos nessas estruturas, permitiram identificá-las como nectários extraflorais.

Palavras chave: Caracterização estrutural, exsudato, fungos, glândulas foliares, interação inseto-planta.

Abstract

Foliar glands in Passifloraceae *s.l.* are commonly described as extrafloral nectaries (EFNs), representing important structures for the taxonomy and in the ecology of the group. We aimed to: determine the nectariferous nature of the petiolar and laminar glands of *Passiflora cincinnata*, *P. picturata* and *P. pohlii* by means of performing the glucostrip test, in order to verify the presence of glucose in the exudate; and anatomically characterize these glands in light, scanning electron, and confocal laser scanning microscopies. Morphologically, petiolar and marginal nectaries are elevated EFNs in *P. cincinnata* and *P. picturata*, while in *P. pohlii* the laminar EFNs (ocelli) are inserted on the abaxial leaf-blade surface. EFNs of all three species share a similar structural pattern, i.e. being characterized by the presence of an either uniseriate or multiple epidermis; nectariferous parenchyma formed by voluminous, thick-walled cells with prominent nuclei and large vacuoles with dense contents; distributed crystalliferous idioblasts; and vascularization. Occurrence of the secretory phase was detected by observation of cuticle distension. Morphoanatomical aspects along with the presence of glucose in the exudate and the occurrence of ants and fungi on the structures allowed us to classify them and EFNs.

Key words: Structural characterization, exudate, fungi, foliar glands, plant-insect interactions.

Introdução

Nectários extraflorais (NEFs) são estruturas localizadas em partes vegetativas e reprodutivas em muitas espécies de plantas, que produzem e secretam um composto rico em açúcares e aminoácidos: o néctar extrafloral (Bentley 1977; Durkee 1982; Elias 1983). Os componentes dessa secreção podem ser produzidos em diferentes partes do tecido nectarífero, embora seja geralmente assumido que os carboidratos do néctar são derivados da seiva do floema, contudo, a fotossíntese no nectário, pode ser uma importante fonte suplementar de carboidratos, produzidos pelos cloroplastos do parênquima glandular (Pacini & Nicolson 2007; Evert & Esau 2013).

Por ocorrerem em folhas e caules de plantas, é sugerido que a secreção de néctar antecede filogeneticamente qualquer papel de polinização (Baker *et al.* 1978), estando os NEFs mais envolvidos na atração de insetos mutualísticos contra herbívoros primários de diversos grupos de plantas (Bentley 1977; Smiley 1986; Lanza 1988; Koptur 1992; Apple & Feener 2001; Cogni & Freitas 2002; Leal *et al.* 2006; Rocha & Machado 2009; Possobom *et al.* 2010), o que pode resultar em benefícios, como uma maior aptidão e rendimento reprodutivo das plantas (Oliveira *et al.* 1999).

Plantas com NEFs são abundantes em diferentes tipos vegetacionais, principalmente na flora dos trópicos (Bentley 1977; Koptur 1992; Oliveira & Pie 1998). Nas formações vegetais da Amazônia brasileira, ocorre que 17 a 53% das espécies lenhosas possuem NEFs (Morellato & Oliveira 1991), assim como em mais de 18% dos indivíduos arbóreos em formações de cerrados (Oliveira & Pie 1998).

Nectários extraflorais ocorrem em diferentes grupos de plantas, porém em sua grande maioria nas Angiospermas, com cerca de 4017 espécies, distribuídas em 876 gêneros e 110 famílias, sendo Leguminosae e Passifloraceae as mais representativas, e *Passiflora* L. o gênero com maior número de espécies com NEFs (Weber & Keeler 2013; Weber *et al.* 2015).

Em gêneros de Passifloraceae *s.l.* como *Passiflora*, *Piriqueta* Aubl. e *Turnera* L., as glândulas presentes no pecíolo, margem e limbo foliar, são geralmente relatadas como NEFs, por sua posição na folha, morfologia e histórico de ocorrência nos grupos (Killip 1938; Roth 1968; Bernacci *et al.* 2003; Cervi 1997; Ulmer & MacDougal 2004; Arbo 2005; Krosnick *et al.* 2009).

Vários estudos que abordam aspectos anatômicos, química do exsudato e interação inseto-planta, vem confirmando a natureza nectarífera de glândulas foliares de Passifloraceae. Entre esses estudos, podemos citar os trabalhos de Rocha *et al.* (2009), Cardoso-Gustavson (2013) e Silva *et al.* (2016) com espécies de *Passiflora* subg. *Passiflora* L. Em *Passiflora* subg. *Decaloba* (DC.) Rchb., estruturas secretoras inseridas no limbo foliar, chamadas de ocelos, ainda são pouco conhecidas dentro desse contexto, sendo conhecidos os trabalhos de Durkee (1982), Silva *et al.* (2016) e Lemos *et al.* (2017).

Em outros momentos, tais glândulas foram identificadas erroneamente ou não puderam ser confirmadas como nectários extraflorais (Roth 1968; Jáuregui *et al.* 2002). Esses aspectos são relevantes do ponto de vista taxonômico e anatômico, diante da possibilidade de glândulas foliares pertencerem a diversas categorias de estruturas secretoras (hidatódios, NEFs, coléteres), o que torna necessário a correta identificação dessas glândulas foliares.

Diante disso, dada a importância das glândulas foliares na taxonomia e ecologia de interações em Passifloraceae, esse trabalho objetivou elucidar se as glândulas foliares de *P. cincinnata* Mast., *P. picturata* Ker Gawl. e *P. pohlii* Mast. são de fato nectários extraflorais, e com isso, discutir sobre os aspectos taxonômicos e ecológicos relacionados a essas estruturas.

Material e métodos

Etapas de campo

Passiflora cincinnata e *P. picturata* (*P.* subg. *Passiflora*), foram encontradas em duas regiões de área de Cerrado, no Leste maranhense, no município de Caxias; já *P. pohlii* (*P.* subg. *Decaloba*), foi encontrada em área antropizada, no município de Lavras, Sul de Minas Gerais.

Nessas áreas as espécies foram coletadas, e posteriormente herborizadas e identificadas, segundo os procedimentos usuais em taxonomia (Fidalgo & Bononi 1989).

Também, foram observadas e coletadas formigas visitantes dos NEFs. Estas, foram posteriormente enviadas para identificação por especialista em Formicidae do laboratório de zoologia do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, PA.

Dados dos voucher das espécies são: *Passiflora cincinnata*: BRASIL. Maranhão: Caxias, Área de Proteção Permanente do riacho Lamego, IFMA, 04°49'18" S, 043°20'38" W, 20-I-2018, fl., *E.O. Silva 28* (HENAC 159); *Passiflora picturata*: BRASIL. Maranhão: Caxias, Sítio Patarata, margem do riacho do ouro, 5-II-2018, fl., *E.O. Silva 29* (HENAC 160); *Passiflora pohlii*: BRASIL. Minas Gerais: Lavras, zona urbana, 20-VII-2018, fl., *E.O. Silva 30* (HENAC 161). Os acrônimos estão de acordo com Thiers (2019).

Análise Morfológica, natureza química da secreção

Testes de detecção de glicose pela aplicação direta de Glicofita Plus® (Accu-Chek Active® - F. Hoffmann-La Roche Ltd.©) foram realizados *in situ* após observação da secreção liberada na superfície das glândulas foliares das espécies estudadas.

Foram quantificadas as glândulas ocorrentes no limbo, margem e pecíolo de quatro folhas de cada espécie, e posteriormente, determinado seus tipos morfológicos e categorias, segundo Zimmerman (1932), Durkee (1982), Elias (1983), Silva *et al.* (2016) e Lemos *et al.* (2017).

Análise anatômica

Foram removidas folhas do terceiro até o sétimo nó e fixadas em FAA 70 (formaldeído, ácido acético, etanol 70% 1:1:18) (Johansen, 1940) por 72 h para caracterização estrutural, utilizando microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura.

Fragmentos vegetais de interesse foram emblocados em Histoiresina (Leica Biosystems, Nussloch, Germany). Secções transversais e longitudinais de 6-8 µm foram obtidas em

micrótomo rotativo semiautomático, marca Jinhua Yidi, modelo YD-335A (Jinhua City, China). As secções anatômicas obtidas foram aderidas em lâminas de vidro (26 mm x 76 mm), coradas com azul de toluidina (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro, Brasil) em concentração de 0,05% (m/v) e pH = 4,7 (tampão acetato) (O'Brien *et al.*, 1964), e posteriormente montadas em Entellan (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha). As lâminas permanentes obtidas foram fotomicrografadas em microscópio de luz, marca Nikon, modelo Eclipse E100 (Nikon Corporation, Tokyo, Japão) acoplado a câmera digital Infinity1, 2 megapixels, marca Lumenera, modelo Infinity1-2B (Lumenera Scientific, Ottawa, Canadá) e processadas no programa Adobe Photoshop 7.0.1.

Para análise anatômica complementar foi empregado microscópio eletrônico de varredura. As amostras fixadas em FAA70 foram desidratadas em gradiente acetônica, secadas em ponto crítico de CO₂ (Bozzola & Russel 1999) e metalizadas com ouro. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico Zeiss LEO EVO 40 e software *Smart SEM*.

Para observação em microscópio laser confocal, amostras fixadas em FAA70 foram clarificadas em KOH 10% por 24 h, e marcadas com fluorocromo Wheat Germ Agglutinin (WGA) AlexaFluor 488® Conjugate (Alexa488-WGA) (Thermo Fisher Scientific, Basingstoke, Hampshire, UK, CAT-W11261) 10 µg.mL⁻¹ solução de trabalho em 0.1 M PBS (solução tampão de fosfato) pH 7.2 por 30 min son vácuo para marcar os fungos (Ha *et al.*, 2016). Depois, o fluorocromo Calcofluor White (Abrilhantador fluorescente 28, Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA, CAS-4404-43-7) por 30 min foram utilizados para marcar paredes celulares de plantas em 0.01 % (w/v) solução de trabalho em 0.1 M PBS pH 7.2 (Anderson *et al.*, 2010). As imagens de fluorescência foram obtidas usando um microscópio laser confocal LSM780 Zeiss Observer Z.1, objectives LCI Plan-neofluar 25×/0.8 e C-Apochromat 63×/1.20, e software Zen 2012. Os fungos observados e corados com Alexa488-WGA, foram utilizadas as seguintes condições: excitação com Argon 488 nm e filtro de emissão com 500 a 550 nm, e os tecidos de plantas corados com

CalcoFluor, foi utilizada excitação com diodo 405 nm e emissão de filtro 420 a 480 nm de alcance. Imagens capturadas em diferentes planos focais foram usadas para gerar imagens 2D com profundidade de campo.

Resultados

Morfotipos dos NEFs

As espécies estudadas apresentaram dois padrões de glândulas, distintas pela posição nas folhas: nectários peciolares e nectários laminares; e por seus tipos morfológicos: nectários elevados e inseridos no limbo (Tabela 1). Os NEFs peciolares em *P. cincinnata*, ocorrem abaixo da porção mediana do pecíolo como um par de glândulas sésseis pateliformes (Fig. 1a, b). Em *P. picturata*, ocorrem distribuídos de forma alterna pelo meio do pecíolo, em números de 2 a 6, de formato obcônico curto a longo-estipitado (Fig. 1c, d).

Os nectários laminares em *P. cincinnata* ocorrem ao longo das margens como glândulas de base cilíndricas a curta-estipitada, levemente curva, de ápice crateriforme (Fig. 1e, f). Em *P. picturata* ocorrem glândulas sésseis entre os sinus dos lobos foliares em número de 1 a 3, de base circular e ápice levemente plano (Fig. 1g, h). Em *P. pohlii* os NEFs laminares localizam-se na superfície abaxial das folhas, inseridos no limbo, assemelhando-se a machas amareladas, sendo dois maiores de formato obovado entre as nervuras da base da folha (Fig. 1i, j) e 4 a 6 de formato circular, distribuídos entre as nervuras laterais dos lobos foliares (Fig. 1k, l).

Teste com glicofita e observação de formigas

Das glândulas estudadas, apenas os nectários ocolares em *P. pohlii*, foram observados secretando (Fig. 1i), quando foi feita aplicação de glicofita diretamente na secreção. Foi observado mudança de coloração, de amarelo para verde, na área indicadora (Fig. 1m), indicando a presença de glicose no exsudato dos ocelos. Também, foram observadas formigas dos gêneros

Brachymyrmex Mayr 1868 (Fig. 1n) e *Pheidole* Westwood 1839 - Formicidae (Fig. 1o), visitando as glândulas oceolares e coletando néctar no período de 18:00 às 9:00 hs.

Tabela 1 – Descrição taxonômica dos NEFs das três espécies deste estudo.

Táxon	Localização/morfotipo	Categoria	Comentário taxonômico
<i>P. cincinnata</i>	Pecíolo Séssil- pateliforme/crateriforme	elevados	Biglandular-sésseis (Cervi 1997; Silva <i>et al.</i> 2018); glândulas discóides, negras e sésseis (Deginani 2001); duas glândulas sésseis opostas (Imig 2013); glândulas pateliformes, sésseis, verde-escuras (Santos <i>et al.</i> 2016).
	Margens Semicilíndricas de ápice crateriforme	elevados	Finamente serrilhadas, crenada-serrilhadas ou subinteiras (Cervi 1997); margens glandular-serrilhadas (Imig 2013); presença ou não de pequenas glândulas sésseis nos bordos crenados (Deginani 2001); margem serrilhada (Santos <i>et al.</i> 2016); margem serrilhadas glandulares (Silva <i>et al.</i> 2018).
<i>P. picturata</i>	Pecíolo Curto-obcônico a longo- estipitado	elevados	2-6 glândulas filiformes (Cervi 1997); 2-6 glândulas alongadas (Silva <i>et al.</i> 2018).
	Margens Séssil de base circular	elevados	Glândulas nos sinus dos lóbulos (Cervi 1997).
<i>P. pohlii</i>	Limbo	inseridos	Oceolos 2 na base da lâmina e 1-7 entre as nervuras laterais principais (Milward-de-Azevedo <i>et al.</i> 2012).
	Oceolos		

Caracterização estrutural

NEFs peciolares

Em *P. cincinnata*, a superfície central da glândula é circundada por bordos elevados, que delimitam uma depressão extensa e rasa, levemente convexa no centro (Fig. 2a). Em *P. picturata* a superfície é levemente côncava no centro (Fig. 2b).

A secção transversal dos NEFs em *P. cincinnata* e *P. picturata*, mostra uma epiderme secretora formada por células colunares, em paliçada, e que se tornam cuboides, isodiamétricas em geral unisseriada, e não secretoras à medida que prolongam-se e recobrem as margens e toda a extensão do nectário (Fig. 2c-d). A epiderme é dupla em sua maior extensão, porém em alguns intervalos, apresenta-se uniseriada, ocorrendo arranjos de uma a quatro células, sendo estas mais delgadas em relação às células que formam a epiderme dupla (Figura 2d-f). A epiderme nos NEFs de *P. picturata* apresenta dimensões aparentemente maiores na região central da glândula do que nas extremidades (Fig. 2b).

Em geral, as células que formam a epiderme secretora dessas espécies apresentam um núcleo grande, de posição central a basal, citoplasma denso e parede externa ligeiramente convexa, recoberta por uma fina cutícula (Fig. 2g), podendo ocorrer espaçamentos entre algumas células (Fig. 2h).

O parênquima glandular é composto pelo parênquima nectarífero e subnectarífero, ambos formados por diferentes camadas e arranjos de células. O primeiro, subjacente à epiderme secretora, corresponde ao parênquima não vascularizado, possuindo células volumosas com largos vacúolos de conteúdo denso, poliédricas, paredes finas, núcleos periféricos (Fig. 2g-i), e que na medida que se aprofundam para formar o parênquima glandular subnectarífero, tornam-se maiores e retangulares, principalmente em torno dos feixes vasculares, onde também ocorrem maiores quantidades de idioblastos drusíferos (Fig. 2j, k). Drusas também ocorrem na conexão dos parênquimas glandular e do pecíolo (Fig. 3a).

O estipe nos NEFs de *P. picturata* é formado por células parenquimáticas, acompanhadas de projeções colaterais de feixes de xilema e floema (Fig. 3b). Em ambos os morfotipos, os feixes vasculares provenientes do pecíolo chegam até ao parênquima glandular (Fig. 3c-f), onde na altura limite do parênquima subnectarífero, a vascularização constitui-se majoritariamente de floema (Figs. 2j, 3b, f-h).

NEFs Laminares

A superfície secretora nos NEFs laminares de *P. cincinnata* é profundamente côncava, pelo ápice crateriforme (Figs. 1e, 3 h) e plana em *P. picturata* (Figs. 1g, 3i). A epiderme nesses morfotipos diferenciam-se da epiderme foliar que delimita os bordos do nectário por ser dupla, com células colunares em paliçadas (Fig. 3f, g), podendo ocorrer extensão de epiderme uniseriada, assim como flanges cuticulares, que se projetam entre as paredes anticlinais das células epidérmicas (Fig. 3j).

Nos NEFs laminares elevados, os núcleos são observados posicionados na linha mediana das células, mais próximos da parede, e os citoplasmas com aspecto denso (Fig. 3f, j). O parênquima nectarífero apresenta várias camadas de células de forma ligeiramente esféricas, volumosas, de aspecto esponjoso, conteúdo citoplasmático denso. O parênquima subnectarífero possui células maiores, por vezes mais retangulares, com feixes vasculares inseridos nele (Figs. 3f, g-i). A base do nectário laminar em *P. picturata* é formada por camadas de parênquimas com espaços intercelulares e células que tornam-se alongadas, em paliçadas (no lado adaxial) à medida que se conecta aos tecidos do mesofilo (Fig. 3g).

Nos NEFs oceolares de *P. pohlii*, a superfície secretora encontra-se em uma rasa depressão central, circundado por bordos pouco elevados acima do nível da epiderme (Fig. 3k). Essa elevação é formada por uma epiderme uniestratificada de parede espessa, e células de parênquima (Fig. 3l, m). Na região central da glândula, a superfície secretora apresenta-se levemente convexa, formada por uma epiderme pluriestratificada, composta por pelo menos 4-5

camadas de células empilhadas, cúbicas a alongadas no sentido anticlinal (Figs. 3l, 4a). A epiderme secretora é recoberta por uma cutícula (Fig. 4a, b), que chega a contornar a parede anticlinal das células epidérmicas, formando flanges cuticulares, próximo dos bordos com a epiderme foliar, onde também ocorre a presença de tricoma tector unicelular (Fig. 4b).

O parênquima glandular nos NEFs de *P. pohlii* é organizado com pelo menos 8-16 de camadas de células, com duas áreas pouco diferenciadas. O parênquima glandular nectarífero é organizado logo abaixo da epiderme secretora múltipla, com células de conteúdo denso, seguido do parênquima glandular subnectarífero (não secretor). Este possui células maiores e de conteúdo citoplasmático menos denso que as células do parênquima secretor (Figs. 3l, m, 4a), onde encontram-se os elementos vasculares provenientes das nervuras menores da superfície abaxial (Fig. 4c). Idioblastos cristalíferos estão presentes já nas primeiras camadas de células subsequente à epiderme (Fig. 3l, m, 4a, b) e próximos dos feixes floemáticos (Fig. 4c).

Nos ocelos, em secção longitudinal, os feixes vasculares colaterais apresentam-se dispostos abaixo do parênquima secretor, fazendo limite com as últimas camadas de células do parênquima não secretor no lado adaxial (Fig. 4c).

Fase secretora e pós-secretora dos NEFs

Tanto nos nectários peciolares de *P. cincinnata* e *P. picturata* quantos nos laminares dessas espécies e de *P. pohlii*, foi possível observá-los em fase secretora e pós-secretora. A fase secretora é marcada pela liberação de néctar pela epiderme secretora e seu acúmulo entre a parede periclinal externa da epiderme e a cutícula (Fig. 2g, h, 3j). Dessa forma, forma-se o espaço subcuticular (Fig. 4d, e) pela distensão gradativa da cutícula que recobre a epiderme nectarífera (Figs. 3k, 4f, g).

A fase pós-secretora é evidenciada pela ruptura da cutícula (Fig. 4a, h). Foi observado ruptura da parede externa de algumas células da epiderme secretora (Fig. 4i), assim como a perda da integridade da epiderme em alguns intervalos (Fig. 4j), além do desenvolvimento de hifas

fúngicas sobre a região secretora dos nectários (Figs. 2 f, 5a-j). Essas hifas, por vezes, chegam a adentrar o parênquima glandular, mostrando-se como marcações entre as células (Fig. 5k) ou brotamentos e ramificações no parênquima da glândula (Fig. 5l).

Discussão

O Arranjo anatômico das glândulas foliares do pecíolo, margens de *P. cincinnata* e *P. picturata*, e do limbo foliar em *P. pohlii*, juntamente com a presença de fungos na superfície secretora nessas glândulas, a ocorrência de glicose confirmada no exsudato dos ocelos laminares de *P. pohlii*, e a observação de formigas coletando néctar nesses ocelos, permitem identificar essas glândulas como nectários extraflorais.

As glândulas nectaríferas do pecíolo e entre os lobos foliares em *P. cincinnata* e *P. picturata* correspondem a categoria "elevados" de Zimmermann (1932), por apresentarem uma estrutura notoriamente acima do nível da folha. A localização desses NEFs no pecíolo é característica em *Passiflora* subg. *Passiflora* (Silva *et al.* 2016), e ocorrem geralmente em número de dois, emparelhados, opostos ou espalhados, assemelhando-se a cilindros, barris entre outras formas (Ulmer & MacDougal 2004).

Passiflora cincinnata, *P. picturata* e *P. pohlii*, apresentam glândulas nectaríferas de diferentes morfotipos. Em *P. cincinnata* são descritas como glândulas sésseis, crateriformes ou pateliformes (Cervi 1997; Bernacci *et al.* 2003; Nunes & Queiroz 2006), por se ligarem diretamente ao pecíolo, e pela forma do ápice da glândula exibir uma depressão semelhante a um prato ou cratera (superfície secretora côncava). Em *Chamaecrista lagotois* H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae), também foi descrito esse morfotipo (Silva *et al.* 2017). Em *P. picturata* as glândulas se ligam ao pecíolo por um eixo pedicelar, sendo descritas como glândulas filiformes (Kilip 1938; Cervi 1997) ou alongadas (Silva *et al.* 2018). Outras espécies como *P. amenthystina* Mikan, exibem o mesmo morfotipo, sendo descritas como glândulas estipitadas (Nunes & Queiroz 2006; Farinazzo & Salimena 2007) ou estruturas cilíndricas (Rocha *et al.* 2009).

Já os NEFs que ocorrem na superfície abaxial em espécies de *P.* subg. *Decaloba*, da qual *P. pohlii* pertence, foram categorizados como achatados (Lemos *et al.* 2017), embutidos na superfície foliar (Durkee 1982), ou ainda como “pit nectaries” (Aguirre *et al.* 2013; Silva *et al.* 2016). Esses NEFs são denominados de oceolos, manchas oceolares (Killip 1938; Nunes & Queiroz 2006; Milward-de-Azevedo *et al.* 2012) ou ainda “bearing laminar nectaries” (Ulmer & MacDoudal 2004). Esse morfotipo também foi descrito por Silva *et al.* (2016) em *P. glandulosa* Cav., única espécie de *P.* subg. *Passiflora* onde ocorrem oceolos semelhantes, embora pouco menores aos de *Decaloba*. Esse fato corrobora o relato de Bentley (1977) ao observar que NEFs podem não estar presentes mesmo em táxons intimamente relacionados.

Lemos *et al.* (2017) distinguiram os oceolos entre as veias primárias da base foliar em *P. misera* Kunth e *P. porophylla* Vell., como manchas arredondadas que podem formar uma depressão leve (oceolo côncavo), ou um leve abaulamento (oceolo convexo). Em *P. vespertilio*, Silva *et al.* (2016) descreveram essas estruturas como uma elevação em forma de aréola delimitando o disco nectarífero. Milward-de-Azevedo (2007) descreveu os oceolos como circulares, porém, quando presentes na base da lâmina foliar, próximo às axilas formadas pelas nervuras principais, possuem forma obovada, e que mesmo em material herborizado ou recentemente coletado, observa-se produtos exsudados por estas glândulas, e até a presença de pequenos insetos, como ácaros e formigas, presos ao néctar.

Oceolos em *Passiflora*, apresentam aspectos morfológicos semelhantes com NEFs laminares de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae), descritos por Paiva & Machado (2006) como delimitado por uma elevação em forma de aréola e serem embutidos no mesofilo. Assim como os NEFs laminares em *Diospyros* L. (Ebenaceae) descritos por Contreras & Lersten (1984) como glândulas discóide, com uma superfície exterior protuberante nivelada com a epiderme foliar, ou ligeiramente afundado ou côncava, como também em *Alchornea latifolia* Sw (Euphorbiaceae) mencionado por Aguirre *et al.* (2013).

A ocorrência de morfotipos semelhantes de NEFs em diferentes *taxa* não indica necessariamente uma associação taxonômica, embora alguns morfotipos sejam restritos à um determinado grupo. A semelhança entre morfotipos em diferentes grupos pode ser resultado de uma convergência evolutiva, conseqüente de forças seletivas sobre plantas (Machado *et al.* 2008). Como exemplo, Morellato & Oliveira (1991) apontam que a abundância de NEFs nas formações amazônicas pode ser o resultado de intensa atividade de forrageamento por formigas em plantas. Cardoso-Gustavson *et al.* (2013) sugerem que a pressão seletiva responsável pela variação no número de NEFs peciolares em espécies de *Passiflora*, pode estar relacionada à coevolução com borboletas Heliconiini.

A ocorrência de nectários na face abaxial das folhas pode ser considerada uma adaptação para reduzir a perda de néctar por evaporação, aumentando sua disponibilidade para os agentes protetores (Paiva & Machado 2006). A visitação de formigas à NEFs reforça o papel dessas estruturas nas interações formiga-planta. Formigas atraídas por NEFs tornam-se agentes importantes para a proteção da planta pela predação das larvas de borboletas Heliconiini (Lepidoptera, Nymphalidae) (Mega & Araújo 2008). Essa proteção pode explicar as taxas de crescimento de partes aéreas, significativamente mais altas, quando as formigas estão presentes patrulhando ramos em espécies de *Passiflora* (Labeyrie *et al.* 2001).

No teste com glicofitas, foi observado a mudança de coloração na área indicadora de amarelo para um verde escuro. Essa metodologia, embora simples, evidencia a ocorrência de açúcares no exsudato de glândulas foliares, e foi utilizada por alguns autores para determinar tais glândulas como NEFs (Cardoso-Gustavson *et al.*, 2013; Silva *et al.* 2016; Lemos *et al.* 2017). Ainda no morfotipo ocelar, foi observado a secreção mesmo quando a folha era bem jovem, assim como em folhas totalmente expandidas, cessando em folhas mais velhas. Semelhantemente, Possobom *et al.* (2010) relatam secreção quando a folha ainda é muito jovem, continuando durante a expansão foliar, cessando a secreção em folhas adultas.

Nos ocelos, a liberação de néctar foi observada pela noite, e prolongando-se pela manhã, assim como a visitação pelas formigas, que patrulhavam toda a extensão das folhas, principalmente nas glândulas foliares dos primeiros nós. Autores como Paiva & Machado (2006), Rocha & Machado (2009), Possobom *et al.* (2010) e Silva *et al.* (2016) também já relataram formigas coletando néctar e patrulhando a extensão das folhas em busca desses nectários espalhados na superfície abaxial do limbo foliar.

As formigas do gênero *Pheidole* encontradas nos ocelos de *P. pohlii*, já foram relatadas por Aguires *et al.* (2013) coletando néctar em NEFs de *Alchornea latifolia* (Euphorbiaceae) e *Senna papillosa* (Britton & Rose) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae), assim como formigas do gênero *Brachymyrmex* em NEFs de *Heteropteris laurifolia* (L.) A. Juss. (Malpighiaceae), e por Koptur *et al.* (2015) em NEFs de *Senna mexicana* var. *chapmanii* (Isely) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae).

O arranjo histológico nos nectários das espécies deste estudo, apresentou o mesmo padrão já relatado em outras espécies de *Passiflora*. Neste estudo, os NEFs elevados dos pecíolos e margem foliar de *P. cincinnata* e *P. picturata* (*P.* subg. *Passiflora*), apresentaram epiderme dupla; em *P. pohlii* (*P.* subg. *Decaloba*) ocorre nos NEFs ocelares epiderme múltipla, com 4 a 6 camadas de células. Resultados semelhantes são descritos para outras espécies de *P.* subg. *Passiflora* como *P. edulis* Sims, *P. alata* Curtis (Cardoso-Gustavson *et al.* 2013), *P. amethystina* (Rocha *et al.* 2009), *P. nitida* Kunth, *P. tholozanii* Sacco e *P. glandulosa* Cav. (Silva *et al.* 2016).

Epidermes múltiplas semelhantes às de *P. pohlii*, são relatadas em outras espécies de *P.* subg. *Decaloba* como *P. biflora* Lam., *P. helleri* Peyr. (Durkee 1982), *P. tuberosa* Jacq. (Jáuregui *et al.* 2002), *P. vespertilio* L. (Silva *et al.* 2016) e *P. misera* Kunth (Lemos *et al.* 2017). Em *Turnera*, Gonzalez & Ocantos (2006) relatam epidermes múltiplas com mais de 4 camadas de células formando colunas, semelhantes às observadas nas espécies de *P.* subg. *Decaloba*, que possuem glândulas conhecidas como ocelos. Porém, diferentemente dos ocelos de *P.* subg.

Decaloba, glândulas semelhantes a estas apresentaram epiderme dupla quanto ocorriam em *P. glandulosa*, uma espécie de *P.* subg. *Passiflora*.

Morfotipos semelhantes, mesmo em espécies próximas, podem apresentar arranjos anatômicos diferentes, como observado em *P. suberosa* L. e *P. oerstedii* Mast., no que se refere ao número de camadas e espessuras dos tecidos que as compõem (Jáuregui *et al.* 2002), e entre o mesmo morfotipo, nos nectários ocelares de *P. vespertilio* e *P. glandulosa* (Silva *et al.* 2016). Ocelos se desenvolvem na epiderme inferior, que se faz pluriestratificada por divisões periclinais da superfície, característica de Passifloraceae (*s.s.*) (Roth 1974).

O parênquima glandular subepidérmico formado por várias camadas de células isodiamétricas, com idioblastos cristalíferos e vascularização de xilema e floema é semelhante nos NEFs peciolares e laminares, o que contribui para a distinção visual dos parênquimas nectarífero e subnectarífero, principalmente nos morfotipos elevados.

Nos ocelos em *P. Pohlii*, o parênquima glandular é menos discernível em parênquima nectarífero e subnectarífero em relação aos morfotipos elevados. Porém, podem ser distinguidos pela ausência de vascularização no primeiro e por ter de 1 a 4 camadas de células, e estas serem ligeiramente menores em comparação com as células do parênquima subnectarífero.

Nos NEFs elevados, o parênquima glandular forma a maior parte do corpo dos nectários, estando o mesmo nos nectários ocelares, embutido e ocupando o espaço dos tecidos do mesófilo. Para Lemos *et al.* (2017), nas glândulas da superfície abaxial da lâmina foliar (ocelos), o parênquima subsecretário substitui o parênquima paliádico, presente no restante da lâmina foliar. Um parênquima glandular sobre o parênquima clorofiliano foi relatado por Gonzalez & Ocantos (2006) em nectários planos e discóides de *Piriqueta* e *Turnera*.

Cristais de drusa distribuídos no parênquima secretor e ao redor dos feixes vasculares foram observados nos NEFs neste estudo, como também foram relatados em outras espécies de Passifloraceae (Roth 1974; Durkee 1982; Jáuregui *et al.* 2002; Silva *et al.* 2016). Em secções

transversais dos ocelos de *P. misera* Kunth, Milward-de-Azevedo (2007) observou uma grande quantidade de drusas de oxalato de cálcio.

A frequência alta de cristais nas adjacências do floema, sugerem que esses cristais estejam envolvidos no controle dos níveis de cálcio do citosol, e que o parênquima subglandular age transferindo carboidratos do floema para o tecido secretor dos NEFs (Paiva & Machado 2005; Paiva *et al.* 2007; Paiva 2019). A ocorrência de cristais de cálcio nos tecidos dos NEFs ocelares é aparentemente maior do que nos NEFs peciolares, o que poderia sugerir uma função de proteção contra herbívoros foliares, no caso, larvas de borboletas Heliconiini, embora Paiva *et al.* (2007), apontem que drusas dificilmente tenham uma função anti-herbivoria por estarem localizados internamente no tecido secretor.

Tanto nos nectários peciolares quanto nos laminares, foi possível observá-los em fase secretora e pós-secretora. A fase secretora é marcada pela liberação de néctar pela epiderme e seu acúmulo entre a parede periclinal externa e a cutícula, formando o espaço subcuticular. Outros autores observaram a cutícula distendida no centro da porção secretora de NEFs em grupos não relacionados como *Chamaecrista* Moench (Leguminosae: Caesalpinioideae) (Silva *et al.* 2017) e *Prockia crucis* P. Browne ex L. (Salicaceae) (Thadeo *et al.* 2018).

O rompimento da cutícula, caracterizando a fase pós-secretora, é relatada em algumas espécies de *Passiflora* por Silva *et al.* (2016). Essa ruptura pode ser explicada pelo acúmulo gradativo da secreção écrina do néctar no apoplasto do tecido secretor, sob a cutícula, até seu rompimento (Durkee 1982). Entretanto, Cardoso-Gustavson *et al.* (2013) associam a ruptura da cutícula em alguns NEFs de *P. edulis* ao comportamento de formigas durante a coleta de néctar. Em espécies de *Turnera* e *Piriqueta*, Gonzalez & Ocantos (2006) não observaram rupturas da cutícula, sugerindo uma secreção transcuticular do néctar. Em espécies de Leguminosae (Caesalpinioideae) que não foram observadas rupturas ou descolamentos cuticulares, Coutinho *et al.* (2012) relatam a ocorrência de microcanais na epiderme por onde o néctar pode ser liberado.

Nos NEFs peciolares de *P. cincinnata*, foi possível identificar que além de haver a ruptura da cutícula, ocorria também a ruptura de parte das paredes externas de células individuais, por onde o material secretor emergia. Entretanto, não se pode afirmar se a ruptura de parede celular externa da epiderme, observada em nossos resultados, seja por conta de mecanismos de secreção holócrina ou devido ao processamento das amostras durante a execução da metodologia, o que implica a necessidade de mais estudos para confirmação dessa observação em particular. Porém, Vesprini *et al.* (1999) também relataram ruptura das paredes externas, além de células vazias na epiderme de NEFs de *Helleborus* L. (Ranunculaceae), sendo este um modo incomum de secreção, raramente citado em nectários (Evert & Esau 2013) e ainda não relatado em NEFs de *Passiflora*.

O néctar tem sua origem na seiva do floema que se move simplásticamente dos tubos crivados para as células secretoras, sendo o pré-néctar, modificado no tecido nectarífero ou mesmo após sua reabsorção. Os principais mecanismos citados para o transporte de néctar são granulócrino e écrino. Na secreção granulócrina, a eliminação da secreção se dá por meio da fusão de vesícula com a membrana plasmática (exocitose). A secreção écrina envolve a passagem de moléculas ou íons através da membrana plasmática. Já a secreção holócrina, o néctar é liberado pela ruptura da parede celular e cutícula de cada célula epidérmica. A secreção holócrina raramente é citada para nectários. O acúmulo e liberação de néctar a partir da cutícula ocorre em áreas onde essa é mais delgada (Evert & Esau 2013).

A perda da integridade de extensões de epiderme, observada nos NEFs peciolares de *P. cincinnata*, também foi relatada por Cardoso (2010) em NEFs peciolares de *P. edulis*, como evidência da fase pós-secretora. Essa observação, juntamente com a ruptura da parede celular da epiderme relatadas por Vesprini *et al.* (1999) podem ser explicadas por mecanismo de secreção holócrina, o que reforça, segundo Evert & Esau (2013), que algumas glândulas secretam mediante lise ou degeneração das células secretoras.

Outra característica da fase pós-secretora é o desenvolvimento de hifas fúngicas sobre a região secretora nessas estruturas. Nos NEFs peciolares de *P. cincinnata*, foi possível observar que, por vezes, essas hifas chegam a adentrar o parênquima glandular sendo este um relato inédito em NEFs de Passifloraceae. A ocorrência de fungos interno ao parênquima glandular aparenta não causar modificações nos tecidos do mesmo, como também não alterar a funcionalidade dos NEFs.

Nos NEFs não funcionais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne, Paiva & Machado (2006) relatam que observação de fungos limitados ao tecido secretor, é atribuído a maior impregnação de lignina na endoderme, o que impediria ou dificultaria a dispersão desses microrganismos para os tecidos vivos do mesofilo.

A influência de fungos sobre nectários foi estudada por Jaber & Vidal (2009), onde os autores concluíram que a inoculação endofítica induzida um aumento significativo a curto prazo na produção total de néctar, e uma taxa mais alta de NEFs por folha expandida. Porém, a influência de endofíticos no parênquima glandular ainda permanece desconhecida dentro desse contexto, o que requer estudos interdisciplinares para sua elucidação.

Agradecimentos

Aos Laboratórios de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) e Botânica Estrutural da UFLA pelo espaço permitido para análise das amostras.

Referências

- Anderson CT, Carroll A, Akhmetova L & Somerville C (2010) Real-Time Imaging of Cellulose Reorientation during Cell Wall Expansion in Arabidopsis Roots. *Plant Physiology* 152: 787-796
- Aguirre A, Coates R, Cumplido-Barragán G, Campos-Villanueva A & Díaz-Castelazo C (2013) Morphological characterization of extrafloral nectaries and associated ants in tropical vegetation of Los Tuxtlas, Mexico. *Flora* 208: 147-156
- Apple JL & Feener DH (2001) Ant visitation of extrafloral nectaries of *Passiflora*: the effects of nectar attributes and ant behavior on patterns in facultative ant-plant mutualisms. *Oecologia* 127: 409-416
- Arbo MM (2005) Estudos sistemáticos em *Turnera* (Turneraceae). III. series Anomalae y *Turnera*. *Bonplandia* 14:115-318.
- Baker DA, Hall JL & Thorpe JR (1978) A study of the extrafloral nectaries of *Ricinus communis*. *Newphytology* 81: 129-13.
- Bentley BL (1977) Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. *Annual Review of Ecology and Systematics* 8: 407-427.
- Bernacci LC, Vitta FA, Bakker YV (2003) Passifloraceae. *In*: Wanderley MGL, Shepherd GJ, Giulietti AM & Melhem TS (eds). *Flora Fanerogâmica do estado de São Paulo*, v. 3. FAPESP/RIMA, São Paulo, 247-274. Disponível em <https://www.infraestruturaambiente.sp.gov.br/institutodebotanica/wpcontent/uploads/sites/235/2016/06/FFESP-Volume-III_06_24.pdf>. Acesso em 24 julho 2019.
- Bozzola JJ & Russell LD (1999) *Electron microscopy*. Jones & Bartlett Publishers. Boston. 670p.
- Cardoso PR (2010) Estruturas secretoras em órgãos vegetativos aéreos de *Passiflora alata* Curtis e *P. edulis* Sims (Passifloraceae) com ênfase na localização in situ de Compostos bioativos. 194p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010: Disponível em <<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/315362>>. Acesso em 2 dezembro 2019.

Cardoso-Gustavson P, Andreazza NL, Sawaya ACHF & Castro MDM (2013) Only attract ants? The versatility of petiolar extrafloral nectaries in *Passiflora*. *American Journal of Plant Sciences* 4: 460-469.

Cervi AC (1997) Passifloraceae do Brasil: Estudo do gênero *Passiflora* L., subgênero *Passiflora*. *Fontqueria* 45:1-92.

Cogni R & Freitas AVL (2002) The ant assemblage visiting extrafloral nectaries of *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae) in a mangrove forest in southeast Brazil (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 40: 373-383

Contreras LS & Lersten NR (1984) Extrafloral nectaries in Ebenaceae: anatomy, morphology, and distribution. *American Journal of Botany* 71: 865–872

Coutinho IAC, Francino DMT, Aristéa AA & Meira RMSA (2012) Anatomy of the extrafloral nectaries in species of *Chamaecrista* section *Absus* subsection *Baseophyllum* (Leguminosae, Caesalpinioideae) *Flora* 207: 427-435

Deginani NB (2001) Las especies argentinas del género *Passiflora* (Passifloraceae). *Darwiniana* 39: 43-129.

Durkee LT (1982) The floral and extrafloral nectarines of *Passiflora*. II. The extra-floral nectar. *American Journal of Botany* 69:1420-1428.

Elias TS (1983) Extrafloral nectaries: their structure and distribution. *In*: Bentley BL & Elias TS. (eds) *The Biology of Nectarines*. Columbia University Press, New York, p. 174-203.

Evert RF & Esau k (2013) Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento. Bluche. 728p.

Farinazzo NM & Salimena FRG (2007) Passifloraceae na Reserva Biológica da Represa do Grama, Descoberto, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia* 58: 823-833.

Fidalgo O & Bononi VLR (1989) Técnicas de coleta, preservação de material botânico. Série Documentos. Instituto de Botânica, São Paulo. 62p.

Gonzalez AM & Ocantos MN (2006) Nectarios extraflorales em *Piriqueta* y *Turnera* (Turneraceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 41: 269-284.

Ha X, Koopmann B & Tiedmann A (2016) Wheat Blast and Fusarium Head Blight Display Contrasting Interaction Patterns on Ears of Wheat Genotypes Differing in Resistance. *Phytopathology* 106: 270-281.

Imig DC (2013) Estudo taxonômico da família Passifloraceae Juss, no Distrito Federal, Brasil. 102p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná, 2013. Disponível em < <http://hdl.handle.net/1884/31900>>. Acesso em 24 março 2019.

Jaber LR & Vidal S (2009) Interactions between an endophytic fungus, aphids and extrafloral nectaries: do endophytes induce extrafloral-mediated defences in *Vicia faba*? *Functional Ecology* 23: 707-714

Johansen DA. (1940) *Plant microtechnique*. 5th ed. New York: McGraw-Hill Book Company Inc.

Jáuregui D, García M & Pérez D (2002) Morfoanatomía de las glándulas em cuatro especies de *Passiflora* l. (Passifloraceae) de Venezuela. *Caldasia* 24: 33-40.

Killip EP (1938) The American species of Passifloraceae. *Publications of the Field Museum of Natural History Botanical, Chicago*, 19: 1-613, Disponível em <<https://www.biodiversitylibrary.org/item/19789#page/7/mode/1up>>. Acesso em 21 junho 2018.

Koptur S (1992) Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. In: Bernays E (ed) *Insect-plant interactions*. CRC Press, Boca Raton. Pp 81-129.

Koptur S, Jones IM & Peña JE (2015) The Influence of host plant extrafloral nectaries on multitrophic interactions: an experimental investigation. *Plos One* 10: 138-157.

Krosnick SE, Ford AJ & Freudenstein JV (2009) Taxonomic revision of *Passiflora* subgenus *Tetrapathea* including the monotypic genera *Hollrungia* and *Tetrapathea* (Passifloraceae), and a new species of *Passiflora*. *Systematic Botany* 34: 375-385.

Labeyrie EL, Pascal L, Delabie J, Orivel J, Dejean A & Hossaert-Mckey M (2001). Protection of *Passiflora glandulosa* (Passifloraceae) against herbivory: impact of ants exploiting extrafloral nectaries. *Sociobiology*, 38: 317-321.

Lanza J (1988) Ant preferences for *Passiflora* nectar mimics that contain amino acids. *Biotropica* 20: 341-344.

- Leal IR, Fischer K, Christian M, Tabarelli K & Wirth R (2006) Ant protection against herbivores and nectar thieves in *Passiflora coccinea* flowers. *Ecoscience* 13: 431-148.
- Lemos RCC, Costa SD & Melo-de-Pinna FAG (2017) A structural review of foliar glands in *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Plos One* 12: 1-22.
- Machado SR, Morellato LPC, Sajo MG & Oliveira PS (2008) Morphological patterns of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian cerrado. *Plant Biology* 10: 660-673.
- Mega NO & Araújo AM. (2008) Do caterpillars of *Dryas iulia alcionea* (Lepidoptera, Nymphalidae) show evidence of adaptive behaviour to avoid predation by ants? *Journal of Natural History* 42: 129-137.
- Milward-de-Azevedo MA (2007) Passifloraceae do Parque Estadual de Ibitipoca, Minas Gerais. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, 25: 71-79.
- Milward-de-Azevedo MA, Baumgratz JFA & Gonçalves-Esteves V (2012) A taxonomy revision of *Passiflora* subgenus *Decaloba* (Passifloraceae) in Brazil. *Phytotaxa* 53: 1-68.
- Morellato LPC & Oliveira PS (1991) Distribution of extrafloral nectaries in different vegetation types of Amazonian Brazil. *Flora* 185: 33-38
- Nunes TS & Queiroz LP (2006) Flora da Bahia: Passifloraceae. *Sitientibus, Série Ciências Biológicas* 6: 194-226.
- O'Brien TP, Feder N & McCully ME (1964) Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-73.
- Oliveira PS & Pie MR (1998) Interaction Between Ants and Plants Bearing Extrafloral Nectaries in Cerrado Vegetation. *Anais da Sociedade de Entomologia do Brasil* 27: 161-176.
- Oliveira PS, Rico-Gray V, Díaz Castelazo C & Castillo-Guevara C (1999) Interactions between ants, extrafloral nectaries and insects herbivores in neotropical coastal sand dunes: herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). *Functional Ecology* 13: 623-631.
- Paiva EAS, Bueno RA & Delgado MN (2007) Distribution and structural aspects of extrafloral nectaries in *Cedrela fissilis* (Meliaceae). *Flora* 202: 455-461.

- Paiva EAS & Machado SR (2005) Role of intermediar cells in *Peltodon radicans* (Lamiaceae) in the transfer of calcium and formation of calcium oxalate crystals. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48: 147-153.
- Paiva EAS & Machado SR (2006) Ontogênese, anatomia e ultraestrutura dos nectários extraflorais de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Acta Botanica Brasilica* 20: 471-482.
- Pacini E & Nicolson SW (2007) Introducion. *in*: Pacini E, Nepi M, Nicolson SW (eds.) *Nectaries and nectar*. Ed. Springer, Dordrecht. Pp. 1-18.
- Paiva EAS (2019) Are calcium oxalate crystals a dynamic calcium store in plants. *New Phytologist* 223: 1707-1711.
- Possobom CCF, Guimarães E & Machado SR (2010) Leaf glands act as nectaries in *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae). *Plant Biology* 12: 863-870.
- Rocha DI, Silva LC, Valente VMM, Francino DMT & Meira RMSA (2009) Morphoanatomy and development of leaf secretory structures in *Passiflora amethystina* Mikan (Passifloraceae), *Australian Journal of Botany* 57: 619-626.
- Rocha JF & Machado SR (2009) Anatomy, ultrastructure and secretion of *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae) extrafloral nectary. *Revista Brasileira Botanica* 32: 489-498.
- Roth I (1968) Desarrollo de los nectarios extraflorales en *Passiflora foetida* L. *Acta Biológica Venezolana* 6: 44-49.
- Roth I (1974) Morfologia, anatomia y desarrollo de la hoja pinnada y de las glândulas laminales en *Passiflora* (Passifloraceae). *Acta Botánica Venezuéllica* 9: 363-380.
- Santos JV, Nunes TS, Conceição AS (2016) A família Passifloraceae na APA Serra Branca/Raso da Catarina, Jeremoabo, Bahia, Brasil. *Biotemas* 29: 11-23.
- Silva EO, Feio AC, Cardoso-Gustavson P, Milward-de-Azevedo MA, Santos JUM & Dias, ACAA (2016) Extrafloral nectaries and plant-insect interactions in *Passiflora* L. (Passifloraceae). *Brazilian Journal of Botany* 40: 331-340.

Silva EO, Milward-de-Azevedo MA, Sá NAS, Sousa DA & Conceição GM (2018) New records of *Passiflora* L. (Passifloraceae) species from Maranhão state and northeastern Brazil. Check List 14: 347-352

Silva MS, Coutinho IAC, Araújo MN & Meira RMSA (2017) Morphoanatomy of nectaries of *Chamaecrista* (L.) Moench sections *Chamaecrista*, *Caliciopsis* and *Xerocalyx* (Leguminosae: Caesalpinioideae) Acta Botanica Brasilica 31: 445-458.

Smiley J (1986) Ant constancy at *Passiflora* extrafloral nectaries: effects on Caterpillar survivor. Ecology 67: 516-521.

Thadeo M, Cassino M.F, Vitarelli Narah C. Azevedo AA, Araújo JM, Valente, VMM & Meira RMSA (2008) Anatomical and histochemical characterization of extrafloral nectaries of *Prockia Crucis* (Salicaceae). American Journal of Botany 95: 1515-1522.

Thiers B (2019) Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Disponível em <<http://sweetgum.nybg.org/ih>>. Acesso em 24 outubro 2019.

Ulmer T & MacDougal JM (2004) *Passiflora*: Passionflowers of the world. Timber Press, Cambridge.

Vesprini JL, Nepi M & Pacini E (1999) Nectary Structure, Nectar Secretion Patterns and Nectar Composition in Two Helleborus Species. Plant Biology 1:560-568.

Weber MG & Keeler KH (2013) The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. Annals of Botany Page 111:1251-1261.

Weber MG, Porturas LD & KH Keeler (2015) Lista mundial de plantas com nectários extraflorais. Disponível em <www.extrafloralnectaries.org>. Acesso em 11 janeiro 2020.

Zimmerman JG (1932) Über die extrafloralen nektarien der Angiospermen.; Beihefte zum Botanischen, Centralblatt 49: 99-196.

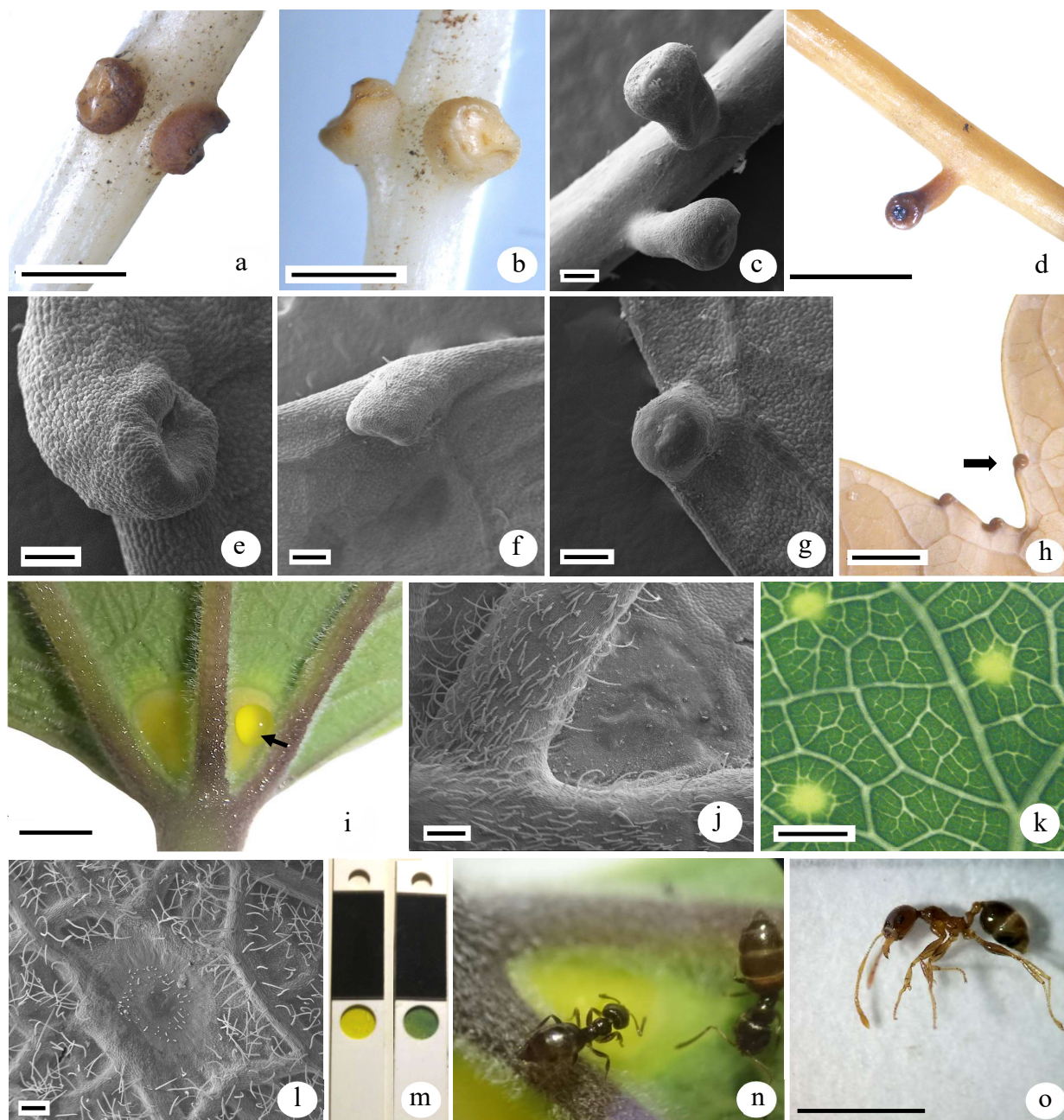


Figura 1—a-o. Morfologia e interação em *Passiflora cincinnata* (a, b, e, f), *P. picturata* (c, d, g, h) e *P. pohlii* (i-l) — a-d. Nectários peciolares; e-m. Nectários laminares; e-h. NEFs laminares da margem foliar; i, j. NEFs ocoulares basais; k, l. NEFs ocoulares do limbo; m. Glicofitas com marcador em verde após reação; n. Formigas *Brachymyrmex* coletando néctar; o. Formiga *Pheidole*. Barras: a-c, h = 0,5 mm; d, e, f, g, j, l = 200 μ m; i = 2 mm; k = 1 mm; o = 0,5 mm.

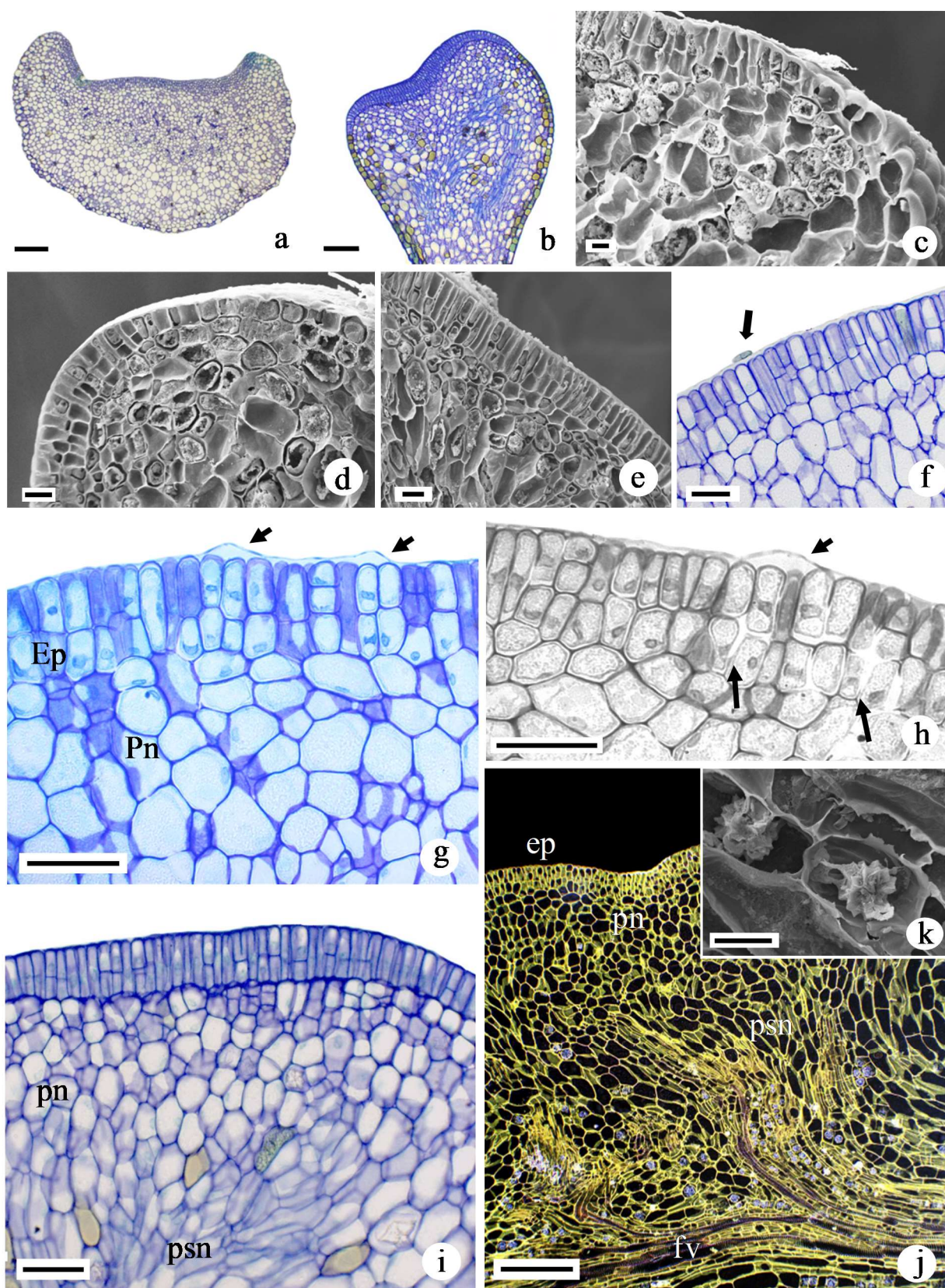


Figura 2–a-k. Aspectos estruturais dos NEFs peciolares de *P. cincinnata* (a, c, f, g, h, j, k) e *P. picturata* (b, d, e, i) – a, b. Vista geral das glândulas; c-e. Secção longitudinal em MEV; f-h. Detalhe das glândulas, com fungo sob a cutícula em f (seta), cutícula distendida sobre a epiderme (ep) em g e h (seta menor), espaço intercelular (seta maior) em h; i. Detalhe do parênquima nectarífero (pn) e subnectarífero (psn); j. Densamento de idioblastos drusíferos em torno do feixes vasculares (fv); k. Drusas. Barras: a = 200 μm ; b = 100 μm ; c, d, e, k = 20 μm ; f-i = 50 μm ; j = 100 μm .

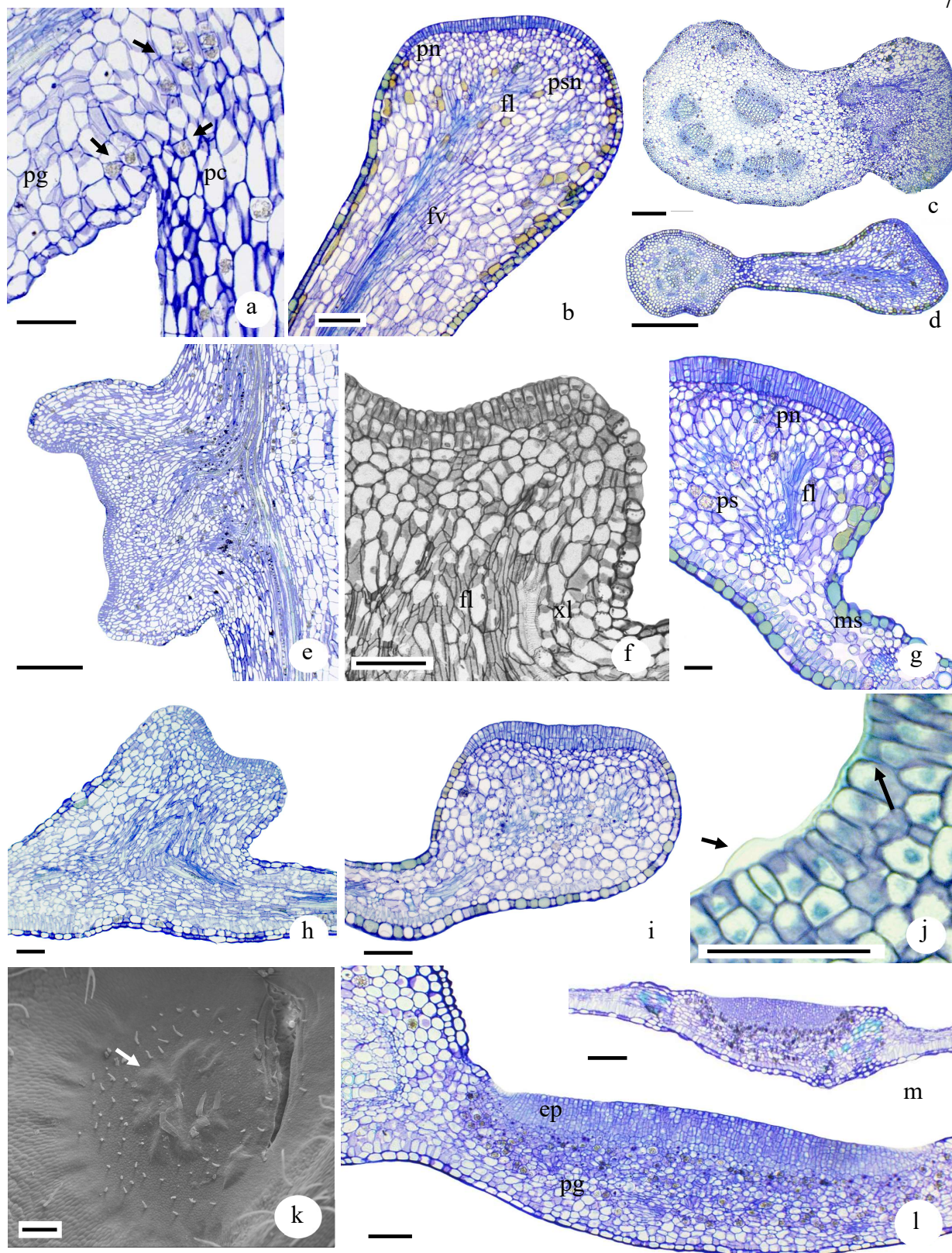


Figura 3—a-m. Aspectos estruturais dos NEFs de *P. cincinnata* (a, c, e, f, h, j), *P. picturata* (b, d, g, i) e *P. pohlii* (k-m) – a. Junção glândula-pecíolo com drusas (setas) no parênquima glandular (pg) e do pecíolo (pc); b. Secção longitudinal do NEF peciolar; c, d. Secção transversal dos pecíolos com os NEFs; e. NEF peciolar com ramificações dos feixes vasculares provenientes do pecíolo; f-i. Secção longitudinal dos NEFs com vascularização de floema na divisa dos pn e psn, e espaços intercelulares na conexão com os tecidos do mesofilo (ms) em g; j. Epiderme do NEF laminar com cutícula distendida (seta menor) e flanges cuticulares (seta maior); k. Superfície do ocelelo basal com elevação da cutícula (seta); l, m. Secção transversal dos NEFs ocellares. Barras: a, b, f, h-m = 100 μ m; c-e = 400 μ m; g = 50 μ m.

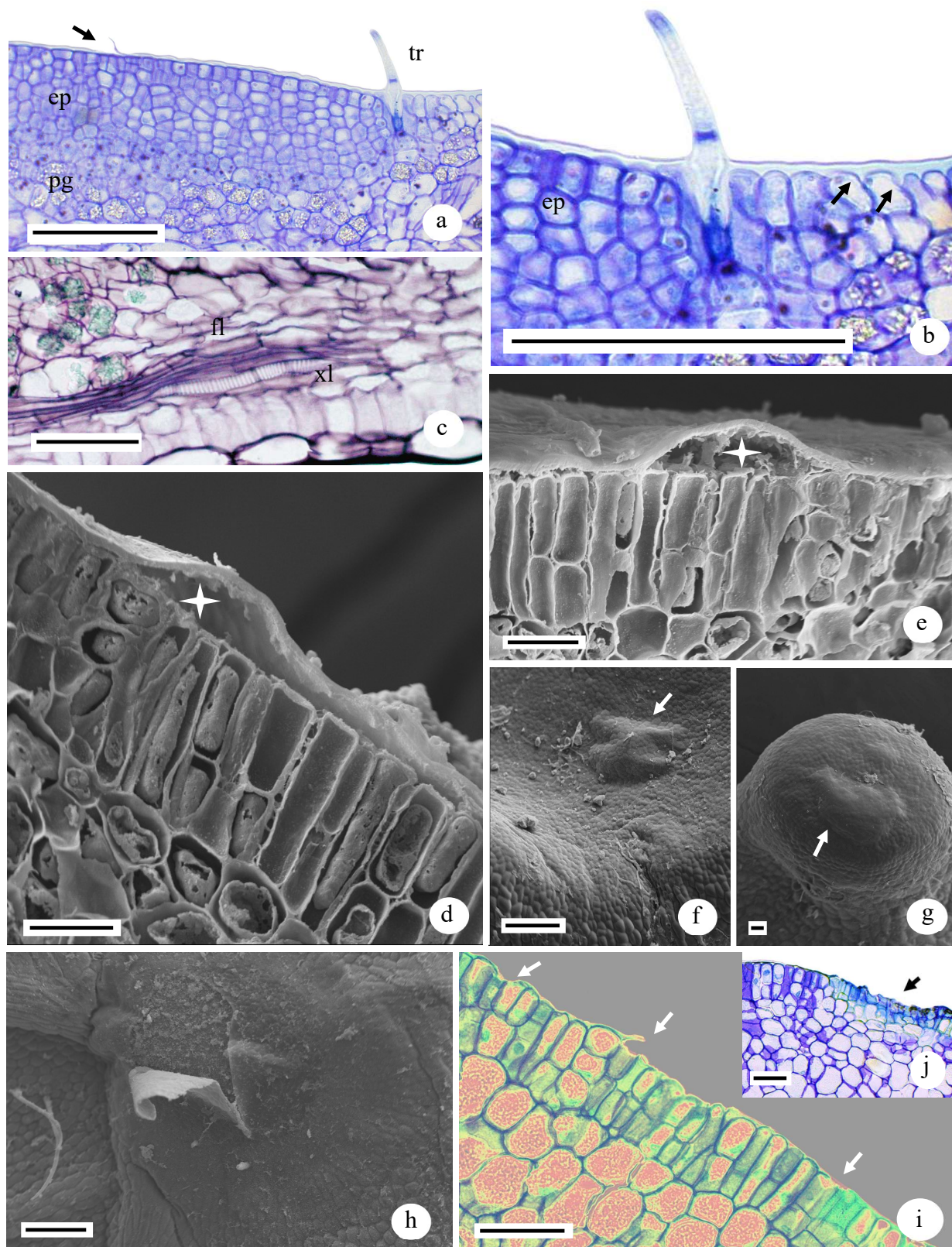


Figura 4–a-j. Aspectos estruturais das fases secretora e pós-secretora dos NEFs de *P. cincinnata* (f, i, j), *P. picturata* (d, e, g) e *P. pohlii* (a, b, c, h). a. Seção transversal do oceleto basal com cutícula rompida (seta) e tricoma (tr); b. Detalhe dos flanges cuticulares (seta) nos limites da superfície secretora; c. Detalhe dos feixes vasculares no ps, d, e. Epiderme em fase secretora com cutícula distendida e espaço subcuticular (estrela); f-h. Superfície secretora com cutícula distendida (setas) e rompida em h; i. Epiderme secretora com rompimento da parede celular externa (setas); j. Detalhe da perda da integridade da epiderme (seta). Barras: a, b, f, h, j = 100 μ m; c, i = 50 μ m; d, e, g = 20 μ m.

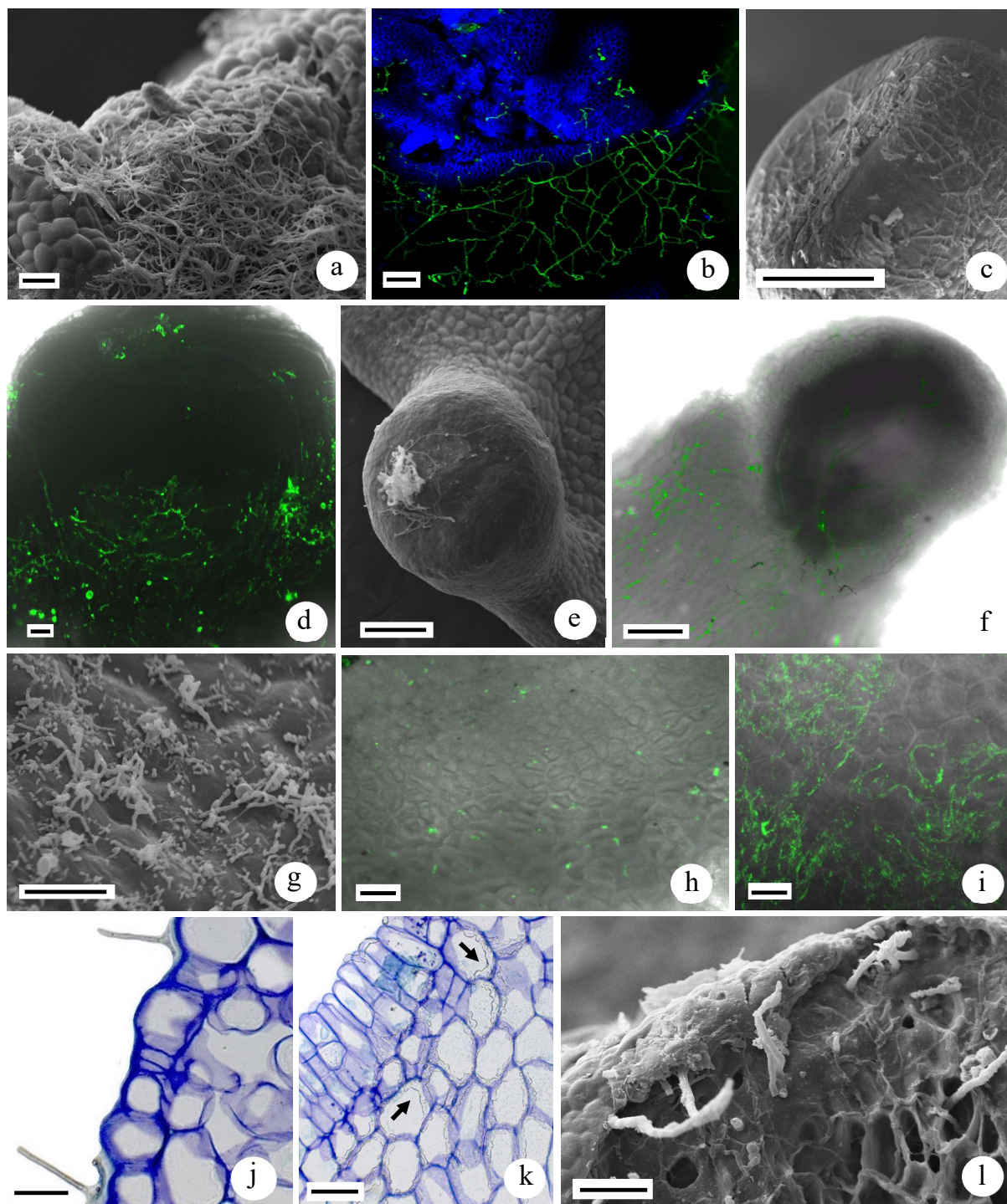


Figura 5—a-l. Hifas fúngicas nos NEFs de *P. cincinnata* em MEV (a, b, g, j, k, l), *P. picturata* (c, d, e, f) e *P. pohlii* (h, i). a, b. Hifas fúngicas sobre os bordos do NEF em MEV em a, e laser confocal em b (filamentos verdes, evidenciando hifas fúngicas); c, d. Vista superior dos NEFs peciulares em MEV em c, e laser confocal em d; e, f. Vista superior do NEF laminar em MEV em e, e laser confocal em f; g-i. Detalhe da superfície secretora de NEFs laminares em MEV em g, e laser confocal em h (oceolo basal) e i (oceolo laminar); j. Fungos sobre a epiderme não secretora dos bordos em microscopia óptica (MO); k, l. Hifas no interior do parênquima glandular, vistas em MO em k (setas) e MEV em l. Barras: a, d, h = 20 μm ; b, j, k = 50 μm ; c, e, f = 100 μm ; g, i = 10 μm ; j, k = 50 μm ; l = 30 μm .

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os novos registros apresentados das espécies de *Passiflora* para o Brasil, assim como as redescobertas para o estado do Maranhão, reforçam a necessidade de novas coletas para a ampliação do conhecimento florístico e dos status de conservação dessas espécies vegetais, principalmente em áreas prioritárias para a conservação, como o Parque do Jalapão e Parque do Mirador, onde ocorreram parte das coletas tratadas nesse estudo.

As glândulas foliares presentes em vários grupos tem sido objetos frequentes de estudos, não só pela importância taxonômica na identificação de espécies, mas também na compreensão dos mecanismos que envolvem as relações entre nectários extraflorais e formigas e outras como borboletas e *Passiflora*.

O estudo com NEFs tem demonstrado que arranjo anatômico observado em glândulas foliares de pecíolo e margem das folhas em *Passiflora* com epiderme secretora, parênquima diferenciado em duas áreas (parênquima nectarífero e subnectarífero e o suprimento vascular com predominância de floema), juntamente com a presença de formigas coletando o exsudato, o resultado positivo para açúcares com o uso da glicofita e a ocorrência de fungos na superfície secretora, são considerados como evidências da natureza nectarífera de glândulas peciolares e laminares em espécies de *Passiflora*.

Dada a importância dos NEFs nas defesas constitutivas entre *Passiflora* e borboletas Heliconiini, este trabalho apresenta dados importantes, que poderão auxiliar na compreensão dos mecanismos de evolução e adaptação desenvolvidos por esses organismos.

Estudos futuros com glândulas foliares usando abordagens distintas são relevantes dentro desse contexto; dessa forma, podemos citar algumas ideias de projetos futuros relacionados às glândulas foliares em *Passiflora*, como:

- Inventário das glândulas foliares em outras espécies de Passifloraceae *s.l.* como ferramenta na delimitação de espécies e complementação das descrições, dentro de superseções e séries específicas, como exemplo *Laurifoliae* e complexos de espécies;
- Identificação ou confirmação de glândulas foliares como NEFs, coléteres ou lipofílicas, para subsídio taxonômico e ecológico;
- Isolamento e identificação taxonômica dos fungos que se estabelecem e colonizam a superfície secretora nos NEFs;

- Análise dos mecanismos de síntese e liberação de néctar-extrafloral e aspecto ultra-estrutural dos NEFs;
- Determinação da composição, qualidade do néctar e dos aspectos morfoanatômicos dos NEFs entre morfotipos, espécies, e em relação a diferentes fatores e condições abióticas como clima e solo;
- Preferência de consumo de néctar pela fauna associada em virtude da localização, forma das glândulas e especificidade de táxons.

