



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO DE RECURSOS NATURAIS  
INSTITUTO DE BIOLOGIA



**POLINIZAÇÃO POR FORMIGAS EM *Microstachys serrulata*  
(MART. & ZUCC.) MÜLL. ARG. (EUPHORBIACEAE) NO  
CERRADO**

**ITALO ALEIXO DE FARIA**

**2021**

Italo Aleixo de Faria

**POLINIZAÇÃO POR FORMIGAS EM *Microstachys serrulata*  
(MART. & ZUCC.) MÜLL. ARG. (EUPHORBIACEAE) NO  
CERRADO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Orientadora

Helena Maura Torezan-Silingardi

Uberlândia – MG

Agosto/2021

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F224 2021	<p>Faria, Ítalo Aleixo de, 1987- POLINIZAÇÃO POR FORMIGAS EM <i>Microstachys serrulata</i> (MART. &amp; ZUCC.) MÜLL. ARG. (EUPHORBIACEAE) NO CERRADO [recurso eletrônico] / Ítalo Aleixo de Faria. - 2021.</p> <p>Orientadora: Helena Maura Torezan Silingardi. Coorientador: Hipólito Ferreira Paulino Neto. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Modo de acesso: Internet. Disponível em: <a href="http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.396">http://doi.org/10.14393/ufu.di.2021.396</a> Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Ecologia. I. Silingardi, Helena Maura Torezan, 1968- , (Orient.). II. Paulino Neto, Hipólito Ferreira ,1976- , (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. IV. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 574</p>
--------------	--

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
 Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de  
 Recursos Naturais

Av. Pará, 1720, Bloco 2D, Sala 26 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38405-320  
 Telefone: (34) 3225-8641 - www.ppgeco.ib.ufu.br - ecologia@umuarama.ufu.br



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ecologia e Conservação de Recursos Naturais				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, número 304, COPEC				
Data:	vinte e cinco de agosto de dois mil e vinte e um	Hora de início:	14:02	Hora de encerramento:	18:10
Matrícula do Discente:	11912ECR005				
Nome do Discente:	Italo Aleixo de Faria				
Título do Trabalho:	Polinização por formigas em <i>Microstachys serrulata</i> (Mart.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) no Cerrado				
Área de concentração:	Ecologia				
Linha de pesquisa:	Ecologia comportamental e de interações				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Riqueza e distribuição de interações entre plantas, formigas e herbívoros trofobiontes em vegetação de Cerrado				

Reuniu-se por webconferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, assim composta pelos doutores: Maria Alice dos Santos Alves - UERJ; Diana Salles Sampaio - UFU e Helena Maura Torezan Silingardi - UFU, orientadora do candidato.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Helena Maura Torezan Silingardi, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado(a).

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Helena Maura Torezan Silingardi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 27/08/2021, às 18:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Maria Alice dos Santos Alves, Usuário Externo**, em 30/08/2021, às 17:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Diana Salles Sampaio, Professor(a) do Magistério Superior**, em 30/08/2021, às 17:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2942142** e o código CRC **BEE34267**.

---

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar eu gostaria de agradecer aos professores Dra. Helena Maura Torezan Silingardi e Dr. Kleber Del Claro que me incentivaram e me mantiveram motivado para continuar trilhando esse caminho da ciência, em especial a professora Helena Maura, minha orientadora, que deu todo o apoio necessário para que eu chegasse ao fim dessa dissertação e que nunca abriu mão de fazer quantas reuniões fossem necessárias para nos tirar do sufoco.

Um agradecimento particularmente especial a minha família que em momento algum deixou de me apoiar nessa carreira e me deu todo aporte necessário para eu continuar nessa jornada.

Agradecer nome por nome cada colega que participou direta ou indiretamente do presente trabalho seria uma tarefa árdua e poderia vir a cometer injustiças ao esquecer de alguém, mas meus mais sinceros agradecimentos a cada um de vocês, aos amigos do LECl, aos amigos da pós-graduação e aos amigos externos ao círculo da biologia, pois desde o ato de sanar uma dúvida, estudar juntos ou aquela frase motivacional dita na hora certa, são sempre de extrema ajuda.

Agradeço também ao Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, por disponibilizar à área para nossos estudos, a Universidade Federal de Uberlândia e ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, que nos dão as condições necessárias para nos profissionalizarmos e seguirmos em frente com a carreira científica.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e desde já meus sinceros agradecimentos as agências de fomento que ainda mantém a ciência no país funcionando.

## ÍNDICE

Resumo .....	VI
Abstract.....	VII
1 Introdução.....	1
2 Materiais e Métodos.....	5
2.1 Área do Estudo.....	5
2.2 Espécie Vegetal.....	6
2.3 Fenologia.....	7
2.4 Biologia Floral .....	8
2.5 Visitantes Florais .....	8
2.6 Biologia Reprodutiva e o Impacto das Formigas na Polinização e Frutificação.....	9
2.7 Análise de Dados.....	12
3 Resultados.....	13
3.1 Fenologia.....	13
3.2 Biologia Floral .....	16
3.3 Visitantes Florais.....	16
3.4 Biologia Reprodutiva e o Impacto das Formigas na Polinização e Frutificação.....	20
4 Discussão.....	22
5 Referências Bibliográficas.....	27

## Resumo

A zoofilia ou polinização biótica é muito frequente e mostra associações mutualísticas entre flores e insetos ou vertebrados. Os polinizadores mais frequentes são os insetos, principalmente da ordem Hymenoptera e em especial as abelhas. As formigas são conhecidas como predadoras, coletoras de néctar extrafloral e dispersoras de sementes. Entre elas apenas os indivíduos reprodutivos são alados e muitas espécies possuem a glândula metapleurale que produz um conjunto de substâncias capaz de inviabilizar quimicamente os grãos de pólen. Entretanto, algumas espécies que não possuem essa glândula podem atuar como polinizadoras eficientes em plantas herbáceo-arbustivas, sobretudo de ambientes áridos. Nossos objetivos foram investigar a biologia e a ecologia da polinização de *Microstachys serrulata* (Mart. & Zucc.) Müll Arg. (Euphorbiaceae), uma planta de pequeno porte comum no Cerrado do Brasil central, com pequenas flores inconspícuas e sem odor, e ainda sem estudos quanto à sua biologia reprodutiva. As plantas foram observadas na reserva ecológica do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, em duas fitofisionomias: campo sujo e cerrado *sensu stricto*. Encontramos cinco ordens de insetos visitantes florais e as formigas foram os principais polinizadores. Apesar de outros insetos atuarem como polinizadores secundários, a maior abundância e o comportamento das formigas, em especial da espécie *Camponotus crassus*, faz com que elas isoladamente garantam uma geração de frutos tão efetiva quanto o grupo controle, que recebeu visitação natural realizada livremente pelos animais. Embora ocorra a produção de frutos sem a necessidade de polinização, esse número é muito baixo se comparado com a polinização biótica. A relação pólen-óvulo de Cruden (1977) indica que a espécie   autógama facultativa e a baixa frutificação na ausência de pólen e na autopolinização espontânea encontrada no presente estudo, reforçam a necessidade de polinização biótica. Nossos resultados mostram que no sistema estudado as formigas foram os principais polinizadores e diretamente responsáveis pela manutenção da planta no ambiente. Dessa forma, sugerimos que mais estudos sejam feitos em ambientes áridos como os encontrados no cerrado, pois a quantidade de associações mutualísticas entre formigas e suas flores ainda é subestimada.

Palavra-chave: Fenologia; Biologia Floral; Mirmecofilia; Brasil.



## Abstract

Zoophily or biotic pollination is very frequent and presents specific mutualistic associations between flowers and insects or vertebrates. Insects are the most important pollinators, mainly those of the order Hymenoptera and especially the bees. Ants are known as predators, collectors of extrafloral nectar, seeds dispersers, only the reproductive ants are winged, and many species have the metapleural gland that produce substances able to chemically disturb pollen viability. Nevertheless, some ant species without this gland can act as effective pollinators in shrubs and herbs of arid environments. Our objectives were to investigate the pollination ecology of *Microstachys serrulata* (Mart. & Zucc.) Müll Arg. (Euphorbiaceae), a common shrub in Brazilian savanna, with small, inconspicuous flowers, odorless, and without studies about its reproductive biology. . Plants were observed in the ecological reserve of Clube de Caça e Pesca Itororoó de Uberlândia, in two phytophysiognomies: ‘campo sujo’ and ‘cerrado *sensu stricto*’. We found five orders of insect visiting the flowers and ants were the main pollinators. The biggest abundance of ants, especially *Camponotus crassus*, ensured a fructification as effective as natural pollination, which visitation carried out freely by the animals. Although a minor fructification can happen after apomixis (in the absence of pollen) and eventual pollination by distinct insects, is not enough to maintain the species in the environment. The pollen-ovule ratio observed and compared with Cruden (1977) indicates that the species is facultatively autogamous and the low fructification observed after apomixis and spontaneous self-pollination reinforces the need of biotic pollination. The studied system presents ants as the main pollinators directly responsible to maintain the plant population in the environment. Therefore, we suggest that more studies need to be made in arid environments such as those found in Brazilian savanna, to better explore the still underestimated mutualistic associations between ants and flowers.

Keywords: Phenology; Floral Biology; Brazil; Myrmecophily;

## 1. Introdução

A polinização é uma das relações mutualísticas mais importantes da natureza. Estima-se que cerca de 75% das plantas cultivadas no mundo e 94% das plantas de comunidades tropicais sejam polinizadas por animais (Klein *et al.* 2007; Ollerton *et al.* 2011). A savana brasileira é conhecida como Cerrado e apresenta mais de 7.000 espécies de plantas, com cerca de 40% de sua flora composta por espécies endêmicas, além disso há espécies já descritas de interesse comercial, medicinal e ornamental (Klink and Machado 2005). Aproximadamente 86% das espécies dependente de polinização biótica para frutificar (Silberbauer-Gottsberger and Gottsberger, 1988), por isso a manutenção dos polinizadores é um fator essencial para a composição florística desse bioma (Deus and Oliveira 2016), que já perdeu 46% de sua área nativa (Strassburg *et al.* 2017). Considerando a rápida perda de áreas naturais e a grande quantidade de espécies endêmicas, o Cerrado é apontado como um dos hotspots para conservação ambiental (Myers *et al.* 2000). A falta de polinizadores causa a queda na frutificação, sobretudo das espécies com sistema de auto incompatibilidade atuante (Barros 2015). O Cerrado tem como principais polinizadores as abelhas (Martins and Batalha 2006), mas além delas outros animais podem atuar na polinização como: besouros, borboletas, moscas, aves, morcegos e até mesmo as formigas (Gottsberger 2012; Torezan-Silingardi, 2012; Del-Claro *et al.*, 2019).

As formigas são um dos grupos mais abundantes de insetos da Terra (Wilson and Holldobler 2005). Sua grande riqueza de espécies e abundância de indivíduos foram impulsionadas pelas interações com as plantas, confirmadas por registros fósseis desde o Cretáceo (Rico-Gray and Oliveira 2007). A partir de então, as formigas se envolveram tanto em relações antagônicas, como a herbivoria (Herz *et al.* 2007) e a repulsão dos polinizadores

(Assunção *et al.* 2014), quanto em relações mutualísticas, onde oferecem defesa em troca de alimentação ou abrigo (Frederickson *et al.* 2005; González-Teuber *et al.* 2012; Del-Claro *et al.* 2016) ou podem dispersar sementes (Andersen 1988; Giladi 2006). Plantas podem utilizar os nectários extraflorais como fonte de atração para formigas, e assim ter uma menor visitação desses insetos nas flores (Wagner and Kay 2002). Em alguns casos, a interação entre formigas e flores pode ser antagônica (Assunção *et al.* 2014), mas em outros as formigas podem atuar até mesmo como polinizadoras eficientes (Delnevo *et al.*, 2020; Hickman, 1974a; Vega *et al.*, 2014), especialmente em espécies com flores pequenas e pouco atrativas para outros visitantes florais (Ibarra-Isassi and Sendoya 2016; Del-Claro *et al.* 2019). Essas espécies apresentam um sistema de baixa energia, com flores inconspícuas, plantas de pequeno porte com inflorescências próximas ao solo, poucos óvulos por ovário, baixa produção de pólen e néctar, sem cores chamativas e em ambientes secos e áridos (Hickman 1974b), como as savanas.

Os trabalhos de polinização em áreas naturais são comumente focados em espécies maiores e chamativas, uma vez que entender como funciona a polinização de plantas pequenas é mais desafiador. Plantas com poucos atrativos florais acabam por atrair menos insetos e tendo uma guilda de polinizadores genéricos (Silberbauer-gottsberger and Gottsberger 1988), muitas vezes raros e difíceis de serem observados, ou produzem frutos sem a necessidade de polinização como na apomixia (Goldenberg and Shepherd 1998) ou cleistogamia (Anderson 1980). Além disso, como é o ovário quem produz compostos que induzem a atração e o direcionamento do tubo polínico (Krichevsky *et al.* 2007), plantas com estruturas florais pouco desenvolvidas podem estar sujeitas a alguns tipos raros de polinização, como o desenvolvimento do tubo polínico a partir da antera, passando pelo filete, até atingir o ovário (Philbrick 1984).

A família Euphorbiaceae apresenta mais de 340 gêneros e 8.000 espécies no mundo e ampla distribuição nacional (Secco *et al.* 2012), desde espécies com extrema importância

comercial, como a mandioca (gênero *Manihot*) e a seringueira (gênero *Hevea*) (Schultes 1987), até espécies inconspícuas e pouco estudadas (Pscheidt and Cordeiro 2012; Secco *et al.* 2012). O gênero *Microstachys* tem cerca de 24 espécies de distribuição pantropical, com maior riqueza de espécies na América do Sul, especialmente no Brasil com 15 espécies descritas, mas alguns exemplares também podem ser encontrados na África, Ásia e Oceania (Esser 1998, 2012; Govaerts *et al.* 2000; Silva & Esser 2011; BFG 2015; Santos *et al.* 2018). O gênero *Microstachys* é conhecido por 15 espécies, e no Cerrado apresenta espécies de hábito de vida semi-arbustivo e presença de glândulas nas folhas (Esser 2012; Sakugawa *et al.* 2019), características que podem ter estreitado sua relação com as formigas. Várias espécies possuem estruturas florais reduzidas (Pscheidt and Cordeiro 2012), que se enquadram num sistema de baixa energia e cujas inflorescências são comumente visitadas por formigas (Hickman 1974b). Apesar disso, não encontramos estudos sobre a biologia reprodutiva e ecologia da polinização do gênero. A espécie *Microstachys serrulata* (Mart & Zucc.) Müll (Euphorbiaceae) é um típico sub-arbusto de pequeno porte encontrado na Bolívia, Paraguai e Brasil (SiBBr, 2021) tanto em áreas sombreadas do cerrado *sensu stricto*, quanto em áreas expostas ao sol no campo sujo (Pscheidt and Cordeiro 2012).

Considerando essas informações, o objetivo geral do presente estudo foi investigar a reprodução de *M. serrulata* no Cerrado por meio da investigação da fenologia da espécie no cerrado *sensu stricto* e no campo sujo, da observação dos polinizadores e do estudo da ecologia da polinização e do sistema reprodutivo. A Tabela 1 apresenta cada objetivo específico detalhando suas hipóteses e premissas, a forma de abordagem e indica a figura que mostra seus resultados.

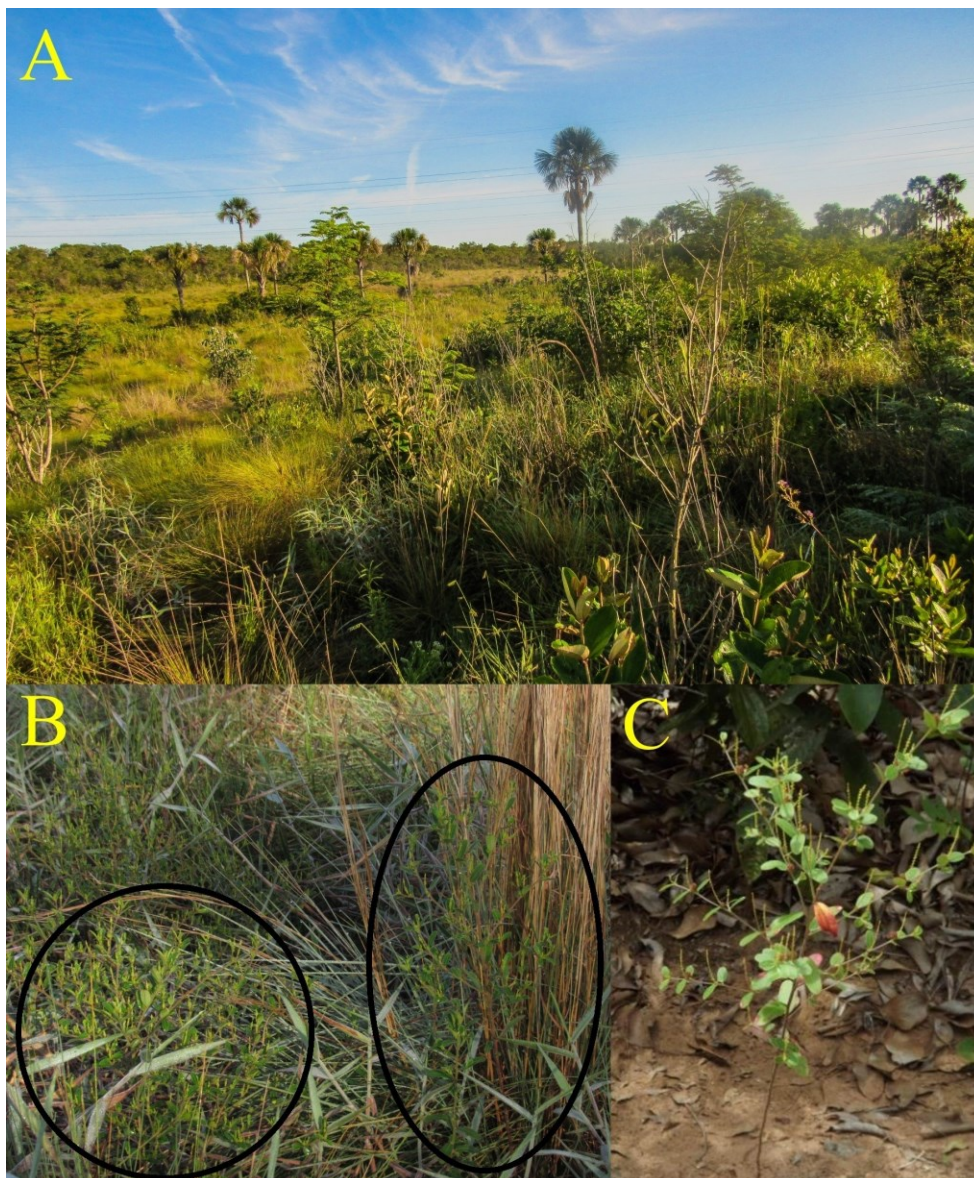
**Tabela 1:** Objetivos específicos, hipóteses seguidas das suas premissas, forma de abordagem e tabelas e figuras relacionadas.

Objetivos específicos	Hipóteses e premissas	Abordagem	Resultado
Investigar a fenologia de <i>Microstachys serrulata</i>	h1: A floração ocorrerá na estação chuvosa nas duas fitofisionomias, seguindo o padrão de grande parte das plantas do Cerrado, em especial as herbáceas (Batalha and Mantovani 2000; Batalha and Martins 2004).	Estatística circular e testes de Rayleigh	Figura 3
Descobrir quem são os visitantes florais e se eles são os mesmos no cerrado <i>sensu stricto</i> e no campo sujo	h2: A guilda de visitantes florais será composta por insetos de pequeno porte de diversas ordens, como previsto para plantas pequenas com pouca produção de atrativos para polinizadores (Silberbauer-Gottsberger and Gottsberger 1988). h3: A composição dos visitantes florais não varia entre os dois ambientes, já que devemos encontrar uma guilda de visitantes não especializados nas duas fitofisionomias adjacentes. h4: As formigas são os visitantes mais abundantes, pois a flor é discreta, com poucos atrativos e os ramos são rentes ao solo.	Coleta e identificação dos visitantes;  Teste Chi-Quadrado	h2: Figura 5. h3: Figura 5 h4: Figuras 5 e 6.
Observar se a polinização de <i>Microstachys serrulata</i> é dependente de animais ou não	h5: A polinização biótica ou zoofilia é necessária para a frutificação da espécie, já que a inflorescência amarelo-esbranquiçada contrasta com as folhas verdes e fica facilmente visível para insetos próximos (Martins <i>et al.</i> 2021). Além disso, foram encontrados grãos de pólen viáveis em observações prévias no laboratório, e a apomixia é descrita apenas em poucas espécies da família Euforbiaceae (Moog <i>et al.</i> 2002; Bressan <i>et al.</i> 2013).	GLM e Tukey	Figura 8
Determinar se ocorre a polinização por formigas	h6: As formigas são polinizadoras efetivas de <i>M. serrulata</i> , por se tratar de um sistema de baixa energia (Hickman 1974b) e com muita visitação de formigas.	GLM e Tukey	Figuras 7 e 8

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Área de Estudo

O estudo foi desenvolvido entre janeiro de 2017 a fevereiro de 2020, na reserva natural do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU: 48°17'O; 18°58'S) de Uberlândia MG. A reserva está dentro do bioma Cerrado (Figura 1), com clima sazonal e duas estações bem definidas: quente/chuvosa e fria/seca (Velasque and Del-Claro 2016). A reserva apresenta quatro principais fitofisionomias, a vereda com variações no padrão de drenagem do solo, na maior parte das vezes saturado, e que pode ser identificada pela presença do buriti (*Mauritia flexuosa*) entre uma densa vegetação herbácea (Araújo et al., 2002). O campo limpo seguido pelo campo sujo já na parte mais elevada do terreno onde a drenagem é mais efetiva (Tannus and Assis 2004), e o cerrado *sensu stricto* que possui vegetação savânica e é caracterizado por um estrato arbóreo-arbustivo com menor presença de gramíneas (Oliveira and Marquis, 2002; Júnior and Haridasan, 2005).



**Figura 1.** Área de estudo na reserva do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, MG, Brasil. A) Vista da vegetação do campo sujo com o cerrado ao fundo; B) *Microstachys serrulata* (indivíduos destacados nos círculos) ocorrendo no campo sujo e C) no cerrado *sensu stricto*.

## 2.2 Espécie vegetal

*Microstachys serrulata* (Mart. & Zucc.) Müll. Arg (Euphorbiaceae) é uma espécie de pequeno porte (Figura 1B e 1C), com média de 70cm e apresenta ampla distribuição no Brasil e em parte do Paraguai (Pscheidt and Cordeiro 2012). É uma planta monóica, com flores monoclamídeas apétalas, pequenas e inconspícuas (Webster 1994; Esser 2012), de cor pálido

amareladas, localizadas em inflorescências com uma flor feminina e vinte flores masculinas em média (Figura 1D e 1E; Figura 6), os frutos são corniculados (Figura 6B) e as sementes possuem elaiossoma (carúncula), uma estrutura agregada à semente que atrai formigas e facilita sua dispersão (Edwards *et al.* 2006; Suetsugu *et al.* 2017; Anjos *et al.* 2020).

### 2.3 Fenologia

Para acompanhar a fenologia foram realizadas observações mensais durante a fase vegetativa e quinzenais durante a fase reprodutiva. Os dados foram coletados de janeiro a dezembro de 2017. A fim de descrever a fenologia nos dois ambientes distintos foram marcadas 30 plantas no campo sujo e 30 plantas no cerrado *sensu stricto*. As fenofases observadas identificaram a presença ou ausência de: brotação foliar, folhas maduras, senescência foliar, inflorescências (Figura 2) com botões florais femininos, botões florais masculinos, flores femininas, flores masculinas e frutos.

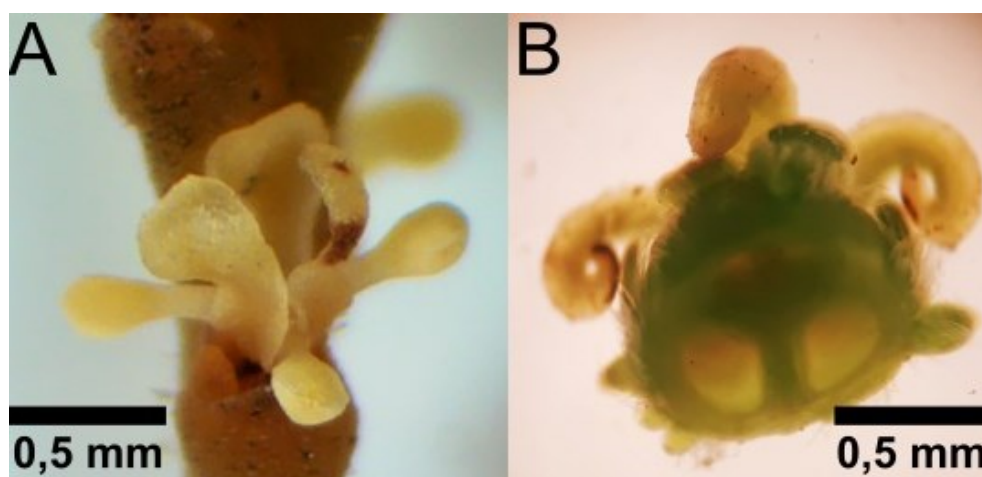


Figura 2. Flores de *Microstachys serrulata* observadas no estereomicroscópio. Flor estaminada (A), e flor pistilada mostrando os três estiletes curvados e o ovário em corte (B).



#### 2.4 *Biologia Floral*

Para avaliar a quantidade e a viabilidade polínica de *M. serrulata*, foram coletadas 10 anteras de 10 botões florais estaminados em pré-antese, cada um de um indivíduo diferente. No laboratório cada antera foi aberta e seus grãos de pólen retirados com uma pinça de ponta fina, depositados em lâmina e cobertos com Carmin acético 3% para visualização do citoplasma. Foi feita a contagem total dos grãos de 10 lâminas, considerando viáveis apenas aqueles sem anomalias e totalmente corados. Estimamos a média do número total de grãos de pólen da flor multiplicando o valor obtido pelo número de anteras. Além disso, 10 flores femininas foram coletadas cada uma em um indivíduo diferente para a contagem do número de óvulos. Assim calculamos o Índice de Cruden (1977), dividindo o número de grãos de pólen da flor masculina pelo número de óvulos da flor feminina.

#### 2.5 *Visitantes Florais*

Foram observadas inflorescências em 20 indivíduos de *M. serrulata*, sendo 10 no campo sujo e 10 no cerrado *sensu stricto* por períodos de 10 minutos cada (Nascimento and Del-Claro 2007; Ferreira and Torezan-Silingardi 2013). As observações foram feitas duas vezes por semana, sendo uma no cerrado *sensu stricto* e uma no campo sujo, durante as três primeiras semanas de dezembro de 2018 e 2019, desde as 08:00h até as 17:00h sempre em dias ensolarados e sem chuva. Além disso, para verificar se algum polinizador específico forrageava no período noturno, foram feitas três observações no período das 18:00h até 00:00h, realizadas utilizando lanternas cobertas com papel celofane vermelho e apenas no cerrado *sensu stricto*. Foram 126 horas de observação ao todo, com 108 horas igualmente distribuídas nas duas áreas e 18 horas extras de observações noturnas.

Como a frequência de visitação era muito baixa, os visitantes que foram observados durante os demais experimentos de polinização também eram coletados para aumentar o número amostral. Foram considerados visitantes florais qualquer animal que mantivesse contato com as inflorescências, que eram coletados, montados e depois identificados no laboratório, no nível de espécie ou gênero se fossem formigas e de Família para os demais insetos.

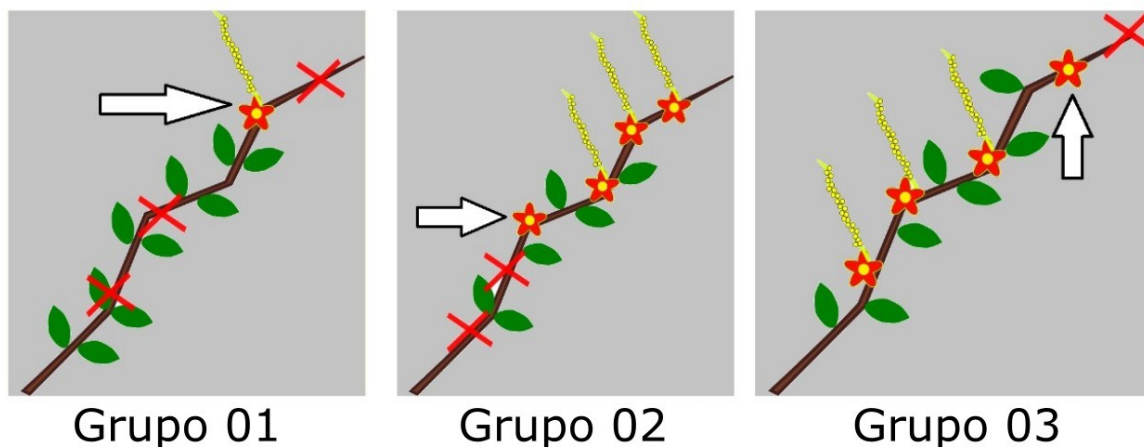
## *2.6 Biologia Reprodutiva e o impacto das formigas na polinização e frutificação*

Para manter a padronização das amostras, evitar fatores de confusão e uma questão de logística, todos os experimentos de polinização foram montados no campo sujo, de maneira a manter uma composição homogênea tanto dos visitantes como das condições ambientais.

Para investigar a ocorrência de **apomixia**, ou seja, produção de frutos sem a participação do pólen, foram usadas 100 plantas. No Teste de Apomixia 01, 40 plantas tiveram uma inflorescência ensacada previamente na fase de botão (total de inflorescências=40). Antes do botão floral feminino (pistilado) chegar na fase de pré-antese, as flores masculinas eram cortadas, o botão pistilado era re-ensacado e após um mês verificamos se as flores produziam ou não frutos. Para verificarmos se o corte das flores masculinas não poderia levar à morte da flor feminina, propusemos o Teste de Apomixia 02, onde marcamos outros 60 indivíduos e uma inflorescência de cada e os dividimos em três grupos com 20 plantas cada: Controle, onde as inflorescências eram deixadas livres; Corte livre, onde as flores femininas eram livremente expostas aos visitantes, mas as flores masculinas eram cortadas; e Corte isolado, onde as flores masculinas eram cortadas, e as flores femininas ensacadas e isoladas dos visitantes.

Embora extremamente rara, a fecundação dos gametas também pode ocorrer por autopolinização espontânea interna, quando o grão de pólen não é exposto livremente no

ambiente para chegar até o estigma (Philbrick 1984). Nesse caso distinto o tubo polínico se desenvolve ainda dentro da antera e penetra nos seus tecidos crescendo em direção ao filete, ao ramo da inflorescência e finalmente chega até os tecidos da flor pistilada (Philbrick 1984). Essa possibilidade poderá ser investigada em laboratório através da histologia para visualizar os tecidos da flor e o crescimento do tubo polínico assim que cessar o isolamento causado pela pandemia do COVID-19. Para testarmos essa possibilidade no campo realizamos um experimento para conferir se o pólen oriundo da própria inflorescência ou de inflorescências adjacentes da mesma planta, seria capaz de fecundar o gameta feminino. Utilizamos 60 flores femininas separadas em três grupos (Figura 3). Grupo 1: a inflorescência inteira era deixada intacta enquanto todas as outras inflorescências do ramo foram retiradas. Grupo 2: a flor feminina intacta era deixada sozinha e as flores masculinas eram retiradas da inflorescência focal, porém todas as inflorescências acima dela no ramo permaneciam intactas. Grupo 3: a flor feminina da inflorescência mais alta do ramo permanecia intacta, mas todas as flores masculinas eram retiradas e todas as inflorescências presentes na parte de baixo do ramo eram deixadas intactas, e o ramo acima da flor focal era cortado para cessar seu crescimento e desenvolvimento de novas inflorescências. No caso dos grupos 2 e 3, o número de inflorescências acima ou abaixo, eram de pelo menos três. Todos os ramos eram ensacados para evitar a possível chegada de grãos de pólen transportados por visitantes ou pelo vento e os resultados foram coletados após um mês. Se a polinização ocorresse no Grupo 01 e 02, poderia sugerir o crescimento do tubo polínico pelo tecido vegetativo ou simplesmente a queda do pólen das flores estaminadas sobre a flor pistilada, a qual fica em uma posição inferior no ramo da inflorescência mas se ocorresse no grupo 03 ela indicaria o crescimento do tubo polínico nos tecidos vegetativos ou a apomixia.



**Figura 3.** Experimento para conferir a ocorrência de Autopolinização Espontânea Interna entre flores da mesma inflorescência (Grupo 1), ou entre flores de inflorescências adjacentes com a flor pistilada abaixo (B) ou acima (C) das flores estaminadas.

O impacto da visitação por formigas na polinização foi avaliado a partir de flores marcadas em 80 indivíduos de *M. serrulata*, que foram divididos em quatro grupos com 20 plantas cada. **Grupo Controle:** com os ramos deixados livres para visitação por insetos. **Sem Formigas:** usamos a resina (Tanglefoot®) na base da planta para evitar a visitação de formigas e outros visitantes que chegassem na planta caminhando, inclusive com a retirada de pontes de vegetação por onde formigas poderiam ter acesso à planta focal. **Formiga:** foi montada uma estrutura de tecido Voal de poliéster em volta de toda planta distante 2 cm do solo, de forma que visitantes voadores não tivessem acesso a ela, apenas formigas ou outros visitantes que viessem caminhando pelo solo. **Autopolinização espontânea:** um saco de tecido Voal de poliéster foi colocado em volta do ramo isolando-o, de forma que as flores não recebessem nenhuma visitação. Cada planta teve dois ramos marcados para o mesmo grupo experimental, e cerca de 30 dias após as manipulações foram contabilizados quantos frutos cada planta formou. Para avaliar se houve diferença na quantidade de sementes entre os grupos, nós coletamos 15 frutos de cada tratamento e contamos o número de sementes.

## 2.7 Análise de dados

Todas as análises estatísticas foram executadas no Programa R versão 4.1.0. Para a fenologia, nós analisamos se existia sazonalidade nas fenofases observadas utilizando estatística circular onde os meses são convertidos em ângulos de 30° (Morellato *et al.* 2010). Nós utilizamos os dados de presença ou ausência, para compor uma tabela com o número de indivíduos com ocorrência daquela fenofase, que foi utilizada para calcular: o Vetor Médio (que representa o mês em que o evento está ocorrendo), o Comprimento do Vetor Médio e o teste de Rayleigh, para testar a sazonalidade (Calixto *et al.* 2021). Os gráficos foram feitos utilizando o pacote PLOTRIX.

Para investigar se a composição dos visitantes florais variava entre as duas fitofisionomias (cerrado *sensu stricto* e campo sujo), os animais foram categorizados da seguinte maneira: Formicidae (Hymenoptera), Outros hymenópteros, Alticini (Coleoptera), Outros Coleópteros, Diptera e Hemiptera. Os resultados passaram pelo teste Chi-Quadrado.

Utilizando a mesma categorização anterior, fizemos um teste Chi-Quadrado para avaliar se existe diferença entre as categorias de visitantes e testes Chi-Quadrado a posteriori para avaliar qual categoria diferenciava de qual. No caso de não haver diferença dos visitantes entre as fitofisionomias, os dados seriam agrupados e analisados como um só conjunto de dados. Separadamente, também foi utilizado um teste Chi-Quadrado para testar qual espécie de formiga foi mais abundante. Para avaliar os resultados nos testes de polinização, primeiro verificamos se existia diferença entre o número de frutos produzidas entre os tratamentos, para isso utilizamos um GLM com distribuição Quasipoisson, pois nossos dados não apresentavam normalidade (Teste Shapiro,  $w = 0,854$ ,  $p < 0,05$ ). Como o número de frutos variou entre os grupos, nos testamos a diferença entre o número de frutos de cada tratamento, utilizando as

flores utilizadas como covariável. Aplicamos um GLM com distribuição Poisson, seguido de um teste Tukey a posteriori, para verificar qual grupo era diferente de qual. A produção de sementes entre os grupos de tratamento foi analisada utilizando um GLM com distribuição Poisson.

A diferença entre os grupos dos testes de autopolinização espontânea interna, assim como dos testes de apomixia, foram avaliadas utilizando um teste de Chi-Quadrado. Para a diferença entre os pólenes Viáveis e Inviáveis foi utilizado um Teste-T.

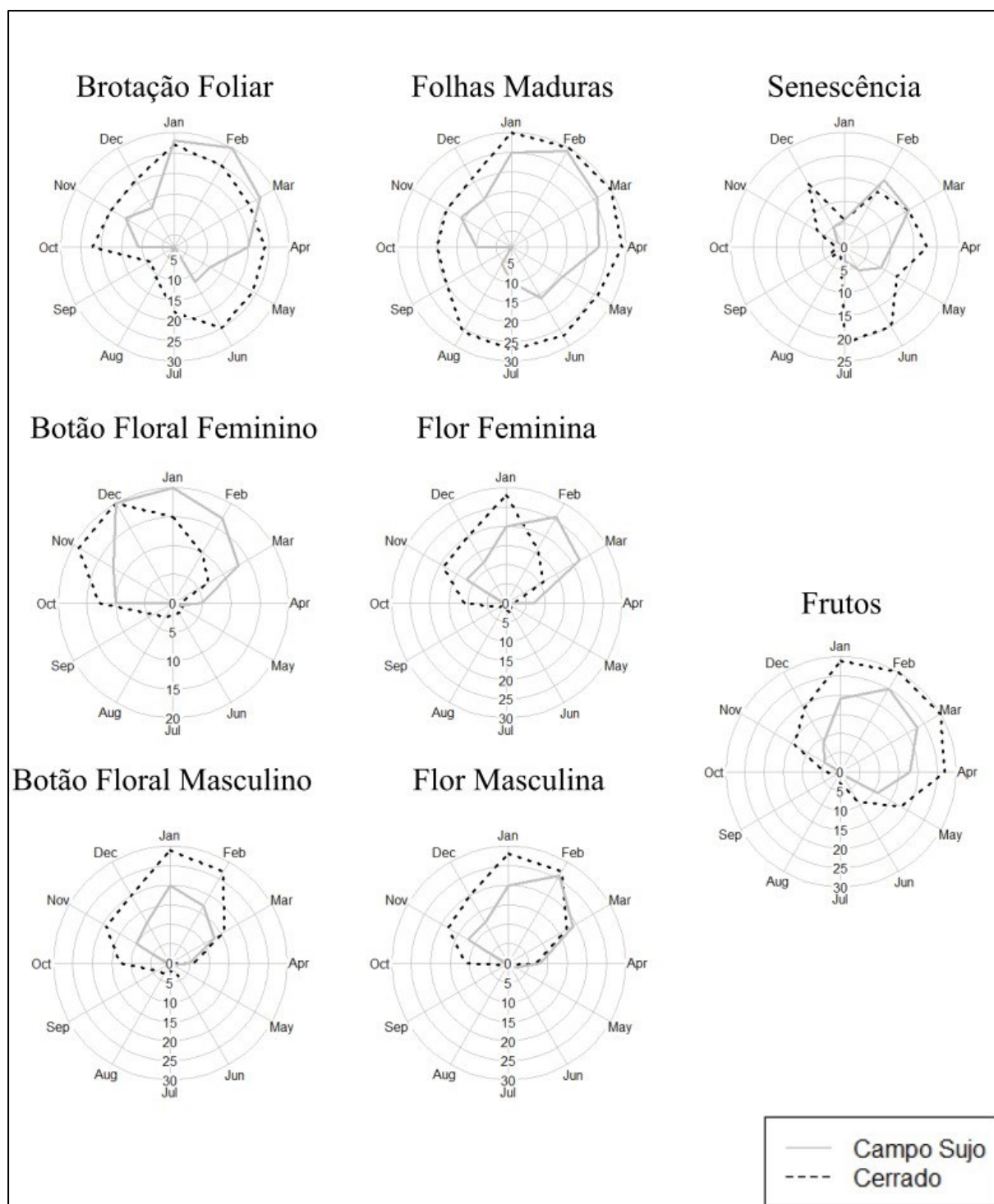
### **3. Resultados**

#### *3.1 Fenologia*

Todas as fenofases analisadas apresentaram caráter sazonal, confirmado pelos testes de Rayleigh, com exceção das folhas maduras no Cerrado *sensu* (Figura 4). A brotação foliar ocorreu tanto no cerrado quanto no campo sujo de forma sincronizada com a época chuvosa, que tem início em meados de outubro, e permaneceu alta até junho quando a seca se intensifica no Cerrado e a brotação diminui. As folhas maduras estão presentes o ano todo no cerrado *sensu stricto*, enquanto no campo sujo as folhas maduras estão presentes em onze meses do ano, ausentes apenas em setembro e presentes em maior intensidade de janeiro a abril. As duas populações têm um comportamento diferente quanto ao processo de senescência foliar, que é intensa na população do campo sujo de fevereiro a março, onde a seguir os indivíduos de *M. serrulata* perdem todas suas folhas e muitos secam e alguns indivíduos morrem e não rebrotam mais. No cerrado *sensu stricto* a senescência foliar ocorre por mais tempo, mas as plantas mantem as folhas ao longo do ano todo.

A estação reprodutiva também segue o padrão sazonal com a floração ocorrendo na época chuvosa, embora com um atraso de mais ou menos um mês na população do campo sujo

(Figura 3). O surgimento de botões florais ocorre no fim de setembro com pico em dezembro na população do Cerrado, enquanto na população do Campo Sujo ela ocorre no fim de outubro com pico em janeiro. A abertura das flores se inicia em outubro com pico em janeiro no Cerrado, e no Campo sujo há um atraso de um mês tanto no início quanto no pico de abertura das flores. A frutificação também foi sazonal e sincronizada para as duas populações, com maior intensidade em fevereiro e maior tempo de exposição dos frutos no ambiente do cerrado.



**Figura 4.** Fenologia de *Microstachys serrulata* no Campo Sujo e Cerrado *sensu stricto*, no Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, MG, em 2017.

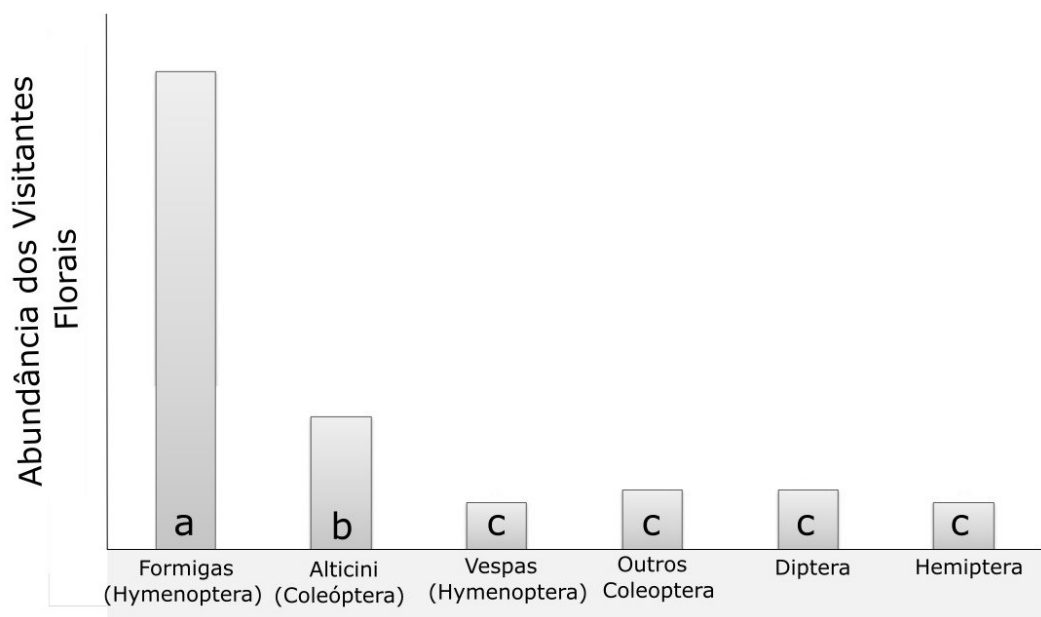


### 3.2 *Biologia Floral*

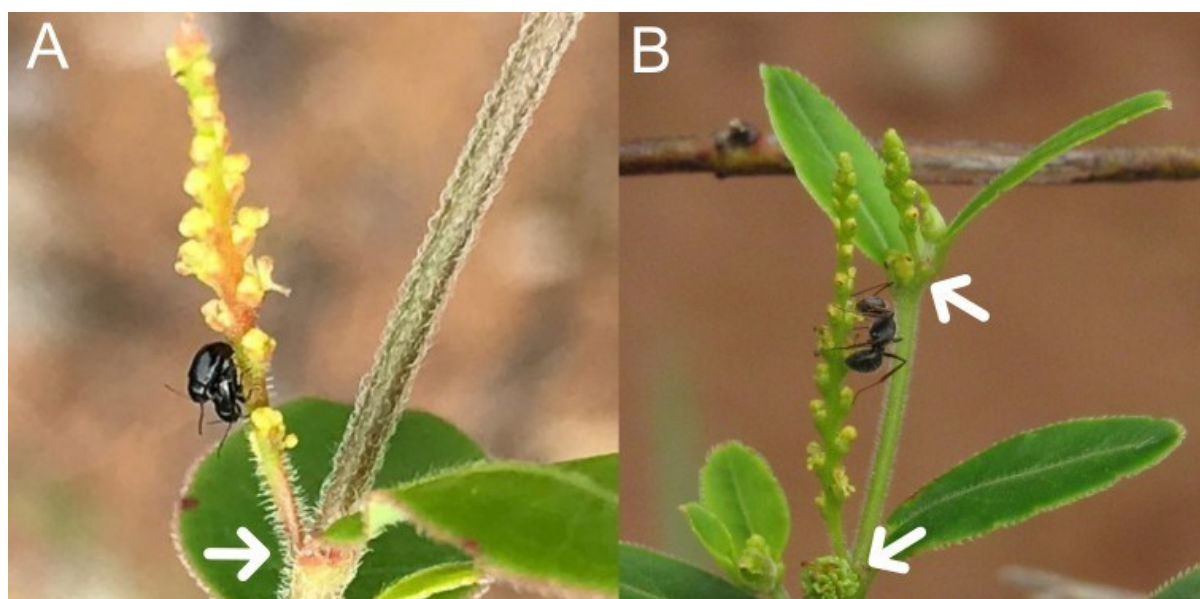
*Microstachys serrulata* apresenta flores unissexuadas, pequenas e pálidas que contrastam com a folhagem de fundo. As flores pistiladas tem três estiletos curvos e três lóculos no ovário, cada lóculo com apenas um óvulo. As flores estaminadas não tem pétalas, possuem três sépalas, três estames (Webster 1994; Esser 2012) e uma média de 233,7 grãos de pólen por flor. A viabilidade polínica é de 77,1%, com diferença significativa entre as quantidades de grãos de pólen viáveis e inviáveis ( $t= 5,3178$ ;  $df = 14,452$ ;  $p < 0,05$ ). O valor obtido (77,9) para o índice de Cruden (1977) indica que *M. serrulata* apresenta razão pólen/óvulo típica de espécie autógama facultativa, ou seja, capaz de produzir frutos por autopolinização, mas que também aceita a polinização cruzada.

### 3.3 *Visitantes Florais*

Não houve uma variação significativa entre a riqueza de espécies dos visitantes florais do cerrado *sensu stricto* e do campo sujo ( $X^2=4,8268$ ,  $d.f=5$ ,  $p=0,4371$ ), isso indica que a guilda de visitantes entre os dois ambientes é homogênea. No entanto, a abundância entre os grupos de visitantes florais variou significativamente ( $X^2=158,77$ ,  $d.f=5$ ,  $p < 0,0001$ ). Considerando conjuntamente os dois ambientes, os Hymenoptera foram os mais abundantes, seguidos pelos Coleoptera, Diptera e Hemiptera. As formigas foram os visitantes mais abundantes, seguidas dos besouros da tribo Alticini. Os demais visitantes formaram um grupo misto e pouco abundante de pequenas vespas, mosquitos, outros besouros e hemípteros (Figuras 5 e 6), que aparentemente utilizaram a planta como fonte de pólen para a alimentação ou como poleiro.



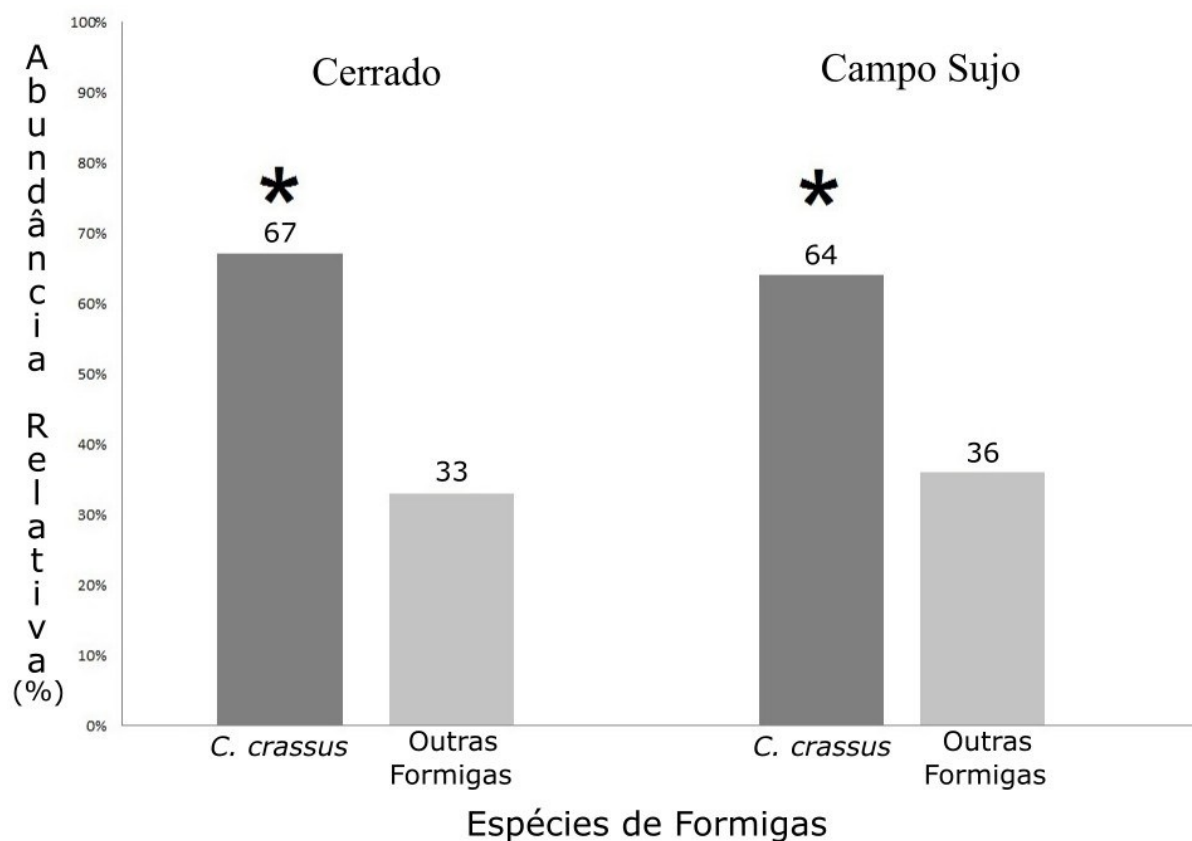
**Figura 5.** Abundância absoluta dos visitantes florais de *Microstachys serrulata*, no Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, considerando as duas áreas conjuntamente. Letras diferentes indicam diferença estatística entre os grupos.



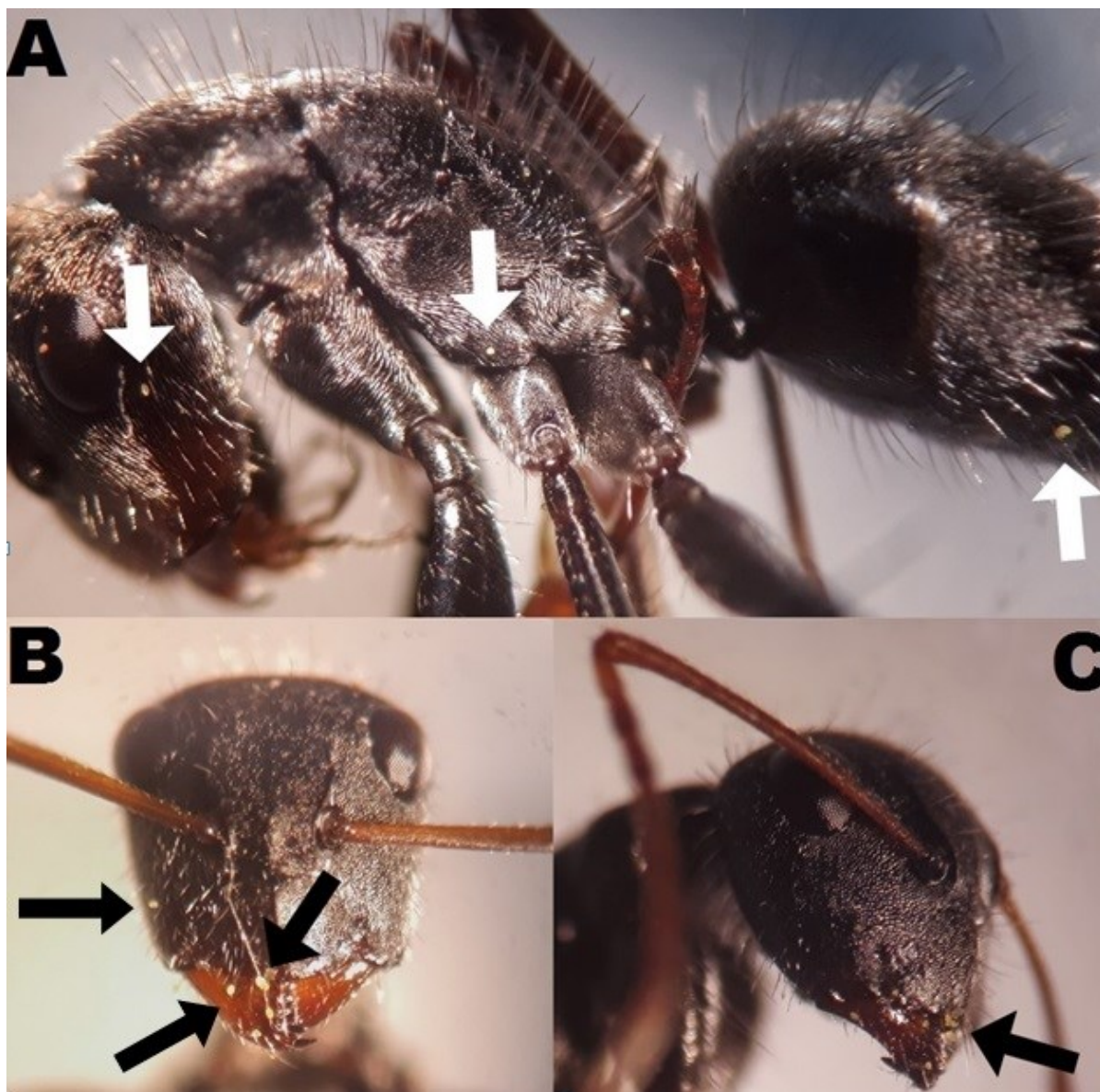
**Figura 6.** Visitantes das inflorescências de *Microstachys serrulata*, Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia, Uberlândia, MG. A) Besouros da tribo Alticini copulando sobre as

flores masculinas, a seta indica uma flor feminina. B) *Camponotus crassus* forrageando sobre as flores masculinas da inflorescência, a seta superior indica uma flor feminina e a seta inferior indica um fruto.

*Camponotus crassus* é a espécie de formiga mais abundante tanto no campo sujo ( $X^2=51,44$ , d.f=6,  $p<0,0001$ ), quanto no cerrado *sensu stricto* ( $X^2=221,7$ , d.f=12,  $p<0,0001$ ), onde representaram respectivamente 64% e 67% das formigas coletadas (Figura 7). Grãos de pólen foram observados sobre o corpo de *C. crassus* (Figura 8), besouros e vespas. A visualização dos grãos somente foi possível após a preparação dos insetos e visualização no estereomicroscópio.



**Figura 7.** Abundância relativa das formigas coletadas no ambiente de Cerrado sentido restrito e Campo sujo, considerando a espécie *Camponotus crassus* e as outras formigas.



**Figura 8.** Pólen de *Microstachys serrulata* aderido no corpo da formiga *Camponotus crassus*, em Uberlândia, MG. As setas indicam os grãos de pólen. A) Grãos de pólen na cabeça, mesossoma e gáster, B) e C) pólen aderido à mandíbula.

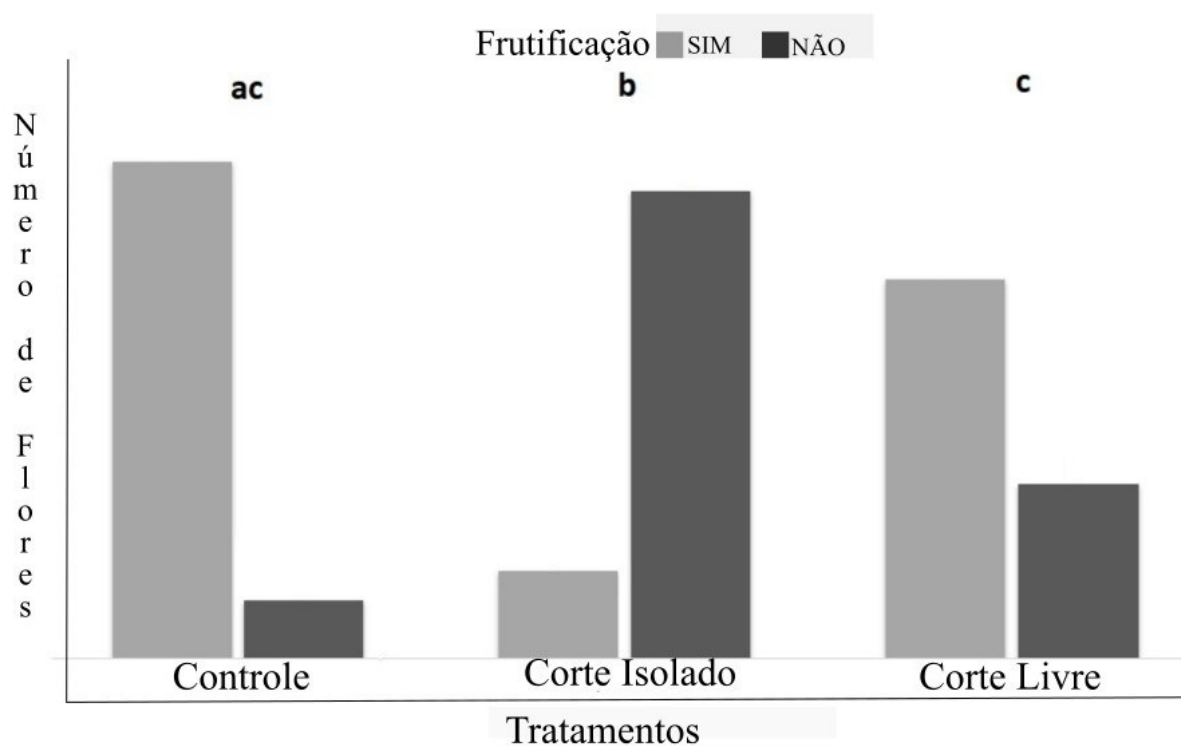
Poucos insetos estiveram presentes nas flores à noite, compreendendo apenas as mesmas formigas e besouros componentes da guilda de insetos coletados ao longo do dia, mas com um padrão de atividade aparentemente mais baixo.

Os visitantes florais de *M. serrulata* não mostraram um padrão de comportamento específico em relação às flores como a coleta ativa de recurso (Gottsberger 1999; Palmieri and Pereira 2018). Observamos apenas um padrão de forrageamento aleatório, com o inseto caminhando ao longo da planta e ocasionalmente passando sobre as inflorescências. Os comportamentos mais notáveis são o de forrageamento das formigas, especialmente nas glândulas foliares da face abaxial e nas inflorescências, e o de cópula dos besouros da tribo Alticini (Figura 6), que as vezes ficavam sobre as inflorescências e possivelmente se alimentavam de pólen, embora também tenham sido observados em outras partes da planta.

### *3.4 Biologia Reprodutiva e o impacto das formigas na polinização e frutificação*

As flores de *M. serrulata* apresentaram maior frutificação após a visitação por insetos. Os grupos Controle e Formigas apresentaram as maiores produções de frutos e sem diferença estatística entre si, seguidos pelo grupo Sem Formigas e Autopolinização espontânea. No entanto, não houve diferença estatística na produção de sementes por fruto entre os tratamentos. A exclusão das formigas, assim como dos visitantes alados, produziu menos frutos que o grupo controle. Todos os grupos foram diferentes significativamente das plantas autopolinizadas espontaneamente. Assim, nossos resultados indicam que *M. serrulata* depende de polinização biótica para obter uma boa frutificação e que as formigas são polinizadoras efetivas, validando nossas hipóteses h5 e h6. A produção de frutos no Teste de Apomixia 01 foi de 7,9%, com apenas três frutos produzidos a partir de 38 flores, um valor muito pequeno incapaz de garantir a manutenção da espécie na área.

O Teste de Apomixia 02 (Figura 9) comprovou que o corte das flores masculinas não inviabiliza a flor feminina, pois os indivíduos que tiveram as flores masculinas da inflorescência cortada e ficaram expostos a visitantes (grupo Corte livre) produziram frutos normalmente se comparados com o grupo Controle. O grupo Corte Isolado por outro lado, apresentou uma diferença significativa tanto quanto comparado com o grupo Corte livre, como com o grupo Controle. Os testes para avaliar se a autopolinização espontânea ocorreu internamente com os tecidos vegetativos, servindo para a passagem do tubo polínico oriundo da própria inflorescência ou de inflorescências adjacentes, não mostraram diferença significativa, por causa da baixa produção de frutos ( $X^2= 1,745$ ,  $df=2$ ,  $p= 0,4178$ ).



**Figura 9.** Comparação entre o número de frutos produzidos (barras claras) ou não (barras escuras) entre os tratamentos Controle (inflorescências livres); Corte isolado (inflorescências

ensacadas com uma flor feminina e as flores masculinas ) e Corte livre (flores femininas livres e flores masculinas cortadas). Letras apresentam a diferença entre os grupos.

#### 4. Discussão

Nossas seis hipóteses foram confirmadas pelos resultados. *Microstachys serrulata* teve floração anual na época úmida (h1) tanto na área de cerrado *sensu stricto* quanto no campo sujo; (h2) os visitantes florais foram pequenos insetos de várias ordens e (h3) com a mesma composição de visitantes florais nas duas fitofisionomias; (h4) as formigas foram os visitantes mais abundantes nas inflorescências; (h5) o transporte polínico biótico foi fundamental para a boa frutificação da espécie no ambiente estudado e (h6) as formigas atuaram como polinizadoras.

*Microstachys serrulata* segue o padrão sazonal do Cerrado, com floradas ocorrendo na época das chuvas (de outubro a fevereiro) e uma forte perda de folhas na época da seca, onde alguns indivíduos morrem e não rebrotam. A diferença mais notável entre as populações, é que no cerrado *sensu stricto* as plantas conservam suas folhas ao longo do ano, enquanto no campo sujo elas perdem sua folhagem e seus ramos secam durante o inverno frio e seco no meio do ano. Isso provavelmente se deve à baixa umidade, a alta incidência de luz solar direta sobre as plantas e ao solo mais arenoso que retêm menor quantidade de água, características que são muito mais intensas no campo sujo. Contrariamente, as plantas do cerrado *sensu stricto* permanecem parcialmente sombreadas ao longo do ano, o que permite a manutenção da umidade no solo e na planta, assim elas conseguem conservar sua folhagem. Isso explica também a diferença na antecedência da floração das plantas do cerrado, uma vez que os indivíduos do campo sujo precisam primeiramente rebrotar com as primeiras chuvas para fabricar com a fotossíntese os açúcares necessários para compor a reserva energética, que será

utilizada na floração e frutificação. Embora essas diferenças possam sugerir um tipo de plasticidade fenotípica, estudos específicos precisam ser realizados para se testar essa hipótese.

*Microstachys serrulata* apresentou flores pequenas, generalistas e com pólen facilmente acessível, distribuídas em subarbustos presentes no campo sujo e no cerrado *sensu stricto*, fitofisionomias adjacentes e sem uma barreira física entre elas, o que facilitou a presença de uma guilda homogênea de visitantes florais na nossa amostragem. A presença de pólen facilmente acessível permite que muitos insetos que visitem as flores se tornem polinizadores em potencial. No Cerrado, flores diurnas, pequenas e generalistas são conhecidas por não apresentar uma relação específica com os visitantes florais, compostos basicamente por insetos de pequeno porte (até 5mm) e não especializados (himenópteros, coleópteros, thrips e moscas), nas quais os visitantes florais são raramente observados e o néctar é difícil de constatar e mensurar (Bawa *et al.* 1985; Oliveira and Gibbs 2000). As pequenas flores de *M. serrulata* foram visitadas por insetos pequenos, o que caracteriza uma amostragem de visitantes generalista como proposta por Bawa *et al.*, (1985). Além disso, embora as flores de *M. serrulata* apresentem flores de coloração pálida, é importante ressaltar que as flores possuem um tom contrastante com o resto da planta, característica importante para a atração de polinizadores (Martins *et al.* 2021).

*Microstachys serrulata* teve sua polinização dependente principalmente das formigas, que foram os visitantes mais abundantes, carregaram grãos de pólen ao longo do corpo e contribuíram de forma importante para a produção de frutos. Apesar dos insetos alados terem sido responsáveis por alguma parte menor da produção de frutos. As formigas estão entre os artrópodes mais abundantes no Cerrado (Rico-Gray and Oliveira 2007), onde estão envolvidas nas mais diversas interações ecológicas (Del-claro *et al.* 2013) incluindo a polinização (Del-Claro *et al.* 2019). A importância das formigas para a reprodução de *M. serrulata* ficou evidente no experimento realizado aqui, pois os grupos com livre visitação das flores e com visitação



exclusiva de formigas tiveram as maiores quantidades de frutos produzidos, com quantidades estatisticamente similares. A exclusão das formigas nas flores gerou um número significativamente menor de frutos quando comparado com o grupo controle, ou seja, insetos alados não apresentaram a mesma eficácia como polinizadores que as formigas. A frutificação na presença das formigas foi maior que na ausência das formigas, porém sem diferença estatística no nosso experimento, indicando que outros insetos também tem a capacidade de polinizar a *M. serrulata*. O comportamento de visitação floral não especializado, a simplicidade das flores e o acesso fácil ao recurso sugerem que qualquer inseto que visite as flores de *M. serrulata* pode vir a atuar como polinizador. Isso foi evidenciado pelo presente estudo, no entanto as formigas foram os vetores polínicos mais eficientes para *M. serrulata* graças à sua grande abundância e constância nas flores. Outros trabalhos mostram que plantas polinizadas principalmente por formigas também podem ser polinizadas de forma menos eficiente por outros insetos de pequeno porte, sendo que nestes estudos a efetividade da polinização das formigas está relacionada à sua maior abundância nas flores (Gómez *et al.* 1996), justamente o mesmo padrão encontrado na espécie estudada. Os coleópteros observados caminhando e copulando sobre as flores também podem ter sido responsáveis por alguns eventos de polinização, mas por sua presença menos constante eles podem ter atuado apenas como polinizadores eventuais.

O visitante mais comum encontrado nas flores de *M. serrulata* foi a formiga *Camponotus crassus*, uma espécie muito abundante no Cerrado que forrageia ativamente no solo e na vegetação, é ativa ao longo do dia (Lange *et al.* 2019) e apresenta comportamento agressivo principalmente na presença de nectários extraflorais (NEFs) (Anjos *et al.* 2016), quando tende a ser a espécie forrageadora dominante. Apesar de não ter sido possível avaliarmos se há produção significativa de néctar extrafloral em *M. serrulata*, as glândulas

foliares podem ser o principal chamativo para as formigas, e sua abundância em relação aos outros visitantes pode estar relacionada com sua agressividade.

Algumas características das formigas podem torná-las ineficazes como polinizadoras. Por exemplo, a Hipótese Antibiótica prevê que as formigas não são boas polinizadoras pelo fato de muitas delas secretarem substâncias antibióticas que diminuem a viabilidade do pólen e de esporos de fungos que poderiam contaminar as câmaras do formigueiro (Beattie *et al.* 1984). No entanto, a principal espécie visitante (*Camponotus crassus*) não possui a glândula metapleurar responsável pela produção dessas substâncias de defesa (Gómez *et al.* 1996; Andrew J Beattie 2006; Del-Claro *et al.* 2019), fazendo dela um potencial polinizador como já foi demonstrado por Del-Claro *et al.* (2019).

Apesar de ser capaz de produzir frutos possivelmente apomíticos e a partir de autopolinização espontânea em pequena quantidade, *M. serrulata* tem maior sucesso reprodutivo na presença de visitantes florais, mostrando que a polinização biótica é essencial para a boa formação de frutos e sementes permitindo a manutenção da espécie no ambiente. A baixa quantidade de frutos produzidos nos experimentos de apomixia também poderia ser o resultado de uma polinização acidental no experimento pois não se sabe da ocorrência de apomixia no gênero *Microstachys*, porém, isso já foi descrito em outras euforbiáceas (Moog *et al.* 2002; Bressan *et al.* 2013). Testes posteriores para aumentar o número amostral na espécie *M. serrulata* podem vir a resolver essa dúvida. Espécies obrigatoriamente apomíticas comumente apresentam baixa viabilidade polínica, como é o caso da *Miconia albicans*, uma espécie comum no cerrado que não apresenta grãos de pólen viáveis (Caetano *et al.* 2013). *Microstachys serrulata* apresenta a maioria dos grãos de pólen viáveis e a relação pólen/óvulo obtida ( $233,7/3 = 77,9$ ) caracteriza a espécie como autógama facultativa de acordo com Cruden (1977), justificando a pequena formação de frutos na ausência de polinizadores. Mais estudos precisam ser realizados para entender a origem desses frutos, se podem ser oriundos de grãos

de pólen germinando dentro das flores masculinas e lançando o tubo polínico pelo tecido vegetativo (Philbrick 1984), nada se conhece sobre isso na família. Também consideramos uma outra hipótese, já foi mostrado que aves oportunistas visitando plantas entomófilas podem aumentar o sucesso reprodutivo vegetal (Hervías-Parejo and Traveset 2018) e as formigas podem estar fazendo o mesmo em outras espécies mesmo que de forma eventual. Assim, é possível que as formigas estejam na verdade promovendo a autopolinização em *M. serrulata* e gerando populações com baixa variedade genética (Peakall and Beattie 1991) ao caminhar pelas inflorescências, enquanto promovem taxas menores de polinização cruzada.

Aqui nós descrevemos como a polinização por formigas ocorre em *M. serrulata*, um tipo de polinização raro (Dutton and Frederickson 2012) mas já descrito em diversas partes do mundo (García *et al.* 1995; Vega *et al.* 2009; Kuriakose *et al.* 2018; Del-Claro *et al.* 2019). Mostramos que a polinização por formigas nesse caso ocorre num sistema simplificado onde as estruturas florais são inconspícuas e produção de atrativos para os visitantes é baixa (Beattie 2006), e onde autocompatibilidade e uma guilda generalista de visitantes estão envolvidos. O fato do Cerrado apresentar clima seco, uma alta diversidade de formigas e ter muitas plantas herbáceo-arbustivas com baixa especialização floral, pode fazer desse ambiente um lugar propício para a polinização por formigas, com outras interações de mirmecofilia esperando para serem descobertas.

## 5. Referências Bibliográficas

- Andersen AN. 1988.** Dispersal distance as a benefit of myrmecochory. *Oecologia* **75**: 507–511. <https://doi.org/10.1007/BF00776412>
- Anderson WR. 1980.** Cryptic Self-Fertilization in The Malpighiaceae. *Science* **207**: 4–5. <https://doi.org/10.1126/science.207.4433.892>
- Anjos D V., Caserio B, Rezende FT, Ribeiro SP, Del-claro K, Fagundes R. 2016.** Extrafloral-nectaries and interspecific aggressiveness regulate day/night turnover of ant species foraging for nectar on *Bionia coriacea*. *Austral Ecology* **42**. <https://doi.org/10.1111/aec.12446>
- Anjos D V., Leal LC, Jordano P, Del-Claro K. 2020.** Ants as diaspore removers of non-myrmecochorous plants: a meta-analysis. *Oikos*. <https://doi.org/10.1111/oik.06940>
- ARAÚJO GM, BARBOSA AAA, ARANTES AA, AMARAL AF. 2002.** Composição florística de veredas no Município de Uberlândia, MG. *Revista Brasileira de Botânica* **25**: 475–493. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042002012000012>
- Assunção MA, Torezan-silingardi HM, Del-claro K. 2014.** Do ant visitors to extrafloral nectaries of plants repel pollinators and cause an indirect cost of mutualism? *Flora* **209**: 244–249. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.03.003>
- Barros ÁVM de. 2015.** Interações dos insetos nas flores de *Annona crassiflora* Mart (Annonaceae), com ênfase para a biologia floral, sistema reprodutivo e polinizadores. Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- Batalha MA, Mantovani W. 2000.** Reproductive phenological patterns of cerrado plant

species at the Pé-de-Gigante Reserve (Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brazil): a comparison between the herbaceous and woody floras. *Revista brasileira de biologia* **60**: 129–145.

<https://doi.org/10.1590/S0034-71082000000100016>

**Batalha MA, Martins FR. 2004.** Reproductive phenology of the cerrado plant community in Emas National Park (central Brazil). *Australian Journal of Botany* **52**: 149–161.

<https://doi.org/10.1071/BT03098>

**Bawa KS, Bullock SH, Perry DR, Coville RE, Grayum MH. 1985.** Reproductive Biology of Tropical Lowland Rain Forest Trees. II. Pollination Systems. *American Journal of Botany* **72**: 346–356. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1985.tb05358.x>

**Beattie Andrew J. 2006.** The evolution of ant pollination systems. *Botanische Jahrbücher* **127**: 43–55.

**Beattie Andrew J. 2006.** The evolution of ant pollination systems. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* **127**: 43–55.

<https://doi.org/10.1127/0006-8152/2006/0127-0043>

**Beattie AJ, Turnbull C, Knox RB, Williams EG. 1984.** Ant Inhibition of Pollen Function: A Possible Reason Why Ant Pollination is Rare. *American Journal of Botany* **71**: 421–426.

<https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1984.tb12527.x>

**Bressan EA, Sebbenn AM, Ferreira RR, Lee TSG, Figueira A. 2013.** *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) exhibits a mixed mating system, high correlated mating and apomixis. *Tree Genetics and Genomes* **9**: 1089–1097. <https://doi.org/10.1007/s11295-013-0623-y>

**Caetano APS, Simão DG, Carmo-Oliveira R, Oliveira PE. 2013.** Diplospory and obligate apomixis in *Miconia albicans* (Miconieae, Melastomataceae) and an embryological comparison with its sexual congener *M. chamissois*. *Plant Systematics and Evolution* **299**:

1253–1262. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0793-y>

**Calixto ES, Novaes LR, dos Santos DFB, Lange D, Moreira X, Del-Claro K. 2021.**

Climate seasonality drives ant–plant–herbivore interactions via plant phenology in an extrafloral nectary-bearing plant community. *Journal of Ecology* **109**: 639–651.

<https://doi.org/10.1111/1365-2745.13492>

**Cruden RW. 1977.** POLLEN-OVULE RATIOS: A CONSERVATIVE INDICATOR OF BREEDING SYSTEMS IN FLOWERING PLANTS. *Evolution* **31**: 32–46.

<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1977.tb00979.x>

**Del-Claro K, Rico-Gray V, Torezan-Silingardi HM, et al. 2016.** Loss and gains in ant – plant interactions mediated by extrafloral nectar : fidelity , cheats , and lies. *Insectes Sociaux* **63**: 207–221. <https://doi.org/10.1007/s00040-016-0466-2>

**Del-Claro K, Rodriguez-Morales D, Calixto ES, Martins AS, Torezan-Silingardi HM.**

**2019.** Ant pollination of *Paepalanthus lundii* ( Eriocaulaceae ) in Brazilian savanna. *Annals Of Botany* **XX**: 1–7. <https://doi.org/10.1093/aob/mcz021>

**Del-claro K, Stefani V, Lange D, et al. 2013.** The importance of natural history studies for a better comprehension of animal-plant interaction networks. *Bioscience Journal* **29**: 439–448.

<https://doi.org/10.14393/BJ-v29n2a2013-17892>

**Delnevo N, Van Etten EJ, Clemente N, et al. 2020.** Pollen adaptation to ant pollination: A case study from the Proteaceae. *Annals of Botany* **126**: 377–386.

<https://doi.org/10.1093/aob/mcaa058>

**Deus FF de, Oliveira PE. 2016.** Changes in floristic composition and pollination systems in a “ Cerrado ” community after 20 years of fire suppression. *Brazilian Journal of Botany* **39**: 1051–1063. <https://doi.org/10.1007/s40415-016-0304-9>

**Dutton EM, Frederickson ME. 2012.** Why ant pollination is rare: New evidence and implications of the antibiotic hypothesis. *Arthropod-Plant Interactions* **6**: 561–569.

<https://doi.org/10.1007/s11829-012-9201-8>

**Edwards W, Dunlop M, Rodgerson L, Edwardst W. 2006.** The evolution of rewards : seed dispersal , seed size and elaiosome size. *Journal of Ecology* **94**: 687–694.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01116.x>

**Esser HJ. 2012.** The tribe Hippomaneae (Euphorbiaceae) in Brazil. *Rodriguesia* **63**: 209–

225. <https://doi.org/10.1590/S2175-78602012000100013>

**Ferreira CA, Torezan-Silingardi HM. 2013.** Polinização e herbivoria no gênero *Banisteriopsis* (Malpighiaceae) em área do cerrado de Uberlândia-MG. Dissertação para defesa do Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, Brasil.

**Frederickson ME, Greene MJ, Gordon DM. 2005.** ‘ Devil ’ s gardens ’ bedevilled by ants Northern Hemisphere circulation. *Nature* **437**: 4–5. <https://doi.org/10.1038/437495a>

**García MB, Antor RJ, Espadaler X. 1995.** Ant pollination of the palaeoendemic dioecious *Borderea pyrenaica* (Dioscoreaceae). *Plant Systematics and Evolution* **198**: 17–27.

<https://doi.org/10.1007/BF00985105>

**Giladi I. 2006.** Choosing benefits or partners: A review of the evidence for the evolution of myrmecochory. *Oikos* **112**: 481–492. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2006.14258.x>

**Goldenberg R, Shepherd GJ. 1998.** Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. *Plant Systematics and Evolution* **211**: 13–29.

<https://doi.org/10.1007/BF00984909>

**Gómez JM, Zamora R, Hódar JA, García D. 1996.** Experimental study of pollination by ants in Mediterranean high mountain and arid habitats. *Oecologia* **105**: 236–242.

<https://doi.org/10.1007/BF00328552>

**González-Teuber M, Silva Bueno JC, Heil M, Boland W. 2012.** Increased Host Investment in Extrafloral Nectar (EFN) Improves the Efficiency of a Mutualistic Defensive Service.

*Plos One* **7**. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046598>

**Gottsberger G. 1999.** Pollination and evolution in neotropical Annonaceae. *Plant Species Biology* **14**: 143–152. <https://doi.org/10.1046/j.1442-1984.1999.00018.x>

**Hervías-Parejo S, Traveset A. 2018.** Pollination effectiveness of opportunistic Galápagos birds compared to that of insects: From fruit set to seedling emergence. *American Journal of Botany* **105**: 1142–1153. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1122>

**Herz H, Beyschlag W, Holldobler B. 2007.** Herbivory Rate of Leaf-Cutting Ants in a Tropical Moist Forest in Panama at the Population and Ecosystem Scales. *Biotropica* **39**: 482–488. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2007.00284.x>

**Hickman JC. 1974a.** Pollination by ants: A low-energy system. *Science* **184**: 1290–1292. <https://doi.org/10.1126/science.184.4143.1290>

**Ibarra-Isassi J, Sendoya SF. 2016.** Ants as floral visitors of *Blutaparon portulacoides* (A. St-Hil.) Mears (Amaranthaceae): an ant pollination system in the Atlantic Rainforest. *Arthropod-Plant Interactions* **10**: 221–227. <https://doi.org/10.1007/s11829-016-9429-9>

**Júnior BHM, Haridasan M. 2005.** Comparação da vegetação arbórea e características edáficas de um cerradão e um cerrado sensu stricto em áreas adjacentes sobre solo distrófico no leste de Mato Grosso, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* **19**: 913–926.

<https://doi.org/10.1590/S0102-33062005000400026>



- Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, et al. 2007.** Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **274**: 303–313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>
- Klink CA, Machado RB. 2005.** A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade* **1**: 147–155.
- Krichevsky A, Kozlovsky S V., Tian GW, Chen MH, Zaltsman A, Citovsky V. 2007.** How pollen tubes grow. *Developmental Biology* **303**: 405–420. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.12.003>
- Kuriakose G, Sinu PA, Shivanna KR. 2018.** Ant pollination of *Syzygium occidentale*, an endemic tree species of tropical rain forests of the Western Ghats, India. *Arthropod-Plant Interactions* **12**: 647–655. <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9613-1>
- Lange D, Calixto ES, Rosa BB, Sales TA, Del-claro K. 2019.** Natural history and ecology of foraging of the *Camponotus crassus* Mayr , 1862 ( Hymenoptera : Formicidae ). *Journal of Natural History* **53**: 1737–1749. <https://doi.org/10.1080/00222933.2019.1660430>
- Martins AE, Arista M, Morellato LPC, Camargo MGG. 2021.** Color signals of bee-pollinated flowers: the significance of natural leaf background. *American Journal of Botany* **108**: 788–797. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1656>
- Martins FQ, Batalha MA. 2006.** Pollination systems and floral traits in cerrado woody species of the Upper Taquari region (central Brazil). *Brazilian Journal of Biology* **66**: 543–552. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842006000300021>
- Moog U, Fiala B, Federle W, Maschwitz U. 2002.** Thrips Pollination of the Dioecious Ant Plant *M. Acaranga Hullettii* ( Euphorbiaceae ) in Southeast Asia. *American Journal of Botany*

89: 50–59. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.1.50>

**Morellato LPC, Albertini LF, Hudson IL. 2010.** Applications of circular statistics in plant phenology: A case studies approach. In: Hudson IL, Keatley MR, eds. *Phenological research*. Heidelberg: Springer, 339–359. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-3335-2\\_16](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3335-2_16)

**Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. 2000.** Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853–858. <https://doi.org/10.1038/35002501>

**Nascimento EA do, Del-Claro K. 2007.** Floral visitors of *Chamaecrista debilis* (Vogel) Irwin & Barneby (Fabaceae - Caesalpinioideae) at cerrado of Estação Ecológica de Jataí, São Paulo State, Brazil. *Neotropical Entomology* **36**: 619–624. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2007000400024>

**Oliveira PE, Gibbs PE. 2000.** Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. *Flora* **195**: 311–329. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30990-8](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30990-8)

**Oliveira PS, Marquis RJ. 2002.** The Cerrado of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna. New York: Columbia University Press. <https://doi.org/10.7312/oliv12042>

**Ollerton J, Winfree R, Tarrant S. 2011.** How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* **120**: 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>

**Palmieri L, Pereira RAS. 2018.** The role of non-fig-wasp insects on fig tree biology, with a proposal of the F phase (Fallen figs). *Acta Oecologica* **90**: 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2017.10.006>

**Peakall R, Beattie AJ. 1991.** THE GENETIC CONSEQUENCES OF WORKER ANT POLLINATION IN A SELF-COMPATIBLE, CLONAL ORCHID. *Evolution* **45**: 1837–1848. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1991.tb02691.x>

- Philbrick CT. 1984.** Pollen Tube Growth within Vegetative Tissues of Callitriche ( Callitrichaceae ) Author ( s ): C . *American Journal of Botany* **71**: 882–886.  
<https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1984.tb14154.x>
- Pscheidt AC, Cordeiro I. 2012.** Sinopse da tribo Hippomaneae ( Euphorbiaceae ) no Estado de São Paulo, Brasil. *Hoehnea* **39**: 347–368. <https://doi.org/10.1590/S2236-89062012000300001>
- Rico-Gray V, Oliveira PS. 2007.** *The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions*. The University of Chicago. <https://doi.org/10.7208/chicago/9780226713540.001.0001>
- Sakugawa GC, Pscheidt AC, Cordeiro I, et al. 2019.** Pollen morphology of Microstachys ( Euphorbiaceae ) with emphasis on neotropical species neotropical species. *Grana* **58**: 408–423. <https://doi.org/10.1080/00173134.2019.1651900>
- Schultes RE. 1987.** Members of Euphorbiaceae in primitive and advanced societies. *Botanical Journal of the Linnean Society* **94**: 79–95. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1987.tb01039.x>
- Secco RDS, Cordeiro I, De Senna-Vale L, et al. 2012.** An overview of recent taxonomic studies on Euphorbiaceae s.l. in Brazil. *Rodriguesia* **63**: 227–242.  
<https://doi.org/10.1590/S2175-78602012000100014>
- Silberbauer-gottsberger I, Gottsberger G. 1988.** A polinização de plantas do cerrado. *Revista Brasileira de Biologia* **48**: 651–663.
- Strassburg BBN, Brooks T, Feltran-barbieri R, et al. 2017.** Moment of truth for the Cerrado hotspot. *Nature Publishing Group* **1**: 1–3. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0099>
- Suetsugu K, Shitara T, Yamawo A. 2017.** Seed dispersal by ants in the fully

mycoheterotrophic plant *Sciaphila secundiflora* (Triuridaceae). *Journal of Asia-Pacific Entomology* **20**: 914–917. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.06.011>

**Tannus JLS, Assis A. 2004.** Composição de espécies vasculares de campo sujo e campo úmido em área de cerrado , Itirapina – SP , Brasil 1. *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 489–506. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042004000300009>

**Torezan-Silingardi HM. 2012.** Flores e animais: uma introdução à história natural da polinização In: *Ecologia das Interações Plantas-Animais: uma abordagem ecológico-evolutiva*.1–27.

**Vega C De, Herrera CM, Dötterl S. 2014.** Floral volatiles play a key role in specialized ant pollination. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **16**: 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2013.11.002>

**Vega C De, Ortiz PL, Herrera CM, Talavera S. 2009.** The ant-pollination system of *Cytinus hypocistis* ( Cytinaceae ), a Mediterranean root holoparasite. *Annals Of Botany* **103**: 1065–1075. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp049>

**Velasque M, Del-Claro K. 2016.** Host plant phenology may determine the abundance of an ecosystem engineering herbivore in a tropical savanna. *Ecological Entomology* **41**: 421–430. <https://doi.org/10.1111/een.12317>

**Wagner D, Kay A. 2002.** Do extrafloral nectaries distract ants from visiting flowers ? An experimental test of an overlooked hypothesis. *Evolutionary Ecology Research* **4**: 293–305.

**Webster GL. 1994.** Synopsis of the Genera and Suprageneric Taxa of Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **81**: 33–144. <https://doi.org/10.2307/2399909>

**Wilson EO, Holldobler B. 2005.** The Rise of the Ants : A Phylogenetic and Ecological

Explanation. *PNAS* **102**: 7411–7414. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502264102>