

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 24/02/2019.



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Julio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

"O PAPEL DA ASSOCIAÇÃO ENTRE FORMIGAS E NECTÁRIOS
EXTRANUPCIAIS SOBRE O ÊXITO REPRODUTIVO DE
Tocoyena formosa (Rubiaceae)"

JULIANA VERÓNICA IZQUIERDO

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de Mestre
no programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica)
Área de concentração:
Morfologia e Diversidade Vegetal.

BOTUCATU-SP
2016



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Julio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**"O PAPEL DA ASSOCIAÇÃO ENTRE FORMIGAS E NECTÁRIOS
EXTRANUPCIAIS SOBRE O ÊXITO REPRODUTIVO DE
Tocoyena formosa (Rubiaceae)"**

JULIANA VERÓNICA IZQUIERDO

PROF. Dr. FELIPE W. AMORIM
ORIENTADOR

Dr. SANTIAGO BENITEZ-VIEYRA
CO-ORIENTADOR

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de Mestre
no programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica)
Área de concentração:
Morfologia e Diversidade Vegetal.

BOTUCATU-SP
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Izquierdo, Juliana Verónica.

O papel da associação entre formigas e nectários
extranupciais sobre o êxito reprodutivo de *Tocoyena formosa*
(Rubiaceae) / Juliana Verónica Izquierdo. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Felipe Wanderley Amorim

Capes: 20300000

1. Plantas melíferas. 2. Rubiácea. 3. Flores. 4. Néctar.
5. Nectários. 6. Formiga.

Palavras-chave: Herviboria foliar; Interação mutualística
defensiva; Néctar; Nectário pós-floral; *Tocoyena formosa*.

*A mis padres Jorge y Analía,
y a mis abuelos Joaquín y Liria,
por no dejarme bajar los brazos,
por apoyarme en todas mis decisiones y ser mi puerto seguro.
Gracias por enseñarme que todo nuevo día es una nueva oportunidad de superación y de ser feliz.*

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida durante o mestrado e pelo apoio financeiro no âmbito do Universal CNPq, processo: 484469/2013-14.

Ao Prof. Dr. Felipe W. Amorim pela orientação, discussões e conhecimentos transmitidos. Obrigada pela oportunidade de realizar o mestrado e a enorme paciência.

Ao Dr. Santiago Benitez-Vieyra pela coorientação, grande ajuda embora a distância e por me incentivar realizar pós-graduação fora do país, contudo o que significa.

Ao Prof. Dr. Leonardo Galetto pela colaboração com as análises químicas de néctar.

À Prof Silvia Rodrigues Machado pela oportunidade de trabalhar no Laboratório de Pesquisas em Anatomia Vegetal (LaPAV).

À Yve, pela ajuda com o trabalho de anatomia, principalmente pela paciência, conhecimentos e discussões. Obrigada por transmitir o amor pela anatomia vegetal.

Aos alunos do LEPI, Priscila, João, Leandro, Eduardo, Alan, Amanda, Caio pela convivência no laboratório, discussões e pela amizade. Principalmente a Priscila, João, Leandro e Eduardo pela ajuda no campo, sem vocês não ia conseguir.

Especialmente agradeço meus pais Jorge e Analía, e avós Joaquín e Liria pelo grande apoio na loucura de fazer mestrado longe de casa, pela confiança e por compreender a importância desta experiência.

À Priscila pela amizade, paciência e convivência no primeiro ano, o mais difícil para mim. À Maëla pela amizade e grande carinho. Muito obrigada as duas pelas conversas e loucuras compartilhadas, por me deixar ser parte das suas famílias.

À Lorena, Tayeme, Wand, Diana, Thais, Angélica, Fernanda, Camila e Talita obrigada pela amizade, conversas e momentos inesquecíveis, este ano não tivesse sido igual sem vocês. Camila e Talita obrigada também pela ótima convivência.

À Gio, Naty, Ary, Juli, Bianca, Flor e Day minhas queridas amigas que sempre me apoiaram e estiveram presentes nestes dois anos.

Emfin, a todas as pessoas que contribuíram e me acompanharam na realização do meu mestrado, muito obrigada!

ÍNDICE

RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO GERAL	3
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
CAPÍTULO I Glândula multivalente: estrutura do nectário floral em diferentes estágios reprodutivos de <i>Tocoyena formosa</i> (Rubiaceae)	9
RESUMO	10
INTRODUÇÃO	11
MATERIAL E MÉTODOS	12
RESULTADOS	14
DISCUSSÃO	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
FIGURAS	24
CAPÍTULO II Formigas e nectários extranupciais em <i>Tocoyena formosa</i> (Rubiaceae) > ecologia do néctare mutualismo defensivo	32
RESUMO	33
INTRODUÇÃO	34
MATERIAL E MÉTODOS	36
RESULTADOS	40
DISCUSSÃO	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

1 IZQUIERDO, J. V. **O PAPEL DA ASSOCIAÇÃO ENTRE FORMIGAS E NECTÁRIOS**
2 **EXTRANUPCIAIS SOBRE O ÊXITO REPRODUTIVO DE *TOCOYENA FORMOSA***
3 **(RUBIACEAE)**. 2017. 64p. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE
4 BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
5 MESQUITA FILHO”, BOTUCATU.

6
7 **RESUMO.** As plantas oferecem recurso alimentar a muitas espécies animais através de
8 diferentes estruturas. Dentre tais estruturas estão os nectários, que são glândulas
9 multicelulares especializadas na produção e secreção de néctar. Estes nectários podem ocorrer
10 tanto em partes reprodutivas como vegetativas, e podem ser florais ou extraflorais. Entretanto,
11 também podem ser classificados quanto a sua função em relação com a polinização, sendo do
12 tipo nupcial (quando sua função está relacionada à polinização) ou extranupcial (quando sua
13 função está relacionada à defesa). *Tocoyena formosa* (Rubiaceae) é uma espécie comum do
14 Cerrado, cujos nectários extraflorais são visitados por formigas. Entretanto, *T. formosa* tem
15 um único nectário que desempenha funções multivalentes, podendo ser tanto nupcial, quanto
16 extranupcial. Adicionalmente, a espécie também atrai formigas aos botões no início da fase de
17 desenvolvimento cujas corolas são abortadas. Neste contexto, para melhor compreender a
18 interação entre *T. formosa* e formigas, este trabalho teve como objetivos: a) caracterizar as
19 estruturas das distintas fases do nectário da espécie e a composição química de seus açúcares;
20 b) determinar se existe mudança estrutural e/ou química que seja correspondente com o papel
21 ecológico de cada estágio; c) analisar a dinâmica de secreção do néctar em cada um dos
22 estágios de atividade do nectário; e d) quantificar o investimento da planta no recurso para a
23 atração de formigas e o efeito destas no êxito reprodutivo. Nossos resultados indicam que o
24 nectário apresenta características de tecido secretor ativo durante todos os estágios, assim
25 como a presença de cristais de oxalato de cálcio no tecido secretor e em outras partes do fruto
26 que contribuem com a proteção contra herbívoros. Nós observamos que formigas diminuem
27 significativamente o dano foliar causado por herbívoros, porém não tiveram efeito sobre a
28 produção de sementes. Deste modo, *Tocoyena formosa* direcionaria os recursos obtidos na
29 fotossíntese para a secreção do néctar através de uma única estrutura secretora, e assim
30 protege as folhas e, indiretamente, os frutos e sementes em desenvolvimento. Destacamos que
31 este trabalho descreve pela primeira vez a ocorrência de atividade de secreção de néctar em
32 botões florais que perdem a corola de forma prematura, e aqui o denominamos de nectário
33 pré-floral.

34
35 **Palavras chaves:** anatomia, formigas, herbivoria foliar, mutualismo defensivo, nectário
36 extranupcial

1 IZQUIERDO, J. V. **THE ROLE OF THE ASSOCIATION BETWEEN ANTS AND**
2 **EXTRANUPTIAL NECTARIES ON THE FITNESS OF TOCOYENA FORMOSA**
3 **(RUBIACEAE)**. 2017. 64p. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE
4 BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
5 MESQUITA FILHO”, BOTUCATU.

6
7 **ABSTRACT.** Plants offer food resources to many animal species through different structures.
8 Among such structures are the nectaries, which are multicellular glands specialized in nectar
9 production and secretion. Nectaries can occur in both reproductive and vegetative parts, and
10 depending on the location can be regarded as floral or extra-floral. However, they can also be
11 classified according to their function in relation to pollination, being nuptial (when their
12 function is related to pollination) or extranuptial (when their function is related to the
13 defense). *Tocoyena formosa* (Rubiaceae) is a common species of the Cerrado vegetation,
14 whose extrafloral nectaries are visited by ants. However, *T. formosa* has a single nectary that
15 performs multivalent functions, which can be both nuptial and extranuptial. In addition, the
16 species also attracts ants to the flower buds at the beginning of the development, whose
17 corollas are prematurely aborted. In this context, to better understand the interaction between
18 *T. formosa* and ants, the main goals of this study were: a) to characterize the nectary structure
19 as well as the sugar chemical composition during the distinct stages of the organ; b) assess
20 whether nectary structure and nectar sugar composition present changes which correspond to
21 the ecological function of each stage of the nectary; c) analyze nectar secretion dynamics of
22 each phase of the nectary; and d) quantify plant investment in the attraction of ants and the
23 effectivity of ants in plant fitness. Our results indicate that the nectary presents characteristics
24 of active secretory tissue during all stages, as well as the presence of calcium oxalate crystals
25 in both secretory tissue and in other parts of the fruit, which may contribute to the fruit
26 protection against herbivores. We observed that ants significantly reduced leaf damage caused
27 by herbivores, but they had no effect on seed production. Hence, *Tocoyena formosa* direct the
28 resources obtained in the photosynthesis towards the secretion of the nectar through a single
29 secretory structure, and thus protect leaves against herbivores which indirectly may also
30 benefit fruit and seed production. We highlight that our study describes for the first time the
31 occurrence of nectar secretion activity in floral buds that lose the corolla prematurely, that we
32 named here as pre-floral nectary.

33
34
35
36 **Keywords:** anatomy, ants, defensive mutualism, extranuptial nectary, foliar herbivory

37

1 INTRODUÇÃO GERAL

2
3 Os nectários são estruturas secretoras multicelulares que secretam o néctar, *i.e.*, uma
4 solução aquosa com elevado conteúdo de açúcar, e possibilitam a interação das plantas com
5 diferentes animais que utilizam o néctar como importante recurso alimentar (Schmid, 1988;
6 Pacini & Nicolson, 2007). Os nectários são classificados de acordo com a sua localização na
7 planta, podendo ser de dois tipos: nectário floral (NF) ou nectário extrafloral (NEF). O
8 nectário floral é encontrado nos verticilos florais, como cálice e corola, ao passo que o
9 nectário extrafloral ocorre nas partes vegetativas da planta (Koptur, 2005). Os NEFs atraem
10 insetos, particularmente formigas para proteção contra herbívoros (de folhas, frutos ou
11 sementes), ainda que nem sempre sejam evidentes os benefícios de tal interação (Bentley,
12 1977a; Baker *et al.*, 1978; O'Dowd & Catchpole, 1983; Freitas *et al.*, 2000; Koptur, 2005;
13 Nepi, 2007; Pacini & Nicolson, 2007; Rico-Gray & Oliveira, 2007; Byk & Del-Claro, 2010;
14 Alma *et al.*, 2015; Alves-Silva & Del-Claro, 2016). Utilizando a mesma perspectiva, Schmid
15 (1988) classificou os nectários em reprodutivos (ocorrem nas partes reprodutivas das plantas)
16 e extrareprodutivos (ocorrem nas partes vegetativas). Entretanto, Delpino (1868) classificou
17 os nectários segundo a sua relação com a polinização e denominou aqueles nectários
18 diretamente relacionados com a polinização de nupciais, e aqueles não relacionados com a
19 polinização de extranupciais (Bernardello, 2007).

20 Entretanto, como o néctar produzido pelos dois tipos de nectários atrai diferentes tipos
21 de animais, a sua quantidade e qualidade pode variar e também ser influenciado pelo ambiente
22 (Koptur, 1994; Bernardello, 2007; Pacini & Nicolson, 2007). O néctar fornece principalmente
23 água, açúcares (sacarose, glucose e frutose) e aminoácidos (Lanza *et al.*, 1993; Blüthgen &
24 Fiedler, 2004; Koptur, 2005; Pacini & Nicolson, 2007; González-Teuber & Heil, 2009) aos
25 visitantes.

26 *Tocoyena formosa* (Cham. & Schlechtd.) K. Schum (Rubiaceae) está ente as 50
27 espécies lenhosas mais comuns e amplamente distribuídas no Cerrado (Ratter *et al.*, 2003). A
28 espécie é autoincompatível e, portanto, depende de polinizadores para a sua reprodução. Os
29 polinizadores são mariposas da família Sphingidae, em particular aquelas espécies com
30 aparelho bucal extremamente longo (> 6,0 cm). Esses insetos visitam as flores em busca do
31 néctar que é produzido na base do tubo da corola (Fig. 1A). A inflorescência de *T. formosa* é
32 do tipo dicásio de dicásio e as flores duram aproximadamente quatro dias e são protândricas.
33 Na primeira noite quando a flor abre (fase masculina) o pólen é apresentado de forma
34 secundária sobre os lóbulos estigmáticos que estão fechados (pseudoestame). A partir da
35 segunda noite até a senescência da flor (fase feminina), os lóbulos estigmáticos abrem-se e

1 ficam receptivos (Oliveira *et al.*, 2004). Como todas as espécies pertencentes à família
2 Rubiaceae, *T. formosa* possui ovário ínfero e o nectário encontra-se na parte superior, na base
3 da corola rodeando a base do estilete (Bernardello, 2007; Delprete & Jardim, 2012).

4 Nas inflorescências de *T. formosa*, entretanto, nem todas as flores são visitadas ou
5 efetivamente polinizadas. As flores que não foram visitadas, ou que não receberam pólen de
6 outros indivíduos perdem a corola e o nectário continua ativo secretando néctar. Essa etapa
7 constitui o estágio pós-floral, no qual o nectário assume uma função extranupcial (Fig. 1B, C).
8 Já as flores que foram polinizadas com pólen de outros indivíduos, perdem a corola e o
9 nectário permanece ativo acompanhando o desenvolvimento do fruto até seu amadurecimento.
10 Neste caso, o nectário passa a constituir o estágio de atividade pericarpial (Fig. 1B, Santos &
11 Del-Claro, 2001; Del-Claro *et al.*, 2013; Falcão *et al.*, 2014). Esses nectários florais que ainda
12 continuam ativos depois da floração atraem diferentes espécies de formigas que estabelecem
13 com *T. formosa* uma interação do tipo mutualismo defensivo (Fig. 1D, E). Este tipo de
14 interação ocorre porque a planta oferece uma importante fonte de energia em troca de
15 proteção tanto de folhas como de frutos e sementes (Bentley, 1977b; Koptur, 1992; Byk &
16 Del-Claro, 2011). A interação formiga-NEFs está amplamente distribuída em zonas
17 temperadas e tropicais (Koptur, 1992), o que inclui o Cerrado (Oliveira *et al.*, 1987; Oliveira
18 & Leitão-Filho, 1987; Belchior *et al.*, 2016). Os NEFs têm grande importância na defesa das
19 plantas contra diferentes tipos de herbívoros (Koptur, 1984; Oliveira *et al.*, 1987; Del-Claro *et*
20 *al.*, 1996; Nascimento & Del-Claro, 2010; Del-Claro *et al.*, 2013; Belchior *et al.*, 2016).

21 Em *T. formosa*, contudo, ainda existe um outro estágio do nectário que também atrai
22 formigas. Este deriva da abscisão prematura da corola durante a fase inicial de
23 desenvolvimento dos botões florais, antes da abertura das primeiras flores na inflorescência.
24 A presença destes nectários permite o recrutamento de formigas, que pode atuar na proteção
25 de *T. formosa* contra herbívoros, já que sua aparição é anterior à floração (obs. pessoal).
26 Mesmo assim, o papel ecológico deste tipo de nectário ainda é desconhecido.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em regiões tropicais e temperadas é comum encontrar diferentes espécies de plantas interagindo com formigas através de interações do tipo mutualismo de defesa (Bronstein, 1998; Rosumek *et al.*, 2009). Essa interação é mediada principalmente pela ocorrência de nectários extraflorais (Elias & Gelband, 1975, Bentley, 1977b, Baker, Opler & Baker, 1978, Koptur, 1984, Del-Claro *et al.*, 1996, Alves-Silva & Del-Claro, 2016a). No Cerrado o mutualismo formiga-planta está amplamente distribuído (Oliveira & Leitao-Filho, 1987), e ocorre principalmente para a proteção de folhas, frutos e sementes em desenvolvimento (Belchior *et al.*, 2016). Nesse trabalho nós realizamos uma abordagem ampla sobre o biologia e ecologia do nectário extraflorais de *Tocoyena formosa* em seus distintos estágios, e contribuimos com a descrição de um tipo de nectário ainda não conhecido, o nectário pré-floral.

No **capítulo I** demonstramos anatomicamente que o nectário presente em *T. formosa* durante toda a etapa reprodutiva possui características de um tecido secretor funcional, e que sofre modificações estruturais que acompanham cada um dos estágios, sendo, portanto, um órgão multivalente. A presença de um órgão multifuncional também poderia estar relacionada com a economia de energia na produção de novas estruturas relacionadas à produção de néctar e ao mutualismo defensivo contra atividade de herbívoros (Keeler, 1981). As modificações ocorrem em todos os componentes do nectário: a cutícula sofre espessamento quando o nectário fica exposto ao ambiente e é acompanhado pela deposição de material cuticular nas camadas do parênquima subjacente à epiderme formando um epitélio cuticular, que é uma característica de nectários expostos ao ambiente (Evert, 2006). Também encontramos a formação de falanges cuticulares que acompanharam o crescimento do nectário durante a expansão do fruto. Na epiderme secretora dos estágios floral, pós-floral e pericarpial existem estômatos encarregados da externalização do néctar e também células com projeções da parede, o que permite supor que o néctar pode ser reabsorvido (Stpiczyńska *et al.*, 2012). Entretanto o nectário pré-floral não apresenta tais estômatos, o que levaria pensar numa secreção por lise celular (Vesprini *et al.* 1999). O nectário encontra-se rodeado por feixes vasculares compostos predominantemente por floema, o que permite sugerir que grande quantidade de açúcares que compõem o néctar, o que pôde ser corroborado nas análises do Capítulo 2. Os testes histoquímicos mostram que além de açúcares, o néctar pode ser constituído por outras substâncias como lipídios, alcaloides, proteínas que podem influenciar na interação da planta com os visitantes do nectário (Fahn 1979, 2000; Pacini *et al.* 2003). Também observamos que ao longo do desenvolvimento do fruto ocorre o aumento da quantidade de cristais de oxalato de cálcio, tanto no disco nectarífero como no tecido do fruto, que contribuiria como barreira mecânica contra os predadores de sementes como também para que o nectário não seja danificado, e assim continuar secretando néctar ao longo do desenvolvimento do fruto (Franceschi & Nakata, 2005).

No **Capítulo 2**, pela primeira vez analisamos a dinâmica secreção do néctar nos distintos estágios dos nectários de uma planta considerando efeito das remoções sucessivas. O padrão de secreção é similar ao observado em estudo prévios em outras espécies (Bentley, 1977a, Bentley, 1977b, Gaffal, 2012, Aranda-Rickert et al., 2014), o qual corresponde com maior atividade dos nectários durante a fase inicial de desenvolvimento do fruto. Essa fase é crítica para o sucesso reprodutivo da planta, visto que é período mais vulnerável de desenvolvimento. Por outro lado, houve uma diminuição substancial da secreção de néctar no período no qual o fruto estava completamente desenvolvido, porém precedente à maturação e dispersão. A planta, portanto, investe energia na produção de néctar, e conseqüente atração de formigas durante todo o período de desenvolvimento do fruto (Falcão *et al.* 2014; Jones & Koptur 2015). Porém deixa de produzir o néctar quando os frutos estão maduros de forma a não interferir no processo de consumo do fruto e dispersão de sementes (Dáttilo *et al.*, 2016). Assim como observado em vários estudos anteriores em outras espécies, a associação de *T. formosa* com formigas é bastante eficiente contra a atividade de herbívoros foliares (Elias & Gelband, 1975, Rosumek *et al.*, 2009, Nascimento & Del-Claro, 2010, Del-Claro *et al.*, 2013,). Entretanto, as formigas não são efetivas na proteção das sementes contra a atividade de predadores. Possivelmente, isso ocorre pela separação espacial de utilização do fruto entre formigas e predadores (Bentley, 1977b, Alma *et al.*, 2015).

Ainda que não tenha havido mudança na composição química dos açúcares presentes no néctar entre os distintos estágios dos nectários, análises adicionais (ora em curso) são necessárias para avaliar se existem mudanças em relação quantidade e composição de aminoácidos presentes no néctar de *T. formosa*, o que refletiria o investimento na proteção das folhas, que estão diretamente relacionadas com a quantidade de fotoassimilados que serão utilizados para desenvolvimento dos frutos, assim como para realizar os diferentes processos necessários para a sobrevivência da planta (Mooney, 1972).

A presença dos nectários pré-florais, que são descritos pela primeira vez nesse estudo, sugere que a formigas têm um papel muito importante desde o início da fase reprodutiva, quando a planta está rebrotando e as folhas estão na fase mais vulnerável do desenvolvimento. A queda prematura da corola do botão em fase inicial de desenvolvimento, que dá origem a este nectário, possivelmente é causada pelo mau funcionamento ou baixa quantidade de coléteres na face adaxial das sépalas, ou mesmo pela posição que o botão floral ocupa no dicásio de dicásio, que levaria a uma restrição espacial que limita o crescimento e desenvolvimentos dos botões adjacentes.

Portanto, o presente estudo reúne aspectos anatômicos e ecológicos que permitem compreender melhor a interação mutualística planta-formiga no Cerrado, particularmente a interação facultativa entre *Tocoyena formosa* e diferentes espécies de formigas, o que sugere que

pressões seletivas contra a atividade de herbívoros podem originar estruturas, tais como o nectário pré-floral e o nectário multivalente, que vão além daquelas convencionalmente conhecidas.

REFERÊNCIAS

- Alma, A.M., Pol, R.G., Pacheco, L.F., Vázquez, D.P. (2015) No Defensive Role of Ants throughout a Broad Latitudinal and Elevational Range of a Cactus. *Biotropica*.
- Alves-Silva, E., Del-Claro, K. (2016a) On the inability of ants to protect their plant partners and the effect of herbivores on different stages of plant reproduction. *Austral Ecology*, **41**(3), 263-272.
- Alves-Silva, E., Del-Claro, K. (2016b) Wasps are better plant-guards than ants in the extrafloral nectaried shrub *Ouratea spectabilis* (Ochnaceae). *Sociobiology*, **63**(1), 705-711.
- Alves-Silva, E., Barônio, G.J., Torezan-Silingardi, H.M., Del-Claro, K. (2013) Foraging behavior of *Brachygastra lecheguana* (Hymenoptera: Vespidae) on *Banisteriopsis malifolia* (Malpighiaceae): Extrafloral nectar consumption and herbivore predation in a tending ant system. *Entomological Science*, **16**(2), 162-169.
- Aranda-Rickert, A., Diez, P., Marazzi, B. (2014) Extrafloral nectar fuels ant life in deserts. *AoB plants*, **6**, plu068.
- Baker, H.G., Opler, P.A., Baker, I. (1978) A comparison of the amino acid complements of floral and extrafloral nectars. *Botanical Gazette*, 322-332.
- Belchior, C., Sendoya, S.F., Del-Claro, K. (2016) Temporal Variation in the Abundance and Richness of Foliage-Dwelling Ants Mediated by Extrafloral Nectar. *PloS one*, **11**(7), e0158283.
- Bentley, B.L. (1977a) Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 407-427.
- Bentley, B.L. (1977b) The Protective Function of Ants Visiting the Extrafloral Nectaries of *Bixa Orellana* (Bixaceae). *Journal of Ecology*, **65**(1), 27-38.
- Bronstein, J.L. (1998) The Contribution of Ant-Plant Protection Studies to Our Understanding of Mutualism1. *Biotropica*, **30**(2), 150-161.
- Dáttilo, W., Aguirre, A., De la Torre, P.L., Kaminski, L.A., García-Chávez, J., Rico-Gray, V. (2016) Trait-mediated indirect interactions of ant shape on the attack of caterpillars and fruits. *Biology Letters*, **12**(8).
- Del-Claro, K., Berto, V., Réu, W. (1996) Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). *Journal of Tropical Ecology*, **12**(06), 887-892.
- Del-Claro, K., Guillermo-Ferreira, R., Zardini, H., Almeida, E.M., Torezan-Silingardi, H.M. (2013) Ants visiting the post-floral secretions of pericarpial nectaries in *Palicourea rigida* (Rubiaceae) provide protection against leaf herbivores but not against seed parasites. *Sociobiology*, **60**(3), 217-221.
- Elias, T.S., Gelband, H. (1975) Nectar: Its Production and Functions in Trumpet Creeper. *Science*, **189**(4199), 289-291.
- Evert, R.F. (2006) *Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development* John Wiley & Sons.
- Fahn, A. (1979) *Secretory tissues in plants*, London: Academic Press.
- Fahn, A. (2000) Structure and function of secretory cells. *Advances in Botanical Research*, **31**, 37-75.
- Falcão, J., Dáttilo, W., Izzo, T. (2014) Temporal variation in extrafloral nectar secretion in different ontogenic stages of the fruits of *Alibertia verrucosa* S. Moore (Rubiaceae) in a Neotropical savanna. *Journal of Plant Interactions*, **9**(1), 137-142.
- Franceschi, V.R., Nakata, P.A. (2005) Calcium Oxalate in plants: Formation and Function. *Annual Review of Plant Biology*, **56**(1), 41-71.
- Gaffal, K.P. (2012) How common is the ability of extrafloral nectaries to produce nectar droplets, to secrete nectar during the night and to store starch? *Plant Biology*, **14**(5), 691-695.

- Jones, I.M., Koptur, S. (2015) Dynamic extrafloral nectar production: The timing of leaf damage affects the defensive response in *Senna mexicana* var. *chapmanii* (Fabaceae). *American journal of botany*, **102**(1), 58-66.
- Keeler, K.H. (1981) Function of *Mentzelia nuda* (Loasaceae) postfloral nectaries in seed defense. *American journal of botany*, 295-299.
- Koptur, S. (1984) Experimental evidence for defense of *Inga* (Mimosoideae) saplings by ants. *Ecology*, 1787-1793.
- Mooney, H.A. (1972) The Carbon Balance of Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **3**, 315-346.
- Nascimento, E.A., Del-Claro, K. (2010) Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **205**(11), 754-756.
- Oliveira, P.S., Leitao-Filho, H.F. (1987) Extrafloral nectaries: their taxonomic distribution and abundance in the woody flora of cerrado vegetation in Southeast Brazil. *Biotropica*, 140-148.
- Pacini, E., Nepi, M., Vesprini, L.J. (2003) Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution*, **238**(1), 7-21.
- Rosumek, F.B., Silveira, F.A., Neves, F.d.S., Barbosa, N.P.d.U., Diniz, L., Oki, Y., Pezzini, F., Fernandes, G.W., Cornelissen, T. (2009) Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia*, **160**(3), 537-549.
- Santos, J.C., Del-Claro, K. (2001) Interactions between ants, herbivores and extrafloral nectaries in *Tocoyena formosa* (Cham. & Schlechtd.) K. Schum.(Rubiaceae) in Cerrado. *Revista Brasileira de Zoociências*, **3**(1), 35-44.
- Stpiczyńska, M., Nepi, M., Zych, M. (2012) Secretion and composition of nectar and the structure of perigonal nectaries in *Fritillaria meleagris* L. (Liliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **298**(5), 997-1013.
- Vesprini, J.L., Nepi, M., Pacini, E. (1999) Nectary Structure, Nectar Secretion Patterns and Nectar Composition in Two *Helleborus* Species. *Plant biol (Stuttg)*, **1**(05), 560-568.