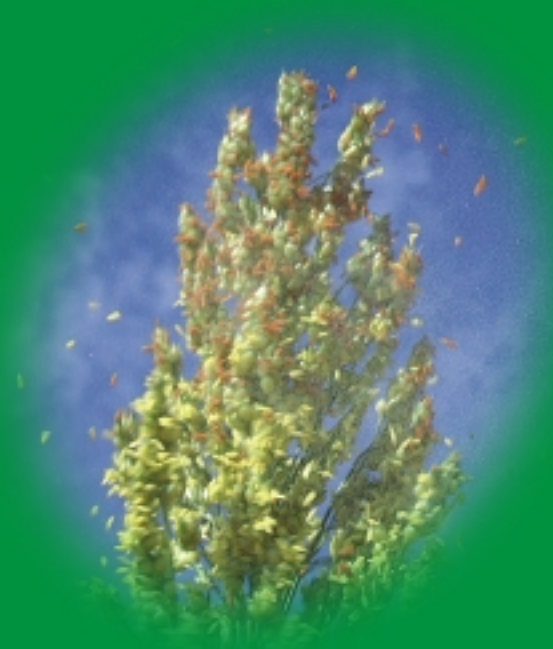


Biologia e Ecologia da Polinização

Cursos de Campo vol.2



Biologia e Ecologia da Polinização

Cursos de Campo

Vol. 2

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

REITORA

Dora Leal Rosa

VICE-REITOR

Luiz Rogério Bastos Leal

EDITORA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

DIRETORA

Flávia Goullart Mota Garcia Rosa

CONSELHO EDITORIAL

Titulares

Ângelo Szaniecki Perret Serpa

Caiuby Alves da Costa

Charbel Niño El-Hani

Dante Eustachio Lucchesi Ramacciotti

José Teixeira Cavalcante Filho

Alberto Brum Novaes

SUPLENTE

Cleise Furtado Mendes

Evelina de Carvalho Sá Hoisel

Maria Vidal de Negreiros Camargo

Biologia e Ecologia da Polinização

Cursos de Campo

Vol. 2 

Rede Baiana de polinizadores | EDUFBA

Salvador, Bahia - 2010



©2010 by Blandina Felipe Viana e Fabiana Oliveira da Silva

Direitos para esta edição cedidos à Editora da Universidade Federal da Bahia.

Feito o depósito legal.

Capa, projeto gráfico e editoração

Lúcia Valeska de Souza Sokolowicz

Revisão

Blandina Felipe Viana e Fabiana Oliveira da Silva

Sistema de Bibliotecas - UFBA

Biologia e ecologia da polinização / organizadoras Blandina Felipe Viana e Fabiana Oliveira da Silva. - Salvador : EDUFBA, Rede Baiana de Polinizadores, 2010.
212 p. : il. - (Série Cursos de campo; v.2)

ISBN 978-85-232-0711-3

1. Polinização. 2. Plantas - Fertilização. 3. Adaptação (Biologia). 4. Ecologia. I. Viana, Blandina Felipe. II. Silva, Fabiana Oliveira da. III. Série.

CDD - 571.8642

Editora filiada à:



Rua Barão de Jeremoabo s/n
Campus de Ondina - CEP 40.170-115
Salvador – Bahia – Brasil
Telefax: 0055 (71) 3283-6160/6164/6777
edufba@ufba.br - www.edufba.ufba.br

Aos participantes dos Cursos Internacionais de Campo sobre Polinização de 2007, 2008 e 2009 que contribuíram com os seus trabalhos para a realização dessa obra.

Biologia e Ecologia da Polinização

Cursos de campo

Organizadores

Blandina Felipe Viana* e Fabiana Oliveira da Silva**

Consultores ad hoc

Astrid Kleinert (Universidade de São Paulo – USP)

Breno Magalhães Freitas (Universidade Federal do Ceará – UFC)

Blandina Felipe Viana (Universidade Federal da Bahia – UFBA)

Claudia Jacobi (Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG)

Edinaldo Luz das Neves (Centro Universitário Jorge Amado – UNIJORGE)

Fabiana Oliveira da Silva (Universidade Federal da Bahia – UFBA)

Favizia Freitas de Oliveira (Universidade Federal da Bahia – UFBA)

Isabel Alves dos Santos (Universidade de São Paulo – USP)

Isabel Cristina Sobreira Machado (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE)

Leonardo Galetto (Universidad Nacional de Córdoba – UNC)

Márcia Motta Maués (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Amazônia Oriental)

Peter G. Kevan (University of Guelph - UOGUELPH)

* Professora Associada II do Instituto de Biologia da UFBA.

** Doutoranda do Programa de pós-graduação em Ecologia do IBUFBA

Agradecimentos

Somos imensamente gratas aos incansáveis parceiros Peter G Kevan (University of Guelph), Leonardo Galetto (Universidad de Cordoba), Favizia Freitas de Oliveira (Universidade Federal da Bahia) e Breno M. Freitas (Universidade Federal do Ceará) cujas participações são imprescindíveis para concretização dos cursos de campo sobre polinização. Queremos também expressar os nossos agradecimentos aos colegas que aceitaram o nosso convite para participar como colaboradores nas edições dos cursos de campo Nadia Roque (Universidade Federal da Bahia), em 2007 e 2009, Washington Rocha (Universidade Estadual de Feira de Santana), em 2007, Afonso Odério Nogueira Lima (Instituto Centro de Ensino Tecnológico - Centec) e Francisca Soares (Universidade Federal do Ceará), em 2008, Márcia Motta Maués (Embrapa Amazônia Oriental), Danilo Boscolo (Universidade Federal de São Paulo) e Roy Funch (Fundação Chapada Diamantina), em 2009.

Somos também imensamente gratas à valiosa colaboração dos colegas Claudia Jacobi (Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG), Astrid Kleinert e Isabel Alves dos Santos (Universidade de São Paulo – USP), Edinaldo Luz das Neves (Centro Universitário Jorge Amado – Unijorge) e Isabel Cristina Sobreira Machado (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE) na revisão dos manuscritos contidos nessa publicação.

Agradecemos ainda aos produtores rurais da Chapada Diamantina e de Limoeiro do Norte que nos permitiram o acesso às suas propriedades e ao Sr. Euvaldo Ribeiro, coordenador do Parque Municipal de Mucugê, que nos proporcionou as condições adequadas à realização das atividades práticas do curso, em Mucugê.

Finalmente agradecemos aos monitores Amia Carina Spineli, Caroline Meirelles, Danielle de Abreu Silva, Edilene Melo de Jesus, Eduardo Freitas Moreira, Gabriel Salles Góes, Juliana Hipólito de Sousa, Igor Torres Reis, Isaac Gabriel Abrahão Bonfim, Luis Carlos Araújo Júnior, Luiz Wilson Lima Verde, Marcelo de Oliveira Milfont, Marcelo Casimiro Cavalcanti, Marília Dantas, Patrícia Barreto de Andrade, Patrícia Ferreira, Rômulo Augusto Guedes Rizzardo e Thiago Mählmann Vitoriano Lopez Muniz cujo apoio, dedicação e responsabilidade nos permitiram cumprir com os objetivos almejados para os cursos.

A realização desses cursos foi possível graças ao apoio logístico e auxílio financeiro dos seguintes parceiros: Universidade Federal da Bahia, Universidade Federal do Ceará, University of Guelph, Universidad Nacional de Cordoba, Instituto Centro de Ensino Tecnológico – Centec, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Associação Brasileira de Estudos Canadenses (Abecan), Ministério do Meio Ambiente (MMA), Banco do Nordeste (BNB), Alpina Hotel de Mucugê, Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), Unimed Saúde, Prefeituras Municipais de Mucugê e de Limoeiro do Norte e ao Agropolo Mucugê/ Ibicoara - Bahia.

Nota dos Organizadores

Este livro reúne os resultados dos mini-projetos desenvolvidos pelos participantes dos Cursos Internacionais de Campo sobre Polinização, realizados nos anos de 2007 e 2009, em Mucugê, Bahia e em 2008, em Limoeiro do Norte, Ceará, promovidos pela Iniciativa Brasileira dos Polinizadores (IBP) e pela Rede Baiana para Conservação e Uso Sustentado de Polinizadores (Repol). No total foram produzidos 19 manuscritos sendo que um desses, “Records on floral biology and visitors of *Jacquemontia montana* (Moric.) Meisn. (Convolvulaceae) in Mucugê, Bahia”, de autoria de Silva F.O., Kevan S.D., Roque N., Viana B.F. & Kevan P.G., foi excluído dessa obra por ter sido aceito para publicação na *Brazilian Journal of Biology*, v 70.4, 2010.

Esses cursos visam qualificar pesquisadores, docentes de instituições de ensino superior, discentes de pós-graduação e demais profissionais que atuam na área de polinização e/ou que possuem o perfil para atuarem nesta área, como futuros pesquisadores, formadores de recursos humanos e disseminadores de conhecimentos em nível local e/ou regional. O formato original desses cursos foi concebido e desenvolvido pelo Prof. Dr. Peter G. Kevan, da Universidade de Guelph no Canadá, na década de 90. No Brasil já foram realizadas cinco edições desses cursos, sendo 04 na Bahia (Chapada Diamantina) e uma no Ceará (Limoeiro do Norte), que contaram com o apoio do Programa de Pós Graduação em Ecologia e Biomonitoramento do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia e dos Programas de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais e de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará.

Esperamos que a publicação dessa obra, o segundo da série *Biologia e Ecologia da Polinização: Cursos de Campo*, contribua para despertar o interesse de jovens pesquisadores nos estudos da biologia e da ecologia da polinização e que sirva de estímulo para aqueles interessados em participar das próximas edições dos cursos de campo sobre polinização.

Nos Anexos encontra-se o artigo “Cursos de Campo sobre polinização: uma proposta pedagógica”, publicado na revista *Oecologia Australis*, (14(1):299-306) 2010, contendo informações detalhadas sobre o curso.

Sumário

13 Parte I - Contribuições do curso de campo em biologia e ecologia da polinização - 2007



- 15 Produção de néctar e visitantes florais de *Calliandra mucugiana* (Renvoize) (Fabaceae: Mimosoideae) em Campo Rupestre, Mucugê – BA
- 23 Aspectos da produção de néctar e visitantes florais de *Waltheria cinerescens* A. St.-Hil. (Malvaceae) no parque municipal de Mucugê, Mucugê, Bahia, Brasil
- 33 Floral visitors of *Paliavana tenuiflora* (Mansf.) (Gesneriaceae) in Mucugê, Bahia, Brazil
- 45 Aspectos da biologia floral de *Cambessedesia wurdackii* (A. B. Martins) (Melastomataceae) e registo da atividade dos visitantes florais
- 51 Floral biology and visitors of *Moquinia kingii* (D.C.) (Asteraceae) in Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil: preliminary approaches
- 61 Aspects of floral biology of buzz-pollinated *Senna cana* (Nees & Martius) H.S.Irwin & Barneby (Leguminosae) in a rupestrian field
- 67 Function of the projections on the lower lip of the corolla of *Angelonia tomentosa* (Moricond ex Benth) (Plantaginaceae) in Mucugê, BA
- 73 Frequency of attacks by flower mites, endophagous insects and robbers through flower ontogeny of *Camptosema coriaceum* (Nees & Mart) (Leguminosae, Papilionoideae) in a rupestrian field, Northeastern Brazil
- 85 Dispersão de pólen por vento em *Lagenocarpus rigidus* (Kunth) Nees (Cyperaceae), no parque Sempre-Viva, Mucugê, Bahia
- 91 Floral nectar dynamics and spectrum of visitors in *Camptosema coriaceum* (Nees & Mart.) Benth. (Leguminosae, Papilionoideae): an ornithophilous plant robbed by bees in a rupestrian field from Chapada Diamantina, Brazil
- 109 Nectar secretion patterns and removal effects in two sympatric *Calliandra* species in Chapada Diamantina, Bahia, Brazil

117 Parte II - Contribuições do curso de campo em biologia e ecologia da polinização - 2008



- 119 Biologia floral de *Turnera subulata* (Smith) (Turneraceae): estudo dos morfotipos e visitantes florais
- 129 Relação entre a disponibilidade de pólen de *Sorghum bicolor* (L.) e a frequência de visita de *Toxomerus politus* (Say, 1823) (Diptera: Syrphidae)
- 137 Aspectos da biologia floral, visitantes florais e sucesso reprodutivo de *Mimosa caesalpiniiifolia* (Benth) em Limoeiro do Norte, Ceará, Brasil
- 147 Avaliação da produção de néctar de *Caesalpinia ferrea* (Mart.) (Fabaceae: Papilionoideae) e sua relação com os visitantes florais (legítimos e roubadores) em Limoeiro do Norte-Ceará-Brasil
- 165 Relating flower morphology and rewards to flower visitors in invasive convolvulaceae species, NE, Brazil

173 Parte III - Contribuições do curso de campo em biologia e ecologia da polinização - 2009



- 175 Biologia floral e visitantes de *Kielmeyera cuspidata* (Saddi) (Clusiaceae) em campos rupestres, na Bahia
- 183 Dimorfismo sexual em *Kielmeyera cuspidata* (Saddi) (Clusiaceae) em uma área de campo rupestre, no Município de Mucugê, Bahia
- 193 Biologia floral e síndrome de polinização de *Mandevilla moricandiana* (A. DC) Woodson (Apocynaceae)
- 205 Are floral nectar parameters distinct among different floral types?

217 Anexo



- 219 Cursos de campo sobre polinização: uma proposta pedagógica

Parte I

Contribuições do curso de campo em biologia e
ecologia da polinização - 2007



Produção de néctar e visitantes florais de *Calliandra mucugeana* (Renvoize) (Fabaceae: Mimosoideae) em Campo Rupestre, Mucugê – BA

André Sarlo Bernardino¹

Juliana Duarte de Souza Alonso²

Valdir Lamim Guedes Junior³

Tatiana Lobato de Magalhães⁴

Os campos rupestres ocorrem em altitudes maiores que 1000 metros e são caracterizados pela ocorrência de solos arenosos e pedregosos, com vegetação predominantemente herbácea e arbustiva associada aos afloramentos rochosos. Estes apresentam uma mistura de habitats discernidos pela configuração do substrato, proporção de rochas expostas, presença de blocos de rocha e de sedimentos arenosos, composição florística e continuidade da vegetação, constituindo um sistema bastante heterogêneo, com mudanças bruscas de comunidades em um curto espaço (CONCEIÇÃO *et al.*, 2005).

A vegetação de campos rupestres é uma das principais fitofisionomias encontradas na Serra do Sincorá, parte integrante da Chapada Diamantina – BA, Brasil. Os estudos da vegetação têm demonstrado a unidade florística do campo rupestre, onde há dominância de famílias características, como Velloziaceae, Asteraceae, Melastomataceae, Orchidaceae, Cyperaceae, Bromeliaceae, Eriocaulaceae, Poaceae e Fabaceae, com um alto grau de endemismos (STANNARD, 1995; GIULIETTI; PIRANI; HARLEY, 1997). Em campos rupestres, a família Fabaceae tem os gêneros *Calliandra*, *Mimosa* e *Chamaecrista* como os mais representativos. O gênero *Calliandra* é composto por cerca de 132 espécies exclusivamente Neotropicais (BARNEBY, 1998), sendo a Chapada Diamantina um dos principais centros de diversidade de *Calliandra*, onde ocorrem 40 espécies, sendo 30 delas endêmicas desta região (SOUZA, 2001).

Calliandra mucugeana (Renvoize) é uma espécie endêmica da Serra do Sincorá, tendo registro somente no município de Mucugê, BA. Caracteriza-se por seu hábito arbustivo, folhas duplamente pinadas e folíolos numerosos e coriáceos, com inflorescências do tipo

¹ Universidade Estadual do Norte Fluminense (bernardinoas@pop.com.br)

² Universidade de São Paulo (alonso_juli@yahoo.com.br)

³ Universidade Federal de Ouro Preto (dirguedes@yahoo.com.br)

⁴ Universidade Federal Rural da Amazônia (tatilobato@gmail.com)

glomérulo, apresentando flores pentâmeras, de simetria radial e vistosos estames vermelhos (LEWIS, 2003), possui nectários florais na base do tubo sendo uma rica fonte de néctar aos visitantes florais. Pouco se conhece sobre a biologia da polinização de *Calliandra mucugeana*.

Duas estratégias de produção e secreção de néctar podem ser observadas nas fanerógamas: contínua ou limitada a curtos períodos da vida da flor (DAFNI; KEVAN; HUSBAND, 2005). Essas diferentes estratégias podem apresentar influências diretas sobre o comportamento dos visitantes florais e sobre a diversidade da fauna associada a estas flores (BAKER; BAKER, 1983). Embora este fato seja conhecido, poucos estudos têm investigado as mudanças em volume e concentração do néctar como função do envelhecimento da flor e suas influências sobre as guildas de polinizadores (NEPI; GUARNIERI; PACINI, 2001).

Os objetivos do presente estudo foram analisar os padrões diários de produção e reposição de néctar em flores de *Calliandra mucugeana* e investigar suas influências sobre a assembléia de visitantes florais.

Material e métodos

O experimento foi realizado no Parque Municipal Sempre Viva (12°59'S – 41°20'W), no município de Mucugê – BA, região da Chapada Diamantina, durante o III Curso de Ecologia e Biologia da Polinização, maio de 2007, organizado pelos Programas de Pós-Graduação em Ecologia e Biomonitoramento do IBUFBA e de Botânica da UEFS e pela Rede Baiana de Polinizadores (Repol).

O parque é composto por campos rupestres, sendo que o clima da região é mesotérmico, com duas estações chuvosas (800mm – 1600mm), e temperaturas médias variando entre 18°C e 22°C. O clima é do tipo Tropical do Brasil Central, subquente, semiúmido, com verão úmido e quatro a cinco meses secos concentrados na primavera.

Para obtenção dos dados referentes à produção e reposição de néctar ao longo da vida da flor, 45 inflorescências, contendo de cinco a seis botões em pré-antese cada, foram ensacadas no dia anterior a amostragem para exclusão de visitantes florais. Com o intuito de se conhecer os padrões de produção e secreção de néctar, quatro tratamentos foram realizados: 1 - retirada de néctar em 4 horários (7h, 10h, 13h e 16h), sendo 7h o horário da antese; 2 - retirada de néctar em 3 horários (10h, 13h e 16h); 3 - retirada de néctar em 2 horários (13h e 16h); 4 - apenas uma coleta, às 16h. Em cada tratamento foram utilizadas três flores de cinco indivíduos, totalizando 15 flores por tratamento e 60 flores em todo o experimento. A retirada do néctar foi realizada com o auxílio de microcapilares de 10 µl de volume e a concentração de açúcares foi medida utilizando-se refratômetros portáteis de 0-50% e 50-100%. A quantidade de açúcar presentes no néctar foi calculada segundo Dafni; Kevan e Husband (2005).

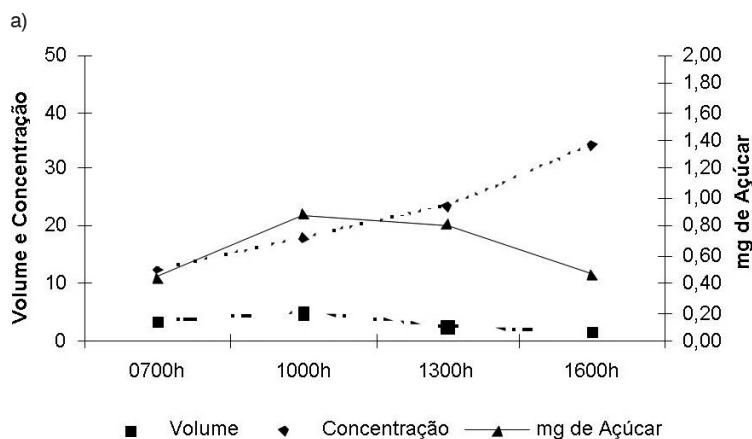
Um levantamento rápido dos visitantes florais foi realizado no dia 15 de maio de 2007, quando estes foram amostrados por dois coletores, em dois intervalos de 15 minutos a cada hora, entre 7h e 18h. Mensurou-se também o número de flores visitadas e o tempo gasto pelos visitantes em cada flor. Posteriormente, os visitantes florais foram identificados ao melhor nível taxonômico possível.

Análises exploratórias de correlação entre volume e concentração do néctar e entre estas variáveis e a temperatura e umidade relativa foram realizadas. Os dados de volume, concentração e mg de açúcar presente no néctar foram analisados quanto ao horário e ao tratamento utilizando-se o teste Manova ($\alpha=0,05$) e o *post hoc* HSD de Tukey. Para avaliar se houve relação entre o tempo de permanência dos visitantes e os mg de açúcar no néctar utilizou-se do teste Anova ($\alpha=0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o programa Estatística 7.0.

Resultados e discussão

Os experimentos de reposição de néctar (Tratamentos 1, 2 e 3) apresentaram valores maiores de volume e valores menores de concentração do néctar e mg de açúcar, em cada horário, quando comparados com o experimento de produção ao longo do dia (Tratamento 4) (Fig. 1 e Tab. 1). Entretanto, quanto aos valores acumulados ao longo do dia, o experimento de reposição apresentou valores de mg de açúcar superiores ao experimento de produção (Tab. 1). Dos experimentos de reposição, o tratamento 2 (início da retirada de néctar no período das 10h) foi o que apresentou os maiores valores acumulados de volume e mg de açúcar.

Figura 1 - Secreção de néctar de *Calliandra mucugueana* ao longo do dia em dois experimentos (a-Reposição; b-Produção) com dados referentes ao volume, concentração e mg de açúcar presentes no néctar em diferentes horários.



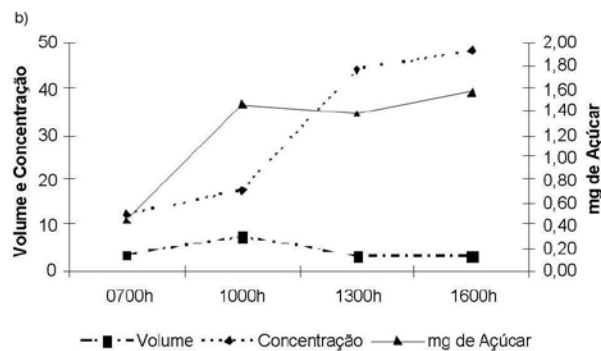


Tabela 1 - Valores de volume, concentração e mg de açúcar presentes no néctar de *Calliandra mucugueana* obtidos nos diferentes tratamentos em quatro horários ao longo do dia (valores médios $\pm$ desvio padrão).

Tratamento		Horários				Variação diária acumulada
		07h	10h	13h	16h	
1	volume	3,40 $\pm$ 1,68	4,82 $\pm$ 2,68	2,70 $\pm$ 2,48	1,36 $\pm$ 0,81	10,96 $\pm$ 4,50
	concentração	12,50 $\pm$ 3,25	17,93 $\pm$ 7,79	23,27 $\pm$ 18,65	34,13 $\pm$ 19,45	-
	mg de açúcar	0,40 $\pm$ 0,28	0,88 $\pm$ 0,52	0,81 $\pm$ 0,77	0,46 $\pm$ 0,29	2,37 $\pm$ 1,33
2	volume		7,45 $\pm$ 6,02	5,90 $\pm$ 6,30	0,93 $\pm$ 1,18	14,28 $\pm$ 8,68
	concentração		16,60 $\pm$ 3,91	27,07 $\pm$ 12,41	13,79 $\pm$ 15,90	-
	mg de açúcar		1,45 $\pm$ 1,34	1,48 $\pm$ 1,40	0,25 $\pm$ 0,39	3,19 $\pm$ 1,72
3	volume			3,10 $\pm$ 1,49	1,75 $\pm$ 1,90	4,85 $\pm$ 2,54
	concentração			44,27 $\pm$ 10,10	24,67 $\pm$ 18,12	-
	mg de açúcar			1,38 $\pm$ 0,75	0,61 $\pm$ 0,67	1,99 $\pm$ 1,06
4	volume				3,15 $\pm$ 1,47	3,15 $\pm$ 1,47
	concentração				48,40 $\pm$ 10,08	-
	mg de açúcar				1,58 $\pm$ 0,87	1,58 $\pm$ 0,87

O volume e a concentração do néctar não foram correlacionados significativamente em nenhum dos dois experimentos, variando de forma independente, mas a temperatura e a umidade relativa apresentaram-se altamente correlacionadas, possibilitando o uso de apenas uma destas variáveis nas análises posteriores (Tab. 2). Quando as variáveis do néctar de ambos experimentos foram analisadas quanto às correlações com a temperatura, somente os miligramas de açúcar do experimento de produção apresentaram correlação significativa (Tab. 3 e 4). Desta forma, ficou evidenciado que as variáveis climáticas interferem diretamente no acúmulo de solutos no néctar ao longo do dia. Entretanto, as variáveis climáticas não foram capazes de indicar a estratégia de secreção de néctar de *Calliandra*

mucugeana, sugerindo que outros fatores, além das características climáticas, influenciam seu padrão de produção e secreção de néctar ao longo do dia.

Tabela 2 - Correlação entre volume e concentração do néctar em flores de *Calliandra mucugeana* em função dos experimentos de produção e reposição de néctar, e análise da correlação entre as variáveis climáticas: temperatura e umidade relativa (*resultados estatisticamente significativos).

Parâmetros	R	t	P
produção	-0,14	1,32	0,26
reposição	-0,18	1,26	0,21
variáveis climáticas	-0,98	23,77	>0,001*

Os testes Manova foram significativos para ambos experimentos (reposição: $F_{9,105} = 7,09$ e $p < 0,0001$; produção: $F_{9,131} = 19,75$ e $p < 0,0001$), sendo que o volume e a concentração do néctar apresentaram comportamentos de secreção similares para os experimentos de reposição e produção, mas os mg de açúcar comportaram-se de forma diferente nos dois experimentos (Fig. 2). O teste *post hoc* HSD de Tukey revelou que o volume de néctar na flor aumentou até 10h, decrescendo após este período. Já a concentração do néctar mostrou-se estável até o período das 13h, após o qual apresentou

um aumento maior que 100% do valor do primeiro horário, e os mg de açúcar apresentaram acréscimo ao longo de todo o dia, com um pico de secreção no período até às 10h (Tab. 1).

Tabela 3 - Correlação entre volume, concentração e mg de açúcar presentes no néctar de flores de *Calliandra mucugeana* em relação à temperatura em experimento de reposição de néctar ao longo do dia (*resultados estatisticamente significativos).

Parâmetro	r	t	P
volume	-0,33	0,49	0,67
concentração	0,90	2,93	0,09
mg de açúcares	0,26	0,38	0,74

Tabela 4 - Correlação entre volume, concentração e mg de açúcar presentes no néctar de flores de *Calliandra mucugeana* em relação à temperatura em experimento de produção de néctar ao longo do dia (*resultados estatisticamente significativos).

Parâmetros	r	t	P
volume	0,07	0,11	0,92
concentração	0,80	1,89	0,20
mg de açúcares	0,96	4,87	0,04*

Este comportamento do volume e da concentração do néctar pode estar associado a diferenças em suas taxas de evaporação e de secreção (KAJOBE, 2007), uma vez que os mg de açúcar presentes no néctar indicam que não ocorre reabsorção do néctar, mas que há secreção continuada desses açúcares por parte das flores. Este fato difere das observações feitas por Nepi, Guarnieri e Pacini (2003) nas quais constataram que existe reabsorção de néctar em flores de *Calliandra calothyrsus* (Meissn). Esses dados sugerem ainda, que há secreção contínua de néctar ao longo do dia, mas que as características desse néctar são determinadas pela forma como ele é explorado pelos visitantes florais

(horário e quantidade coletada), sendo sua secreção favorecida quando este é coletado próximo ao período das 10h.

Foram encontrados visitantes florais somente até 14h, sendo que as coletas no período das 10h se destacaram pelo maior número de visitantes. A ordem Hymenoptera foi a mais abundante, tendo *Apis mellifera* (Linnaeus) e *Trigona spinipes* (Fabricius) como seus principais representantes, corroborando os estudos de Kajobe (2007), que observou *A. mellifera* como o visitante floral mais comum em *Calliandra calothyrsus*. Outras ordens como Coleoptera, Hemiptera e Lepidoptera ocorreram em pequenas proporções, sendo considerados como visitantes ocasionais.

Trigona spinipes apresentou comportamento pilhador (JOHNSON; HUBELL, 1974; COBERT; WILLMER, 1980), retirando néctar na base do nectário através de incisões nas sépalas, enquanto *A. mellifera* coletou néctar e entrou em contato com as anteras, mas não foram feitas investigações para confirmar se houve polinização. Trabalhos com o gênero *Calliandra* relataram mariposas (CRUDEN; KINSMAN, 1976; HABER; FRANKIE, 1989), abelhas, borboletas (HERNÁNDEZ, 1991; VOGEL, 1954; RICHARDS, 1986), beija-flores (GONZALES, 1998; KALIN ARROYO, 1981; TOLEDO, 1977) e morcegos (CHAMBERLAIN; HUBERT, 2001; HERNÁNDEZ, 1991; HOLDRIDGE; POVEDA, 1975; LEMKE, 1985;) como seus polinizadores efetivos.

Embora seja conhecida a habilidade dos visitantes florais em diferenciar o néctar quanto as suas características (BAKER; BAKER, 1975, 1983; BIESMEIJER; ERMERS, 1999; OPLER, 1983; ROUBIK; BUCHMANN, 1984; ROUBIK et al., 1995), no presente estudo não foi observada relação significativa entre o tempo de visitação e a quantidade de açúcares presentes no néctar (Anova: $F=2,709$, $p=0,1071$). Entretanto observou-se um maior número de visitas no período das 10h, coincidindo com o período que otimiza a produção de néctar de *C. mucugana*.

Considerações finais

Calliandra mucugana apresenta um limite de secreção de néctar ao longo do dia, o qual atinge um patamar em função do número de visitas e quantidade de néctar coletado pelos visitantes. Desta forma, as coletas de néctar interferem diretamente na estratégia de secreção deste recurso floral, sendo a secreção prolongada pelas retiradas sucessivas do néctar. Apesar de haver diferentes estratégias de secreção de néctar, não há relação das características do néctar com a diversidade e o comportamento dos visitantes florais.

Referências

- BAKER, H.G.; BAKER, I. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). *Handbook of experimental pollination biology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. p.117–141.
- BAKER, H. G.; BAKER, I. Studies of nectar constitution and pollinator-plant coevolution. In: GILBERT, L. E.; RAVEN, P. H. (Ed.). *Animal and plant coevolution*. Austin, 1975. p. 100–138.
- BARNEBY, R. C. Silktree, guanacaste, monkey's earring: a generic system for the synandrous Mimosaceae of the Americas. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, v. 74, p. 1-223, 1998.
- BIESMEIJER, J. C.; ERMERS, M. C. W. Social foraging in stingless bees: how colonies of *Melipona fasciata* choose among nectar sources, *Behavioral Ecology and Sociobiology*, v. 46, n. 2, p. 129-140, 1998.
- CHAMBERLAIN, J. R.; HUBERT, J. D. Reproductive biology and seed production. In: CHAMBERLAIN, J. R. (Ed.). *Calliandra calothyrsus: an agroforestry tree for the humid tropics*. Oxford: Oxford Forestry Institute, 2001.
- COBERT, S. A.; WILLMER, P. G. Pollination of the yellow passion fruit: nectar, pollen and carpenter bee. *Journal of Agricultural Science*, n. 95, p. 655-666, 1980.
- CONCEIÇÃO, A. A. et al. Campos Rupestres. In: JUNCÁ, F. A.; FUNCH, L. ROCHA, W. *Biodiversidade e conservação da Chapada Diamantina*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. p. 153-180.
- CRUDEN, R. W.; KINSMAN, S. Pollination, fecundity, and the distribution of moth-flowered plants, *Biotropica*, n. 8, p. 204-210, 1976.
- DAFNI, A.; KEVAN, P. G. ; HUSBAND, B. C. *Practical Pollination Biology*. Cambridge, 2005.
- GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R.; HARLEY, R. M. Espinhaço range region, eastern Brazil. In: DAVIS, S. D.; HEYWOOD, V. H.; HERRERA-MACBRYDE, O.; VILLA-LOBOS, J.; HAMILTON, A. C. *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation*. Cambridge: IUCN Publication Unity, 1997. p. 397-404. v. 3. The Americas
- GONZALES, R. M. A. Population and reproductive ecology of *Calliandra locoensis* Garcia e Kolterman (Mimosaceae), an endemic species of south-western Puerto Rico. Thesis, University of Puerto Rico, Mayagüez, 1998.
- HABER, W. A.; FRANKIE, G. W. A tropical hawkmoth community: Costa Rican dry forest Sphingidae. *Biotropica*, v. 21, p. 155–172, 1989.
- HERNÁNDEZ, H. M. Taxonomía, distribución geográfica y biología reproductiva de *Calliandra calothyrsus* (Leguminosae, Mimosoideae), una especie con potencial agroforestal. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ser. Bot*, 1991. 62: p.121–132.

HOLDRIDGE, L. R.; POVEDA, A. *Arboles de Costa Rica*. San José, Costa Rica: Centro Científico Tropical, 1975. v. 1

JOHNSON, L. K.; HUBBEL S. P. Aggression and competition among stingless bees: field studies. *Ecology*, v. 55, p. 120-127, 1974.

KAJOBE, R. Botanical sources and sugar concentration of the nectar collected by two stingless bee species in a tropical African rain forest. *Apidologie*, n. 38, p. 110–121, 2007.

KALIN ARROYO, M. T. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). *Advances in Legume Systematics*. Brough: Kew Publishing, 1981. p. 23–777.

LEMKE, T. O. Pollen carrying by the nectar-feeding bat *Glossophaga soricina* in a suburban environment. *Biotropica*, v. 17, p. 107–111, 1985.

LEWIS, G. P. *Revisão Manuscrita da Família Mimosaceae*. APNE-CNIP, 2003.

NEPI, M. et al. Variability of nectar production and composition in *Linaria vulgaris* (L.) Mill. (Scrophulariaceae). *Plant Systematics and Evolution*, v. 238, p. 109-118, 2003.

NEPI, M.; GUARNIERI, M.; PACINI, E. Nectar secretion, reabsorption, and sugar composition in male and female flowers of *Cucurbita pepo*. *International Journal of Plant Science*, v. 162, p. 353–358, 2001.

OPLER, P. A. Nectar production in the tropical ecosystem, In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. (Ed.). *The biology of nectarines*, New York: Columbia University Press, 1983. p. 30-79.

RICHARDS, A. J. *Plant Breeding Systems*. London: Georg Allen and Unwin, 1986.

ROUBIK, D. W. On optimal nectar foraging by some tropical bees (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, v. 26, p. 197–211, 1995.

ROUBIK, D. W.; BUCHMANN, S. L. 1984. Nectar selection by *Melipona* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and the ecology of nectar intake by bee colonies in a tropical forest. *Oecologia*, v. 61, p. 1-10, 1984.

SOUZA, E. R. *Aspectos taxonômicos e biogeográficos do gênero Calliandra Benth. (Leguminosae - Mimosoideae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil*. 2001. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

STANNARD, B. L. *Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Brazil*. Brough: Kew Publishing, 1995.

TOLEDO, V. M. Pollination of some rain forest plants by non-hovering birds in Veracruz, Mexico. *Biotropica*, n. 9, p. 262–267, 1977.

VOGEL, S. Blütenbiologische Typen als Elemente der Sippengliederung. Dargestellt anhand der Flora Südafrikas. Botanische Studien Heft 1. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1954.

Aspectos da produção de néctar e visitantes florais de *Waltheria cinerescens* A. St.-Hil. (Malvaceae) no parque municipal de Mucugê, Mucugê, Bahia, Brasil

Afonso Odério Nogueira Lima¹
Francisca Ligia Aurélio Mesquita²
Isac Gabriel Abrahão Bomfim³
José Everton Alves⁴
Luiz Wilson Lima-Verde⁵

Malvaceae abrange, atualmente, mais três táxons famílias (Tiliaceae, Sterculiaceae e Bombacaceae), conforme resultados de estudos filogenéticos recentes (JUDD et al., 1999, ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 2003). Contando com um pouco mais de 3000 espécies, pertencentes a aproximadamente 230 gêneros, apresenta ampla distribuição geográfica, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, onde comportam indivíduos de hábitos herbáceos, arbustivos e arbóreos, dos quais, alguns se destacam pela importância econômica e ornamental, como por exemplo, o algodão *Gossypium hirsutum* (L.) e os hibiscos (*Hibiscus* spp.) (CRONQUIST, 1981).

O táxon *Waltheria* (L.), com cerca de uma centena de espécies caracteriza-se, basicamente, por apresentar flores com pétalas planas, cinco estames, filamentos unidos completamente ou parcialmente às anteras e fundidos em torno da metade do comprimento nas flores brevistilas, formando um tubo estaminal; ausência de estaminóides e androginóforos; ovário unilocular com estilete lateral ou não-centralizado. Espécies desse grupo taxonômico apresentam heterostilia, à semelhança de outros componentes de famílias angiospérmicas. Heterostilia é um tipo de polimorfismo floral geneticamente controlado, interpretado como sendo um mecanismo que dificulta a autopolinização e beneficia a polinização cruzada (BARRETT et al., 2000; LI; JOHNSTON, 2001). Nesse contexto encontram-se indivíduos longistilos (flores com estilete longo e estames curtos)

¹ Universidade Federal do Ceará (oderio@brisanet.com.br)

² Universidade Federal do Ceará (apisrainha@yahoo.com.br)

³ Universidade Federal do Ceará (isacbomfim@yahoo.com.br)

⁴ Universidade Federal do Ceará (professoreverton@msn.com)

⁵ Universidade Federal do Ceará (limaverdelw@yahoo.com.br)

e brevistilos (flores com estilete curto e estames longos), caso característico, também, de hercogamia recíproca (GANDERS, 1979).

As espécies de *Waltheria* geralmente apresentam-se com populações abundantes nos seus locais de ocorrência, expõem um grande número de flores por planta, nos picos de floração, e mantêm essa fenofase ativa durante todo o ano (MACEDO; MARTINS, 1998, 1999; LORENZI, 2000). Essas características atraem uma significativa guilda de insetos, dentre esses se destacam as espécies de Apidae que, em geral, dão preferência por plantas com florações maciças (HEINRICH, 1974). Essa tendência foi observada por Macedo e Martins (1998) em *Waltheria americana* L. Em estudo recente com *Xylocopa cearensis* (Ducke, 1910) Viana e colaboradores (2002) evidenciaram a importância de *W. cinerescens* na alimentação daquela espécie ao observarem o seu destaque preferencial (26%) entre as cinco espécies mais visitadas.

A polinização cruzada pode ser realizada por ação do vento, da água, da gravidade e dos seres vivos, como acontece em 80% das plantas com flores (NABHAN; BUCHMANN, 1997). Entretanto, nem todos esses agentes bióticos realizam o processo de polinização em flores heterostílicas, sendo essas polinizadas apenas por beija-flores e alguns tipos de insetos, onde se destacam as abelhas como os principais polinizadores (GANDERS, 1979; RICHARDS; KOPTUR 1993; CASTRO; OLIVEIRA, 2002).

Waltheria cinerescens foi escolhida para o estudo dos seus recursos florais e dos agentes que interferem na sua polinização, dada as suas características polimórficas e por ser bastante abundante nos campos rupestres do município de Mucugê-BA. Neste sentido se propôs descrever a sua biologia floral, estabelecer o padrão de secreção de néctar, avaliar a viabilidade polínica e constatar os horários de receptividade estigmática de ambas as morfos, bem como, registrar os seus visitantes florais presentes na área.

Material e métodos

O Parque Municipal de Mucugê localiza-se no município de Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia (12°59,863'S e 41°21,372'W; 940 m de altitude). Criado conforme o Decreto Municipal nº 235 de 15 de março de 1999, possui uma área de 570 ha revestida, principalmente, pela vegetação típica de campos rupestres. O experimento foi conduzido em uma área no entorno da Trilha da Sandália Bordada, durante os dias 14, 15 e 16 de maio de 2007.

Quatro indivíduos de *Waltheria cinerescens*, dois brevistilos (B) e dois longistilos (L), foram selecionados para a tomada de dados por um período de observações de 42 horas. Procedeu-se à coleta e preparo de material para herborização, conforme Fidalgo e Bononi (1989), sendo as exsicatas incorporadas aos herbários Prisco Bezerra (EAC) e HUEFS, referidos aqui de acordo com Holmgren e Holmgren (1990). Para a descrição da espécie optou-se pelas terminologias sugeridas por Stearn (1996) e complementadas pela descrição

de Cristóbal, Esteves e Saunders (1995). O nome do autor da espécie está de acordo com Brummitt e Powell (1992).

O estudo da biologia floral foi conduzido através de observações e análises das flores no campo e, em laboratório, com o uso de estereomicroscópio, analisando-se a morfologia floral e a viabilidade do pólen. O horário de antese e a longevidade das flores, assim como a receptividade estigmática, o volume de néctar e a sua concentração de açúcar foram acompanhados diretamente no campo.

Para o estudo da morfologia floral dos diferentes morfos florais utilizaram-se as instalações do laboratório do Projeto Sempre-Viva, onde se procedeu à dissecação das flores em antese e em botões para as medições e descrições devidas. Em complementação, esse material também foi fotografado com a ajuda de câmera digital acoplada ao estereomicroscópio.

Para a determinação do horário da antese e da longevidade das flores, de ambos os morfos, estabeleceu-se o período de 4:30h às 18:30h, durante três dias consecutivos. A viabilidade do pólen foi avaliada em laboratório retirando-se os grãos das anteras de ambos os morfos florais; posteriormente, os mesmos foram mergulhados em uma solução de vermelho neutro (1%) e, então, observada a reação em estereomicroscópio. A coloração vermelha dos grãos de pólen indicava a sua viabilidade (DAFNI, 1992).

A receptividade estigmática foi constatada em campo, em intervalos de uma hora, imergindo-se o estigma em tubo de ensaio contendo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e, em seguida, observando-se a reação com uma lupa de mão (10X). O aparecimento de bolhas, que indica a presença de peroxidase, afirmava a receptividade do estigma (DAFNI, 1992, GROSS, 1993).

Para a determinação do volume de néctar produzido ao longo do dia e da sua concentração de açúcar utilizaram-se, respectivamente, tubos microcapilares graduados em mililitro e refratômetro de mão (Sugar Refractometer 0-50%, Bellingham & Stanley Ltd.) disponibilizados pelo curso.

Escolheu-se aleatoriamente, entre os dois morfos, 48 inflorescências com pelo menos uma flor em pré-antese, que foi marcada com um fio de algodão. Em seguida, estas inflorescências foram devidamente protegidas da ação de agentes bióticos com sacos de filó. No dia seguinte, nos horários de 7h, 11h e 17h, as inflorescências foram desensacadas e, das flores previamente marcadas, que abriram durante o período, foi retirado o néctar para medir o volume e a concentração de açúcar. Após cada medição, as inflorescências foram novamente ensacadas para posterior leitura. Ao total foram observadas 50 flores de cada uma dos morfos florais (brevistila-restrita, longistila-restrita).

Na avaliação do padrão de secreção de néctar, ao longo do tempo, foi observado se o mesmo se apresentava de forma contínua e se essa continuidade dependeria da sua retirada. Amostraram-se aleatoriamente, entre os dois morfos, 240 flores para acompanhar a produção e a concentração de néctar sem as mesmas estarem protegidas (brevistila-livre, longistila-livre).

Para a coleta dos insetos que visitaram as flores dos diferentes morfos foram utilizadas redes entomológicas, sendo os espécimes imediatamente sacrificados em câmara mortífera contendo acetato de etila. A seguir, os mesmos eram enviados ao laboratório para identificação, etiquetagem, documentação fotográfica e posterior inclusão no acervo do museu entomológico da Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia.

No campo procedeu-se à contagem dos visitantes florais e à observação do comportamento de pastejo destes nas flores dos quatro espécimes analisados. Somente aqueles que visitavam as flores eram contados, a fim de se registrar a diversidade de espécies visitantes. Esta contagem foi realizada de hora em hora por um período de 10 minutos, em um número ilimitado de flores. Durante a visita anotava-se qual o recurso que estava sendo procurado na flor. Além dessas observações verificou-se o comportamento dos visitantes ao abordarem as flores. A cronometragem do tempo de visitação foi estabelecida através de cronômetro digital, levando-se em conta o momento de chegada e o período de permanência do visitante sobre as flores.

Resultados e discussão

Waltheria cinerescens A. St-Hil., Fl. Bras. Merid. 1 (14): 152 (1825). Arbusto, 0,5 a 2,5 m de altura, folhas simples, alternas, curto-pecioladas, lâmina 1-1,5 x 1-6 cm, coriácea, largamente elíptica a orbicular, ferrugíneo-tomentosa, margem desigualmente serrada. Inflorescências terminais, corimbiformes, duas a quatro flores em antese por segmento de inflorescência; as flores, com polimorfismo floral relacionado à heterostilia, apresentam-se com cerca de 1,1 cm compr., amarelas, pentâmeras, dispostas aos pares na inflorescência, com duração de um dia, antese diurna; flores brevistilas com cálice sincépalo mais ou menos da metade para a base, sépalas 5-8 x 1-3 mm, rombiformes, tomentosas, verde-amareladas, corola coripétala, pétalas 3-6 x 1,3-2 mm, obovadas, ungüiculadas, amarelas, tomentosas na face ventral; estames 5-7 mm compr., filamentos unidos formando tubo, anteras 1-1,5 mm compr., rimosas; estigma 1-1,5 x 1-1,5 mm, plumoso; estilete 4-5,5 mm compr., tomentoso; ovário 1,5-2 mm compr., súpero, hirsuto no ápice, unilocular; glândula nectarífera na base do ovário; fruto cápsula, 4 x 2 mm, cartáceo-membranáceo, deiscente; semente 2,5-1,5 mm compr., castanho-escuro. As flores longistilas são semelhantes, porém diferem no tamanho dos estames (6-6,5 mm compr.) e dos estiletos (6,5 mm compr.).

Material selecionado: BRASIL. Bahia: Mucugê, Parque Municipal de Mucugê, Chapada Diamantina (12°59,863'S e 41°21,372'W; 940 m de altitude), 16/05/2007, fl. fr., Lima-Verde et al. 3459, 3460 (EAC); Lençóis, Barro Branco, caminho para o rio Mandaçaia, 7/10/1995, fl. fr., Melo, E. et al. 1321 (HUEFS) (31908 EAC).

Não se dispõem de informações completas sobre a distribuição geográfica de *Waltheria cinerescens*, todavia, tem-se o seu registro referido para áreas costeiras da Bahia (VIANA; SILVA; KLEINERT, 2006) e campos rupestres deste estado (CRISTÓBAL; ESTEVES;

SAUNDERS, 1995) e de Minas Gerais. Apresenta floração durante todo o ano, tendo, contudo, picos em abril-maio e outro possivelmente em outubro-novembro para a chapada Diamantina. Caracteriza-se, basicamente, por apresentar folhas ferrugíneo-tomentosas com margens desigualmente serradas; inflorescências terminais corimbiformes com pequenas flores amarelas, heterostílicas, de antese diurna.

Os espécimes de *W. cinerescens* estudados iniciaram a antese entre 6h e 8h, porém, a maioria das flores abriu-se entre 6:45h e 7:15h (n = 50). As flores observadas apresentaram um odor adocicado e suave que permanecia perceptível até as 16h. Todas as flores permaneceram visualmente atrativas até as 17h, ocasião em que já apresentavam sinais de perda de turgidez. Ao amanhecer do dia seguinte, todas as flores abertas no dia anterior, independentemente de terem sido polinizadas ou não, apresentaram-se murchas e sem atratividade visual. Esses dados assemelham-se com os obtidos por Macedo e Martins (1998), em estudo com *W. americana*.

O pólen esteve disponível desde a antese, aproximadamente no horário de 7h, permanecendo viável até as 17h. Não foram feitos testes de viabilidade em outros horários. O estigma esteve receptivo a partir da antese até as 16:30 h, quando se verificou a baixa formação de bolhas ao mergulhá-lo no peróxido de hidrogênio.

A glândula nectarífera da base do ovário disponibilizou néctar ao longo do dia. A produção de néctar durante o dia, nas flores brevistilas e longistilas de *Waltheria cinerescens*, seguiu o padrão mostrado na figura 1. As flores longistilas não apresentaram produção de néctar até o horário de 7h. Pode-se perceber que os morfos florais em estudo tiveram uma produção contínua de néctar ao longo dos horários de observações, independentemente deste ser retirado ou não das flores através de tubos capilares. Observou-se, também, que nas flores amostradas não houve reabsorção do néctar produzido.

Figura 1 - Padrão diário de produção de néctar em *Waltheria cinerescens*, ao longo do dia, nos morfos brevistilos e longistilos, respectivamente, restritos e livres, no município de Mucugê-BA.

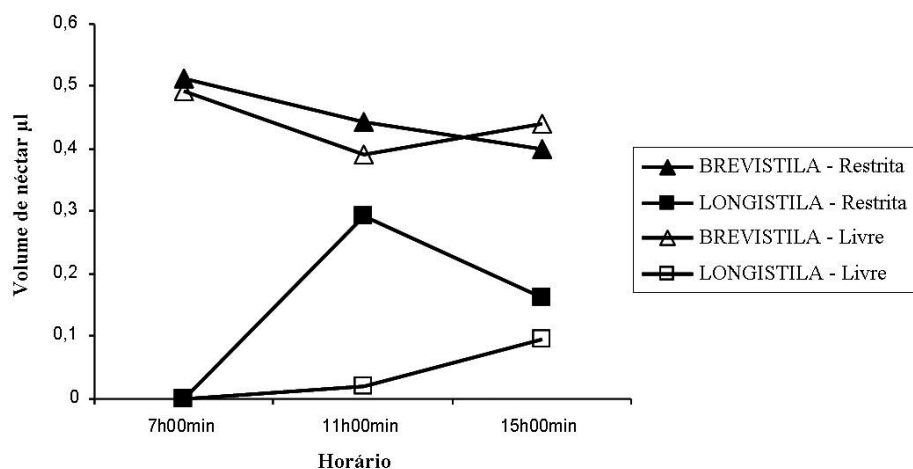
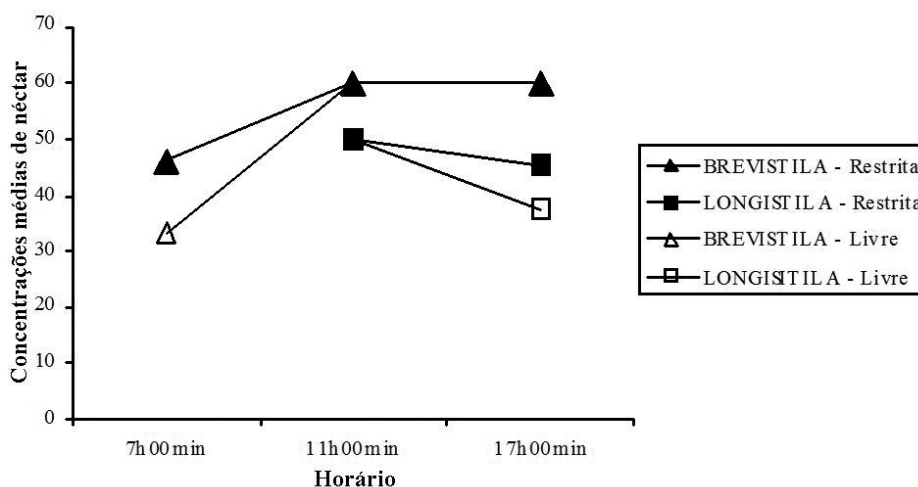


Figura 2 - Concentração do néctar em *Waltheria cinerescens*, ao longo do dia, nos morfos brevistilos e longistilos, respectivamente, restritos e livres, no município de Mucugê-BA.



O volume médio de néctar obtido nas flores brevistilas foi superior ao das flores longistilas em todos os horários de observações. Entretanto, no morfo brevistilo a maior média de volume de néctar ocorreu durante a antese, enquanto que no morfo longistilo as flores não apresentaram néctar durante esta fase, mas sim, no horário das 11h, quando se registrou a sua maior média (Fig. 1).

A concentração média de açúcar foi maior em flores brevistilas, aumentando do horário de 7h para 11h (Fig. 2). A concentração durante o horário de 11h e de 16h foi acima de 50%. O refratômetro usado não permitiu leituras acima desse nível de concentração. Provavelmente, esse aumento de concentração foi devido à evaporação da água presente no néctar, nos horários mais quentes do dia.

Neste trabalho foram registradas 14 espécies de visitantes florais para *W. cinerescens* (Tab. 1), resultado semelhante ao de Viana, Silva e Kleinert (2006), que encontraram 16 espécies. Considerando-se apenas o grupo dos Hymenoptera pode-se observar que houve uma riqueza maior de abelhas em

Tabela 1 - Visitantes florais de *Waltheria cinerescens* e seus respectivos tempos de permanência nas flores durante as visitas.

VISITANTES	TEMPO DE PERMANENCIA/ FLOR (S)
Sphecidae 1	3,72
Sphecidae 2	3,83
<i>Xylocopa cearensis</i> Ducke	3
<i>Frieseomelitta francoi</i> Moure	0
Lepidoptera 1	0
Lepidoptera 2	20
<i>Trigona spinipes</i> Fabricius	0
Hymenoptera 1	0
Diptera 1	6,83
Coleoptera 1	40
Coleoptera 2	0
<i>Pseudaugochlora</i> sp.	38,82
<i>Bombus brevivilus</i> Franklin	0
<i>Apis mellifera</i> L.	7,91

relação às vespas. Relacionam-se, assim, sete espécies de abelhas para duas de vespas, uma proporção de mais de três abelhas para um vespídeo (3,5:1). Proporção inversa foi encontrada por Macedo e Martins (1998) em pesquisa com *W. americana*. Esse fato poderia ser interpretado, para *W. cinerescens*, como sendo essa espécie mais atrativa para as abelhas; ou como havendo fatores intrínsecos ao período do ano capazes de provocar pouca atratividade para vespas; ou como estando ocorrendo período de sazonalidade para este grupo de insetos; ou, ainda, como existindo disponíveis, no local, outras fontes floríferas diversificadas e mais atrativas para vespas.

Essa guilda de visitantes foi encontrada durante todos os horários de observações, em cada dia, provavelmente devido ao contínuo fluxo de néctar disponibilizado nas flores. Em trabalho com *W. americana*, Macedo e Martins (1999) fazem referência às atividades dos apídeos ao longo do dia (7h às 17h), embora a maior frequência de visitas tenha ocorrido das 9h às 12h; e, para os vespídeos o período de maior visitação foi registrado entre 10h e 13h.

Dentre as espécies estudadas destacaram-se Coleoptera 1 (Fig. 3b), *Pseudaugochlora* sp. (Fig. 3a), Lepidoptera 2 e *Apis mellifera* (Fig. 3c), por apresentarem o maior tempo de visitação sobre as flores. Sabe-se que quanto maior o tempo de permanência na flor, maior a probabilidade deste polinizá-la (FREE, 1993). Entretanto, analisando-se o comportamento de pastejo desses indivíduos verificou-se que somente *Pseudaugochlora* sp., Coleoptera 1 e *Apis mellifera* foram os que entraram em contato com as partes reprodutivas das flores, tinham o corpo de tamanho que favorecia a polinização, estiveram na área com maior frequência, ao longo do dia, e permaneceram nas flores tempo suficiente para a polinização durante a visita. Considerando que *A. mellifera* é uma espécie exótica, as duas outras citadas seriam os possíveis polinizadores naturais de *W. cinerescens*, dado o comportamento de pastejo apresentado pelos mesmos. Essa hipótese, contudo, tende a favorecer mais a espécie *Pseudaugochlora* sp., tendo em vista as observações de Camargo e Mazucato (1984), quando confirmaram serem os Halictidae, da qual faz parte *Pseudaugochlora* sp., os principais visitantes florais das espécies de Sterculioideae, dentre elas destacando-se as do táxon genérico *Waltheria*.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos aos Professores Dra. Blandina Viana, Dr. Peter Kevan, Dr. Breno Magalhães Freitas, Dra. Favízia Freitas de Oliveira, Dra. Nadia Roque, Dr. Leonardo Galetto e Dra. Marina, à direção e funcionários do Parque Municipal de Mucugê e demais colaboradores, pela oportunidade que nos foi concedida para frequentar um curso de tão alto nível. Aos distintos colegas, a nossa gratidão pelas experiências compartilhadas, pelo companheirismo e amizade desfrutados.

Referências

- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, n. 141, p. 399-436, 2003.
- BARRETT, S. C. H.; WILKEN, D. H.; COLE, W. W. Heterostyly in the Lamiaceae: the case of *Salviabrandegeei*. *Plant Systematics and Evolution*, v. 223, p. 211-219, 2000.
- BRUMMITT, R. K.; POWELL, C. E. *Authors of plant names*. Brough: Kew Publishing, 1992.
- CAMARGO, J. M. F.; MUZACATO, M. Inventário da apifauna e flora apícola de Robeirão Preto, São Paulo, Brasil. *Dusenía*, v. 14, p.55-87, 1984.
- CASTRO, C. C.; OLIVEIRA, P. E. Pollination biology of distylous Rubiaceae in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. *Plant Biology*, n. 4, p. 640-646, 2002.
- CRISTÓBAL, C. L.; ESTEVES, G. L.; SAUNDERS, J. G. Sterculiaceae. In: STANNARD, B. L. (Ed.). Flora of Pico das Almas, Chapada Diamantina – Bahia, Brasil. Brough: Kew Publishing, 1995. p.602-607
- CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press: New York, 1981.
- DAFNI, A. Pollination ecology: a practical approach. Oxford: New York University Press, 1992.
- FIDALGO, O.; BONONI, V. L. R. *Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico*. São Paulo: Instituto de Botânica, 1989. (Série documentos)
- FREE, J. B. *Insect pollination of crops*. London: Academic Press, 1993.
- GANDERS, F. R. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany*, v. 17, p. 607-635, 1979.
- GROSS, C. L. The breeding system and pollinators of *Melastoma affine* (Melastomataceae); a pionner shrub in tropical Australia. *Biotropica*, n. 25, p. 468-474, 1993.
- HEINRICH, B. Flowering phenologies in bog woodland and disturbed habitats. *Ecology*, n. 57, p. 890-899, 1974.
- HOLMGREN, P. K.; HOLMGREN, N. H. *Index Herbariorum*. 1990 Disponível em: <<http://www.nybg.org/bsci/ih.ih.html>>. Acesso em: 21 jun. 2005.
- JUDD, W. S. et al. *Plants systematics, a phylogenetic approach*. Massachusetts: Sinauer Associates, 1999.
- LI, P.; JOHNSTON, M. O. Comparative floral morphometrics of distyly and homostyly in three evolutionary lineages of *Amsinckia* (Boraginaceae). *Canadian Journal of Botany*, v. 79, p. 1332-1348, 2001.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000.

MACEDO, J. F.; MARTINS, R. P. A estrutura da guilda de abelhas e vespas visitantes florais de *Walteria americana* L. (Sterculiaceae). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, Londrina, v. 28, n. 4, p. 617-633, dez. 1999 .

MACEDO, J. F.; MARTINS, R. P. Potencial da erva daninha *Walteria americana* (Sterculiaceae) no manejo integrado de pragas e polinizadores: visitas de abelhas e vespas. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 27, n. 1, p. 29-40, mar. 1998.

NABHAN, G.P; BUCHMANN, S. Services provided by pollinators. In: DAILY, G. C. (Ed.). Nature's services: societal dependence on natural ecosystems. Washington D.C.: Island Press, 1997. p.133-150.

RICHARDS, J. H.; KOPTUR, S. Floral variation and distyly in *Guettarda scabra* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, n. 80, p. 31-40, 1993.

STEARN, W. T. Botanical Latin. Hanover: David & Charles, 1996.

VIANA, B. F.; SILVA, F. O.; KLEINERT, A. M. P. A. A flora apícola de uma área restrita de dunas litorâneas, Abaeté, Salvador, Bahia. *Revista Brasileira de Botânica*, n. 29, p. 13-25, 2006.

VIANA, B. F.; KLEINERT, A. M. P.; SILVA, F. O. Ecologia de *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *cearensis* (Hymenoptera, Anthophoridae) nas dunas litorâneas de Abaeté, Salvador, Bahia. *Iheringia, Série Zoologia*, Porto Alegre, v. 92, n. 4, p. 47-57, dez. 2002.

Floral visitors of *Paliavana tenuiflora* (Mansf.) (Gesneriaceae) in Mucugê, Bahia, Brazil

Patricia Ferreira ¹

Marianna Horn ²

Erik Glemser ³

A major factor in the evolution of the angiosperms is the adaptation of plants to animal pollinators (GALLIOT; STUURMAN; KUHTLEMEIR, 2006). Because of their comparatively less mobility, plants require vectors to transfer pollen, giving rise to diverse floral adaptations associated with the particular agents involved (BARRETT, 1998). Numerous plant species rely on animal pollinators for their reproduction and have evolved with them through directional selection towards a complex of phenotypes that enhance reproductive success, such as floral architecture, color, scent and nectar (GALLIOT; STUURMAN; KUHTLEMEIR, 2006). It is estimate that approximately 98% to 99% of all flowering plant species in tropical forests are pollinated by animals (BAWA, 1990). These characteristics which premises that a given set of floral suits matches the characteristics of a certain class of pollinators, is know as “Pollination syndromes” (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979).

The Gesneriaceae family includes 135 genera and approximately 3,000 species of flowering plants which are distributed predominantly in the tropics. Two hundred species from 23 genera are found in Brazil (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005). Within this family, neotropical monophyletic tribe Sinningieae comprising three genera *Sinningia* (Nees), *Vanhouttea* (Lemaire) and *Paliavana* (Vandelli) (SMITH et al., 1997; ZIMMER et al., 2002, PERRET et al., 2003). The majority of the species belong to genus *Sinningia*, which is distributed throughout the Neotropics, except in the Caribbean area (CHAUTEMS; WEBER, 1999). *Vanhouttea* and *Paliavana* have a narrow distribution occurring mostly in south-eastern Brazil (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005a e b).

Bees and hummingbirds pollinate almost 93% of the species of the Sinningieae tribe. In the 1500 neotropical species of Gesneriaceae, 60% are pollinated by hummingbirds, 30% are pollinated by nectar-feeding euglossine bees and 10% are pollinated by bats, butterflies, hawkmoths, flies or male euglossine bees in search of nectar (WIEHLER, 1983).

¹ Universidade Federal da Bahia (patybio@yahoo.com.br)

² University of Guelph (mhorn@uoguelph.ca)

³ University of Guelph (eglemser@uoguelph.ca)

Ornithophilous syndrome is inferred for almost all species of *Vanhouttea* genera and for 67% of species from *Sinningia* genera, whereas *Paliavana* are suggest to be pollinated primarily by large bees and bats (PERRET et al., 2001; PERRET et al., 2003; SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005a).

The *Paliavana* genus occurs on rocky outcrops of the typical montane fields that are called 'campos rupestres' a short grass savana intermixed with other rupicolous communities (GIULIETTI; PIRANI, 1988). This genus is mainly represented by shrubs, occasionally small trees, and includes six species which occur on this rocky outcrop (campos rupestres) (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005). While most of the Sinningieae tribe display ornithophilous syndromes (PERRET et al., 2001, SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005), several species of *Paliavana*, including *P. tenuiflora*, are suggest to display chiropterophilous syndromes, because of some characteristics, including hermaphroditic flowers with gullet-shaped, zygomorphic corollas of a white and violet color, and high production of pollen and nectar (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005). This species occurs mainly in humid forests on rocky outcrops in Pernambuco, Bahia, and Minas Gerais (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005).

The floral syndromes of pollination by bats are well documented. In general, flowers open at dusk, are large, white or pale yellow, have a musky odor, and produce large quantities of nectar (BAWA, 1990; PROCTOR; YEAO; LACK, 1996). Based on the bell shape and greenish colour of the flowers, is suggested that some species of *Paliavana* genera are bat-pollinated. In this study, the notion of pollination syndrome was used as a tool to predict the pollinator spectrum.

This paper reports on floral visitors of *P. tenuiflora*, which is suggested that this species of *Paliavana* genera are bat-pollinated, as other species of this genus as *P. werdermannii* (Mansf.) and *P. sericiflora* (Benth) (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA 2005). The purposes were to identify and record the behavior of the floral visitors of *Paliavana tenuiflora* over a 24-hour period in Mucugê, Bahia, Brazil.

Materials and Methods

The fieldwork was carried out at the "Sandália Bordada" trail in The Municipal Park of Mucugê, located four kilometers from the City of Mucugê, Chapada Diamantina in Bahia, Brazil (12°59'S and 41°21'W). The park is characterized by rocky outcrop vegetation at an elevation of more than 800 meters. The area includes vegetation native to humid forests, savannas, and caatingas, and is home to a high number of endemic species due to the unique intersection of these biomes (ARAÚJO; SOUZA; CHAUTEMS, 2005).

The Chapada Diamantina range in the central region of the state of Bahia, Brazil, is dominated by campo rupestre, herbaceous-shrub vegetation that develops on open rocky ground at elevations above 900 m, and altitude vegetation (BAWA, 1990). The local climate is mesothermic, tropical semi-humid. Rains predominate in the austral summer (November–January). Average precipitation was 1138 mm. Monthly average rainfall varied from 35 mm (July and August) to 184 mm (December), resulting in a marked dry and a rainy seasons each year. Annual average temperatures varied between 22 and 25°C, with average minimums approximating 15°C (FUNCH; FUNCH; BARROSO, 2002).

Data on visitors of *Paliavana tenuiflora* were obtained from the population by qualitative observations made primarily during the following time periods on May 15th at 11h30–13h30, 17h30–19h30 and 23h30–01h30 and on May 16th at 05h30–07h30, 08h00–10h00 and 14h00–16h00, for a total of 36 hours of observation, in a total of 15 flowers from a maximum of nine plants. These observation periods were at high noon, dusk, midnight, and dawn to give a daily overview. The subsequent observation periods are the midpoints between these times, but, because no visitors were observed at dusk or at midnight, other nighttime observation periods were eliminated. *P. tenuiflora* buds were marked on May 14th and 15th to ensure that the flowers were of similar ages.

These activities had been carried through during the ending of the floral period of the species. We have registered the period, frequency and duration of the visits, as well as the number and behavior of the visitors when exploring the flowers, its permanence or not in the neighborhoods of the plant and the interactions with individuals of the same or other species of visitors. Visitors that left the flower for less than five seconds and returned to the same flower were only counted as a single visit. Samples of floral visitors were collected for identification only at the end of the last observation period to avoid removal of recurrent visitors. The hummingbirds' visitors were photographed for identification.

Information on opening phases and period of anthesis, flower duration, color, and scent intensity, as well as changes of position of the floral structures had been registered *in situ*, in 30 flowers from 15 different plants. Effective length of corolla opening was taken from fresh flowers. Pollen viability was estimated using the neutral red 1% technique (RADFORD et al., 1974). Stigmatic receptivity was tested using the H₂O₂ catalase activity method (ZEISLER, 1938). These floral traits were tested on thirty bagged flowers over a twenty-four hour period.

Nectar production volume was measured by removing nectar with a 10µl graduated microtubes every hour at time in 24 hours, to avoid the effect of previous nectar removal, from bagged flowers (N = 33 flowers). The flower buds were bagged prior to opening to prevent foraging visitors. Each flower were removed from the plant, to make the nectar extraction more easier. All the nectar was removed and analyzed from the different ages from the beginning of the anthesis to flower senescence. Sugar concentration was quantified using a hand-held refractometer (W/ATC 300010).

Results and Discussion

Paliavana tenuiflora is a perennial shrub 1–3m tall. This species has terminal inflorescences with flowers robust, axillaries, and accessible to visitors (Fig. 1). The flowers are of the gullet-type, violet colored, with violet-brown dots inside and outside corolla, which are quite variable among individuals. The calyx is reddish and persistent. This species has a zigomorph corolla with five funded petals. The corolla has a mean length of 72.3mm (range 60–80 mm, s.d. = 5,1mm, n = 19). No odor was perceived from the flowers.

Figure 1 - Flower of *Paliavana tenuiflora* in Mucugê, BA.



P. tenuiflora flowers present open irregularly, or asynchronous anthesis, during the day or night, without an exactly period for anthesis. The anthesis last from two to four hours with the opening of the petals. The flowers ranged in age from four to six days old. In addition, *P. sericiflora* (Benth.), the sister-species of *P. tenuiflora* has also flowers open irregularly during the day or night, a feature which may support the proposed intermediate situation of this species between syndromes of chiropterophilous and ornithophilous (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005). Anthesis sequence in this species, as well as pollen and stigma features, is similar to that found in former species, but each reproductive phase, lasts tree to four days.

A long anthesis period, as in *P. sericiflora*, is more common in melittophilous and some ornithophilous species of the tribe Sinningieae (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2004). The flowers, in altitude vegetation, last on an average two to eight days more than in lowland rain vegetation. The longer life span is consistent with the notion of unpredictability in pollination in this type of vegetation (BAWA, 1990). This observation could be confirmed by the anthesis behavior and long life duration of the *P. tenuiflora* flowers.

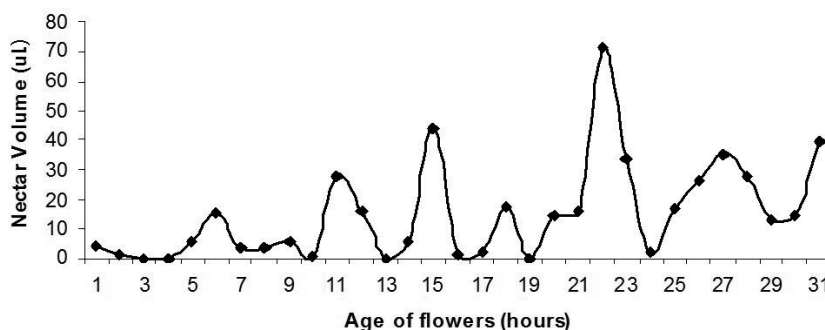
These flowers present protandry and hercogamy (i.e., temporal and space separation of the reproductive structures). Many gesneriad species also show marked protandry combined with herkogamy, and many of these species are pollinated mainly by birds (WIEHLER, 1983). At the beginning of anthesis, the anthers are located in the internal superior part of corolla. Pollen is viable since pre anthesis, and displayed in dust form, characterizing the masculine phase. The pollen is removed gradually by the animals during the visits throughout all flower life time, in all periods of the day. In this occasion, the stigma increases in length and exceeds anthers superiorly. The stigma has a mean length of 23.7mm (range 18mm, in pre anthesis to 31mm, with tree days after anthesis; s.d. = 3.0mm, n = 27). In pre anthesis the stigma is not receptive. During the first hours after anthesis the stigma shows little receptive, while it grows. After that it becomes receptive, and already exceeds the anthers, characterizing the female phase. Common features of floral design such as herkogamy and dichogamy,

which reduce levels of self pollination, can augment fitness through more proficient pollen dispersal to other plants (BARRETT, 1998).

P. tenuiflora produces a nectar volume average of 101.2 μ l, during flower lifespan (range around 0 μ l in pre anthesis to 420 μ l tree days after anthesis; s.d. = 94.8 μ l, n = 30) and sugar concentration average of 26% (range 15–32%, s.d. = 5.4%, n = 30). This amount is lower in the first hours after the anthesis and the nectar volume is increased throughout the flower lifetime (Fig. 2). Nectar is produced by glands around the ovary and accumulates at the base of corolla-tubes. This pattern could be in accordance with a relationship with visitors in the afternoon and at night. A large quantity of nectar, as occurs in the species studied, is a common attribute for bat flowers (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979). However this average sugar concentration should be expected for flowers with ornithophilous syndromes. These values are in accordance with other Gesneriaceae species that show ornithophilous syndromes as mainly pollination systems (CORBET; WILLMER, 1981, SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005). We can characterize the nectar secretion pattern of this species with an initial period of high nectar production in the first hours after the anthesis, which last from 12 to 24 hours, followed by a period of little nectar production at the end of the flower lifetime (6-12 h). Different nectar secretion patterns but related to the main pollinator of some species of unrelated families such as Solanaceae (GALETTI; BERNARDELLO, 1993), Combretaceae, (BERNARDELLO; GALETTI; RODRÍGUES, 1994) e Loranthaceae (RIVERA; GALETTI; BERNARDELLO, 1996), have been reported elsewhere.

In hummingbird and bee flowers, which represent 95% of the species in Sinningieae, nectar was sucrose-dominant. Sugar ratios below one were only found in the nectar of three species with moth and bat syndromes. Sugar concentration averaged 23.9% (+/- 10.6%) in hummingbird flowers and 28.7% (+/- 10.6%) in bee flowers, whereas diluted nectar (7.1% +/- 3.4%) was restricted to bat flowers (PERRET et al., 2001). *Paliavana tenuiflora* in agreement with these data could offer flowers reward for hummingbird, bees and bats. The flower produces an intermediary amount of nectar. Similarities in the nectar of hummingbird and bee flowers contrast with the presence of specific morphological traits associated with these two syndromes, indicating that plant-pollinator relationships rely on flower traits or floral display rather than on nectar characteristics (PERRET et al., 2001).

Figure 2 - Nectar production pattern throughout *Paliavana tenuiflora* flowers life time.

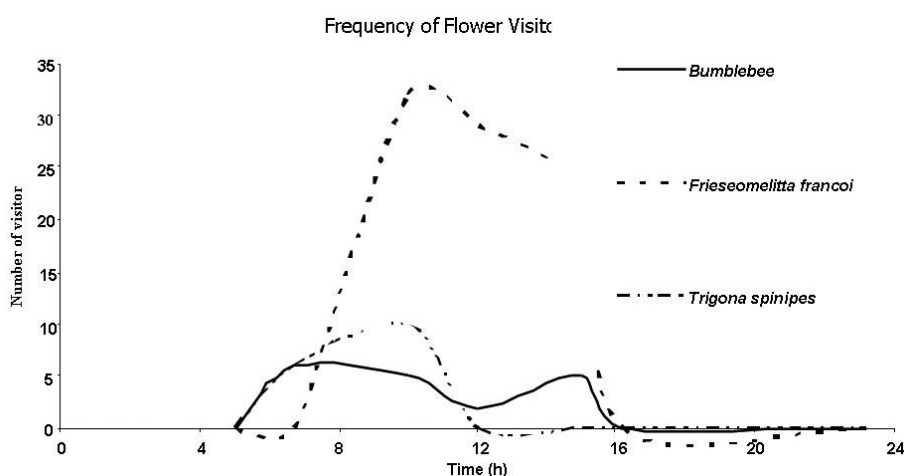


The most common visitors of *P. tenuiflora* observed were bees in the morning and in the afternoon; and hummingbirds during the afternoon. No visitors were observed during the night period. In total, 117 visitors including bees, beetles, and hummingbirds were observed at *P. tenuiflora* flowers (Fig.3). Most of the small bees and beetles seem to be resources thieves, because they not touch the reproductive parts of the flowers. Beetles constitute an important group of pollen vectors, next in importance only to bees and moths (BAWA, 1990), but in this study it seems to be only a resources thieves of the flowers.

The most common species of visitor was *Frieseomelitta francoi* (Moure) – Meliponinae, of which we observed 83 visitors. These bees were observed collecting both pollen and nectar from the flowers. Some were observed flying into the flower and collecting pollen from the anthers. This behavior was observed mostly in the beginning of the day, 05h30 to 10h00. The bees spent between 30 seconds to 40 minutes collecting pollen. Other bees from the same species landed on the flowers and collected nectar from the petals, not into the corolla tubs. This behavior was observed mostly from 11h00 to 13h00. They stayed on the flowers for two to five minutes collecting nectar. Flower movement due to wind turbulence appears to reduce the visitation period of *F. francoi*. The bees would hover around the flower until it stopped moving in the wind and would then land.

A less frequent floral visitor was *Trigona spinipes* (Fabricius) (Meliponinae). Sixteen bees were observed eating floral parts. Their visits were brief, most only three to ten seconds, and the bees landed on the petals to eat flower tissue. One pair was observed eating reproductive tissues as well as the petal tissue. These bees generally appeared in groups of two to five.

Figure 3 - Frequency of flowers visitors of *Paliavana tenuiflora*.



Eighteen bumblebees (*Bombus brevivillus* (Franklin) and *Eulaema nigrita* (Lepeletier) – Euglossinae) were observed visiting the flowers for one to tree seconds each. The visitation

period was relatively short, ranging from 1 to 5 seconds. These visits happened mostly between 05h30 and 10h00. The bumblebees crawled into the flowers until the end of the corolla tube, probably collecting nectar. These bees touch the reproductive parts of the flower with their body back, and could therefore transfer pollen from anther to stigma. These bees could be efficient pollinators of these flowers.

Based on earlier collections, in terms of bumblebee species, *B. brevivillus* and *T. spinipes* are the most constant species, in this region next to the Chapada Diamantina. In terms of abundance of individuals, *T. spinipes*, *F. francoi* and *B. brevivillus* are the predominant species in this region. These species represented 81% of the total number of insects sampled (SILVA-PEREIRA; SANTOS, 2006). These data are confirmed by our work, which showed *F. francoi* and *T. spinipes*, most often visiting the flowers.

The vast majority of plant species in tropical rain forests are pollinated by insects (BAWA, 1990). Among insects, bees constitute the most important group in number and diversity of plant species pollinated. In neotropical lowland rain forests, the most species in many families are pollinated by bees (BAWA, 1990). In general, based on size, two types of bees can be distinguished: medium to large-sized bees and small-sized bees. The medium to large-sized bees constitute a very heterogeneous group. Flowers pollinated by medium-sized to large bees, may be relatively large, brightly colored, and morphologically specialized (BAWA, 1990). This data could be inferred to *P. tenuiflora* flowers that present these characteristics, and could be pollinated by bee, in opposition to the expected bat pollination.

Bee pollination seems to phylogenetically precede hummingbird pollination in most plant groups; scientists have variously addressed the question as to how the transition from 'typical' bee nectar to 'typical' hummingbird nectar took place (ACKERMANN; WEIGEND, 2006).

Two species of hummingbirds *Chlorostilbon aureoventris* (d'Orbigny & Lafresnaye, 1938) and *Phaethornis* sp. were observed visiting the flowers, they were not collected. They spent one to four seconds in the flowers, and could touch the reproductive parts of the flowers with the back of the beak and the head. They visited the flower most in the afternoon, from 14h00 to 16h00, and one to five flowers at time. According to the literature, five species of hummingbirds are the main pollinators of *Vanhouttea* and *Sinningia* species. They take the nectar, and could contact the reproductive structures with the tip of the head (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005a). These hummingbirds could be efficient pollinators of *P. tenuiflora*. Pollination by hummingbirds is common in Acanthaceae, Bromeliaceae, Gesneriaceae, Marantaceae, Musaceae, Rubiaceae, and Zingiberaceae (BAWA, 1990; BUZATO; SAZIMA; SAZIMA, 2000).

We did not observe bats visiting *P. tenuiflora* flowers. Although Sanmartin-Gajardo e Sazima (2005) predict this relationship between these flowers and bat pollinators because of the type of flower (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979) we did not see any bat visits to this flower. We saw bats flying around the flowers but they never got into them. That could have happened because of the period of budding, the low availability of flowers, the weather, our

presence, or because of specific floral morphology and traits, production of resources like pollen and nectar, or other factors. In addition, the short observation period for nocturnal pollinators could be explaining our results and new data are needed to confirm or discard the reported pattern.

Another supposed bat-pollinated species in *Sinningieae* is *P. werdermannii* (Mansf.), the sister-species of *P. sericiflora* and *P. tenuiflora*. In this case, these species may have ancestral features of the bat syndrome. Taking this assumption into account, reversion to hummingbird pollination might not be excluded for *P. sericiflora* and for *P. tenuiflora*. However, it is also possible that these species are cases of speciation on bat, hummingbird and bee pollination, and that such generalizations represent an evolutionary endpoint (SANMARTIN-GAJARDO; SAZIMA, 2005). It is probable that field records about pollination of *P. tenuiflora* should allow more inferences about origins and evolutionary directions of the pollination systems of these species. Although, close relatives can reproduce in different ways just as unrelated *taxa* often share similar floral adaptations (BARRETT, 1998).

Pollination systems in tropical montane rain forests appear to differ from those in lowland rain forests. Pollination by hummingbirds is more common in this ecosystem. The pollination systems with small generalist insects also appear to be more widespread in this type of vegetation; the low temperatures may limit the activity of bees and may explain their displacement by hummingbirds and generalist insect pollination system. The number of bats pollinator species decrease with an increase in altitude. However, it is not know if this tropical montane vegetation has less species of bat-pollinated plant than lowland forests (BAWA, 1990). The vegetation of montane forests has proportionately, many more plant species that are self-compatible. Unpredictable weather conditions for pollination in the generally cold and wet environments could explain the high incidence of self-compatibility (BAWA, 1990). The percentage of self-compatibility was 38,5%, recorded for 15 species of which seven species set fruit after spontaneous self-pollination in the Caatinga species studied (MACHADO; LOPES; SAZIMA, 2006). The need of efficient animals as pollinators is a characteristic for many angiosperms from these ecosystems (BAWA, 1990, PROCTOR; YEAO; LACK, 1996).

Pollination syndromes can describe evolutionary convergence patters between not relative plants, mainly because similar pollinators pressing. But these conceptions can not difficult future studies focus on the generalist interactions between plants and floral visitors (WASER et al, 1996; JOHNSON; STEINER, 2000, FENSTER, 2004). For *P. tenuiflora* is expected a pollination system that includes bat-pollinated flowers, but bats were not observed as floral visitors of this species. This data could suggest that this plant show a more generalize pollination system, with other animals species been important floral visitors and should be efficient pollinators, as the bumblebees and the hummingbirds.

Acknowledgments

We would like to thank the professors that ministered the III Pollination Course in Mucugê-Bahia-Brazil, Dr. Peter G. Kevan, Dr. Nádia Roque, Dr. Favízia Freitas Oliveira, Dr. Blandina Felipe Viana, Dr. Breno Freitas e Dr. Leonardo Galetto; to REPOL for promotion this course; to Mucugê and Parque Sempre Viva; to our colleges that help us to do this work.

References

- ACKERMANN, M.; WEIGEND, M. Nectar, floral morphology and pollination syndrome in Loasaceae subfam. Loasoideae (Cornales). *Annals of Botany*, v. 98, p. 503-514, 2006.
- ARAÚJO, A. O.; SOUZA, V. C.; CHAUTEMS, A. Gesneriaceae da Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botanica*. v. 28, p. 109-135, 2005.
- BARRETT, S. C. H. The evolution of mating strategies in flowering plants, *Trends in Plant Science*, v. 3, n. 9, p. 335-341, Sep. 1998.
- BAWA, K. S. Plant-Pollinator Interactions in Tropical Rain Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 21, p. 399-422, 1990.
- BERNARDELLO, L. M.; GALETTO, L.; RODRÍGUEZ, I. G. Reproductive biology, variability of nectar features, and pollination of *Combretum fruticosum* (Combretaceae) in Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 114, p. 293-308, 1994.
- BUZATO, S.; SAZIMA, M.; SAZIMA, I. Hummingbird-Pollinated Floras at Three Atlantic Forest Sites. *Biotropica*, v. 32. p. 824-841, 2000.
- CHAUTEMS, A.; WEBER, A. Shoot and inflorescence architecture of the neotropical genus *Sinningia* (Gesneriaceae). In: KURMANN, M. H.; HEMSLEY, A. R. (Ed.). *The evolution of plant architecture*. Brough: Kew Publishing, 1999. p. 305–332.
- CORBET, S. A.; WILLMER, P. G. The nectar of *Justicia* and *Columnnea*: composition and concentration in a humid tropical climate. *Oecologia*, v. 51, p. 412-418, 1981.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. *The principles of pollination ecology*. 3 rd ed. Oxford: Pergamon Press, 1979.
- FENSTER, C. B. et al. Pollination Syndromes and Floral Specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v. 35, p. 375-403, 2004.
- FUNCH, L. S.; FUNCH, R.; BARROSO, G. M. Phenology of Gallery and Montane Forest in the Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. *Biotropica*, v. 34, p. 40-50, 2002.
- GALETTO, L.; BERNARDELLO, L. M. Nectar secretion pattern and removal effects in three species of *Solanaceae*. *Canadian Journal of Botany*, v. 71, p.1394-1398, 1993.

- GALLIOT, C.; STUURMAN, J.; KUHLEMEIER, C. The genetic dissection of floral pollination syndromes. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 9, n.1, p.78-82, Feb. 2006.
- GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço range, Minas Gerais, Bahia, Brazil. In: HEVER, W. R.; VANZOLINI, P. F. (Ed.). *Proceeding of a workshop on Neotropical distribution patterns*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988.
- JOHNSON, S. D.; STEINER, K. E. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 15, p. 140-143, 2000.
- MACHADO, I. C. S.; LOPES, A. V.; SAZIMA, M. Plant sexual systems and a review of breeding system studies in caatinga, a Brazilian Tropical Dry Forest. *Annals of Botany*, v. 97, p. 277-287, 2006.
- PERRET, M. et al. Systematics and evolution of tribe Sinningieae (Gesneriaceae): evidence from phylogenetic analyses of six plastid dna regions and nuclear *ncpGS1*. *American Journal of Botany*, v. 90, p. 445-460, 2003.
- PERRET, M. et al. Nectar Sugar Composition in Relation to Pollination Syndromes in Sinningieae (Gesneriaceae). *Annals of Botany*, v. 87, p. 267-273, 2001.
- PROCTOR, M.; YEAO, P.; LACK, A. *The Natural History of Pollination*. [S.l.]: Harper Collins Publishers, 1996.
- RADFORD, A. E. et al. *Vascular plant systematics*. New York: Harper and Tow Publishing, 1974.
- RIVERA, G. L.; GALETTO, L.; BERNARDELLO, L. Nectar secretion pattern, removal effects, and breeding system of *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae). *Canadian Journal of Botany*, v. 74, p. 1996-2001, 1996.
- SANMARTIN-GAJARDO, I.; SAZIMA, M. Chiropterophily in Sinningieae (Gesneriaceae): *Sinningia brasiliensis* and *Paliavana prasinata* are bat-pollinated, but *P. sericiflora* is not. Not yet? *Annals of Botany*, v. 95, p. 1097-1103, 2005a.
- SANMARTIN-GAJARDO, I.; SAZIMA, M. Espécies de *Vanhouttea* Lem. E *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) polinizadas por beija-flores: interações relacionadas ao hábitat da planta e ao néctar. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 28, p. 441-450, 2005b.
- SANMARTIN-GAJARDO, I.; SAZIMA, M. 2004. Non euglossine bees also function as pollinators of *Sinningia* species (Gesneriaceae) in southeastern Brazil. *Plant Biology*, v. 6, p. 506-512, 2004.
- SILVA-PEREIRA, V.; SANTOS, G. M. M. Diversity in Bee (Hymenoptera: Apoidea) and Social Wasp (Hymenoptera: Vespidae, Polistinae) Community in "Campos Rupestres", Bahia, Brazil. *Neotropical Entomology*, v. 35, n. 2, p. 165-174, Apr. 2006.
- SMITH, J. F. et al. Tribal relationships in the Gesneriaceae: evidence from DNA sequences of the chloroplast gene *ndhF*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 84, p. 50-66, 1997.

WASER, N. M. et al. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, v. 77, p. 1043-1060, 1996.

WIEHLER, H. A synopsis of neotropical Gesneriaceae. *Selbyana*, v. 6, p. 1-219, 1983.

ZEISLER, M. Über die Abgrenzung der eigentlichen Narberfläche mit Hilfe von Reaktionen. *Beihefte zum Botanischer Zentralblatt*, v. 58, p. 308, 1938.

ZIMMER, E. A. et al. Phylogenetic relationships in the Gesnerioideae (Gesneriaceae) based on nrDNA ITS and cdDNA trnL-F and trnE_T spacer region sequences. *American journal of Botany*. v. 89, p. 296-311, 2002.

Aspectos da biologia floral de *Cambessedesia wurdackii* (A. B. Martins) (Melastomataceae) e registo da atividade dos visitantes florais

Emanuella Lopes Franco¹
Sâmia Paula Santos Neves²
Cerilene Santiago Machado³

A polinização pode ser entendida como a transferência dos grãos de pólen, das anteras até o estigma da mesma ou de outra flor. Este processo é importante para que haja a fertilização dos óvulos e o desenvolvimento das sementes. Para um grande número de espécies de angiospermas, a reprodução ocorre através da polinização cruzada, dependendo de um agente polinizador. Este agente pode ser o vento (anemofilia), a água (hidrofilia) ou, mais comumente, os animais (zoofilia). A polinização constitui-se em um serviço ecológico muito importante para o ecossistema, pois assegura a manutenção da variabilidade genética da maioria das populações de angiospermas (BAWA, 1990). O estudo da biologia da polinização envolve a pesquisa de diferentes fatores que interferem no processo da reprodução das plantas, desde a antese até a formação de frutos e sementes (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979). Uma parte importante deste estudo envolve a observação das características florais que são fundamentais na atração dos visitantes, em especial, a cor, o odor e a morfologia das flores. Tais características funcionam como sinais para os visitantes incluírem ou não determinada planta na sua rota de forrageio (WASER; PRICE, 1983).

Os diferentes visitantes florais podem ser polinizadores ou não, pois a visita nem sempre resulta na transferência de pólen para o estigma. Para que ocorra a polinização efetiva, é preciso que os visitantes possuam estruturas e comportamentos adaptados para a coleta das recompensas florais, além da adequação do formato do corpo dos visitantes à morfologia floral (PROCTOR; YEO, 1972). Também é importante que as visitas possuam uma frequência relativamente alta, e que haja uma sincronização das atividades do visitante e da planta (MOORE, 2001).

¹ Universidade Estadual de Feira de Santana (emanuella_bio@yahoo.com.br)

² Universidade Estadual de Feira de Santana (samia_neves@yahoo.com.br)

³ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (cerilenes@yahoo.com.br)

As abelhas utilizam uma grande variedade de recursos para construir e proteger seus ninhos, manter seu metabolismo e se reproduzir. Estes animais dependem dos recursos florais (pólen, néctar e óleo) para alimentar suas larvas e para a sua própria nutrição. A alta frequência de visita das abelhas às flores, a morfologia, o comportamento especializado e a alta diversidade fazem com que as abelhas sejam consideradas como o principal grupo de polinizadores, especialmente em regiões tropicais.

Dessa forma, as interações entre as flores e as abelhas têm influência em vários aspectos na dinâmica das comunidades dos ecossistemas. A conservação de muitos habitats depende da preservação das populações de abelhas, pois na ausência delas, a reprodução da maioria dos elementos da flora estaria bastante limitada (ROUBIK, 1989; BAWA, 1990; MICHENER, 2000; SILVEIRA; MELO; ALMEIDA, 2002). A maioria das abelhas é ativa durante a luz do dia, porém algumas espécies de diferentes famílias adquiriram, independentemente, um hábito crepuscular ou noturno. Os estudos a respeito da biologia das abelhas com estes hábitos são muito escassos, principalmente no Brasil (HOPKINS; FORTUNE-HOPKINS; SOTHERS, 2000).

A família Melastomataceae é composta por aproximadamente 150-166 gêneros e 4500 espécies, sendo bem representada em regiões tropicais e subtropicais das Américas, onde são conhecidas cerca de 3000 espécies (RENNER, 1989; CLAUSING; RENNER, 2001). As flores das melastomatóceas, em sua maioria, apresentam anteras tubulares e com deiscência poricida que, para a retirada do seu pólen, exige a visita de abelhas com capacidade vibratória. Neste tipo de visita, as abelhas “abraçam” as anteras e vibram os músculos do vôo a uma frequência alta, o que causa a saída do pólen das anteras. Em referência ao som produzido pelas vibrações das abelhas, esse sistema de polinização é denominado *buzz pollination* (BUCHMANN, 1983).

A produção de néctar como recompensa floral é rara em Melastomataceae, sendo as flores dessa família polinizadas, preferencialmente, por abelhas fêmeas coletoras de pólen (BUCHMANN, 1983). O sistema reprodutivo nessa família foi estudado em algumas espécies (RENNER, 1989; GOLDENBERG; VARASSIN, 2001). Porém, pouco se conhece sobre o sistema reprodutivo de espécies que ocorrem em habitats abertos, como as formações de campo rupestre, onde essa família é particularmente bem representada (FRACASSO; SAZIMA, 2004). Assim, o presente trabalho teve por objetivo conhecer alguns aspectos da biologia floral de *Cambessedesia wurdackii* (A.B. Martins) e relacioná-los com as atividades dos visitantes florais.

Material e métodos

O estudo foi realizado numa área do Parque Municipal de Mucugê (12° 59'18,5"S e 41° 20'27,8"W), sede do Projeto Sempre Viva. O parque encontra-se inserido na Chapada Diamantina, parte do setor norte da Cadeia do Espinhaço, a qual ocupa cerca de 15%

do território da Bahia e é caracterizada por um mosaico composto de grandes áreas de caatinga, cerrado, diversos tipos de florestas e, principalmente, campo rupestre (HARLEY, 1995).

O clima de Mucugê é úmido/subúmido e semi-árido. Apresenta estação chuvosa de outubro a março e estação seca de abril a setembro. A temperatura varia entre 13°C, na estação seca, e 30°C na estação chuvosa. A média anual é de 18,9°C. É possível haver um aumento marcante da umidade relativa do ar em função da variação de temperatura, até 10°C, em um mesmo dia. A precipitação pluviométrica anual está entre 600 mm e 1.500 mm, com a ocorrência de grandes variações ano a ano (STRADMANN, 1998).

A coleta de dados foi realizada entre os dias 14 e 16 de maio de 2007, e durante este período, foram realizadas observações de alguns aspectos da biologia floral (como antese, duração da flor, viabilidade polínica) de cerca de 30 indivíduos de *C. wurdackii*. Em paralelo, foi realizado um total de 28 horas de observação das atividades dos visitantes florais, no intervalo entre 0:00h e 17:00h.

Algumas abelhas foram sacrificadas para a identificação das espécies pela Dra. Favízia F. de Oliveira (UEFS). Ramos da planta estudada foi coletado para a confirmação da espécie pela Msc. Andrea K. A. Santos (UEFS). O exemplar de ramo fértil de *C. wurdackii* encontra-se depositado no herbário da Universidade Federal da Bahia (ALCB) as abelhas encontram-se depositadas na Coleção Entomológica do Museu de Zoologia da UEFS.

Resultados e discussão

Os indivíduos de *Cambessedesia wurdackii* estudados são subarbustos lenhosos com cerca de 50 cm de altura. As flores são pentâmeras e apresentam cálice verde e pétalas com duas cores: amarela no terço basal e alaranjada no restante. Os estames, didínamos, são formados por anteras amarelas, alongadas e terminam em um poro apical. Tais anteras apresentam-se dispostas em dois agrupamentos, sendo um formado por três anteras grandes, as quais encontram-se agrupadas com o estigma, e outro formado por uma antera grande e 6 menores. A cor amarela tem sido apontada como um importante atributo relacionado à atração por abelhas diurnas (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979).

As flores de *C. wurdackii* apresentam um odor adocicado, mais forte no período da noite, proveniente da corola, cálice, folhas e ramos. Na pré-antese, o estilete se alonga, expondo o estigma para fora do botão, como descrito para *C. hilariana* (FRACASSO; SAZIMA, 2004). A antese inicia-se por volta de 1:00h, com o afastamento gradual das pétalas. Ao longo de toda a antese, as anteras apresentam-se em dois agrupamentos: um superior, composto pelas anteras menores e algumas maiores, e um inferior, com cerca de três anteras maiores e uma menor, conferindo à flor uma simetria fortemente zigomorfa. O estigma encontra-se à frente dos poros das anteras, caracterizando a hercogamia, comum em Melastomataceae (RENNER, 1989), que diminui as chances de autopolinização por favorecer o contato do

corpo do visitante com o estigma antes que se inicie a coleta de pólen. A flor dura cerca de três dias, ocorrendo queda das pétalas após esse período. A antese se completa por volta de 5:00h, ao mesmo tempo em que se inicia a atividade das abelhas visitantes.

A viabilidade do pólen nas anteras de diferentes tamanhos e em quatro fases da antese é muito semelhante, porém, desde a fase de pré-antese ao terceiro dia, os grãos viáveis tiveram alta viabilidade (Tab. 1) a qual está associada a uma maior possibilidade da formação de diferentes combinações entre alelos, e em última análise, de variabilidade genética (SOUZA; PERREIRA; MARTINS, 2002). Como consequência da alta viabilidade polínica nos três dias de duração da flor essa variabilidade genética torna-se potencializada, pois o pólen carregado em qualquer dia da duração da flor poderá germinar o óvulo, caso seja carregado no tempo hábil.

Foi registrado um total de 17 espécimes de abelhas visitando as flores, pertencentes a três famílias e quatro espécies: *Megalopta* sp. (Halictidae), *Ptiloglossa* sp. (Colletidae), *Bombus* (*Fervidobombus*) *brevivillus* (Franklin, 1913) (Apidae) e *Euglossa* sp. (Apidae). As espécies mais abundantes foram *Megalopta* sp. e *B. brevivillus* (seis indivíduos registrados de cada espécie), seguidos por *Ptiloglossa* sp. (4 ind.) e *Euglossa* sp (um indivíduo não coletado).

Os primeiros visitantes foram *Megalopta* sp., que iniciaram sua atividade por volta das 5:15h, na ausência da luz direta do sol. Esta espécie visitou cerca de três flores por indivíduo, mantendo-se por aproximadamente 20 segundos em cada flor. *Ptiloglossa* sp. iniciou suas visitas pouco depois de *Megalopta* sp. (por volta das 5:30h), visitando em média uma flor por indivíduo e permanecendo por volta de três segundos em cada flor. Essas abelhas encerraram suas atividades por volta das 6:30h, pouco antes do horário em que o sol nasceu (6:53h). *B. brevivillus* iniciou as visitas por volta das 6:00h, encerrando suas atividades por volta das 8:00h. O indivíduo de *Euglossa* sp. foi registrado às 8:10h.

Tabela 1 - Viabilidade do pólen (%) das anteras de diferentes tamanho em quatro fases da antese.

Fases da antese	Tamanho das anteras	
	Grande	Pequena
Pré-antese	85,36	93,00
Flor de 1 dia	97,00	95,00
Flor de 2 dias	98,07	92,00
Flor de 3 dias	92,92	96,15

Todas as abelhas visitantes vibraram as anteras, comportamento característico da “buzz pollination” (BUCHMANN, 1983). Porém, nenhuma das espécies de abelha conseguiu abraçar todas as anteras de uma só vez, como normalmente ocorre nas visitas de abelhas grandes a espécies de Melastomataceae (FRACASSO; SAZIMA, 2004). Em vez disso, eles geralmente abraçavam apenas o grupo de anteras de cima, fazendo com que o pólen das anteras de baixo fosse depositado na parte ventral do abdômen da abelha, local que entra em contato com o estigma durante a visita. Deste modo, a disposição dos verticilos florais da flor aumenta as chances do visitante transferir o pólen para o estigma.

Até o momento, não foi encontrado na literatura nenhum registro da atividade de abelhas noturnas ou crepusculares em plantas da família Melastomataceae,, havendo registro apenas de pólen desta família em ninhos de *Megalopta* no Panamá (WISCLO et al., 2004).

Considerações finais

Apesar de ser um estudo preliminar e com um número limitado de horas de observação, dados importantes foram registrados, principalmente no que diz respeito à atividade de abelhas crepusculares e noturnas, pouco estudadas no Brasil.

Além disto, as características morfológicas da flor estudadas parecem ter interferência direta na atividade do visitante e, conseqüentemente, na polinização dessa espécie vegetal. Estes aspectos estão sendo pesquisados mais profundamente pela primeira autora, que está estudando a fenologia, sistema reprodutivo e polinização de *C. wurdackii* na mesma área deste estudo.

Agradecimentos

À Rede baiana de Polinizadores, à coordenação do Parque Municipal de Mucugê, à Dra. Favízia F. de Oliveira e à Msc. Andrea K.A. Santos.

Referências

- BAWA, K. S. Plant - pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 21, p. 399-422, 1990.
- BUCHMANN, S. L. Buzz pollination in angiosperms. In: JONES, C. E.; LITTER, R. J. (Ed.). *Handbook of experimental pollination biology*. New York: Van Nostrand & Reinhold, 1983.
- CLAUSING, G.; RENNER, S. S. Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. *American Journal of Botany*, v. 88, p. 486-498, 2001.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. *The principles of pollination ecology*. Oxford: Pergamon Press, 1979.
- FRACASSO, C. M.; SAZIMA, M. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 27, p. 797-804, 2004.
- GOLDENBERG, R.; VARASSIN, I. G. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 24, p. 283-288, 2001.

- HARLEY, R. M. Introduction. In: STANNARD, B. L. (Ed.). *Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Brazil* Brough: Kew Publishing, 1995.
- HOPKINS, M. J. G.; FORTUNE-HOPKINS, H. C.; SOTHERS, C. A. Nocturnal pollination of *Parkia velutina* by Megalopta bees in Amazonia and its possible significance in the evolution of chiropterophily. *Journal of Tropical Ecology*, v. 16, p. 733-746, 2000.
- MICHENER, C. D. The bees of the world. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2000.
- MOORE, J. C. *The ecology and evolution of gynodioecious figs (Ficus: Moraceae) and their pollinators (Agaoninae: Agaonidae)*. PhD thesis. University of Leeds. UK., 2001.
- PROCTOR, M.; YEO, P. *The pollination of flowers*. New York: Taplinger Publ. Company, 1972
- RENNER, S. S. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 76, p. 496-518, 1989.
- ROUBIK, D. W. *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge: Cambridge University Press, 1989.
- SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. *Abelhas brasileiras: sistemática e identificação*. Belo Horizonte: Fundação Araucária, 2002.
- SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microscopogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Degener). *Ciência e Agrotecnologia*, v. 26, p.1209-1217, 2002.
- STRADMAN, M. T. S. *Plano de manejo do Parque Municipal de Mucugê. PM Mucugê*. Mucugê: Projeto Sempre Viva, 1998.
- WASER, N. M.; PRICE, M. V. Optimal and actual outcrossing in plants, and the nature of plant-pollinator interaction, In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). *Handbook of experimental pollination biology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. p. 341-359.

Floral biology and visitors of *Moquinia kingii* (D.C.) (Asteraceae) in Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil: preliminary approaches

Juliana Hipólito de Sousa¹

Andrew Philip Morse²

Pollination ecology is a field focusing on the sexual reproduction of many plant species. In many cases animal species play an integral role in pollination and thus the sexual reproduction of plants. These interrelationships between the plants and animals have played an important role in the evolution and diversification of the phanerogams. Currently, pollination ecology is well represented in scientific literature, especially for some groups of plants (BENEZAR; PESSONI, 2006) such as orchids (SCHIESTL; PEAKALL, 2005; PANSARIN; AMARAL, 2006) and a variety of economically value species (MCGREGOR, 1976; FREE, 1993; AFIK et al., 2006). For some families like the Asteraceae (Compositae), however, pollination mechanisms are not as well understood (CABRERA; DIERINGER, 1992; MANI; SARAVAN, 1999).

The Asteraceae family is one of the largest plant families and it is represented by almost 1535 genera and almost 23000 species in 5 subfamilies: Barnadesioideae, Mutisioideae, Carduccioideae, Cichorioideae and Asteroideae (PRUSKI; SANCHO, 2004). The family's distribution is very wide ranging in Brazil; it is one of the most frequently occurring plant families in the rupestrian fields within the states of Minas Gerais and Bahia (OLIVEIRA, 2006). The Asteraceae is well represented in the Chapada Diamantina, an important center of diversity for Brazilian mountain flora. This region is home to many endemic species in addition to many genera showing a remarkable degree of diversification (HARLEY; SIMMONS, 1986).

Despite the importance of the Asteraceae, a lack of research on the family may be due to the difficulty associated with manipulating its flowers; the Asteraceae's inflorescences are made of many flowers, all of which are usually situated within a single capitulum. *Moquinia kingii* (DC.), however, presents only one flower within each capitulum; making pollination experiments much less complicated for this species than other Asters. Because of this peculiarity *M. kingii*, an endemic species of Bahia, may be very valuable for research on the Asteraceae.

¹ Universidade Federal da Bahia (julibam@hotmail.com)

² University of Guelph (amorse@uoguelph.ca)

Basic knowledge of flower characteristics such as colour, biology, sexuality and floral resources is an important pre-requisite for understanding the floral life cycle of a plant and necessary background information for any pollination study (DAFNI; KEVAN; HUSBAND, 2005; ZEN; ACRA, 2005). An understanding of floral resources is especially important to understanding the relationship between plants and their pollinators. The floral resources of one plant species may be quite different from those of another species; however it has been suggested that nectar is a very important resource in the Asteraceae (TORRES; GALETTO, 2002). Nectar research has been a common topic in recent scientific literature (HANSEN et al., 2007).

The characteristics of nectar in one species can directly influence the behaviour of its pollinators in terms of visitation times, frequency of visits and food preference (BAKER; BAKER, 1982; ENDRESS, 1994; RATHCKE, 1992). Determining which animal visitors are important pollinators of a species requires an understanding of both the plant's characteristics and the pollinator behaviour. The objective of this work was to document some important aspects of *Moquinia kingii*'s pollination such as its floral biology, nectar characteristics and both the identity and behaviour its visitors in Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia.

Material and methods

The study was conducted between 15 and 17 May, 2007 in the city of Mucugê near the "Parque Sempre Viva", on the Tiburtino trail (12° 59.840' S; 41° 20.496' W, altitude 935m). The main vegetation present in this area is typical of rupestrian fields. While the soil of this area is acidic and nutrient poor, quartzite outcrops are common and often occur with an extremely diverse and endemic flora. The climate is mesothermic with dry winters and rainy summers (HARLEY, 1995).

Moquinia kingii belongs to the tribe Vernonieae in a genus of only two species. *M. kingii* is a 2m erect, moderately-branched shrub and each capitula has single florets, contrasting from most of the Asteraceae. The corollas are pink to purple, 12-13 mm long, the corolla tube is glandular-punctuate and the corolla-lobes are 4-5 mm in length (HIND, 2003). This species occurs only in Bahia and blooms between March and August. The study occurred in a population of 10 of *M. kingii* individuals.

In examining the flowering events of *M. kingii*, five flowers were marked at the bud stage and their development was observed throughout their lifecycle. Recorded data focused on the timing at which flowers reached different developmental stages. Stigma receptivity was examined using hydrogen peroxide as described by Dafni, Kevan e Husband (2005). Five flowers per developmental stage were examined for stigma receptivity (n=5). Voucher specimens were deposited in the ALCB Herbarium (Botany Department, Federal University of Bahia, Brazil).

In order to identify the visitors of *M. kingii* in the field, three plants were observed for visitation by potential pollinators over two periods (6:30am – 11:30am, 02:30pm – 04:30pm) during one day. Each plant was constantly watched by one observer. Representative insect pollinators were captured and identified in the lab by Dr(a) Favizia Freitas de Oliveira when possible, while hummingbirds were photographed during foraging and identified by Diego Mendes. The pollinators found in this study have all been previously recorded in our study area according to the Brazilian Ornithological Records Committee (CBRO, 2006).

M. kingii's sexual phases were compared for nectar production, sugar concentration and total sugar content by harvesting nectar from five flowers per plant on five plants for each developmental stage. While each of the five flowers per plant were measured for nectar volume and total sugar content, the quantity of nectar produced per flower was not sufficient to determine the sugar concentration on each flower. Because of this, nectar from the five flowers sampled per plant per developmental stage were mixed together in order to measure nectar concentration.

Nectar was harvested using 1-5 μ l microcapillaries and sugar concentration was measured using a pocket refractometer (28-62%BRIX). Sugar concentration was converted into quantities of sugar using tabular information from Dafni, Kevan e Husband (2005). The data were analyzed using GraphPad InStat version 3.00 with a t-test for two independent datas with the Bonferroni correction with $\alpha=0.016$. The data was tested for normality using a Kolmogorov-Smirnov test.

Results

The flowers began anthesis around 6:00am and after 2.5 hours (8:30am) all were in the first floral stage (the early male stage). This phase can be characterized by the separation of the petals, exposure of the anthers and the deep purple colour of flowers.

Five hours after anthesis (around 11:00am) the flowers had entered in the second floral stage sometimes referred to as a transitional male or late male phase (MANI; SARAVAN, 1999). The flowers were still male, but the unreceptive stigma (closed) was present and covered in pollen grains which stuck to the stigma during the early male stage. This phase marks the approach of the female phase of the floret, however the anthers now without pollen remain at the base of the stigma. In this stage the staminal filaments abruptly elongate and push the anther tube well above the level of the corolla and the corolla tube opens completely.

Finally, by the second day (between 7:00am and 9:00am or 25 to 27 hours after the anthesis) the flowers had reached the third floral stage (female) (Tab. 1). This phase is mostly characterized by the separation of the style arms (stigmatic branches) at the apex of the style. By 02:30pm (32 hours after anthesis) female flowers began to change colour, becoming lighter and paler. The other floral parts of the flowers do not change between the phases at least in an apparent way.

Table 1 - Progression of floral development in *Moquinia kingii* (D.C.) (Asteraceae)

Anthesis time	Time of day	Change in floral stage	Sexual phase
0 hours	06:07 AM	Flower opening	
2.5 hours	08:37 AM	Exposure of the anthers	male
5 hours	10:50 AM	Emergence of unreceptive stigma	Male - transitional
25-27 hours	09:00 AM	Separation of the style arms	female
32 hours	02:30 PM	Color change	female

Hydrogen peroxide receptivity tests showed that the stigma of *M. kingii* flowers are only receptive when the stigma's style arms are completely separated in the female stage. Since receptivity only occurs in the female stage after the male stages have passed, we may suggest that each flower first completes the male phases and only later does the flower enter the female phase; at no point will a flower be both male and female. Hydrogen peroxide stigma receptivity tests also indicated that receptivity decreases when the flowers become older and change colour. This indicates that stigma receptivity is generally limited to between 9:00am and 02:30pm.

The visitors of *M. kingii* included *Bombus*, *Apis*, *Epicharis*, numerous hummingbirds, and unidentified lepidopterans. The visitors to *M. kingii* during the morning period included: 34 *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758), 28 *Bombus*, 29 hummingbirds, 3 *Epicharis* and 2 butterflies, while in the evening were 14 *Apis mellifera*, 23 *Bombus* and 5 hummingbirds were recorded. The most common visitors were the bees *Bombus* sp and *Apis mellifera* with 51 and 48 visits respectively. Three species of hummingbirds were found; *Chrysomitris* *mosquitus*, *Chlorostilbon lucidus* (Shaw, 1812) and *Calliphlox amethystina* (Boddaert, 1783) together visiting *M. kingii* on 30 instances. Visitation seemed to differ by time of day with hummingbirds being more common in the morning (37% of visits in that period) and *Bombus* sp being more common in the afternoon with (55% of visits in that period) (Fig. 1).

While flowers in the first floral stage (early male phase) did not produce enough nectar for accurate measurements ($< 0,05 \mu\text{l}$), flowers from the later male phase (transitional) and female phase did produce enough. The two examined floral stages were found to statistically differ in terms of nectar volume, concentration and total sugar content. The female stage produce more nectar (volume average: $2.196 \mu\text{l}$) then the transitional male stage (volume average: $0.96 \mu\text{l}$) $t = 5.707$ $p < 0,00$. The female phase has also more sugar content (sugar content average: 1.398 mg) then the transitional male phase (sugar content average: 0.4257 mg), $t = 6.539$, $p < 0,00$ and a more concentrated nectar (sugar concentration average: $51,20\%$) then the transitional male stage (sugar concentration average: $38,8\%$) $t = 3.247$, $p < 0,00$ (Tab. 2).

Figure 1 - Daily pattern of visits in *M. kingii* flowers in Mucugê, BA.

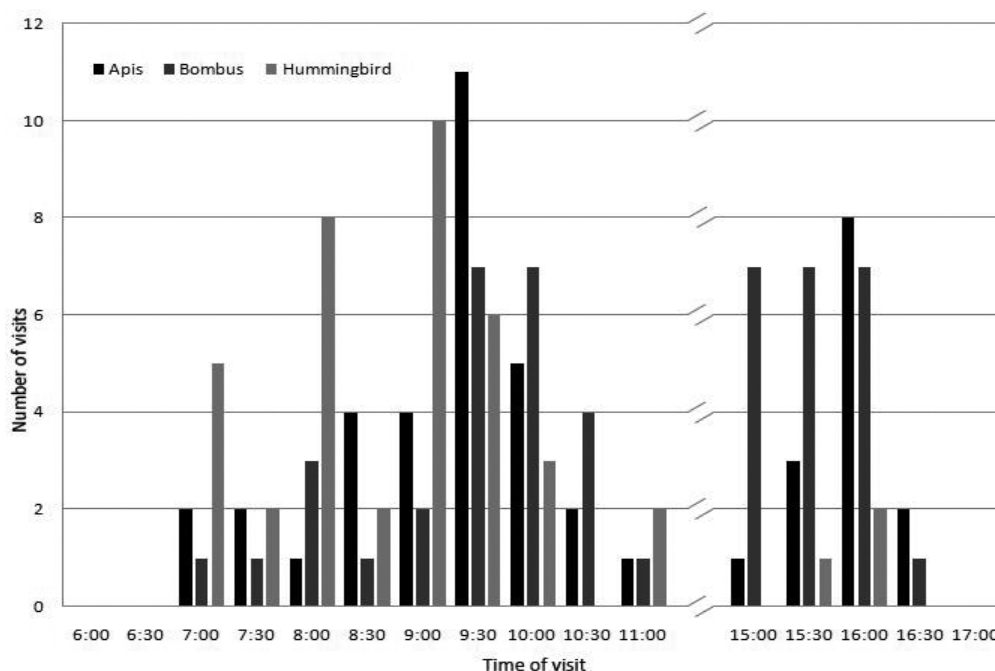


Table 2 - Variance analysis comparing volume, sugar content, and sugar concentration of in transitional flowers and female flowers.

Nectar traits	Mean values		Statistical analysis		Degree of freedom
	Transitional male	Female	t value	P	
Volume (μ l)	0.92	2.196	5.707	0.0001	48
Sugar content (mg)	0.4257	1.398	6.539	0.0001	48
Sugar concentration (%)	38.80%	51.20%	3.247	0.0059	8

Discussion

As with other Asters, *M. kingii* uses protandry in its floral development, the male structures mature before female structures at the same flower, and this characteristic is known to be an important factor in prolongation of floret life, allowing for more pollinators to visit the flowers at different times (MANI; SARAVAN, 1999). In addition to this, protandry is often thought to be an evolutionary adaptation to reduce inbreeding, and encourage outcrossing within a species (LLOYD; WEBB, 1986). Inbreeding can often result in progeny which are homozygous for detrimental alleles (CHARLESWORTH; CHARLESWORTH, 1987); inbred

progeny of some plants may suffer from changes in growth including reductions in flower biomass (PICÓ; KOUBEK, 2003).

The benefits of outcrossing can differ between species; some will benefit by achieving a higher seed set through outcrossing, while others may be self-incompatible and depend on outcrossing for successful reproduction (PICÓ; KOUBEK, 2003; PICÓ; OUBORG; VAN GROENENDAEL, 2004). Lloyd e Webb (1986) propose that many plants which separate pollen presentation and pollen receipt, such as through protandry, are self incompatible. They go on to suggest that separation of these two phases in plants may increase these plants' fitness by reducing interference between pollen and stigma which are incompatible.

Our results indicate that stigma receptivity of *M. kingii* flowers occurs only in the final stage of development when pollen is no longer present on the flower. This suggests that *M. kingii*'s pollination system should favour the movement of pollen from one flower to another rather than from one flower to itself. However, we cannot be sure if this pollination system is present in order to increase outcrossing, or to reduce interference of self incompatible pollen.

Reductions in inbreeding for protandrous plants are often dependent on both the plant's growth "strategy" and its pollinating insect's foraging behaviour (JERSÁKOVÁ; JOHNSON, 2007). In *M. kingii*, male and female flowers are present on the same individual at the same time, so pollinators moving from one flower to another on the same plant may still cause geitonogamy (inbreeding through reproduction between two flowers on the same plant). In many cases where protandrous plants have both female and male flowers present at the same time, researchers have speculated that some geitonogamy will take place (MEDAN; PONESSA, 2003; DAVILA; WARDLE, 2006).

Jersáková e Johnson (2007) found that self pollination in the protandrous *Satyrium longicauda* (Lindl.) (Orchidaceae) was low in spite of the co-occurrence of male and female flowers on one plant because its pollinators foraged on the lower female flowers before proceeding to the male flowers located more apically on the plant. This, however, is not commonplace in all protandrous plants; Galloway, Cirigliano e Gremski (2002) did not find reason to suspect that protandry stopped geitonogamy in *Campanula americana* (L.). Their research showed that many pollinators would forage on at least one female flower after a male flower from the same individual plant.

Unfortunately, observing which flowers *M. kingii*'s pollinators were foraging on and in what order was very difficult, and thus we were unable to determine if *M. kingii* would experience any geitonogamy. In light of the information presented here, future research focused on the pollination of *M. kingii* should evaluate the plant for self-incompatibility, and whether its pollinators encourage geitonogamy by visiting female flowers before male flowers on one plant.

While many visitors of *M. kingii* were observed foraging on the plant, some of those foragers may not contribute to the pollination success of the plant; ants were found on the plants but were not used in the visitor analyses because they were not found contacting the

sexual organs (like the stigma) and did not seem to transfer pollen. Research has highlighted anemophily, entomophily and ornithophily as common pollination mechanisms in the Asters (BERRY; CALVO, 1989; JOHNSON; MIDGLEY, 1997, MANI; SARAVAN, 1999). Our research, however, has suggested that *M. kingii*'s main pollinators should be the bees (entomophily) or even birds (ornithophily) because the blossom like tubes and the flower color (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1980) are known to be appealing to the visitors found in this study.

It is difficult, however, to determine which foragers are important pollinators of *M. kingii* using our data due to an information gap spanning from 11:00am to 02:30pm, when both pollen and stigma are available. Both *Bombus* and *Apis* were commonly found foraging on *M. kingii* before and after those hours, and thus they are the two most likely candidates for important pollinators of the plant. Our results indicated that pollen only became available around 11:00am in transitional flowers, however female flowers were available from between 7:00-9:00am until 02:30pm. This would suggest that the optimal time for pollination of *M. kingii* was between 11:00am and 02:30pm since pollen and stigma were both available and ready for pollination.

Since no pollen should be available before 11:00am, any pollinators foraging on the plant's nectar may be considered parasites rather than mutualists during that period. Hummingbird activity was highest at 9:00 when all female flowers tended to be open, however their foraging slows prior to 11:00, indicating that hummingbirds may have been robbing the plant of nectar for that period, and not contributing significantly to pollination success.

The hummingbird behaviour observed in this study may be partly explained by our finding that female flowers contain more nectar and much more sugar than do transitional male flowers. In instances where one flower stage produces more pollinator reward (nectar or pollen) than another stage, some foragers may develop a preference for one stage over the other (ZYCH, 2007). Hummingbirds are known prefer flowers with more sugar (ROBERTS, 1996), therefore they may have been foraging for nectar from female flowers as the flowers became available in the morning.

Nectar robbing by hummingbirds is known to occur in some plants (NAVARRO, 1999), however it commonly occurs through piercing the flower to acquire nectar while avoiding the anthers rather than taking the nectar when pollen is unavailable. When nectar is removed without successful pollination, some plants will re-secrete subsequent nectar to encourage other pollinators to visit, however this may be costly to the plant (NAVARRO, 1999). *M. kingii* was not examined for re-production of nectar following nectar removal, so it is difficult to determine the effect of early hummingbird foraging on pollination success.

Our study has illustrated some fundamental pollination characteristics of *M. kingii*. While it does not explain all aspects of pollination in the species, it does shed light on some of its pollination characteristics and paves the way for future research.

Acknowledgements

We thank our colleagues from the pollination course for such a wonderful time. We would like to thank Peter Kevan and Blandina Viana for their suggestions. We are indebt to Diego Mendes for the identification of the hummingbirds, Nádia Roque for the identification of *Moquinia kingii* D.C. plant, Leonardo Galleto for the help with nectar, Favízia Freitas for identifying the bees, Rodrigo Nogueira de Vasconcelos, Elaine Cambui e André Bernardino for the help with the statistical analyses and the people from the “Parque Sempre Viva”, especially for Nilton.

References

- AFIK, O. et al. Analyses of Avocado (*Persea americana*) Nectar Properties and their Perception by Honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Chemical Ecology*, v. 32, p. 1949-1963, 2006.
- BAKER, H.G.; BAKER, I. Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanisms and phylogeny. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.) *Biochemical aspects of evolutionary biology*. Chicago: University of Chicago Press, 1982. p.131-171.
- BENEZAR, R. M. C.; PESSONI, L. A. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Byrsonima coccolobifolia* (Kunth) em uma savana amazonica. *Acta Amazônica*, v. 36, p.159-168, 2006.
- BERRY, P. E.; CALVO, R. N. Wind pollination, self-incompatibility, and altitudinal shifts in pollination systems in the high Andean genus Espeletia (Asteraceae). *American Journal of Botany*, v. 76, p. 1602-1614, 1989.
- CABRERA, L.; DIERINGER, G. Reproductive Biology of a population of *Acourtia runcinata* (Asteraceae: Mutisieae: Mutisieae) at the Northeastern Limit of its Range. *American Midland Naturalist*, v. 128, p. 83-88, 1992.
- CBRO. Brazilian Ornithological Records Committee. 2006. Available in: <<http://www.cbro.org.br/CBRO/index.htm>>. Acess: 12 jun. 2010.
- CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 18, p. 237-268, 1987.
- DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. Practical Pollination Biology. Cambridge: Enviroquest, 2005.
- DAVILA, Y. C.; WARDLE, G. M. Reproductive ecology of the Australian herb *Trachymene incisa* subsp. *incisa* (Apiaceae). *Australian Journal of Botany*, v. 50, p. 619-626, 2006.
- ENDRESS, P. K. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.

- FAEGRI, K.; VAN DER PILJ, L. The principles of pollination ecology. Oxford: Pergamon Press, 1980.
- FREE, J. B. *Insect pollination of crops*. London: Academic Press, 1993.
- GALLOWAY, L. F.; CIRIGLIANO, T.; GREMSKI, K. The contribution of display size and dichogamy to potential geitonogamy in *Campanula americana*. *International Journal of Plant Science*, v. 163, p. 133-139, 2002.
- HANSEN, D. M. et al. Coloured nectar: distribution, ecology, and evolution of an enigmatic floral trait. *Biological Review*, v. 82, p. 83-111, 2007.
- HARLEY, R. M. Flora of Pico das Almas - Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. In: STANNARD, B. L. (Ed.). *Flora of Pico das Almas - Chapada Diamantina, Bahia, Brazil*. Brough: Kew Publishing, 1995. p. 43-78
- HARLEY, R. M.; SIMMONS, N. A. *Florula of Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil*. Brough: Kew Publishing, 1986.
- HIND, D. J. N. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Compositae (Asteraceae). *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, v. 21, p. 179-234, 2003.
- JERSÁKOVÁ, J.; JOHNSON, S. D. Protandry promotes male pollination success in a month-pollinated orchid. *Functional Ecology*, v. 21, p. 496-504, 2007.
- JOHNSON, S. D.; MIDGLEY, J. J. Fly Pollination of *Gorteria diffusa* (Asteraceae), and a possible mimetic function for dark spots on the Capitulum. *American Journal of Botany*, v. 84, p. 429-436, 1997.
- LLOYD, D. G.; WEBB, C. J. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. *New Zealand Journal of Botany*, v. 24, p. 163-178, 1986.
- MANI, M. S.; SARAVAN. J. M. Pollination Ecology and evolution in Compositae (Asteraceae). Enfield: Science Publishers, 1999.
- MCGREGOR, S.E. *Insect pollination of cultivated crop plants*. Washington: USDA, 1976. 411p. (Agriculture Handbook, 496).
- MEDAN, D.; PONESSA, G. Movement-assisted dicogamy in *Atamisquea emarginata* (Capparaceae). *Plant systematics Evolution*, v. 236, n. 3/4, p. 195-205, Feb. 2003.
- NAVARRO, L. Pollination Ecology and Effect of Nectar Removal in *Macleania bullata* (Ericaceae). *Biotropica*, v. 31, p. 618-625, 1999.
- OLIVEIRA, E. C. *A família Compositae no Município de Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia*. 2006. Tese (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- PANSARIN, E. R.; AMARAL, M. C. E. Reproductive biology and pollination of two species of *Polystachya* Hook. in southeastern Brazil: evidence of pseudocleistogamy in *Polystachyeae* (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 2006. v. 29, p. 423-432, 2006.

- PICÓ, F. X.; OUBORG, N. J.; VAN- GROENENDAEL, J. Influence of selfing and maternal effects on life-cycle traits and dispersal ability in the herb *Hypochaeris radicata* (Asteraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 146, p. 163-170, 2004.
- PICÓ, F. X.; KOUBEK, T. Inbreeding effects on fitness traits in the heterocarpic herb *Leontodon autumnalis* L. (Asteraceae). *Acta Oecologica*, v. 24, p. 289-294, 2003.
- PRUSKI, J. F.; SANCHO, G. Asteraceae. In: SMITH, N. et al. *Flowering Plants of the Neotropics*. New York: The New York Botanical Garden, 2004. p. 33-39.
- RATHCKE, B. J. Nectar distribution, pollinator behavior and plant reproductive success. In: HUNTER, M. D.; OHGUSHI, T.; PRICE, P. W. (Ed.). *Effects of resource distribution on animal-plant interactions*. New York: Academic Press, 1992. p. 113-138.
- ROBERTS, M. W. Hummingbirds's nectar concentration preference at low volume: the importance of time scale. *Animal Behaviour*, v. 52, p. 361-370, 1996.
- SCHIELSTL, F. P.; PEAKALL, R. Identical sex pheromones but differing behavioral responses in pollinators of two sexually deceptive orchids. *Functional Ecology*, v. 19, p. 674-680, 2005.
- TORRES, C.; GALETO, L. Are nectar sugar composition and corolla tube length related to the diversity of insects that visit Asteraceae flowers? *Plant Biology*, v. 4, p. 360-366, 2002.
- ZEN, D. M.; ACRA, L. A. Biologia floral e reprodutiva de *Agapanthus africanus* (L.) Hoffmanns (Liliaceae). *Estudos de Biologia*, v. 27, p. 35-39, 2005.
- ZYCH, M. On flower visitors and true pollinators: the case of the protandrous *Heracleum sphondylium* L. (Apiaceae). *Plant Systematics Evolution*, v. 263, p. 159-179, 2007.

Aspects of floral biology of buzz-pollinated *Senna cana* (Nees & Martius) H.S.Irwin & Barneby (Leguminosae) in a rupestrian field

Marina Wolowski Torres¹

Izar Araújo Aximoff²

Marcio Harrison dos Santos Ferreira³

Tadeu Jose de Abreu Guerra⁴

Senna (K.Bahuin) Miller is a large and widespread genus of Caesalpinioideae (Leguminosae) characterized by a distinctive floral morphology. In the subtribe Cassiinae (IRWIN; BARNEBY, 1982), the yellow and nectarless flowers of *Senna* show poricidal anther dehiscence and offer pollen as a reward to their pollinators. Successful pollination can only come about through actively pollen-collecting female bees, termed buzz-pollination (GOTTSBERGER; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, 1988). The zygomorphic flowers of *Senna* are characterized by heteranthery and enantiostyly (GOTTSBERGER; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, 1988). Enantiostyly is a form of floral asymmetric in which the style is deflected away from the main axis of the flower either to the left or right side. This stylar polymorphism has evolved independently in at least ten flowering plant families and is often associated with other floral traits including dimorphic anthers, vibrational pollen collection by bees and lack of nectarines (BARRETT; JESSON; BAKER, 2000; JESSON et al., 2003). The presence of this pollination syndrome in unrelated groups suggests functional convergence in which the position of the pollinator is important for pollen dispersal and male reproductive success (BARRETT; JESSON; BAKER, 2000; JESSON; et al., 2003). In *Cassia*, a related genus, some authors have interpreted this floral dimorphism as a device for promoting cross-pollination or for promoting pollination between left and right-styled morphs (LAPORTA, 2005).

In the present study we provide information on floral biology and enantiostyly distribution in the population and within individuals of *Senna cana*. We also investigate the composition and behavior of *S. cana* floral visitors and frequency of visits and number of flowers visited.

¹ Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (marina.wtorres@gmail.com)

² Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (bioizar@yahoo.com.br)

³ Universidade Estadual de Feira de Santana (ferreirabiouefs@gmail.com)

⁴ Universidade de Campinas (frugivoros@hotmail.com)

Material and methods

Rupestrian fields are associated with mountains in tropical areas of Brazil, usually at altitudes above 900 m a. s. l., overlying quartzite or sandstone, with elevated rainfall and cloudiness, among rocky outcrops, damp sands and high altitude bogs (HARLEY; GIULIETTI, 2004).

This study was conducted along the Tiburtino trail at Parque Municipal de Mucugê BA, Brazil (12°59'18" S, 41°20'27" W) approximately at 950 m a. s. l. The study area comprises open fields and portions of rocky outcrops with vegetation mainly composed by herbs, shrubs and treelets.

Senna cana is a shrub or treelet (2-6 m) that occurs between 400 to 1000 m elevation on rocky outcrops. The flowering season occurs on March and April but can be extending for months (HARLEY; GIULIETTI, 2004). At the study area, *S. cana* is abundant with a clumped distribution.

We bagged 20 flower buds from different individuals, prior to anthesis, with voile bags in order to: 1) define anthesis time, 2) test stigma receptivity with hydrogen peroxide (DAFNI; KEVAN; HUSBAND et al., 2005), and 3) test pollen viability for each stamen morph with neutral red (DAFNI, 1992). To evaluate the distribution of right and left-styled flower morphs within *S. cana* individuals we used paired t-test and χ^2 test for flower morphs available in the population, by counting all perfect flowers from three branches randomly selected in 18 individuals.

We recorded the composition, frequency and behavior of floral visitors through 18 hours of observation on May 14th and 15th, 2007. We conducted observations in three clumps of *S. cana*, between 8:00am and 5:00pm, in order to define the highest peak of activity, the bees' behavior in each flower and the quantity of flowers visited. Within each plant, we observed visitors' movement to recognize if they discriminated among floral types or alternatively or randomly moved between them, as well as among long and medium stamens.

Results

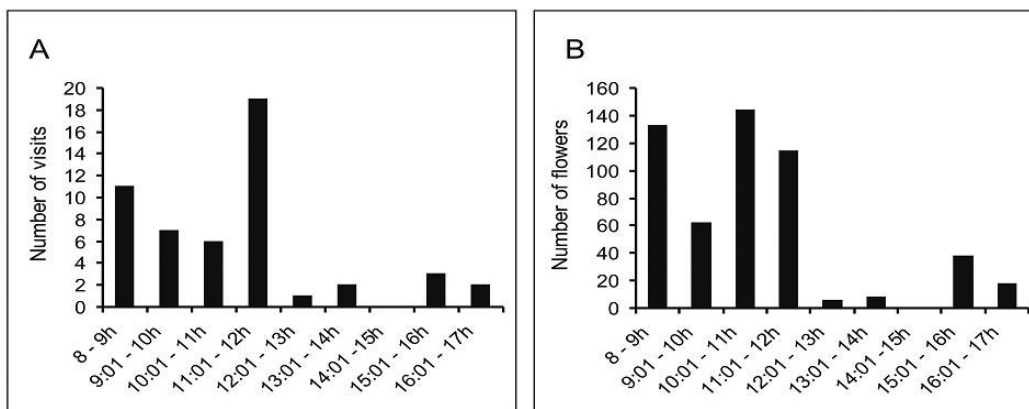
Senna cana flowers are nectarless and odorless, and pollen is the main reward. The yellow coloration of corolla and anthers seems to be the primary attraction display. The androecium has three abaxial curved stamens with long filaments and large poricidal anthers. The two lateral stamens of this group of three are inclined each one to the right and to the left of the midline of the flower. The third stamen is centric and its filament is shorter than the others, apparently reaching half of the height of them. A group of four stamens with short filaments and large anthers is positioned in the center of the flower directed with the apertures towards an approaching floral visitor.

The three most adaxially positioned stamens are reduced to pollenless staminodes. The single whole carpel is deflected and the stigma is terminal, minute and dry. The pistil is projected to the right or to the left of the middle line of the flower and is curved upwards. Our observations are supported by Marazzi, Conti and Endress (2007) and Gottsberger and Silberbauer-Gottsberger (1988) descriptions for *Senna* flowers.

Right and left-handed flowers are borne in the same raceme in different nodes but a regular pattern in their sequence in the inflorescence could not be discerned. Considering all 590 flowers counted in the population, the enantiomorphs approached 1:1 ratio ($\chi^2 = 1.14$; d.f. = 1; $p = 0.28$). In an individual plant, there is no significant difference between flower morphs display (Paired t-test = 0.82; d.f. = 17; $p = 0.42$). Anthesis occurs around 7:00 h. Pollen grains for all stamens morphs are viable, so germination tests are necessary to better understand differences between morphs.

We collected two Halictidae species: *Pseudaugochlora* sp. (2) and *Augochloropsis* sp. (2); four species from Apidae: *Bombus brevivillus* (Franklin, 1913) (4), *Bombus morio* (Swederus, 1787) (1), *Euglossa* sp. (1) and *Trigona spinipes* (Fabricius, 1973) (1); three species from Anthophoridae: *Centris fuscata* (Lepeletier, 1841) (1), *Xylocopa cearensis* (Duke, 1910) (1) and *Xylocopa* sp. (1); and the wasp, *Zethus brasiliensis brasiliensis* (Vespidae). *Zethus brasiliensis brasiliensis* (Saussure) and *Trigona spinipes* are unable to vibrate the stamens and act as robbers. For Halictidae, some species with large size can buzz but it's hardly for small size bees. For medium and large bees able to buzz, we observed its vibrate the medium stamens during their visits and receive the pollen on the ventral side of their bodies and on their mouthparts. The vibrations are transmitted by the bee's body to the long stamens promoting pollen ejection and deposition on the back or on the sides of them.

Figure 1. (A) Number of visits and (B) number of flowers visited by hour on *Senna cana*.



The morning (8:00 h to 12:00 h) was the period with more visits (84.3%) and also with more flowers visited (86.6%). In the afternoon the visitation decreased to only 6% of the visits

(2.7% of flowers visited) between 12:00 h to 14:00 h, 9.8% of the visits (10.7% of flowers visited) 15:00 h to 17:00 h, without visits between 14:00 h and 15:00 h (Fig. 1).

Discussion

The occurrence of both enantiomorphs on an individual plant of *Senna cana* characterize as monomorphic enantiostyly, challenge the hypothesis that enantiostyly is advantage for cross-pollination. This is because the presence of left and right styled flowers on the same plant could promote interfloral self-pollination, resulting in loss of outcross mating opportunities especially in self-compatibility species. But the outcrossing rates should be higher for plants with monomorphic enantiostyly than for those composed of straight-styled as observed for the buzz-pollinated *Solanum rostratum* (Dunal) (JESSON; BARRETT, 2002) likely for *Paraboea rufescens* (Franch.) B. L. Burt (GAO et al., 2006) reinforcing the evidences that enantiostyly can increase the precision of cross-pollen transfer.

Except for cases of self-compatibility in *S. corimbosa* (LAPORTA, 2005) and apomixes in *S. artemisioides* (D.C.) (MARAZZI; CONTI; ENDRESS et al., 2007), generally a degree of self-incompatibility is expected for Leguminosae species (ARROYO, 1981) as recorded for *S. silvestris* (Vell.) L. & B. var. *bifaria* L & B (CARVALHO; OLIVEIRA, 2003). Thus self-incompatibility, as a mechanism that usually ensures obligate outbreeding (RICHARDS, 1997), could decrease the evolutionary adaptability of enantiostyly. However, the multiple origin of enantiostyly among angiosperm families (BARRETT; JESSON; BAKER, 2000, JESSON et al. 2003) and also for self-incompatibility (WILLIAMS; CLARKE; KNOX, 1994) provides a striking example of convergent floral strategies that promotes pollen dispersal in pollinated plants suggesting that the evolution of these traits are associated with maintenance and increase of genetic variability.

For pollen-flowers with poricidal anthers, pollination can comes about through active pollen collection. Bees' behavior gives the idea of distinct stamens morphs function: feeding and pollinating. The pollen deposited on the back and side of the bee's body can be transferred to the stigma in a next visit, although direct contact of the stigma and the bee body could not be observed. In fact, it seems that bees do not discriminate between floral morphs.

Apidae, Anthophoridae and Halictidae species are able to buzz and pick up pollen. Even though the most important for pollination is the compatibility between the visitor's size and reproductive traits dimension witch will enable the deposition of pollen on the bee's body and next the direct transfer to the stigma of another flower (PINHEIRO; SAZIMA, 2006). Indeed, *Augochloropsis* sp., *Euglossa* sp. and *Pseudaugochlora* sp. hardly pollinate because of their small size (body length < 1 cm). On the other hand *Bombus brevillus*, *Bombus morio*, *Centris fuscata*, *Xylocopa cearensis* and *Xylocopa* sp. could pollinate *Senna cana* flowers (body length > 1 cm). In addition, the frequency of floral visitors is an important aspect for

the pollination effectiveness. For *Senna cana*, it is concentrated in the morning when we recorded the highest peak of bee activity.

Acknowledgements

We thank Universidade Federal da Bahia, Rede Baiana de Polinizadores and Projeto Sempre Viva for the course organization. We also thank Dr. Blande Viana, Dr. Peter Kevan and all engaged professionals. Bees were identified by Favízia Oliveira. M.W. Torres and I.A. Aximoff thank Petrobras for the financial support.

References

- ARROYO, M. T. K. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). *Advances in Legume Systematics*. Brough: Kew Publishing, 1981. p. 723-769.
- BARRETT, S. C.; JESSON, L. K.; BAKER, A. M. The evolution and function of stilar polymorphism in flowering plants. *Annals of Botany*, v. 85, p. 253-265. 2000. Supp. A.
- CARVALHO, D. A.; OLIVEIRA, P. E. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell. H.S. Irwin; Barneby (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 26, p. 319-328, 2003.
- DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. *Practical pollination biology*. Cambridge: Enviroquest, 2005.
- DAFNI, A. *Pollination ecology: a practical approach*. New York: Oxford University Press, 1992.
- GAO, J. Y. et al. The pollination ecology of *Paraboea rufescens* (Gesneriaceae): a buzz-pollinated tropical herb with mirror-image flowers. *Annals of Botany*, v. 97, p. 371-376, 2006.
- GOTTSBERGER, G.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. Evolution of Flower Structure and Pollination in Neotropical Cassinae (Caesalpinaceae) Species. *Phyton*, v. 28, p. 293-320, 1988.
- HARLEY, R. M.; GIULIETTI, A. M. *Wild Flowers of the Chapada Diamantina*. São Carlos: Rima, 2004.
- IRWIN, M. S.; BARNEBY, R. C. The American Cassinae. Asynoptical revision of Leguminosae tribe Cassieae subtribe Cassinae in the New World. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, v. 35, p. 1-918, 1982.
- JESSON, L. K.; BARRETT, S. C. H. Solving the puzzle of mirror-image flowers. *Nature*, v. 417, p. 707, 2002.
- JESSON, L. K. et. al. The development of enantiostyly. *American Journal of Botany*, v. 90, p. 183-195, 2003.

LAPORTA , C. Floral biology and reproductive system of enantiostylous *Senna corymbosa* (Caesalpiniaceae). *Revista de Biologia Tropical*, v. 53, p. 49-61, 2005.

MARAZZI, B.; CONTI, E.; ENDRESS, P. K. Diversity in anthers and stigmas in the buzz-pollinated genus *Senna* (Leguminosae, Cassiinae). *International Journal of Plant Science*, v. 168, p. 371-391, 2007.

PINHEIRO, M.; SAZIMA, M. Visitantes florais e polinizadores de seis espécies arbóreas de Leguminosae melitófilas na Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 57., 2006. Gramado. *Anais...* Gramado, 2006. p. 3.

RICHARDS, A. J. *Plant Breeding Systems*. 2nd ed. Chapman ; Hall, 1997.

WILLIAMS, E. G.; CLARKE, A. E.; KNOX, R. B. (Ed.). *Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. 2.v.

Function of the projections on the lower lip of the corolla of *Angelonia tomentosa* (Moricand ex Benth) (Plantaginaceae) in Mucugê, BA

Daniela Monteiro¹

Fabiana Firetti²

Liliane Noemia Torres de Melo³

Thaysa Nogueira de Moura⁴

The *Angelonia* genus, traditionally recognized as a member of the Scrophulariaceae family, now integrates Plantaginaceae (SOUZA; LORENZI, 2005). It comprises around 30 species distributed from Argentina to North America. The *Angelonia* species show flowers morphologically complex and to provide oil as a floral resource for visitors. The zygomorphic flowers, gullet type, are composed by two superior petals forming the upper lip and three inferior petals constituting the lower lip. In the former, pistil and four didynamous stamens are inserted. In *Angelonia tomentosa*, a common species found in the campos rupestres (rock fields) of the Diamantina Plateau (State of Bahia, Brazil), the flowers have a whitish protuberance on the lower lip which contrasts with the violet corolla. Faegri and Van Der Pijl (1979) mentioned that the irregularities of the lower lip have been interpreted as a support during the floral visitors landing. Vogel and Machado (1991) affirm that the lower lip projections force the floral visitor's head under the anthers and stigma placed on the upper lip. The oil is produced in elaborate elaiophores forming two lateral sacs furnished with glandular trichomes, in an arrangement unique among oil flowers (VOGEL; MACHADO, 1991). The disposition of the oil sacs represents an accesses restriction to the flowers, implying that only specialized oil collecting bees can collect the floral resource with their frontal legs. The specialized oil collecting bees belong to four families (Melittidae, Ctenoplectridae, Anthophoridae e Apidae) and 15 genera comprising 1.9% of the approximately 800 bee genera and 1,4% of the more than 30.000 bee species. Oil bees use energy-rich floral oils in diverse ways. Some bees use the lipid secretions with or in place of nectar in their provisions

¹ Universidade Federal da Bahia (dannymonte@hotmail.com)

² Universidade de Campinas (ffiretti@yahoo.com.br)

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia (lilli_melo@yahoo.com.br)

⁴ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia (thaysamoura@yahoo.com.br)

for larval development and others use the oil for line water-resistant cell or for adult nutrition (BUCHMANN, 1987).

This study aims to investigate the function of the lower lip projections in *Angelonia tomentosa* during the pollination process through an experimental approach. For this study, our initial hypothesis were: H1: The lower lip projection in *A. tomentosa* serve as an attractive structure for pollinators insects, since it shows a different color of the corolla. H0: The structure does not interfere in *A. tomentosa* pollination process.

Material and methods

The study was conducted in a “campo rupestre” (rock field) area, located in the Mucugê city, Diamantina Plateau, State of Bahia, NE, Brazil (13°00'19”S e 41°22'15” W), from May 13th to May 17th 2007, amounting a total of about 26 observation hours. The Diamantina Plateau climate is mesothermic with dry winters and rainy summers characterized by low precipitation and high temperatures.

Two populations of *Angelonia tomentosa*, distant one from another about 1500m, were studied in the vicinity of Mucugê city. The distance between individuals (about 20 individuals in each population) in each population studied was about 2m.

The floral morphology was analyzed from 20 flowers collected from different individuals, which were measured using a ruler (mm) directly in the field. Flowers (n=10) fixed in 70% alcohol were also analyzed in the lab in relation to the number and arrangement of the floral structures, besides the anthers dehiscence. The anthesis period was followed to determine the length of the male and female phases.

The receptivity of the stigma was verified using H₂O₂ 70%, which was deposited directly on the stigma of 10 flowers during the beginning of the female phase. The pollen viability was estimated from five flowers in the male phase and five flowers in the female phase by the cytoplasm coloration technique using carmine acetic (DAFNI; KEVAN; HUSBAND, 2005), where 100 pollen grains were counted per anther.

The frequency and behavior of the flower visitors were observed directly in the field, in five days of observation, during intervals ranging from 4h-23h. The insects were collected using glass bottles containing ethyl acetate. The insects were identified in the field and by Favízia Freitas de Oliveira, specialist in taxonomy of bees, from the Universidade Estadual de Feira de Santana.

To address our hypothesis, the lower lip projections from 37 inflorescences in different individuals were removed. Adhesive tapes were placed where the projections were removed in order to avoid the exposition of damaged flowers to the flower visitors. In each inflorescence, 50% of the flowers were manipulated, alternated with intact flowers. A total of 120 flowers manipulated and 124 intact flowers were used for this treatment.

We marked and isolated 30 flowers (male phase) using voile sacs in order to exclude the flower visitors, to verify the occurrence of spontaneous self pollination during the female phase. The fruit set, under natural conditions, was analysed by counting the number of the developed fruits and the undeveloped fruits (visually) in 30 inflorescences from different individuals.

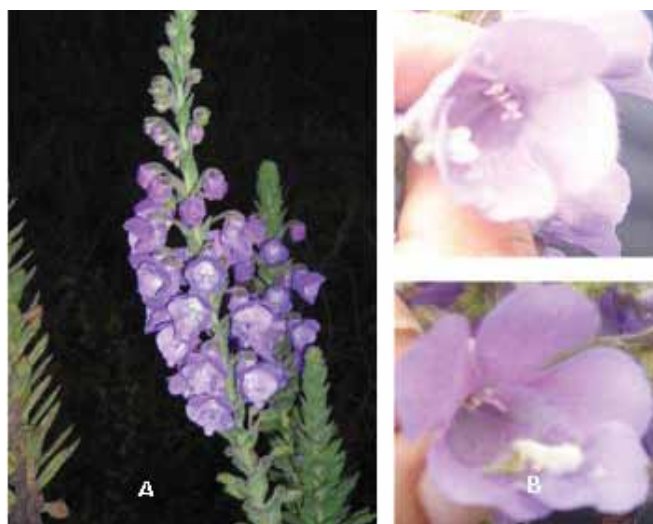
Results

Angelonia tomentosa is a subshrub, about 0.5-1.5 m high, commonly found in the “campo rupestre” vegetation. The flowers are pentamerous, strongly zigomorphic, pendently inserted on their pedicels and with the gullet facing forward, pale lilac, arranged in dense racemes (Fig. 1A), the corolla is $19\text{mm} \pm 0.56$ in height and $21\text{mm} \pm 1.3$ across. The lower lip has a white, hollow protuberance ($9.5\text{mm} \pm 0.52$). The stamens are didynamous and the anthers dehiscence is longitudinal (Fig. 1B and 1C). The gynoecium has a superior ovary with 177 - 198 ovules.

The anthesis begins at 5:00am and the flowers are completely open at 6:00am. The flowers are protandrous, with the male phase beginning in the first day of the flower and lasting, at least, five days and the female phase beginning after male phase e lasting about four days. Therefore, the *A. tomentosa* flowers have long-life span and are exposed to the visitors for, at least, nine days, approximately. A sweet smell is emitted by the flowers at two periods: after 5:00am and after 5:00pm. The odor emitted decreases slowly and about one hour after liberation it is not more perceived. The pollen grains are released about five hours after the anthesis begins. The stigma becomes receptive during the female phase when some pollen can still be available. The pollen viability of the male phase flowers is $37\% \pm 23$ and the female phase flowers, $46\% \pm 16$, there is not, consequently, a significant difference of the pollen viability in both phases.

The anterior portion of the gullet forms a pair of lateral sacs where a glandular surface exists consisting of oil producing by glandular trichomes. The external surface of the corolla is also covered by glandular trichomes, including the peduncle and calyx. The unique floral resource collected by effective pollinators is the oil. Nevertheless, others visitors collected pollen actively.

Figure 1 - *Angelonia tomentosa*. A. Inflorescence; B. Flower male phase; C. Flower female phase.



During the field observations, *Trigona spinipes* (Fabricius, 1793) was the most frequent visitor and was observed 21 times visiting *A. tomentosa* flowers. This bee species landed on the upper lip in order to forage for pollen, never making contact with the lower lip. *Trigona spinipes* was only observed visiting male phase flowers and for this reason it was considered a pollen thief.

We also observed an oil collecting bee of the genus *Centris*, which landed on the lower lip and introduced its front legs into the lateral sacs in order to collect oil, showing a similar behavior described by Vogel and Machado (1991). While *Centris* sp. collected oil, the dorsal portion of its body made contact with the flower reproductive structures due to its compatible size in relation to the floral morphology. After a *Centris* sp. visit to a previously unvisited flower, we could observe pollen deposition on the stigmatic surface, indicating that *Centris* sp. is a legitimate pollinator of *A. tomentosa*. However, after 26 observation hours in the field, we could observe *Centris* sp. visiting *A. tomentosa* flowers only three times. The visits of *Centris* sp. were concentrated in the morning and last for less than two seconds on the average.

Because of the low visitation rate of *Centris* sp., the effective pollinator of *A. tomentosa*, it was not possible to test our hypothesis related to the function of the lower lip projections during the pollination process.

The species does not show a spontaneous self pollination mechanism, since we did not observe pollen on the stigmatic surface (flowers observed in the female phase) of the previously isolated flowers during male phase, which indicates that *A. tomentosa* needs a vector for pollen transference.

Despite the reduced number of visits by *Centris* sp. and the lack of spontaneous self pollination, in *A. tomentosa* the fruit set by natural pollination was found to be about 77%. This can be explained because the flowers stay receptive for pollinators at least nine days, allowing the occurrence of several visits in this period.

Discussion

The low visitation rate of *Centris* sp. to the flowers made impossible the test of our hypothesis concerning the function of the lower lip projections during the pollination process. However, we could observe the possible legitimate pollinator of *A. tomentosa*. The behavior and morphology of *Centris* sp. indicate that it is able to make contact with the reproductive organs, effecting the pollination in this way. In fact, Vogel and Machado (1991), in a study on the pollination systems of four *Angelonia* spp. in Pernambuco (NE Brazil), observed that *Centris* bees were their legitimate pollinators. These authors also observed *Trigona spinipes* foraging for pollen in *A. bisaccata* (Benth.) and *A. hookeriana* (Gardner), but they considered it an occasional pollinator because this bee species also visited flowers in the female phase.

Despite the fact we could detect some overlapping of the male and female phases in *A. tomentosa*, spontaneous self pollination was not observed. Vogel and Machado (1991) also

found some overlapping of the two stages in *A. pubescens*, but in this case the spontaneous self pollination was a common observed phenomenon.

The fact that *Centris* sp. is a rare visitor calls the attention because *A. tomentosa* seems to depend on this vector for pollen transference. However, the high fruit set observed in natural populations of *A. tomentosa* indicates the pollinator availability. A possible explanation for this contradiction is that the expressive flower longevity enhances the chance of pollination by the rare flower visitor. Besides, the observation of fruit formation in the two natural populations suggests the presence of the pollinator during the anterior months, which could represent a possible temporal variation of the flower visitors. Another possibility is the occurrence of apomixes, however, this phenomenon was not found in the previously investigated *Angelonia* spp. (VOGEL; MACHADO, 1991; MACHADO; VOGEL; LOPES, 2002).

Final remarks

According to our results, we concluded that *A. tomentosa* shows true oil-flowers, because the flowers have elaborate elaiophores furnished by glandular trichomes that release oil during the flower lifetime and the effective pollinator is *Centris* sp., an oil-collecting bees.

The species may be considered strictly xenogamous, since the flowers need a pollen vector in order to transfer pollen to stigma and male and female phases are separate temporally, that make difficult self-pollination occurrence.

References

- BUCHMANN, S. L. The ecology of the oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 18, p. 343-369, 1987.
- DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B.C. *Practical Pollination Biology*. Cambridge: Enviroquest, 2005.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. *The principles of pollination ecology*. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press, 1979.
- MACHADO, I. C.; VOGEL, S.; LOPES, A.V. Pollination of *Angelonia cornigera* Hook. (Schrophulariaceae) by long-legged oil-collecting bees in NE Brazil. *Plant Biology*, v. 4, p. 352-359, 2002.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.
- VOGEL, S.; MACHADO, I. C. Pollination of four sympatric species of *Angelonia* (Schrophulariaceae) by oil-collecting bees in NE. Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, v. 178, p. 153-178, 1991.

Frequency of attacks by flower mites, endophagous insects and robbers through flower ontogeny of *Camptosema coriaceum* (Nees & Mart) (Leguminosae, Papilionoideae) in a rupestrian field, Northeastern Brazil

Tadeu Jose de Abreu Guerra¹

Marcio Harrison dos Santos Ferreira²

Izar Araújo Aximoff³

Marina Wolowski Torres⁴

Plants are subject to a set of antagonists through their life cycles, from seed to maturity there are always some animal to feed on distinct plant tissues (LINHART, 1987; THOMPSON, 1988), besides phytopathogens like viruses, bacteria, and fungus (GILBERT; HUBBELL, 1996). Pollination by animals is a classic example of mutualistic interaction. Most angiosperms evolved flowers with distinct attraction displays usually offering some reward to visitors that might transport their pollen grains. Interactions between plants and their pollinators is an important issue in ecology and have been focused mainly on mutualistic partnerships and their evolutionary consequences (DARWIN, 1862; WASER, 1983).

However, exploiters of mutualistic interaction have an important ecological role and also exert selective pressures on floral traits and some plant-pollinator interactions probably have evolved from antagonisms, as the case of yuccas and their moths pollinators (BRONSTEIN, 2001; MCCALL; IRWIN, 2006). The nature of either mutualistic or antagonistic interactions is conditional and depends on cost and benefits to partners, on frequency and intensity of occurrence that vary spatially and temporally (THOMPSON, 1988; BRONSTEIN, 1994). Besides, plant-pollinator interactions are subject to indirect effects from other organisms of different trophic levels involved in the system (LARA; ORNELAS, 2002b; NESS, 2006; ROMERO; VASCONCELLOS-NETO, 2004).

¹ Universidade de Campinas (frugivoros@hotmail.com)

² Universidade Estadual de Feira de Santana (ferreirabioeufs@gmail.com)

³ Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (bioizar@yahoo.com.br)

⁴ Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (marina.wtorres@gmail.com)

Plant populations must cope with many natural enemies that feed on flower tissues or rewards without pollinating them. Herbivores can feed on vegetative and reproductive floral parts (MCCALL; IRWIN, 2006), some endophagous insects lay their eggs on flowers where larva feed until reach cocoon stage (LEWINSOHN, 1991; ROMERO; VASCONCELLOS-NETO, 2004), some birds and insects might behave as nectar robbers or thieves (sensu Inouye 1980) taking nectar without delivering pollen (MALOOF; INOUE, 2000), some mites and flies can consume pollen, decreasing host plant fitness (PACIOREK et al. 1995; WEISS, 1996).

Due to their possible insidious effects on plant reproduction, information on frequency of flower robbery, presence of inhabitants like endophagous insects and nectarivorous mites must be part of flower biology and pollination studies protocols (DAFNI, 1992). However, most studies of flower biology conducted on rupestrian fields from Espinhaço Range in Brazil have focused on mutualistic interactions, describing flower traits and their visitors' behavior (SAZIMA, 1977, 1981; VIANA; OLIVEIRA, 2006) and most reports of ornithophilous flowers robbery still anecdotal (VASCONCELOS; LOMBARDI, 2001; VIANA; OLIVEIRA, 2006). Few studies report endophages insect associated with flowers in rupestrian fields (PRADO et al., 2002; PRADO; LEWINSOHN, 2004). Besides, association among hummingbird flower mites, their host plants and phoretic agents have been reported mainly for tropical forests (COLWELL, 2000) and we found no data for such interactions in rupestrian fields.

In this work we report occurrence of damages caused by robbers and the presence of inhabitants through flower ontogeny of *Camptosema coriaceum* (Leguminosae, Papilionoideae), a common ornithophilous shrub found in rupestrian fields from Chapada Diamantina (FUNCH et al., 2004). We evaluated the frequency of distribution between different types of natural enemies (pollen and nectar robbers, endophages insects and mites) on flowers through their life time (bud, pre-anthesis and anthesis). We found nectarivorous mites (Ascidae) in flowers of *C. coriaceum*, these mites are known as "hummingbird flower mites" due to their close association with hummingbirds species that are their main vectors. Assuming that hummingbirds visit more often larger plants with many flowers we hypothesized that the probability of infection by mites in a population should increase with the number of flowers in anthesis on a given plant.

Material and methods

Camptosema (Hook. & Arn.) comprises 12 species from South America. *C. coriaceum* (Nees & Mart.) Benth., a common spindly shrub species in central Bahia, is one of the six species recorded in rupestrian fields and "cerrado" from Bahia, Brazil. The species occurs usually on sandstone or granite; most commonly in open grassy areas with exposed boulders near streams, especially along the margins of "mata de galeria" (FUNCH et al., 2004). Although typically trifoliolate, some plants or parts of plants are unifoliolate and thickly coriaceous, leaflets glabrous or almost so, subcordate at base, stipels evident

and persistent; buds acuminate, bright red tubulose flowers, in a racemose inflorescence (HARLEY; SIMMONS, 1986; FUNCH et al., 2004).

In May 2007 we collected all flower buds and flowers from 59 individuals of *C. coriaceum* found in an area of approximately 1ha at the base of a slope located in the neighborhood of the Byzantine Cemetery of Mucugê, Bahia (13°00'S, 41°22'W). The climate in the region is higher elevation tropical (Cwa), according to Köppen's classification. It is defined by fresh summers and a marked dry season from May to September, and humid season from October to March (GIULIETTI; QUEIROZ; HARLEY, 1996). The vegetation is characterized by a mosaic of fields and rocky outcrops with small tortuous trees sparsely distributed, many bushes and a developed herbaceous stratum, typical physiognomy of Rupestrian Fields, ecosystems related to quartzite rocks outcrops, with shallow, acid, sandy and nutrient poor soils in areas higher than 1000 m (GIULIETTI; PIRANI; HARLEY, 1997).

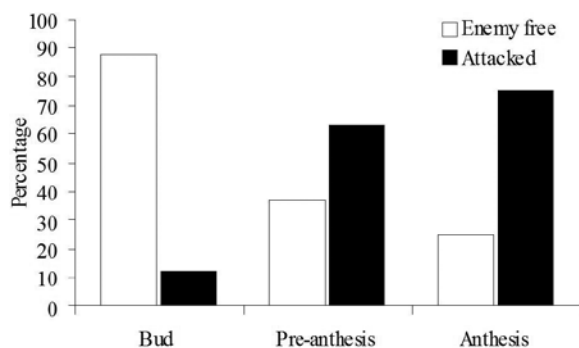
The buds and flowers of each individual were placed separately on paper bags and then brought to the laboratory for desiccation. For each individual we counted the number of flower buds, flowers in pre-anthesis and anthesis and then for each one we classified the patterns of damage in: 1) flower buds predated when its reproductive structures were eaten stopping flower development 2) flower bud pierced when there was holes but with no damage to flower's reproductive structures. We did not desiccate flower buds, evaluating their damage just by its external appearance once in this stage sepals were totally fastened. We desiccated all flowers in pre-anthesis and anthesis classifying their damage in: 1) sepals pierced by robbers interested in nectar, 2) petals pierced surrounding stamens by pollen robbers and 3) both sepals and petals pierced. For each flower in pre-anthesis or anthesis we determine the presence of endophages, mites or both. We selected 46 pre-anthesis and 50 anthesis with mites classifying their abundance in: I - from 1 to 5, II - from 6 to 10, III - from 11 to 20, IV - from 21 to 30 and V – more than 30 mites. To evaluate distribution among types of damages and inhabitants among flower stages we used χ^2 tests, using counting in each category but we report frequencies in the figures. To compare the frequency of each type of damage and inhabitants per plant among pre-anthesis and anthesis we used a Student t test or non-parametric Man-Whitney when data did not fulfill parametric assumptions. To test our hypothesis that plant with more flowers should have a higher probability of being infected by mites we used a logistic regression with individuals bearing at least one flower in anthesis. Measures of central tendency are reported as (mean $\pm$ standard deviation). Significance level for statistical analysis was 0.05 and percentage data were arcsine's square root transformed following Zar (1999).

Results

Among 59 reproductive individuals sampled only 5% were enemy free, 15% were attacked by at least one type of antagonist, 25% by two types, 27% by three and another 27% by all four types of antagonists (nectar robbers, pollen robbers, mites and endophages). Attack

on flower buds was observed in 54 % of the individuals sampled, robbery of nectar, pollen or both in 74%, endophages were found in 62% and mites in 57%. About 88% of the flower buds inspected suffered no attack, but only 36% of the pre-anthesis and 24% of the anthesis were empty with no inhabitants and intact without damages made by robbers (Fig. 1, $\chi^2 = 582.0$, $df = 2$, $P < 0.0001$). We found flower buds on 51 individual and the number per plant varied from 1 to 102 (24.3 ± 23.2), and the percentage of predation within individuals varied from zero to 100 % (16.6 ± 25.8). The percentage of pierced flower buds was much lower varying from zero to 23 % (0.98 ± 4.2).

Figure 1 - Distribution of attacks by natural enemies among *Camptosema coriaceum* flower buds, pre-anthesis and anthesis flowers in a rupestrian field in Mucugê, Bahia.



Both pre-anthesis and anthesis flowers were damaged by nectar and pollen robbers. Within plant mean percentage of flowers with petals damaged was low and did not differ among pre-anthesis and anthesis, but anthesis suffered more damage on their sepals with marginally significant results. The percentage of flowers with both petals and sepals damaged was low and did not differ among pre-anthesis and anthesis (Tab. 1). From 324 inspected pre-anthesis 28% were

damaged on petals, only 2% on sepals, 8% on both petals and sepals and 62% had no damages (Fig. 2a), while from 209 inspected anthesis 22% were damaged on petals, 8% on sepals, 13% on both petals and sepals and 56% had no damages (Fig. 2b), indicating that distinct damages by robbers were not equally distributed among pre-anthesis and anthesis flowers ($\chi^2 = 16.2$, $df = 3$, $P < 0.001$).

We found endophages larva and mites inside pre-anthesis and anthesis flowers. Within plant mean percentage of flowers with larva did not differ between pre-anthesis and anthesis. However, the percentage of flowers with mites was significantly higher on anthesis than in pre-anthesis (Tab. 1). The percentage of flowers with both larva and mites was low and did not differ among pre-anthesis and anthesis flowers. Nearly 24% of the pre-anthesis were inhabited by larva, only 7% by mites, 16% by both larva and mites simultaneously and 53% had no inhabitants (Fig. 2a). While only 10% of the anthesis was inhabited by larva, mites were found in 39%, both in only 4% and 47% had no inhabitants (Fig. 2b). The difference of inhabitants distribution among pre-anthesis and anthesis flowers was highly significant ($\chi^2 = 101.8$, $df = 3$, $P < 0.0001$).

Besides the higher frequency, mites also seem to be more abundant on anthesis (Fig. 3). As we hypothesized the probability of infection by mites increased rapidly with the number of anthesis on a given plant (Final loss: 15.54, $\chi^2 = 13.9$, $P < 0.0001$). Individuals of *C.*

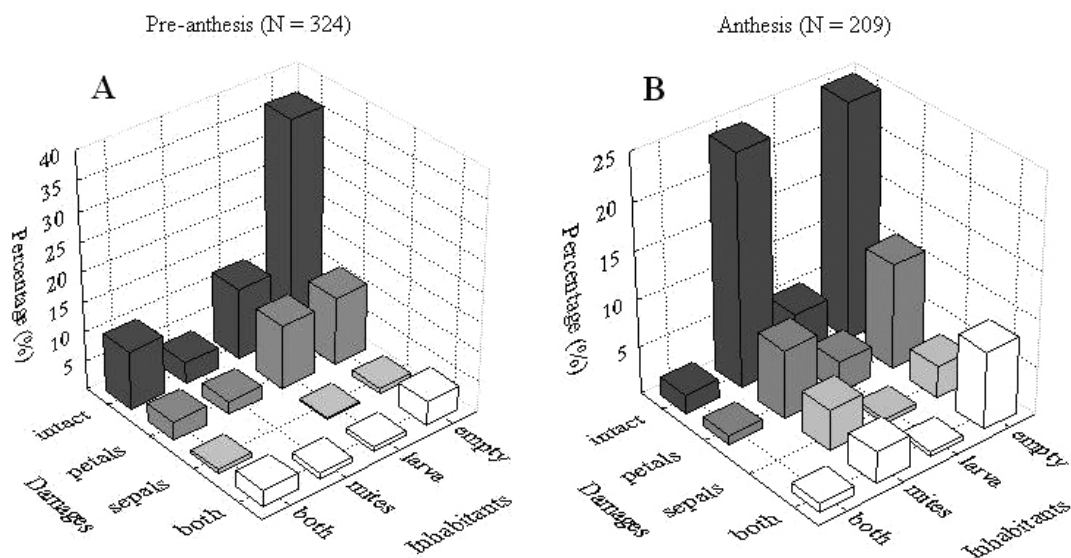
coreaceum from studied population bearing two flowers in anthesis had approximately 20% of chance of being infected by mites, with four flowers nearly 50% and as the number approaches to 10 flowers the probability arises to virtually 100 % (Fig. 4).

Table 1 - Descriptive statistics of percentage within *C. coriaceum* individuals, for pre-anthesis and anthesis flowers damaged by robbers and with flower inhabitants in a rupestrian field, Mucugê, BA.

	Pre-anthesis (N = 49)		Anthesis (N = 35)		P
	Mean (range)	SD	Mean (range)	SD	
Number per plant	6.6 (1-26)	6.5	5.9 (1-26)	4.8	0.08*
Petals damaged (%)	24.8 (0-100)	28.7	24.7 (0-100)	31.4	0.95*
Sepals damaged (%)	0.7 (0-12)	2.5	7.1 (0-100)	18.8	0.06**
Petals and sepals damaged (%)	5.5 (0-88)	16.0	12.9 (0-100)	27.6	0.31**
Larva present (%)	19.5 (0-80)	25.9	10.4 (0-60)	16.2	0.19**
Mites present (%)	17.3 (0-100)	25.9	29.6 (0-85)	27.5	0.05*
Larva and mites present (%)	6.2(0-100)	15.9	3.9 (0-50)	9.9	0.41**

*** Student t-test ** Mann-Whitney U-test

Figure 2 - Distribution of *C. coriaceum* pre-anthesis (A) and anthesis (B) as percentage in the z axis, with intact flowers, with petals damaged, with sepals damaged and with both petals and sepals damaged (y axis) contingent with empty flowers, inhabited by insect larva, by mites and by both insect larva and mites (x axis) in a rupestrian field in Mucugê, Bahia.



Discussion

The frequency of attacks by natural enemies on *C. coriaceum* population studied was high, however the proportion of flowers in pre-anthesis and anthesis attacked per plant were variable and relatively few attacks seems to occur during flower bud stage. This data suggests that effects of antagonists through flower ontogeny must be cumulative and more pronounced as flower ages. In fact, most damages were caused by robbers that, as mites, are interested in pollen and nectar, not fully available on flower bud stage. Damages on bud stage were caused mainly by endophages and herbivorous that eats floral tissues, but we also found some holes made by robbers. Endophages were found in more than 60% of individuals, on nearly 40% of the pre-anthesis but in only 14% of the anthesis. They usually attack a small proportion of flowers within individuals. Our study was brief and we could not identify insect species, but in the field we observed some beetles and flies in inflorescences. Endophages are known to decrease seed set (ROMERO; VASCONCELLOS-NETO, 2004) and their role on *C. coriaceum* fitness must be better evaluated in future studies.

The flowers of *C. coriaceum* are red, color typically related to ornithophily syndrome and we observed two hummingbird species visiting *C. coriaceum*, *Phaethornis pretrei* (Lesson & Delattre 1839) and *Chlorostilbon lucidus* (Shaw 1812) (Trochilidae) that might be true pollinators. Additionally, Ferreira et al. (this volume) also observed *Amazilia lactea* (Lesson 1832) and *Colibri serrirostris* (Vieillot 1816), yet these species were observed to visit *C. coriaceum* flowers in low frequency at the study site. Raven (1972) suggested that most ornithophilous flowers are red because they are simultaneously attractive to pollinator birds and inconspicuous to bee robbers, but red is not invisible to bees and this idea does not hold anymore (CHITTKA; WASER, 1997; KEVAN, 1983). In fact, we observed that *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae) visits frequently flowers of *C. coriaceum*. These bees usually pierce sepals and petals removing both nectar and pollen and were probably responsible for most damages observed. Maloof and Inouye (2000) reviewed the studies related to the effects of flower robbers on plant reproduction and they found that robbers frequently pollinate plants they visit and in many cases the role of nectar robbers are negligible or even positive. They noted that in some circumstances nectar robbers affects indirectly plant reproduction by changing legitimate pollinator behavior what could even result in improved fitness

Figure 3 - Abundance of hummingbird flower mites on pre-anthesis and anthesis flowers of *Camptosema coriaceum* in a rupestrian field in Mucugê, Bahia.

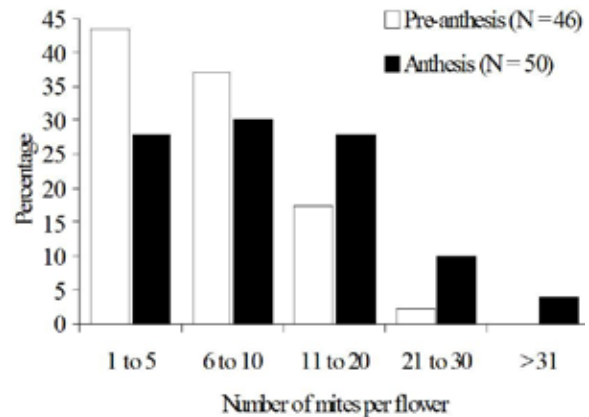
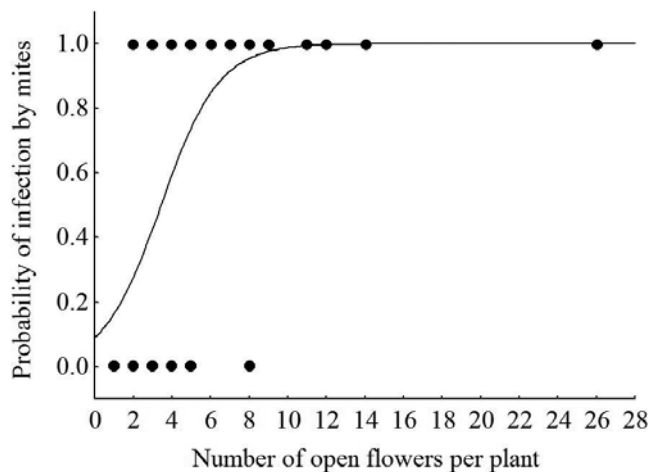


Figure 4 - Probability of infection by flower mites as a function of the number of open flowers (anthesis) in 35 individuals of *C. coriaceum* in a rupestrian field in Mucugê, Bahia. Points representing plants with the same number of flowers in anthesis are overlaid in the figure.



through increased pollen flow and outcrossing. Nevertheless, Maloof and Inouye (2000) found some cases with negative effects usually related to tropical bees (*Trigona* spp). Roubik, Holbrook and Parra (1985) and Roubik (1982) noted that *Trigona* spp. are territorial because they take some time to open holes in flowers, so they can behave aggressively upon other flower visitors and might displace or repel true pollinators decreasing significantly plant fitness.

Canela and Sazima (2005) observed that the aggressive

behavior of *T. spinipes* (Fabricius, 1973) while stealing pollen and nectar from *Bromelia antiacantha* (Bertol) can keep its pollinators away. Despite their aggressive behavior, the major negative effect of *T. spinipes* on *C. coriaceum* reproduction must be related to their consumption of pollen, once most damages were found on petals tips surrounding the stamens of both pre-anthesis and anthesis. Besides, the holes made on sepals could also be used by other nectar robbers or even by hummingbird pollinators decreasing pollen delivery. Small dipterans, wasps and another trigonid bee, *Frieseomelitta francoi* (Moure, 1956) are very common floral visitors in the population studied, and robbed flowers are re-visited after robbery because their continuous nectar production (FERREIRA; SILVA; BRITO, this volume). This species probably are secondary nectar robbers, taking advantage of holes previously made by *T. spinipes*, that seems to be the main robber at the study site. In fact, *T. spinipes* and *F. francoi* are the main bee species regarding number of individuals at flowers in “Campos Rupestres” from Bahia (SILVA-PEREIRA; SANTOS, 2006). Despite of the potential importance of nectar robbery in natural populations of hummingbird-pollinated plants, detailed information on the behavior of floral visitors has been largely ignored (ARIZMENDI; DOMÍNGUEZ; DIRZO, 1996).

Mites were found more frequently and in greater abundance on anthesis, probably due to their mainly nectarivorous diet (COLWELL, 2000; DOBKIN, 1984.). Besides, these mites have no diapause, feed and mate on ornithophilous flowers and travel among different host plants by hitchhiking on pollinators, an interaction termed phoresy (COLWELL, 1985). Therefore, a higher frequency and density on anthesis could enhance frequency of both arriving and outgoing on hummingbirds. Factors that determine flower mites abundance and distribution on host population remains poorly understood and are related mainly with flower and nectar characteristics of plant hosts (HEYNEMAN et al., 1991; DOBKIN, 1985).

Mites were present in 57% of the individuals in the population and as we predicted plants with more flowers in anthesis stage showed much higher chances of infection than plants with few flowers in anthesis. This pattern is probably related to visitation frequency of pollinators that transport mites, but our assumptions require future testing to reinforce causality in this particular case.

Many aspects of mite interaction with host plants have been intensively studied but until recently their role as antagonists in pollination system were target of much speculation (COLWELL, 1973; DOBKIN, 1984). They were considered as nectar thieves, once they do not pierce or damage flowers (LARA; ORNELAS, 2001). First experimental study to evaluate their potential as nectar robber was conducted by Colwell (1995) with *Hamelia patens* (Jacq.) (Rubiaceae) and *Proctolaelaps kirmsei* (Fain Hyland & Aitken, 1977) (Ascidae). By excluding flower visitors he demonstrated that mites can consume 41% of the nectar available. The author also demonstrated that their effect can be density dependent, being more pronounced when they infect flowers in higher densities. Paciorek *et al.* (1995) studying the same plant observed that in the absence of nectar mites can actually feed on pollen, especially when in high densities. Although the role of mites was first thought to be antagonist with hosts and competitor with visitors, Lara and Ornelas (2002a) studying six host plant species with distinct flower longevities and inhabited by different mites species demonstrated that their negative effects on nectar availability was significant on species with longer flower longevity, with negligible effects on species with one day flowers. We observed that most flowers had no mites, many had few mites each and few had many mites indicating an aggregated distribution. Flowers of *C. coriaceum* seem to last few days and in some flowers where mites are more abundant their role as nectar and pollen consumers could be more pronounced. However, in another study Lara and Ornelas (2001) demonstrated that even reducing *Mossounia dippeana* (Gesneriaceae) nectar availability in nearly 50%, in the absence of pollinators they can act as co-pollinators in this self-compatible specie. On a third study Lara and Ornelas (2002b) demonstrated experimentally that a reduction of 50% on nectar availability promoted a change in pollinator behavior, which visited fewer flowers per plant probing more times the same flower what resulted in an increased seed set. These studies showed that mite effects depend on plant identity, flower longevity and they could be even positive to host plant by modifying pollinator behavior. The effect of consumption by mites on nectar availability on *C. coriaceum* and how this might alter pollinator behavior should be addressed in future studies altogether with an evaluation of plant breeding system.

Only 5% of the population suffered no attacks by natural enemies, and just 37% of pre-anthesis and 25% of anthesis had no damages and no inhabitants. Thus, our data indicates that at a given moment during plant reproduction most individuals in the population experience some kind of antagonistic interaction in most of their flowers in both pre-anthesis and anthesis, generally by robbers and inhabitants at same time. If costs imposed by these natural enemies are high as the frequency of attack observed, they could constrain *C. coriaceum* reproduction as much as its pollinators.

Although the role of flower mites, endophages and robbers on *C. coriaceum* reproduction is probably antagonistic, the advances in pollination ecology indicates that the outcome of this type of interactions are conditional (sensu BRONSTEIN, 1994) and as one teacher once told us “it must be measured”. Nonetheless, testing the effects of endophagy by insect larva and consumption of nectar and pollen by flower mites and bees on plant fitness will be difficult due to their contingent distribution through flower ontogeny, thus it will involve a very good experimental design.

Acknowledgements

To Dr. Leonardo Galetto who found and showed us the flower mites on *C. coriaceum*, what first started our interest on this plant and also for kindly criticizing our manuscript. To Dr. Peter Kevan who encouraged us to do its work. To Dr. Breno Freitas for his comments on the English version that greatly enhanced manuscript clarity. To Dr. Blandina Viana and Dr. Favizia Oliveira for their guidance and patience during the pollination course. To our professors, monitors and colleges for the companionship during those pleasant days in Mucugê. Tadeu J. Guerra was supported by a scholarship from CAPES. Izar A. Aximoff and Marina W. Torres were supported by Petrobras.

References

- ARIZMENDI, M. C.; DOMÍNGUEZ, C. A.; DIRZO, R. The role of an avian robber and of hummingbird pollinators in the reproduction of two plant species. *Functional Ecology*, v. 10, p. 119-127, 1996.
- BRONSTEIN, J. L. Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 9, p. 214-217, 1994.
- BRONSTEIN, J. L. The exploitation of mutualisms. *Ecology Letters*, v. 4, p. 277-287, 2001.
- CANELA, M. B. F.; SAZIMA, M. The pollination of *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) in Southeastern Brazil: Ornithophilous versus Melithophilous features. *Plant Biology*, v. 7, p. 411-416, 2005.
- CHITTKA, L.; WASER, N. Why red flowers are not invisible to bees. *Israel Journal of Plant Science*, v. 45, p.169-183, 1997.
- COLWELL, R. K. Competition and coexistence in a simple tropical community. *American Naturalist*, v. 107, p. 737-760, 1973.
- _____. Stowaways on the hummingbirds express. *Natural History*, v. 94, p. 56-63, 1985.

_____. Effects of nectar consumption by the hummingbird flower mite *Proctolaelaps kirmsei* on nectar availability in *Hamelia patens*. *Biotropica*, v. 27, p. 206-217, 1995.

_____. Hummingbirds and flower mites: contrasts and conflicts between two nectarivores. In: ALVES, M. A. S. et al. (Org.). *Ornitologia no Brasil: pesquisa atual e perspectivas*. Rio de Janeiro: Editora da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2000. p. 65-91.

DAFNI, A. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford: Oxford University Press, 1992.

DARWIN, C. *On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized by insects*. London: John Murray, 1862.

DOBKIN, D. S. Flowering patterns of long-lived *Heliconia* inflorescences: implications for visiting and resident nectarivores. *Oecologia*, v. 64, p. 245-254, 1984.

DOBKIN, D. S. Heterogeneity of tropical floral microclimates and the response of hummingbird flower mites. *Ecology*, v. 66, p. 536-543, 1985.

FERREIRA, M. H. S.; SILVA, T. F. P.; BRITO, I. F. Floral nectar dynamics and spectrum of visitors in *Camptosema coriaceum* (Leguminosae, Papilionoideae): a ornithophilous plant robbed by bees in a rupestrian field from Chapada Diamantina, Brazil. In: VIANA, B. F.; SILVA, F. O. de. *Biologia e Ecologia da polinização: cursos de campo*. Salvador: EDUFBA, v.2, p.91-107. 2010.

FUNCH, L. S. et al. Plantas úteis: Chapada Diamantina. São Carlos: Rima, 2004.

GILBERT, G. S.; HUBBELL, S. P. Plant disease and the conservation of tropical forests *Bioscience*, v. 46, p. 98-106, 1996.

GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R.; HARLEY, R. M. Espinhaço Range Region, Eastern Brazil, p.397-404. In: DAVIS, S. D. et al. (Ed.). *Centres of plant diversity: a Guide and strategy for their conservation*. Cambridge: The Americas IUCN Publication Unity, 1997. p. 397-404.

GIULIETTI, A. M.; QUEIROZ, L. P.; HARLEY, R. M. Vegetação e flora da Chapada Diamantina, Bahia. Reunião Especial da SBPC, 4., 1996. Feira de Santana, *Anais...* Feira de Santana: SBPC, 1996. p. 144-156.

HARLEY, R. M.; SIMMONS, N. A. Florula of Mucugê: Chapada Diamantina – Bahia, Brazil. Brough: Kew Publishing, 1986.

HEYNEMAN, A. J. et al. Host plant discrimination: experiments with hummingbird flower mites. In: PRICE, P. W. et al. (Ed). *Plant-Animal Interactions: evolutionary Ecology in tropical and temperate regions*. New York: John Wiley and Sons, 1991. p. 455-485.

KEVAN, P. G. Floral colors through the insect eye: what they are and what they mean. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). *Handbook of experimental pollination biology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. p. 3-30.

INOUE, D. W. The terminology of floral larceny. *Ecology*, v. 61, p.1251-1252, 1980.

- LARA, C.; ORNELAS, J. F. Flower mites and nectar production on six hummingbird-pollinated plants with contrasting flower longevities. *Canadian Journal of Botany*, v. 80, p.1216-1229, 2002a.
- LARA, C.; ORNELAS, J. F. Effects of nectar theft by flower mites on hummingbird behavior and the reproductive success of their host plant, *Moussonia deppeana* (Gesneriaceae). *Oikos*, v. 96, p. 470-480, 2002b.
- LARA, C.; ORNELAS, J. F. Nectar “theft” by hummingbird flower mites and its consequences for seed set in *Moussonia deppeana*. *Functional Ecology*, v. 15, p. 78-84, 2001.
- LEWINSOHN, T. M. Insects in flowerheads of Asteraceae in Southeast Brazil: a tropical case study on species richness. In: PRICE, P. W. et al. (Ed.). *Plant-animal interactions: evolutionary Ecology in tropical and temperate regions*, New York: Wiley; Interscience, 1991. p. 525–560.
- LINHART, Y. B. Disease, parasitism and herbivory: multidimensional challenges in plant evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 6, p.392–396, 1987.
- MALLOOF, E.; INOUE, D.W. Are nectar robbers cheaters or mutualists? *Ecology*, v. 81, p. 2651-2661, 2000.
- MCCALL, A. C.; IRWIN, R. E. Florivory: the intersection of pollination and herbivory. *Ecology Letters*, v. 9, p.1351-1365, 2006.
- NESS, J. H. A mutualism's indirect costs: the most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. *Oikos*, v. 113, p. 506-514, 2006.
- PACIOREK, C. J. et al. Pollen consumption by the hummingbird flower mite *Proctolaelaps kirmsei* and possible fitness effects on *Hamelia patens*. *Biotropica*, v. 27, p. 258-262, 1995.
- PRADO, P. I.; LEWINSOHN, T. M. Compartments in insect plant associations and their consequences for community structure. *Journal Animal Ecology*, v. 74, p. 1168-1178, 2004.
- PRADO, P. I. et al. The fauna of Tephritidae (Diptera) from capitula of Asteraceae in Brazil. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, v. 104, p.1007-1028, 2002.
- RAVEN, P. H. Why are bird-visited flowers predominantly red? *Evolution*, v. 26, p. 674, 1972.
- ROMERO, G. Q.; VASCONCELLOS-NETO, J. Beneficial effects of flower-dwelling predators on their host plant. *Ecology*, v. 85, p. 446-457, 2004.
- ROUBIK, D. W.; HOLBROOK, N. M.; PARRA, G. V. Roles of nectar robbers in reproduction of the tropical treelet *Quassia amara* (Simaroubaceae). *Oecologia*, v. 66, p.161-167, 1985.
- ROUBIK, D. W. The ecological impact of nectar-robbing bees and pollinating hummingbirds on a tropical shrub. *Ecology*, v. 63, p. 354-360, 1982.
- SAZIMA, M. Polinização de duas espécies de *Pavonia* (Malvaceae) por beija-flores, na Serra do Cipó. *Revista Brasileira de Biologia*, v. 41, p. 733-737, 1981.

SAZIMA, M. Hummingbird pollination of *Barbacenia flava* (Velloziaceae) in Serra do Cipó, Minas Gerais. *Flora*, v. 166, p. 239-247, 1977.

SILVA-PEREIRA V.; SANTOS G. M. M. Diversity in bee (Hymenoptera: Apoidea) and social wasp (Hymenoptera: Vespidae, Polistinae) community in "campos rupestres", Bahia, Brazil. *Neotropical Entomology*, v. 35, p.165-174, 2006.

THOMPSON, J. N. Variation in interspecific interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 19, p. 65-87, 1988.

WASER, N. M. The adaptive nature of floral traits: ideas and evidence. In: REAL, L. (Ed). *Pollination biology* Orlando: Academic Press, 1983. p. 241–285.

WEISS, M. R. Pollen-feeding fly alters floral phenotypic gender in *Centropogon solanifolius* (Campanulaceae). *Biotropica*, v. 28, p. 770-773, 1996.

VASCONCELOS, M. F.; LOMBARDI, J. A. Hummingbirds and their flowers in the campos rupestres of Southern Espinhaço Range, Brasil. *Melopsittacus*, v. 4, p. 3-30, 2001.

VIANA, B. F.; OLIVEIRA, F. F. *Biologia e Ecologia da polinização: cursos de campo*. Salvador: EDUFBA, 2006.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. New Jersey: Prentice-Hall, 1999.

Dispersão de pólen por vento em *Lagenocarpus rigidus* (Kunth) Nees (Cyperaceae), no parque Sempre-Viva, Mucugê, Bahia

Luis Carlos Araújo Júnior¹

Gabriel Salles Góes²

Eduardo Freitas Moreira³

Plantas anemófilas dependem de características como disponibilidade de pólen, taxa de captura e tamanho de áreas receptivas, grau de exposição das inflorescências e propriedades atmosféricas para seu sucesso reprodutivo. Nesse contexto, a habilidade de dispersão, receptividade do pólen e mudanças na arquitetura da inflorescência parecem estar relacionados de forma determinante (NIKLAS, 1987; BICKET; FREEMAN, 1993). Estudos indicam a polinização por vento (anemofilia) como estratégia comum na família Cyperaceae (CRONQUIST, 1981; DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985), sendo rara a entomofilia e poucos registros indicam ambifilia, polinização conjunta por vento e insetos. A família é conhecida por ter inflorescências do tipo espiguetas, sustentando uma ou mais flores reduzidas como sua unidade reprodutiva básica. Sua estrutura, arranjo, quantidade de flores masculinas e femininas são importantes para a sistemática do grupo (DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985).

Lagenocarpus rigidus é uma Cyperaceae ereta de folhas rígidas e inflorescência castanha, comumente chamada de “cacheado” ou “capim-arroz” e com poucas referências bibliográficas. Sua frequência dentro do Parque Municipal Projeto Sempre-Viva em Mucugê, Bahia, onde se desenvolveram as atividades de campo, tornou-a o modelo de estudo. Assim este trabalho objetiva evidenciar o comportamento da sua dispersão de pólen pelo vento ao longo do dia, associado às condições de vento, umidade e temperatura no local, e possíveis relações entre a altura da espiguetas e a proporção entre flores masculinas e femininas na inflorescência.

¹ Universidade Federal da Bahia (loroserver@gmail.com)

² Universidade Federal da Bahia (gsgoes@gmail.com)

³ Universidade Federal da Bahia (dudubiologico@gmail.com)

Material e métodos

A área de estudo foi o Parque Municipal de Mucugê “Projeto Sempre-Viva”, Mucugê, Bahia, Brasil. Seus campos rupestres crescem sobre um relevo bastante acidentado com afloramentos rochosos, solo raso e oligotrófico (BENITES et al., 2003). Toda a Chapada Diamantina apresenta clima mesotérmico, caracterizado por invernos secos e verões brandos e chuvosos (HARLEY, 1995).

As atividades de campo ocorreram no dia 15 de Maio de 2007. Foram utilizadas quatro armadilhas do tipo “mega-stigmata” como proposto por Dafni, Kevan e Husband (2005), distanciadas no mínimo 15 m uma da outra. Em cada armadilha foram amostrados oito “traplets”, placas plásticas retangulares com quatro furos cada, tendo fita adesiva sobre os furos, com a parte autocolante exposta ao vento. A cada 2 horas, estes eram substituídos por novos. O período amostrado foi das 8:00 às 18:00 horas. Lâminas de referência foram feitas com pólen coletado diretamente das anteras para comparação durante a contagem dos mesmos nos “traplets”.

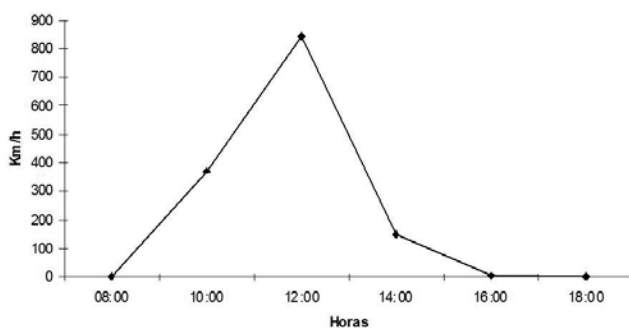
Para testar a viabilidade polínica, usou-se azul de metileno. A receptividade estigmática foi testada com peróxido de hidrogênio a 3% (DAFNI; KEVAN; HUSBAND 2005) em 5 indivíduos a cada 1 hora. Os dados sobre velocidade do vento, temperatura e umidade relativa do ar foram tomadas a cada hora na estação meteorológica do Parque durante o período de 7:00 às 18:00.

Para testar a relação entre a extensão da área masculina (onde havia uma predominância de 75% de flores masculinas) e da área feminina (onde havia uma predominância de 75% de flores femininas) e a altura da inflorescência foram feitas medições de 20 indivíduos com trena comum. Os testes estatísticos foram realizados através do programa GraphPad Instat®.

Resultados e discussão

O número total de grãos de pólen capturados às 8:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00 e 18:00 horas foi respectivamente: 0; 371; 844; 146; 3; 0 (Fig. 1). Todas as quatro armadilhas amostradas apresentaram um pico de dispersão às 12:00 horas. A totalidade do pólen capturado estava viável e a receptividade estigmática foi registrada das 8:00 às 18:00 horas.

Figura 1 - Número de grãos de pólen de *L. rigidus* capturados a cada duas horas, ao longo do período amostral, em Mucugê, BA.



O vento apresentou velocidade nula até às 11:00 horas, quando foi registrada a velocidade de 5 km/h e assim permaneceu até as 14:00 horas, quando caiu para 3 km/h. Teve seu pico às 15:00 horas marcando 7 km/h, após esse horário diminuiu para 5 km/h e 3 km/h respectivamente às 16:00 e 17:00 horas. Às 6:00 horas a temperatura era de 16,8°C, subindo no decorrer da manhã até atingir seu pico às 11:00 horas (26°C) estabilizando-se durante à tarde com 25,3°C em média, tendo leve decréscimo ao final do dia. A umidade relativa do ar (URA) permaneceu até as 8:00 horas em 100%, depois decresceu até 69% ao meio-dia e a partir daí teve média 67% até às 18:00 horas.

Paralelo ao decréscimo da URA, o aumento temperatura e da velocidade do vento coincide com o incremento da dispersão de pólen. O período de sustentação dos grãos de pólen na atmosfera possivelmente amplia e diversifica as possibilidades de polinização, portanto, as condições atmosféricas da região habitada por uma população anemófila influenciam no seu processo reprodutivo. Sendo assim, a maior velocidade do vento sugere um aumento no raio de dispersão do pólen e a quantidade de pólen disperso. Um menor número de pólen capturado a partir das 14 horas, apesar da velocidade do vento continuar relativamente alta, pode ser reflexo da diminuição da quantidade de pólen disponível na inflorescência (Fig. 2). O recrudescimento da temperatura aumenta a turbulência do ar e consequentemente varia as rotas de dispersão (DAFNI; KEVAN; HUSBAND, 2005). Essas são prováveis explicações para o padrão de dispersão de pólen de *L. rigidus* na área de estudo. A totalidade de viabilidade polínica e receptividade estigmática, pode indicar uma maior eficiência reprodutiva, característica das espécies com síndrome de anemofilia, em meio à aleatoriedade à qual o pólen está submetido.

A viscosidade do ar, relacionada diretamente à umidade relativa do mesmo, decresce ao longo da manhã, tornando a atmosfera local menos favorável à suspensão dos grãos de pólen, apesar de ocorrer durante o período de maior dispersão (Fig. 3). Tal empecilho aparenta

Figura 2 - Quantidade de grãos de pólen capturados pelas armadilhas, a cada duas horas, em relação a velocidade do vento, em Mucugê, BA.

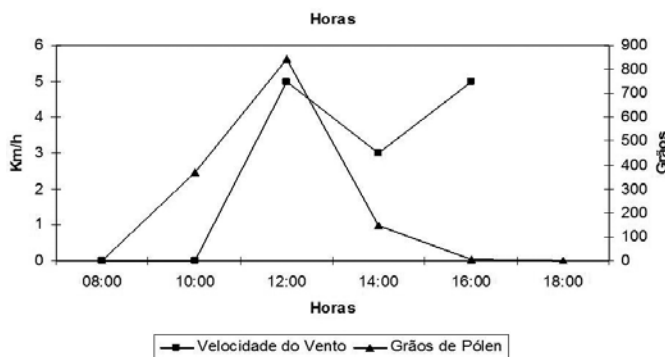
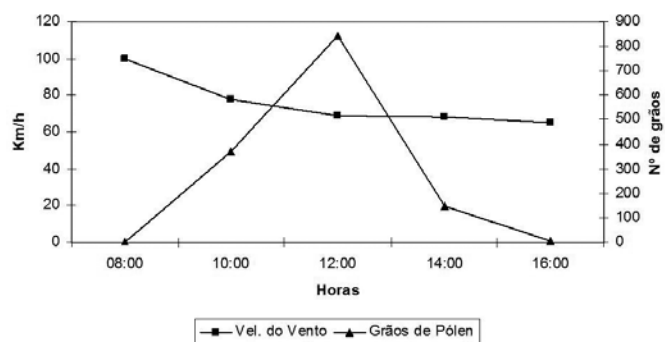


Figura 3 - Comparação entre a quantidade de grãos de pólen capturados pelas armadilhas, a cada duas horas, e a variação na umidade relativa do ar durante o período amostral, em Mucugê, BA.



não interferir de forma significativa no processo, visto que este fenômeno é de fundamental importância para a liberação dos grãos de pólen da estrutura reprodutiva masculina (DAFNI; KEVAN; HUSBAND 2005). A queda de umidade do ambiente conduz à secagem dos grãos de pólen alojados nas anteras, superando o grau de agregação ao qual estão submetidos, atendendo à condição de peso da qual a dispersão pelo vento necessita, e permitindo que a quantidade de grãos livres seja considerável.

As espiguetas de *L. rigidus* apresentam características morfológicas adaptativas que corroboram a condição anemófila de Faegri e Van der Pijl (1979). Sua inflorescência possui muitas flores, estigmas plumosos, perianto reduzido e não possui cor ou odor perceptível. As observações feitas sobre relações entre a dispersão do pólen e a arquitetura da inflorescência indicam prevalência de regiões essencialmente masculinas sobre femininas, estas últimas localizadas apicalmente.

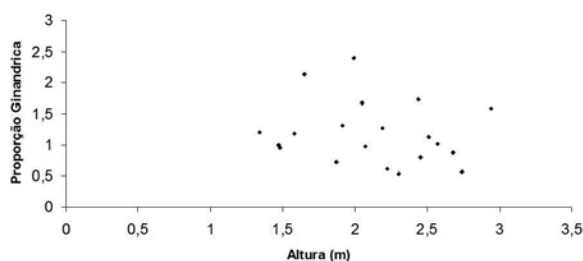
Considerando que possivelmente plantas com inflorescências mais altas necessitem de áreas femininas apicais mais extensas, aumentando sua capacidade de captura de pólen e contrabalanceando as dificuldades impostas pela sua altura exposição em relação às áreas masculinas, esperava-se que a proporção entre a extensão da área feminina e masculina da inflorescência aumentasse proporcionalmente ao comprimento do indivíduo. Porém, esta relação não se mostrou significativa ($r^2=0.02676$), segundo a Correlação de Pearson, o que indica que altura da planta não explica as diferenças da proporção de flores masculinas e femininas nos indivíduos estudados (Fig. 4).

Considerações finais

Lagenocarpus rigidus apresenta características convergentes com a síndrome de polinização por vento. A dispersão de pólen ao longo do dia é variável e possui relação direta com as variações de temperatura e velocidade do vento, reafirmando a relevância desses fatores meteorológicos. A umidade relativa do ar, corresponde ao esperado como um fator fisiológico na liberação de grãos de pólen porém, não interferiu de forma significativa no que diz respeito à relação entre a viscosidade do ar e a dispersão de pólen de *L. rigidus*.

Não houve relação entre a altura das espiguetas e a proporção entre flores femininas e masculinas, o que não exclui a possibilidade de que haja algum outro padrão na arquitetura da inflorescência relacionado à otimização do processo reprodutivo.

Figura 4 - Resultados relacionados à proporção da área feminina comparada à masculina de acordo com o tamanho do indivíduo.



Agradecimentos

Ao MMA, FAPESB e Prefeitura de Mucugê pelo apoio logístico, aos professores Peter Kevan e Blandina Viana pelas contribuições ao manuscrito e aos colegas Juliana Hipólito de Sousa, Caroline Meirelles e Patrícia Ferreira pelo auxílio em campo.

Referências

BENITES, V. M. et al. Solos e vegetação nos complexos rupestres de altitude da Mantiqueira e do Espinhaço. *Floresta e Ambiente*, v. 10, p. 76-85, 2003.

BICKET, A. M.; FREMAN, D. C. Effects of pollen vector and plant geometry on floral sex ratio in monoecious plants. *The American Midland Naturalist*, v. 130, p. 239-247, 1993.

CRONQUIST, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press, 1981.

DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. *Practical Pollination Biology*. Cambridge: Enviroquest, 2005.

DAHLGREN, R.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. *The families of the monocotyledons*. New York: Springer, 1985.

FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. *The Principles of Pollination Ecology*. New York: Pergamon Press, 1979.

HARLEY, R. M. Introduction. In: STANNARD, B. L. (Ed.). *Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil*. Brough: Kew Publishing, 1995.

NIKLAS, K. J. Pollen capture and wind induce movement of compact and diffuse grass panicles: implications for pollination efficiency. *American Journal of Botany*, v. 71, p. 74-89, 1987.

Floral nectar dynamics and spectrum of visitors in *Camptosema coriaceum* (Nees & Mart.) Benth. (Leguminosae, Papilionoideae): an ornithophilous plant robbed by bees in a rupestrian field from Chapada Diamantina, Brazil

Marcio Harrison dos Santos Ferreira¹

Iolando Brito Fagundes²

Thiala Fernandes da Paz Silva³

Animal-pollinated plants invest considerable amounts of carbon and water in production of nectar, a key biological resource used by a wide variety of organisms as a food source. Floral nectar is the most important reward offered to pollinators in angiosperms (SIMPSON; NEFF, 1983).

Some floral nectar characteristics such as sugar composition, concentration, volume, time of nectar secretion and nectar dynamics are often related to the interaction of flowers and pollinators (BAKER; BAKER, 1983; PACINI; NEPI VESPRINI, 2003). Kearns and Inouye (1993) reviewed the ecological and evolutionary context in which measurements of the quantity and dynamics of nectar secretion are useful.

Nectar variability is determined by other extrinsic traits such as pollinator behavior, air temperature and humidity, and the presence of nectar robbers (e.g. BERNARDELLO; GALETTO; RODRÍGUEZ, 1994), and plant net fitness must be influenced by nectar production assuming it entails some cost to the plant (ZIMMERMAN; PYKE, 1986). In this context, field observations are necessary to determine the role of nectar features in the interactions between plants, flowers visitors and robbers.

Fabaceae are a family of plants whose species are commonly robbed (FUSSELL, 1992; CROFTON 1996; PIERRE et al., 1996). For the genus *Camptosema*, to our knowledge, this is the first report in the literature showing aspects of its floral biology. The present study is the first part of a project in which we plan to investigate the nature of the relationship between

¹ Universidade Estadual de Feira de Santana (ferreirabioeufs@gmail.com)

² Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (iolandofagundes@gmail.com)

³ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (thiala_bio@yahoo.com.br)

nectar production, spectrum of floral visitors, breeding system and seed set in *Camptosema coriaceum*. The project intend to quantify the net fitness of this species, and the features of nectar production will contribute to a better understanding of its reproductive biology.

In this paper we will discuss our preliminary data on some aspects of floral biology of *Camptosema coriaceum* (1) by describing flower ontogeny, anthesis period, and rewards for visitors, (2) by monitoring the floral nectar volume and concentration, (3) by measuring pollen viability and stigmatic receptivity, and (4) by observing and collecting diurnal flower visitors. We address the following questions: How does nectar volume and concentration vary over the course of day? Which are the visitors to *C. coriaceum*? Which are the potential pollinators and robbers of this species? Is nectar foraging by robber bees concentrated in day times of relative high nectar concentration?

Materials and methods

Camptosema Hook. & Arn. comprises 12 species from South America. *C. coriaceum* (Nees & Mart.) Benth., “três-folhas”, a common spindly shrub species in central Bahia, growing on sandstone or granite soils, is one of six species recorded in rupestrian fields and cerrado from Bahia, Brazil. Although typically trifoliolate, some plants or parts of plants are unifoliolate and thickly coriaceous; leaflets glabrous or almost so, subcordate at base; stipples evident and persistent; buds acuminate; bright red tubulous flowers, grouping towards apices of stems (LEWIS, 1987; FUNCH et al., 2004).

This study was conducted along an area at the base of a slop located in the neighborhood of the Byzantine Cemetery, and in “sandália bordada” trial at Parque Municipal of Mucugê-BA, Brazil (13°00'S, 41°22'W), approximately at 950 m from sea level. The area comprises open fields and portions of rocky outcrops with vegetation mainly composed by herbs, shrubs and treelets. The climate in the region is higher elevation tropical (Cwa), according to Köppen's classification, defined by fresh summers and a marked dry season from May to September, and humid season from October to March (GIULIETTI; QUEIROZ; HARLEY, 1996). A mosaic of fields and rocky outcrops with small tortuous trees sparsely distributed, with many bushes and a developed herbaceous stratum, is a typical physiognomy of Rupestrian Fields, ecosystems related to quartzite rocks outcrops, with shallow, acid, sandy and nutrient poor soils characterizes the vegetation (GIULIETTI; PIRANI; HARLEY, 1997).

We studied around 40 plants during May 2007. We carry out studies of floral biology and floral syndrome by observing the flowers in the field and dissecting them in laboratory, under a stereomicroscope. We measured some flowers in their length using a paquimeter and photographed entire flowers and parts of them. We determined flower age by tagging buds (n=40) and making detailed observations until corolla abscission.

Resources were detected through direct observation of the floral sources in the flowers, and by observation of the visitor's behavior searching for them. We investigated the presence

of a nectar guide using ammonia hydroxide at different time intervals (5, 10 and 30 seconds); additionally Peter G. Kevan gently photographed some flowers using a special photo equipment with Kodak UV18A and UV25 filters (details in (DAFNI, 1992). Stigmas (n=35) were immersed directly in H₂O₂ 70%, during all day, to verify stigmatic receptivity, being the formation of bubbles, which indicates the presence of peroxidase, the confirmation of its receptivity (DAFNI, 1992).

By colouring the pollen grains with neutral red 1% (KEARNS; INOUE, 1993) at intervals of two hour, during all day (from 06:00am to 6:00pm; n=34) we detected pollen viability. Each sample represents sets of fifty pollen grains from three anthers of different plants. We collected pollen grains from the flower anthers (pollen reference slides) and diminute visitors and/or inquilines (flower mites and larvae of endophagues). Slides were prepared using gelatin and glycerin and were fixed with nail polish. Slides collection and a voucher specimen of plant are deposited in the Herbarium of Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS).

During three consecutive days on May 2007, we quantified nectar volume and concentration to determine floral nectar dynamics. For the evaluation of cumulative production of nectar during the day, randomly-chosen inflorescences of 20 individuals with bud and pre-anthesis flower stages were netting (with voile bags) before opening to prevent access to floral visitors. Individual buds were tagged for identification. The presence of nectar was checked and quantified along the 3 days study period, a period of intense flowering of *C. coriaceum* in the study area. Nectar was extracted the following day with capillary glass tubes and graduated micropipettes (5 and 10 μ l), generally by remove the flowers from the plant. Nectar production was measured throughout the daytime (at 06:00-18:00).

Two variables were measured: volume (μ l) using graduated micropipettes, and sugar concentration (% of sucrose, wt/wt) with an Atago pocket refractometer (range concentration 1°-50° BRIX scale). The equipments were washed between each samples using distilled water. The amount of sugar produced by each flower was expressed in milligrams and transformed to obtain the energetic value (in joules/flower) based on Dafni (1992). Because nectarivorous are probably responding to nectar standing crop, we also extracted nectar available (both volume and sugar concentration) in flowers that had been exposed to floral visitors for their entire life. Data were collected at random for individual flowers at day 1 stage (floral anthesis day) each two hours, between 6:00am and 6:00pm (six sample periods). Eighty-one flowers were examined in standing crop and fifty-five in accumulated nectar.

We recorded the composition, frequency and behavior of floral visitors through 28 hours of observation on May 13th, 14th and 15th, 2007. We conducted observations in individuals and clumps of *C. coriaceum*, between 6 am and 5 pm, in order to define eventual peaks of activity of robbers and potential pollinators' guilds. Birds were observed (focal method) by 30 minutes surveillance sessions at 30 minutes intervals during the entire observation period. Most insects were collected using an entomological net, and after identifying common visitors, only different ones were collected. Floral visitors were photographed for identification.

Voucher specimens are deposited in Zoology Museum of Universidade Estadual de Feira de Santana (MZUEFS).

Visitors were classified in the following four categories according to their behavior (Inouye 1983): (a) potential pollinators, when touched the sexual parts of flowers while feeding; (b) nectar robbers, when probed the nectar by holes bitten in the calyces or corollas; (c) pollen robbers, when take the pollen by holes bitten in the corolla; (d) nectar thieves, when probed the flowers from its right aperture but did not touch the reproductive parts of flowers, precluding pollination. The relative frequency of visits of each species was calculated as the number of visits performed by the species in relation to the total number of visits recorded, and denoted in percentage.

We used parametric statistics whenever possible. Statistical analyses were performed using methods described in Sokal and Rohlf (1995) and the software BioEstat 2.0 (AYRES et al., 2000). All data set were tested for homogeneity of variances (Levine test), and departures from normality (Shapiro-Wilk's test or Kolmogorov-Smirnov for goodness of fit test). Differences among multiple means were tested by one-way ANOVA or by non-parametric Kruskal-Wallis rank sums test (H). We used Spearman correlations (r_s) to test if sample size (number of flowers per sample period) and coefficient of variation ($[SD/mean].100$) are negatively correlated in a way that larger sample sizes could yield more accurate estimates of population parameters (MCDADE; WEEKS, 2004a). Differences in rates of visitation among time intervals were investigated using the Chi-square test (X^2). Untransformed data are reported for the sake of clarity.

Results

Among the forty flowers tagged, the flower lifespan lasted for approximately four or five days. The pre-anthesis stage lasted about two days. Anthesis was diurnal, beginning between 6:00am and 8:00am of the third day, but it seemed not to be synchronous, since some flowers opened latter in the morning (35% of flowers, $n=40$). Anther dehiscence and exposition of stigma began by the opening time of petals at corolla apices, and stigma rest exert of anthers whole until flower abscission. These structures are contacted by hummingbirds' bill when foraging legitimately by nectar, accumulated in the enlarged basal part of the corolla tube. Contact between stigma and anthers were not observed, rejecting any possibility of self-pollination during anthesis. The little flower opening cease rapidly in the first hours of anthesis, and apparently corolla become more reddish in this moment. In the next day, the corollas, now slightly wilted, had fallen from the plant or could be readily dislodged by touch.

C. coriaceum bears terminal inflorescences that are easily accessible for animals in hovering flight. Their flowers are scentless, with reddish tubular corollas that contrast with the green foliage, and its corolla extension measured about 40 mm ($\text{mean} \pm \text{SD} = 40.3 \pm 2.57$, $n=81$). The inflorescences branches are also brightly red. Pollen and nectar (principally) were

the rewards for visitors, but both were hidden in the corolla apices and bases, respectively. Nectar production was variable but this resource was offered during all diurnal period (see below). A visible diminution of pollen quantity was detected from 2:00pm to 5:00pm, but this data was not quantified.

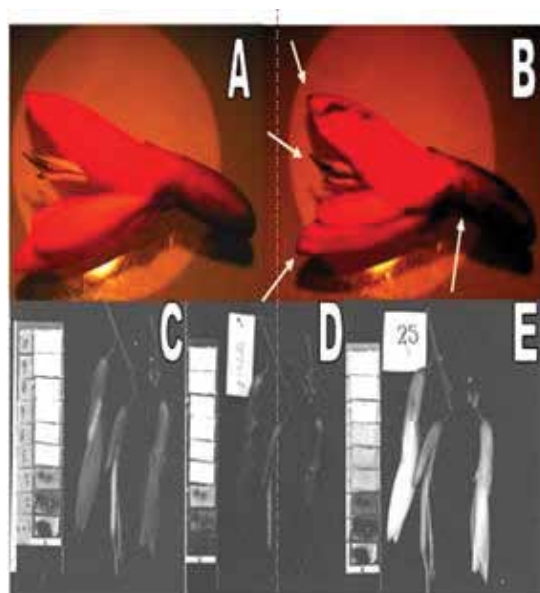
Table 1 - Pollen viability and stigmatic receptivity of *Camptosema coriaceum* obtained in different times of day in Mucugê, BA. (values are means $\pm$ SD; sample size in parenthesis, relative to sets of 50 pollen grains from three anthers of each different individuals)

Traits	Sample Period					
	6-8h	8-10h	10-12h	12-14h	14-16h	16-18h
Pollen viability (%)	93.6 $\pm$ 4.33 (5)	97 $\pm$ 3.03 (6)	98.3 $\pm$ 1.96 (6)	82.7 $\pm$ 4.13 (6)	68.7 $\pm$ 6.77 (6)	65 $\pm$ 4.76 (5)
Stigma receptivity (%)	100 (6)	100 (7)	100 (5)	100 (7)	60 $\pm$ 54.77 (5)	60 $\pm$ 54.77 (5)

Flowers did not present a distinct pattern of UV reflectance/absorbance, and apparently the entire corolla absorb moderately UV spectrum (Fig. 1D), according to Shmida and Menzel categories (1991) apud Dafni (1992). These flowers surfaces absorb UV illumination and look dark under it. Flowers of *C. coriaceum* exposed to ammonia hydroxide (Fig.1B) present no discernible colour pattern, although a discrete color change occurred at exposed reproductive structures, petals angles at apices of corolla, and calyces. Pollen viability was high throughout the sample collection between 6:00am and 2:00pm (>80%, Tab. 2) and remained relatively high during afternoon period (ranging from 60% to 70%), but with significant difference between means ($F= 57.1121$; $df=5$, $P<0.005$). Stigmatic receptivity was highest between 6:00am and 2:00pm (100%, tab. 1), but maintain values around 60% during the afternoon time.

In flowers exposed to foraging animals, nectar standing crop was almost 130-150% less than in bagged flowers, presumably due to consumption by visitors. In the initial hours at dawn (06:00-08:00h) the volume of nectar was about 220% lower than the obtained in cumulative nectar treatment (see Fig. 4; Tab. 2 and 3). As shown by CVs, existed high variation among flowers at any

Figure 1 - Test of floral UV patterns in *C. coriaceum*: flower before (A) and after thirty seconds of exposition to vapors of ammonia hydroxide (B, arrows indicate the sites of color changes); flower photography without (C) and with different filters (Kodak 18A, ultraviolet, 300-400nm (D), and Kodak 25, red, 580nm (E)). (Photos by Marcio H. S. Ferreira (A, B) and Peter G. Kevan (C-E)).



one time regarding volume, concentration, and energetic value (except to a moderate CV between 10:00am and 2:00pm, Tab. 2). Between the two first periods of morning occurred elevation in volume and concentration, but hereafter the volume decay abruptly and the concentration follow a oppose tendency and further declined after 2:00pm (Fig. 4A). The peak of energetic value occurred between 8:00am and 10:00am (mean $\pm$ SD= 23.73 $\pm$ 13.22 joules/flower; n=14) and coincide with the moment of most diluted nectar. This perhaps represent the optimal period for nectar foraging by visitor with high metabolic demand, like the trochilidae. The level of sugar concentration is highest between 10:00am and 2:00pm. Some flowers contained no nectar throughout the day in standing crop analysis (~8%, n=81), but only in two cases in cumulative nectar treatment (n=55).

Table 2 - Standing crop of nectar in flowers of *C. coriaceum* at Mucugê, BA. Values are means, standard deviations (SD), number of flowers sampled (N), and coefficients of variation (CV= [(SD/mean).100]). Results of Kruskal-Wallis (K-W, H) comparisons are presented in the last column. Values with different letter are significantly different by Dunn MCP at the Alfa level of 0,05.

	Sample period						K-W
Standing crop	6-8h	8-10h	10-12h	12-14h	14-16h	16-18h	
Volume (μl)							
Mean	4.12	6.02 a	4.04 a	1.84	0.62 b	0.57 b	H= 36.26;
SD	3.21	3.2	1.34	0.92	0.53	0.31	df=5; P<0.0001
N1	11	14	16	13	14	13	
CV (%)	78.05	53.22	33.34	49.92	84.74	53.96	
Concentration (%)							
Mean	12.15 a	18.52	22.38 b	22.5 b	9.21 a	8.76 a	H= 35.77;
SD	9.68	8.11	6.44	1.67	9.37	10.69	df=5; P<0.0001
CV (%)	79.68	43.81	28.79	7.42	101.73	121.95	
Energetic value (joule)							
Mean	15.14 a	23.73 a	17.97 a	7.44	1.56 b	1.05 b	H= 39.09;
SD	13.51	13.22	6.6	3.4	1.91	1.61	df=5; P<0.0001
CV (%)	89.02	55.72	36.72	45.71	122.67	153.29	

1 Sample sizes are the same for volume, concentration, and energetic value.

In previously bagged flowers were detected significant differences in cumulative nectar volume per flower among sample periods (H=27.47; P<0.0001; tab. 3), but a relatively stable sugar concentration level (H=11.19; P=0.0476). After the morning period occurred

a pronounced decay in the volume and a consequent reduction in energetic levels of resource for visitors (Fig. 4B). This tendency is applied for both standing crop and cumulative nectar. As shown by CVs, nectar volume at single flowers were more variable in flowers open to visitors than on bagged flowers ($H=36.26$ and $H=27.47$ respectively, $P<0.0001$). Samples sizes and coefficients of variation were not associated for either standing crop or cumulative nectar production ($r_s=0.231$; $P>0.27$ for volume and concentrations). Thus, the observed variations among single flowers are unlikely to be biased by the small sample sizes.

Figure 2 - Frequency of primary and secondary robbers (A) and potential pollinators (B) of *C. coriaceum* in Mucugê, BA. (Vesp=VESPIDAE, Dipt=DIPTERA, Fries=Frieoseomelitta francoi, Form=FORMICIDAE, Trig=Trigona spinipes, Amaz=Amazilia lactea, Clor=Chlorostilbon lucidus, Phae=Phaetornis pretrei, Col=Colibri serrirostris).

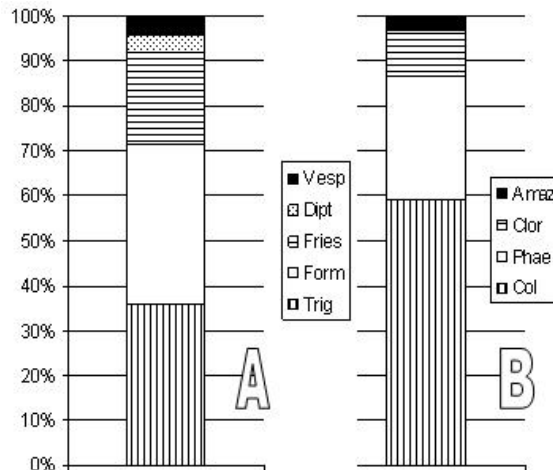


Table 3 - Cumulative nectar production in *Camptosema coriaceum* flowers throughout the day at Mucugê, BA. Values are means, standard deviations (SD), number of flowers sampled (N), and coefficients of variation ($CV = [(SD/mean) \cdot 100]$). Results of Kruskal-Wallis (K-W, H; $df=5$) comparisons are given in the last column. Values with different letter are significantly different at Alfa level of 0,05 (by Dunn method).

Cumulative nectar	Sample period						K-W
	6-8h	8-10h	10-12h	12-14h	14-16h	16-18h	
Volume (μl)							
Mean ±SD	13.16±4.95a	11.10±7.24a	9.78±2.11a	5.95±1.01	5.38±1.76b	2.01±1.23b	H=27.47 p<0.0001
N1	9	11	8	11	9	7	
CV (%)	37.64	65.22	21.61	16.98	32.73	61.17	
Concentration (%)							
Mean ±SD	24.88±10.98	20.81±13.71	26.25±4.13	16.92±6.41	24.33±6.61	19.14±9.8	H=11.19 p=0.0476
CV (%)	43.76	65.89	15.74	37.89	27.18	51.22	
Energetic value (J)							
Mean ±SD	67.68±37.13a	59.55±40.70a	47.03±7.85a	18.31±7.93	24.48±12.63	8.15±5.35b	H=22.93 p=0.0003
CV (%)	54.86	68.35	16.71	43.31	51.62	65.72	

1 Sample sizes are the same for volume, concentration, and energetic value.

Table 4 - Composition of floral visitors to *Camptosema coriaceum* at Mucugê, BA, their visitation frequency - VF (n=1058 feeding bouts in all), and visiting behavior.

Species	VF (%)	Visiting behavior ¹
HYM:APIDAE		
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius, 1793)	33.6	NR, PR
<i>Frieseomelitta francoi</i> (Moure, 1956)	20	NR
HYM.:FORMICIDAE*	34	NR
HYM.:VESPIDAE	4.5**	NR
<i>Brachygastra lecheguana</i> (Latreille, 1824)		
<i>Mischocyttarus</i> sp.		
DIPTERA*	3.9	NR
COLEOPTERA*	0.2	NR
HEMIPTERA*	0.75	NR
AVES:TROCHILIDAE:Trochilinae		
<i>Amazilia lactea</i> (Lesson, 1832)	0.09	PP
<i>Colibri serrirostris</i> (Vieillot, 1816)	1.7	PP
<i>Chlorostilbon lucidus</i> (Shaw, 1812)	0.2	PP
AVES:TROCHILIDAE:Phaethornithinae		
<i>Phaetornis pretrei</i> (Lesson & Delattre, 1839)	0.75	PP
ACARI: MESOSTIGMATA: ASCIDAE*	Sd	NT
ENDOPHAGOUS LARVAE*	Sd	NT

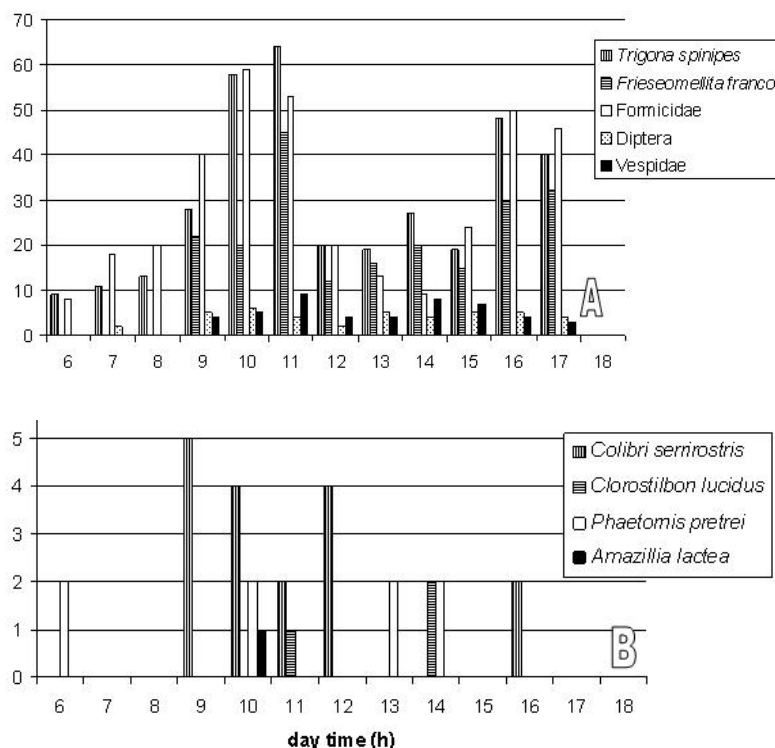
¹Visiting behavior: (PP) potential pollinator, (NT) nectar thief, (NR) nectar robber, (PR) pollen robber. * taxons in pendent identification process, ** grouped data, sd= data not collected.

Floral buds of *C. coriaceum* produce nectar (Fig. 2b), and apparently occur continuation of nectar production (or similar secretion) following corolla drop (Fig. 2a). Ants patrolling the inflorescences in the period of study commonly used the secretion drops at these sites.

The spectrum of floral visitors of *C. coriaceum* in Mucugê are listed in table IV. According their evisting behavior and the floral syndrome characteristics, the potential pollinators are the Trochilidae *Colibri serrirostris* (Vieill., 1816) and *Phaetornis pretrei* (Lesson & Delattre, 1839), considering their visitation frequency among the birds (accounting together for up to 80%, fig. 2B) and through daytime (Fig. 3B). Overall, hummingbirds were more frequent between 09:00am and 2:00pm (about 86% of visits; $X^2=27.93$, $P=0.0057$). For example, up

to 88% of the visits by *C. serrirostris* were before 1:00pm and about 50% were in the middle of morning, only *P. pretrei* foraged all day long ($X^2=18.00$, $P=0.1157$). Visits by *Chlorostilbon lucidus* (Shaw 1812) and *Amazilia lactea* (Lesson 1832) are infrequent and perhaps their importance in pollination process in this period of year is possibly secondary.

Figure 3 - Frequency of visitors of *C. coriaceum* as a function of daytime. Most abundant primary and secondary robbers (A) and potential pollinators (B). Values are number of individuals in each taxon (y-axis). Sample period=28 hours.



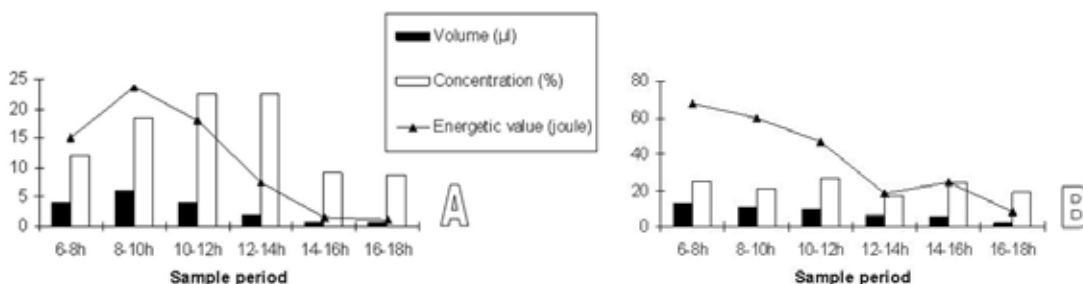
Nectar robbers are the bees *Triglona spinipes* (Fabricius 1793) and *Frieseomelitta francoi* (Moure 1956), some species of Diptera, Coleoptera, Hemiptera and Formicidae, and the wasps *Brachygastra lecheguana* (Latreille 1824) and *Mischocyttarus sp.* (Hym., Vespidae). However, the assemblage of bees and ants species represents the more prominent robbers (accounting together for up to 90% of visits, Fig. 2A). Among this species, *T. spinipes* behave as a primary nectar robber, when holding the calyces or corolla base, and as pollen robbers when cut the corolla apices for take yellow bright pollen in this site. The other species are secondary nectar robbers, which obtain nectar by the holes previously made by *T. spinipes*.

However, single individuals of *T. spinipes* may combine the two techniques. Overall, robbers were more frequent before midday (about 42% of visits) and occurred a second peak after 16:00h ($X^2=453.12$, $df=12$, $P<0.0001$; fig. 3A). Only Diptera assemblage foraged all day long ($X^2=17.43$, $P=0.1342$). Vestige of attacks is present through different

stages of flower ontogeny. As we hypothesized the high frequency of visits by bee robbers is coincident with the period of high nectar concentrations (compare fig. 3A and 4A,B), but exist a second peak of visits in the last afternoon, coupled with moderate concentrations of standing crop sugar ($\sim 9\%$, tab. 2).

The nectar thieves are endophagous larvae (not identified species) and hummingbird flower-mites (Acari:Mesostigmata:Ascidae), diminute visitors present inside the flowers both in the bud, pre-anthesis and anthesis. However, their visits frequencies were not quantified in this study (but see Guerra et al., this volume).

Figure 4. Floral nectar dynamics of *C. coriaceum* during the day time in Mucugê, BA. (A) Standing crop (n= 88 flowers) and (B) cumulative nectar production (n= 55 flowers).



Discussion

Some floral features of *C. coriaceum* (bright-colored inflorescences, tubular corollas, scentless, dilute nectar) probably reflect adaptations to ornithophily (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979), given that most are similar to those reported for other hummingbird-pollinated Papilionaceous legumes (e.g. GALETTO et al., 2000; MENDONÇA; ANJOS, 2006).

In contrast to the conspicuous UV reflectance/absorbance pattern shown by many mellitophilous papilionoideae, all ornithophilous species so far investigated *Erythrina crista-galli* (L.), *Kennedia rubicunda* (Schneev. Vent.) and *Sophora tetraptera* (J. Miller), and apparently in *C. coriaceum* (this study), lack UV patterns and show little or no UV reflectance, suggesting a lack of effective UV vision by their pollinators (GALETTO et al., 2000), although recent work showed that birds can detect UV visually (EMMERTON; DELIUS, 1980). It is thus possible that UV absorption in flowers of *C. coriaceum* will be a recognition factor. For example, all *Acacia* species so far investigated, many of which are at least partly ornithophilous, probably have UV-absorbing flowers (KAY, 1987). There is a need of experimental work, both to confirm UV floral patterns characteristics in *C. coriaceum* and to elucidate the ways in which they affect floral functions and interactions with their visitors.

Several authors have discussed nectar volume and concentrations of flowers attracting different guilds of visitors. In general, they found that hummingbird flowers present large

amount of dilute nectar, especially relative to nectars of bee flowers (GALETTO et al. 2000). The values of nectar volume and sugar concentration in flowers of *C. coriaceum* are within the range of those reported previously for hummingbird-pollinated plants (MCDADE; WEEKS, 2004a).

Both nectar secretion and animal visitation determine the patterns of standing crop (nectar availability) (TORRES; GALETTO, 1998). Perhaps on account of the high number of shrubs in some clumps, or flowers in some individuals, and the fact that nectarivores usually visit only a small proportion of flowers available in large patches (e.g. GOULSON, 2000), nectar standing crop did not vary significantly between 08:00am and 12:00pm. This day period concentrates the most feeding bouts of nectarivorous. It is also possible that the observed moderate to high variation among the sampled flowers made it difficult to detect pronounced differences.

We observed less nectar (volume and energetic value) in flowers exposed to foragers than on bagged flowers, which presumably was due to consumption by foragers. Our data agree with previous reports that standing crop nectar often bears little relationship to cumulative nectar (MCDADE; WEEKS, 2004b). Additionally, as shown by CVs, nectar volume and energetic value at single flowers were more variable in flowers open to visitors than on bagged flowers. In an ecological context, decisions made by foragers are based upon rewards actually encountered (i.e. standing crop), and those are quite different from nectar volumes protected from flower visitors (MCDADE; WEEKS, 2004a, 2004b). Foragers' response to variability in amount of reward has been addressed by theories on risk-sensitive foraging. Most experimental studies have shown that both hummingbirds and bumble bees prefer less variable rewards (BIERNASKIE; CARTAR; HURLY, 2002), and that nectarivorous are sensitive to nectar availability in plants and can change their behavior in response to reward supplies (QUIRINO; MACHADO, 2001). Although our data do not allow us to test this assumption, in *C. coriaceum* early and middle morning visitors are likely to be more encouraged to forage (and profitable in foraging) due to the relatively greater nectar availability. Besides declining nectar supplies along the day that a hummingbird could encounter, there is an increasing variability in nectar content among flowers. Curiously, only *P. pretrei*, that presents relatively higher energetic demand than other visitors, forage at flowers of *C. coriaceum* with the less variable frequency throughout the day.

On the other hand, the observed decrease in nectar volume and sugar amount in bagged flowers (cumulative nectar) can be inferred as nectar resorption (NEPI; PACINI; WILLEMSE, 1996), based upon constancy of the nectar concentration throughout the anthesis. There are some species with flowers that last about 4 days, with a similar nectar secretion-resorption pattern (RIVERA; GALETTO; BERNARDELLO, 1996, TORRES; GALETTO, 1998). Their ecological function is controversial, Barrera and Nobel (2004) ask if, for pollinated flowers, is reabsorbed nectar an important source of carbon for fruit development. Some authors suggest that unused nectar is reabsorbed after pollination, enabling the recovery of energetically valuable sugars. This is the adaptive role suggested in two orchid species (LUYT;

JOHNSON, 2002) and in *Curcubita pepo* (L.) (NEPI; PACINI; WILLEMSE, 1996). However, data about nectar removal experiments are essential to treat adequately this question. If resampling is expected to damage the flowers, like in *C. coriaceum*, an alternative (but not statistically equivalent) procedure is to use a different set of flowers at each sampling time (CORBET, 2003).

Since nectar production has been found to vary seasonally in a number of species, for example, reports of nectar production rates measured at one point during the blooming season, as in this work, perhaps may not yield much useful information (ZIMMERMAN; PIKE, 1986). In addition, for species that have floral nectar depleted by flower mites (like is the case of *C. coriaceum*, Guerra et al. (this volume), measurements of nectar accumulation in unvisited bagged flowers are biased once mites can travel on the flower and inflorescence and bypass the bag. In this sense, are necessary exclusion experiments of mites for access more accurately the levels of cumulative nectar. Nevertheless, these are ideas for future tests in this pollination system.

According to some studies, the production of nectar is often highest when pollen is most available, as is in *Curcubita pepo* (NEPI; PACINI; WILLEMSE, 1996) and some *Agave species* (MOLINA-FREANER; EGUIARTE, 2003). In other instances, nectar secretion is maximal when the stigma is most receptive (CASAS; VALIANT-BANUET; DÁVILA, 1999). Our results corroborate these studies and further indicate that the opportunity of successful pollination in *C. coriaceum* is highest in the morning period. Presenting most nectar at flower opening is unusual and, as far as we know, it had been recorded only for bird-pollinated Loranthaceae (DAVIDAR, 1983) and for bee-pollinated *Mandevilla pentlandiana* (A.D.C.) (Apocynaceae) (TORRES; GALETTO, 1998).

Another interesting floral feature of *C. coriaceum* is that flowers in bud stage produce nectar, and apparently nectar production (or similar secretion) continues following corolla drop. This secretion is collected by ants patrolling the inflorescences and there is a need for additional studies to test its effect on seed set or seed defense mediated by ants. Nectaries that reward pollinators, but continue to function after the corolla fallen, have been described (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979), but their function is controversial. Postfloral nectar secretion in *Mentzelia nuda* (Loasaceae), for example, attracts ants whose presence enhances seed set (KEELER, 1981).

Based on hummingbird visiting behavior and bill length in relation to flower morphology of *C. coriaceum*, all species are potential pollinators. The anatomical and behavioral fit of the animal and the flower represents an important feature amongst the several ones that determines whether a given anthophile is a pollinator (KEVAN, 1999). Taking into account the frequency of visits, the hummingbirds *C. serrirostris* and *P. pretrei* are the most effective pollinators of *C. coriaceum* in rupestrian fields of Mucugê, BA. The Trochilidae guild observed on *C. coriaceum* represent about 60% of hummingbird fauna present at Parque Municipal de Mucugê area, composed by seven species (C.G. Machado, unpublished data), and this plant could represent an important resource for hummingbirds in this period of year. Beside

this plant, we registered hummingbird visits to other two co-flowering ornithophilous species in the area: *Manettia cordifolia* (Mart.) and *Palicourea marcgravii* (A. St. Hill.) (Rubiaceae), and this fact possibly would explain our register of relatively low rates of bird visits on *C. coriaceum* in the studied period.

The interaction of nectar and pollen robbers and nectar thieves with *C. coriaceum* is a pronounced ecological feature in this system. Guerra et al. (this volume) found that among 59 reproductive sampled individuals about 95% were damaged by any type of robbing, and this result was high compared with other plants studied, where damaged flowers represent around 70% (NAVARRO, 2000, 2001) or between 9 to 57% among the species sampled (ARIZMENDI, 2001). Nectar robbers can reduce plant fitness by depleting nectar (NAVARRO, 1999, 2001), damaging reproductive parts (MCDADE; KINSMAN, 1980), and driving pollinators away (ROUBIK, 1982). They can compete directly either by excluding pollinators from flowers or by depleting nectar (NAVARRO, 1999, 2001).

However, by depleting flowers of nectar, robbers may force the pollinators to visit more flowers and thereby potentially increase outcrossing distances, which may be advantageous for the plant (ARIZMENDI, 2001). Guerra and others (this volume) discuss the frequency of attacks by nectar thieves and robbers through flower ontogeny of *C. coriaceum*. These authors claim that testing the effects of this organism on plant fitness will be difficult due to their contingent distribution through flower ontogeny, thus involving a very good experimental design.

Our overall results suggest that are necessary additional in-depth studies about the effect of nectar robbers and thieves on reproductive success of *C. coriaceum* to test its dependence on robber behavior and flower/inflorescence structure, as it occurs in *Anthyllis vulneraria* (NAVARRO, 2000) (although not exclusively, see Zimmerman and Cook (1985). This work illustrates the importance of pollination ecology studies examining the activity of all floral visitors and not only the activity of visitors that initially appear to be pollinators.⁴

Acknowledgments

We thank our colleagues of the Pollination Course 2007 for such a wonderful time, discussions, field assistance, and laboratory work. We are indebted with Leonardo Galetto (Universidad de Córdoba, Argentina), Miriam Gimenes (UEFS) and Luciano Paganucci de Queiroz (UEFS) who provided important literature on nectar and reproductive biology of Leguminosae. Special thanks to Peter G. Kevan (UOGUELPH), who gently photographed the flowers of *Camptosema coriaceum* in UV equipment, and by discussions about the initial ideas of this project. The plant species was identified by Nádia Roque (UFBA), bees and wasps species by Favízia F. Oliveira (UEFS), and birds species by Caio Graco Machado (UEFS), who critically revised an early version of the manuscript.

⁴ cf. Waser and others (1996).

References

- ARIZMENDI, M. C. Multiple ecological interactions: nectar robbers and hummingbirds in a highland forest in Mexico. *Canadian Journal of Zoology*, v. 79, p. 997-1006, 2001.
- AYRES, M. et al. *BioEstat 2.0*: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; CNPq, 2001.
- BAKER, H. G.; BAKER, I. Floral nectar constituents in relation to pollination mechanisms and phylogeny. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). *Handbook of experimental pollination Biology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. p. 117-141.
- BARRERA, E.; NOBEL, P. S. Nectar: properties, floral aspects, and speculations on origin. *Trends in Plant Science*, v. 9, p. 65-69, 2004.
- BERNARDELLO, L. M.; GALETTO, L.; RODRÍGUEZ, I. G.. Reproductive biology, variability of nectar features, and pollination of *Combretum fruticosum* (Combretaceae) in Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 114, p. 293-308, 1994.
- BIERNASKIE, J. M.; CARTAR, R. V.; HURLY, T. A. Risk-averse inflorescence departure in hummingbirds and bumble bees: could plants benefit from variable nectar volumes? *Oikos*, v. 98, p. 98-104, 2002.
- CASAS, A.; VALIENT-BANUET, A.; DÁVILA, P. Reproductive biology and the process of domestication of the columnar cactus *Stenocereus stellatus* in central Mexico. *American Journal of Botany*, v. 86, p. 534-542, 1999.
- CORBET, S. A. Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie*, v. 34, p. 1-10, 2003.
- CROFTON, G. R. A. A review of pollination and pod setting in faba beans (*Vicia faba* L.). *Plant Varieties and Seeds*, v. 9, p. 29-35, 1996.
- DAFNI, A. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford: Oxford University Press, 1992.
- DAVIDAR, P. Similarity between flowers and fruits in some flowerpecker pollinated mistletoes. *Biotropica*, v. 15, p. 32-37, 1983.
- EMMERTON, J.; DELIUS, J. D. Wavelength discrimination in the 'visible' and ultraviolet spectrum by pigeons. *Journal of Comparative Physiology*, v. 141, p. 47-52, 1980.
- FEINSINGER, P. Approaches to nectarivore-plant interactions in the New World. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 60, p. 285-319, 1987.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. *The principles of pollination ecology*. 3rd ed. Oxford: Pergamon Press, 1979.
- FUNCH, L. S. et al. *Plantas úteis: Chapada Diamantina*. Rima: São Carlos, 2004.

- FUSSELL, M. Diurnal patterns of bee activity, flowering and nectar reward per flower in tetraploid red clover. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, v. 35, p. 151-156. 1992.
- GALETTO, L. et al. Reproductive biology of *Erythrina crista-galli* (Fabaceae). *Annals of the Missouri Botanical Gardens*, v. 87, p. 127-145, 2000.
- GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R.; HARLEY, R. M. Espinhaço Range Region, Eastern Brazil, In: DAVIS, S. D. et al. (Ed.). *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation*. Cambridge: The Americas IUCN Publication Unity, 1997. p. 397-404.
- GIULIETTI, A. M.; QUEIROZ, L. P.; HARLEY, R. M. Vegetação e flora da Chapada Diamantina, Bahia. Reunião Especial da SBPC, 4., 1996. Feira de Santana, *Anais...* Feira de Santana: SBPC, 1996. p. 144-156.
- GOULSON, D. Why do pollinators visit proportionally fewer flowers in large patches? *Oikos*, v. 91, p. 485-492, 2000.
- GUERRA, T. J.; et al. Frequency of attacks by flower mites, endophagous insects and robbers through flower ontogeny of *Camptosema coriaceum* (Leguminosae, Papilionoideae) in a rupestrian field, Northeastern Brazil. In: VIANA, B. F.; SILVA, F. O. *Biologia e Ecologia da polinização: cursos de campo*. Salvador: EDUFBA, 2010.
- INOUE, D. W. The ecology of nectar robbing. In: BENTLEY, B.; ELIAS T. (Ed.). *The biology of nectaries*. New York: Columbia University Press, 1983, p. 153-174.
- KAY, Q. O. N. Ultraviolet patterning and ultraviolet-absorbing pigments in flowers of the Leguminosae. In: STIRTON, C. H. (Ed.) *Advances in legume Systematics* 3. Brough: Kew Publishing, 1987. p. 317-353.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D.W. *Techniques for pollination biologists*. Niwot: University Press of Colorado, 1993.
- KEELER, K. H. Function of *Mentzelia nuda* (Loasaceae) postfloral nectaries in seed defense. *American Journal of Botany*, v. 68, p. 295-299, 1981.
- KEVAN, P. G. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v. 74, p. 373-393, 1999.
- LEWIS, G.. *P. Legumes of Bahia*. Brough: Kew Publishing, 1987.
- LUYT, R.; JOHNSON, S. D. Postpollination nectar reabsorption and its implications for fruit quality in an epiphytic orchid. *Biotropica*, v. 34, p. 442-446, 2002.
- MCDADE, L. A.; KINSMAN, S. The impact of floral parasitism in two Neotropical hummingbird-pollinated plant species. *Evolution*, v. 34, p. 944-958, 1980.
- MCDADE, L. A.; WEEKS, J. A. Nectar in hummingbird-pollinated Neotropical plants I: patterns of production and variability in 12 species. *Biotropica*, v. 36, p. 196-215, 2004a.

_____. Nectar in hummingbird-pollinated Neotropical plants II: interactions with flower visitors. *Biotropica*, v. 36, p. 216-220, 2004b.

MENDONÇA, L. B.; ANJOS, L. Feeding behavior of hummingbirds and perching birds on *Erythrina speciosa* Andrews (Fabaceae) flowers in a urban area, Londrina, Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 23, p. 42-49, 2006.

MOLINA-FREANER, F.; EGUIARTE, L. E. The pollination biology of two paniculate Agaves (Agavaceae) from northwestern Mexico: contrasting roles of bats as pollinators. *American Journal of Botany*, v. 90, p. 1016-1024, 2003.

NAVARRO, L. Reproductive ecology and effect of nectar robbing on fruit production in *Macleania bullata* (Ericaceae). *Plant Ecology*, v. 152, p. 59-65, 2001.

_____. Pollination ecology of *Anthyllis vulneraria* subsp. *vulgaris* (Fabaceae): nectar robbers as pollinators. *American Journal of Botany*, v. 87, p. 980-985, 2000.

_____. Pollination ecology and effect of nectar removal on *Macleania bullata* (Ericaceae). *Biotropica*, v. 31, p. 618-625, 1999.

NEPI, M.; PACINI, E.; WILLEMSE, M. T. M. Nectary biology of *Curcubita pepo*: ecophysiological aspects. *Acta Botanica Neerlandica*, v. 45, p. 41-54, 1996.

PACINI, E.; NEPI, M.; VESPRINI, J. L. Nectary biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution*, v. 238, p. 7-21, 2003.

PIERRE, J. et al. Comparative study of nectar secretion and attractivity to bees of two lines of spring-type faba bean (*Vicia faba* L. var. *equina* Steudel). *Apidologie*, v. 27, p. 77-86, 1996.

QUIRINO, Z.G.. M.; MACHADO, I. C. Biologia da polinização e da reprodução de três espécies de *Cobretum* Loefl. (Combretaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 24, p. 181-193, 2001.

RIVERA, G. L.; GALETTO, L.; BERNARDELLO, L. Nectar secretion pattern, removal effects, and breeding system of *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae). *Canadian Journal of Botany*, v. 74, p. 1996-2001, 1996.

ROUBIK, D. W. The ecological impact of nectar robbing bees and pollinating hummingbirds on a tropical shrub. *Ecology*, v. 63, p. 354-360, 1982.

SIMPSON, B. B.; NEFF, J. L. Evolution and diversity of floral rewards. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.) *Handbook of Experimental Pollination Biology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. p.142-159.

SOKAL, R. R; ROHLF, F. J. *Biometry*. San Francisco: W. H. Freeman, 1995.

TORRES, C.; GALETTO, L. Patterns and implications of floral nectar secretion, chemical composition, removal effects and standing crop in *Mandevilla pentlandiana* (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 127, p. 207-223, 1998.

WASER, N. M. et al. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, v. 77, p. 1043-1060, 1996.

WOLFF, D.; BRAUN, M.; LIEDE, S. Nocturnal versus diurnal pollination success in *Isertia laevis* (Rubiaceae): a sphingophilous plant visited by hummingbirds. *Plant Biology*, v. 5, p. 71-78, 2003.

ZIMMERMAN, M.; COOK, S. Pollinator foraging, experimental nectar-robbing and plant fitness in *Impatiens capensis*. *American Midland Naturalist*, v. 113, p. 84-91, 1985.

ZIMMERMAN, M.; PYKE, G. H. Reproduction in *Polemonium*: patterns and implications of floral nectar production and standing crops. *American Journal of Botany*, v. 73, p. 1405-1415, 1986.

Nectar secretion patterns and removal effects in two sympatric *Calliandra* species in Chapada Diamantina, Bahia, Brazil¹

Ludmila Moura de Souza Aguiar²

Helder Nagai Consolaro³

Flavia Fonseca Pezzini⁴

Maria Elisa Santos⁵

Wilson Jose de Melo e Silva Maia⁶

The Chapada Diamantina is a large mountain massif that occupies most part of the central region of the Bahia state in Brazil (10°-14° S and 40°-43° W) and it is also an important diversity dispersion center of *Calliandra*. There are 40 species registered for this region and 30 of them are endemic (SOUZA; QUEIROZ, 2004). The genus *Calliandra* was established by Betham (1844) and includes species of the Mimosoideae subfamily that usually have perfect flowers with many monadelphous stamens; the fruit is a legume characterized by apical longitudinal elastic dehiscence and valves with thick margins. After Barneby's (1998) revision the genus is considered exclusively Neotropical, with 132 species.

Pollination services represent an important source of reciprocal change between plants and animals (WILLSON et al., 1996). Animal-pollinated plants attract their pollen visitors and pollinators in an array of ways, usually offering a reward (WILLSON, 1983). Nectar is the most important floral reward offered (HERNÁNDEZ-CONRIQUE et al., 2007) and it is composed mainly of sugars that constitute the major energy source for pollinators (BAKES; BAKER, 1983; GALETTO, 1997; TORRES; GALETTO, 1998; HERNÁNDEZ-CONRIQUE et al., 2007).

Most researchers have interpreted interspecific nectar patterns in terms of adaptations of plants to their pollinators (reviewed by (NICOLSON; FLEMING 2003; PACINI; NEPI; VESPRINI et al., 2003). Hernández-Conrique and others (2007) have said that plants are

¹ os autores se responsabilizam inteiramente pelo conteúdo aqui apresentado

² Embrapa Cerrados (ludmilla@cpac.embrapa.br)

³ Universidade de Brasília (consolaro@unb.br)

⁴ Universidade Federal de Minas Gerais (flaviapezzini@yahoo.com.br)

⁵ Universidade do Estado da Bahia (melisasantos@uol.com.br)

⁶ Universidade Federal Rural da Amazônia (wilson.maia@ufra.edu.br)

locally adapted to pollinators and respond to their needs according to the abundance and composition of the local pollinating fauna.

It is also known that plants may reabsorb nectar that is not collected by pollinators from ageing flowers (ZIMMERMAN 1988; BÚRQUEZ; CORBET, 1991; NEPI; GUARNIERI; PACINI, 2003), thus recovering part of the energy invested in nectar production (SOUTHWICK 1984).

The objective of our study was to compare floral nectar secretion (volume and concentration) and removal effects in two species of *Calliandra*. Specifically we aimed to answer: a) How do nectar volume, concentration, and amount of sugar produced vary throughout the flower lifetime in each species? b) Is the nectar absorbed at the end of flowers lifetime? c) Do the species continue to produce nectar after nectar removal?

Material and methods

Study was conducted at the Sandália Bordada trail, which is part of the Garimpeiro routes, near 2 km of the city of Mucugê (12°12'55.87"S - 37°52'47.38"W). The area is characterized by a rocky and sandy soil and the vegetation has Caatinga and Cerrado elements. Orchidaceae and Cactaceae are present along the trail.

To estimate nectar volume we used graduated test tubes (μ l). To measure sugar concentration we used hand-refractometer that accurately displays percentages of dissolved sugars (mass/mass). To estimate nectar production throughout the flower lifetime we marked pairs of individuals of both species that were close to each other, totaling eight pairs. This experimental design try to diminish environmental local influence on nectar production. Inflorescences with pre-anthesis floral buds were randomly chosen and covered with a cloth bag to avoid floral visitors. Mean nectar production per flower was determined in five flowers per inflorescence taking measurements at different intervals (1700, 2300, 500 and 1100) during floral lifetime.

Flower longevity was estimated a priori through marked floral buds observed from their opening to their fading. The later stage was evident because the oxidation of the floral verticils. It is noteworthy to say that in the small *Calliandra* the oxidation turned the stamens extremity red, and in the large *Calliandra* they presented a less intense red colour. The analysis of variance of ranked data for two factors: species (Large *Calliandra* – CalG e Small *Calliandra* – CalP) and time interval was done to compare the nectar production between both species.

The flowers used in the nectar production experiment were used to evaluate nectar removal effects. The experiment was composed of three sampling groups (F1, F2 e F3), each with three flowers. In group F1, nectar was removed three times in each flower at the following times: 1800, 2400 and 0600 hours of the next day; in group F2, nectar was removed twice: at 2400 and 0600 h; and in group F3, (control), nectar was removed only at 0600 h. Measures were taken from seven individuals of Large *Calliandra* and eight individuals of Small *Calliandra*.

Total nectar produced by each group of flowers in each species? was compared by ANOVA of Ranked data for one factor. Amount of sugar produced (in milligrams) was calculated following Bolten and others (1979 apud GALETTO; BERNARDELLO, 2005).

Results and discussion

Most of the nectar production, for the two species, is basically nocturnal. Nectar of nocturnal flowers may be used by diurnal animal species that occasionally accomplish secondary pollination (MELO, 2001). But, there is some production during the day in these *Calliandra* species. There is a significant difference in nectar production by the two species ($F=3.11$, $P=0.02$). Within each species volume and nectar concentration varied during sampling time (CalG.: $H=13,83$, $P=,003$; $H=78,66$, $P<0,05$; CalP: $H=13,46$, $P=0,003$; $H=31,50$, $P<0,05$, respectively).

In large *Calliandra* nectar volume and concentration diminish with flower longevity until 500, and then there is a increasing in production around 1100 hours (Fig. 1). Smaller *Calliandra* nectar volume increases until 2300 hours and them constantly diminishes until 11:00 hours. But, in this case, sugar concentration followed a inverse pattern, diminishing until 500 hours and increasing until 1100 hours (Fig. 1).

Variation in volume and concentration of nectar during flower life longevity is found in many species as shown by Galetto and Bernardello (1992, 1993). These variations may have many causes, from nectar's water evaporation to the re-absorption of energy invested in its production (CRUDEN et al. 1983; CASTELLANOS, et al. 2002 apud HERNÁNDEZ-CONRIQUE et al., 2007). The break on nectar production observed for small *Calliandra* might be due to nectar's water evaporation, and the increment on concentration a consequence of the water evaporation, compensating the energy spent favoring pollinators. Similar variation was observed in *Ligaria cuneifolia* (Ruiz & Pav.) (Loranthaceae) (RIVERA; GALETTO; BERNARDELLO, 1996).

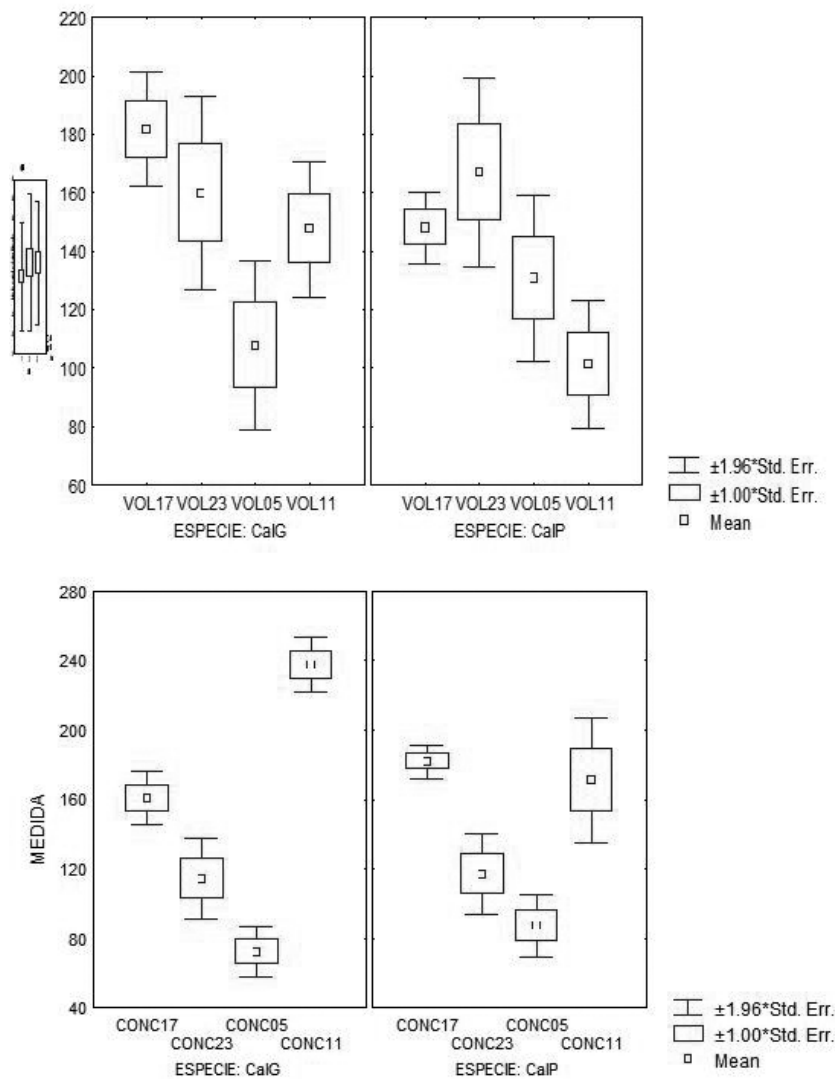
Besides, such an increase can indicate that in *Calliandra* the process of energy offered to the floral visitors reabsorption doesn't exist. The observed increase in nectar volume and concentration in large *Calliandra* at 1100 hours can be explained by temporal change of potentials floral visitors at that time, when bees were more active in visiting the inflorescences. During the flower life seems to be molded by pollinator's requirements and it is in accordance with pollinator's time (TORRES; GALETTO, 1998).

Some authors show in their papers that nectar characteristics such as volume, concentration and sugar amount might vary among species as an answer to theirs pollinators interactions (SCHEMSKE; BRADSHAW, 1999 apud HERNÁNDEZ-CONRIQUE et al., 2007). Both species (large and small *Calliandra*) bloom simultaneously; have similar floral characters, and seemingly, have the same pollination syndrome (moth and chiropteran pollination). The patterns of blooming together may be seen as a strategy to potentiate pollinators attraction,

especially when species coexistence and have the same syndrome (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979). However, this phenological and morphological overlap can generate restrictions in the number of pollinators, and observed differences in nectar production and characteristics of the two studied species may be responsible for that.

Animal-pollinated angiosperm plants that replenish removed nectar invest energy that can entail a reproductive cost (ORDANO; ORNELAS, 2005). The amount of sugar produced by sampling group and data on volume and nectar concentration after nectar removal can be seen on Tab. 1, 2 and 3. There was no significant difference in volume and amount of sugar after nectar removal in sampling groups F1 and F2 and control group F3 for Large *Calliandra*.

Figure 1 - Volume and nectar concentration during flower longevity of "Large(CalG) and Small (CalP) *Calliandra*s.



So, in this species, removal of nectar does not affect nectar production and secretion ($F=0,69$; $P=0,50$; $F=0,64$; $P=0,52$; respectively) (Fig. 2) and these results do not agree with Ordano & Ornelas (2005) statement. Significant difference in nectar volume and sugar amount was observed in Small *Calliandra* ($F= 4,08$, $P = 0,018$; $F = 6,94$, $P = 0,001$; respectively), but volume was not different for groups F1 and control (F3) ($P=0,52$), and the sugar amount was incremented ($P=0,001$) (Fig. 3). This result indicates that nectar removal does not affect nectar production but can increase sugar proportion in each removal. Many species don't suffer alteration in the characteristics of the nectar after removal periods (GALETTO; BERNARDELLO, 1992, 1993). Ordano and Ornelas (2005) have demonstrated that female reproductive costs of nectar replenishment can range from costly to beneficial, depending on the conditions of the plants and on the species.

Figure 2 - Nectar production during take off in large *Calliandra*.

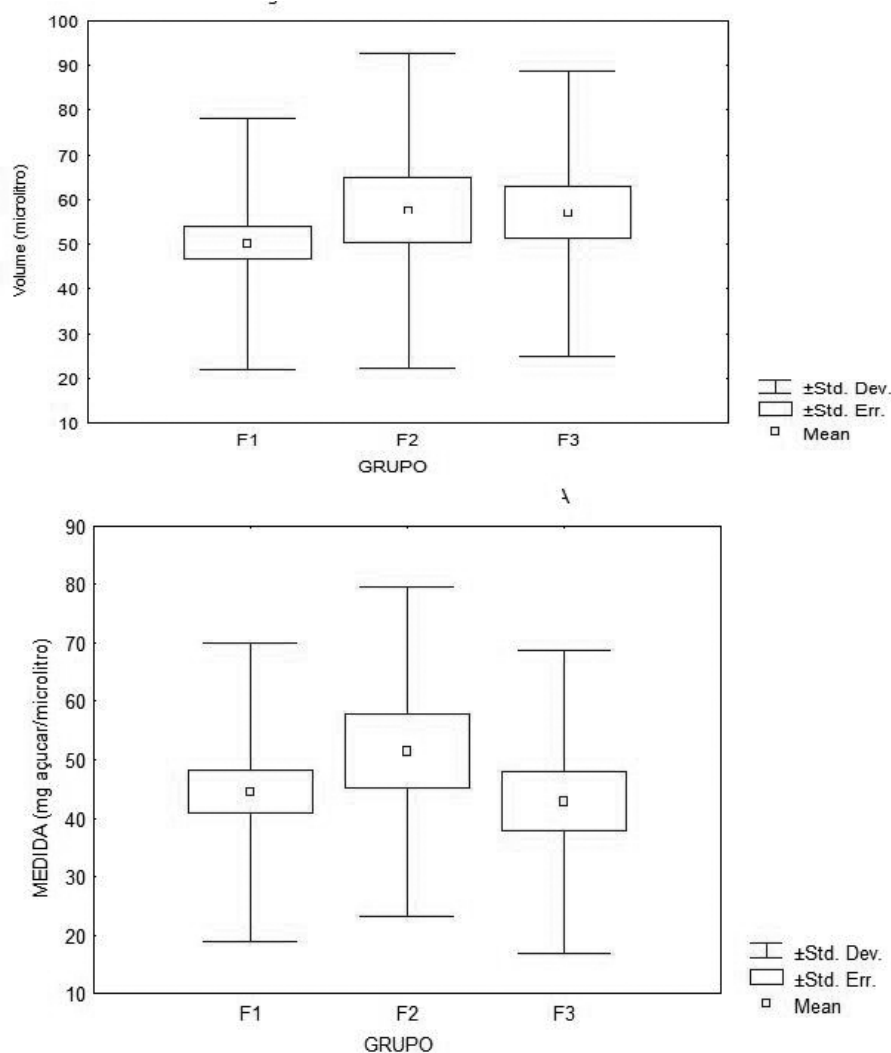
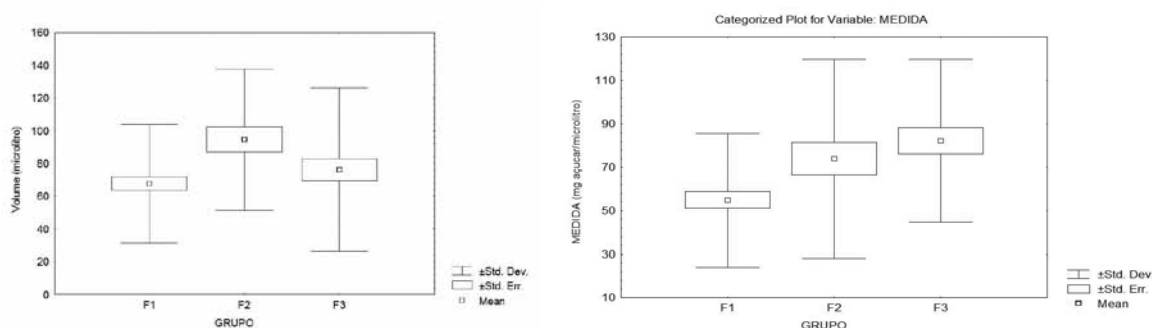


Figure 3 - Nectar production during take off in small *Calliandra*.



In our study it seems that Large *Calliandra* is the later case. Also, it has been verified in literature that after the plant stops nectar production, exploitation continues with use of residual nectar, what probably occurs with large *Calliandra*. Small *Calliandra* may be accomplishing the important function of offering resources for some components of the pollinators during shortages of their main resources, notably in the dry season, or it stimulates, through the signal of nectar removal, more sugar production to more pollinator attraction.

Comparing both, the size of each species may be involved in their behaviour. The large *Calliandra* is filled up of nectar, and a higher nectar standing crop available, and this amount maybe enough to attract pollinators and it does not need to increment sugar quantity. The smaller, has less amount of nectar standing crop available due to it small size, and it does compensate this lack of nectar by increasing sugar quantity.

Table 1 - Nectar concentration (% $\pm$ SD) of the three samples during nectar take off.

(A) "Large <i>Calliandra</i> "				(B) "Small <i>Calliandra</i> "			
Group	18 h	24 h	06 h	Group	18 h	24 h	06 h
F1	19.1 $\pm$ 3.7	14.4 $\pm$ 7.1	15.88 $\pm$ 1.7	F1	19.6 $\pm$ 1.6	14.5 $\pm$ 3.0	15.1 $\pm$ 2.9
F2		18 $\pm$ 1.3	14.83 $\pm$ 1.94	F2		19.9 $\pm$ 1.8	16.13 $\pm$ 3.71
F3			15.28 $\pm$ 2.69	F3			18.6 $\pm$ 5.66

Table 2 - Nectar Volume (μ L $\pm$ SD) of the three sets measured to removal effects of nectar.

(A) "Large <i>Calliandra</i> "				
Group	18 h	24 h	06 h	Mean total sugar secreted (mg)
F1	26 $\pm$ 14 (5.3)	42.3 $\pm$ 30.3 (6.2)	9.2 $\pm$ 14.5 (1.5)	27.6 (13)
F2		64 $\pm$ 48.9 (12.1)	24.84 $\pm$ 36.74 (3.9)	44.44 (16)
F3			56.82 $\pm$ 36.09	36.92 (9)

(B) "Small *Calliandra*"

Group	18 h	24 h	06 h	Mean total sugar secreted (mg)
F1	21.1 ± 10.5 (4.4)	43.7 ± 54.3 (6.6)	16.6 ± 16.9 (2.6)	27.0 (13.6)
F2		88 ± 42.9 (19)	18.07 ± 11.07 (3)	53.33 (22)
F3			55.4 ± 32.9	36.57 (10.8)

Table 3 - Néctar volume, concentration and sugar quantity produced in the different groups of nectar removal. Removal corresponds to groups F1 and F2.

Species		Large <i>Calliandra</i>		Small <i>Calliandra</i>	
Volume (μL)	Removal	32.4 ± 33.26		35.03 ± 40.54	
	N	77		98	
	Control	36.9 ± 34.4		36.57 ± 36.07	
	N	29		53	
Concentration (%)	Removal	16.65 ± 4.86		17.8 ± 3.19	
	N	66		91	
	Control	14.79 ± 3.62		18.5 ± 4.03	
	N	25		39	
Quantity (mg)	Removal	7.9 ± 7.61	14.5	6.8 ± 6.56	18
	N	64		96	
	Control	6.48 ± 5.68	9.02	9.49 ± 6.17	
	N	26		37	

References

- BAKER, H. G.; BAKER, I. A brief historical review of the chemistry of floral nectar. p.126–152. In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. (Eds.). *The biology of nectaries*. New York: Columbia University Press, 1983. p. 126-152.
- BARNEBY, R. C. Silky tree, guanacaste, monkey's earring: a generic system for the synandrous Mimosaceae of the Americas. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, v. 74, p. 1-223, 1998.
- BENTHAM, G.. Notes on Mimoseae. *London Journal Botanical*, v. 3, p. 82-112, 195-226, 1844.
- BÚRQUEZ, A.; CORBET, S. A. Do flowers reabsorb nectar? *Functional Ecology*, v. 5, p. 369-379, 1991.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. *The principles of pollination ecology*. Oxford: Pergamon Press, 1979.
- GALETTO, L.; BERNARDELLO, G. Rewards in flowers: nectar. In: DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. (Ed.). *Practical Pollination Biology*. Cambridge: Enviroquest, 2005. p. 261-313.
- GALETTO, L. Flower structure and nectar chemical composition in three Argentine Apocynaceae. *Flora*, v. 192, 197-207, 1997.

GALETTO, L.; BERNARDELLO, L. Nectar secretion pattern and removal effects in three Solanaceae. *Canadian Journal of Botany*, v. 71, p.1394–1398, 1993.

GALETTO, L.; BERNARDELLO, G.. Nectar Secretion Pattern and Removal Effects in Six Argentinean Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Botanical Acta*, v. 105, p. 292-299, 1992.

HERNÁNDEZ-CONRIQUE, D. et al. Nectar Production of *Calliandra longipedicellata* (Fabaceae: Mimosoideae), an Endemic Mexican Shrub with Multiple Potential Pollinators. *Biotropica*, v. 39, n. 4, p. 459-467, 2007.

MELO, C. Diurnal bird visiting of *Caryocar brasiliense* Camb. in Central Brazil, 2001.

NEPI, M.; GUARNIERI, M.; PACINI, E. Nectar secretion, reabsorption, and sugar composition in male and female flowers of *Cucurbita pepo*. *International Journal of Plant Science*, v. 162, p. 353-358, 2003.

NICOLSON, S.W.; FLEMING, P. A. Nectar as food for birds: the physiological consequences of drinking dilute sugar solutions. *Plant Systematics and Evolution*, v. 238, p. 139-153, 2003.

PACINI, E.; NEPI, M.; VESPRINI, J. L. Nectar biodiversity: a short review. *Pl. Syst. Evol*, v. 238, p. 7-21, 2003.

ORDANO, M.; ORNELAS, J. F. 2005. The cost of nectar replenishment in two epiphytic bromeliads. *Journal of Tropical Ecology*, v. 21(Part 5), p. 541-547, 2005.

RIVERA, G.L.; GALETTO, L.; BERNARDELLO, L. Nectar secretion pattern, removal effects, and breeding system of *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae). *Canadian Journal of Botany*, v. 74, p. 1996-2001, 1996.

SOUTHWICK, E.E. Photosynthate allocation to floral nectar: A neglected energy investment. *Ecology*, v. 65, p. 1775–1779, 1984.

SOUZA, E. R.; QUEIROZ, L. P. Duas novas espécies de *Calliandra* Benth (Leguminosae - Mimosoideae) da Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 27, n. 4, p. 615-619, 2004.

TORRES, C.; GALETTO, L. 1998. Patterns and implications of floral nectar secretion, chemical composition, removal effects and standing crop in *Mandevilla pentlandiana* (Apocynaceae). *Botanical Journal of Linnean Society*, v. 127, p. 207- 223, 1998.

WILLSON, M. F. et al. Mutualismos entre plantas animales en bosques templados de Chile. In: ARMESTO, J. J.; VILLAGRAN, C.; ARROYO, M. T. K. (Ed.). *Ecología de los Bosques Nativos de Chile*. Santiago: Editorial Universitaria, 1996. p. 251-264.

WILLSON, M. F. 1983. *Plant reproductive ecology*. New York: John Wiley & Sons, 1983.

ZIMMERMAN, M. Nectar production, flowering phenology, and strategies for pollination.. In: LOVETT D. J. ; LOVETT, D. L. (Ed.). *Plant reproductive ecology: patterns and strategies*, New York: Oxford University Press, 1988. p. 157-178.

Parte II

Contribuições do curso de campo em biologia e
ecologia da polinização - 2008



Biologia floral de *Turnera subulata* (Smith) (Turneraceae): estudo dos morfotipos e visitantes florais

Alice Maria Guimarães Fernandes Vilhena¹

Ana Pía Wiemer²

Marcela Yamamoto³

Mellissa Sousa Sobrinho⁴

Juan Manuel Rosso-Londoño⁵

Heterostilia é um tipo de polimorfismo floral geneticamente controlado, sendo considerado um mecanismo que favorece a polinização cruzada (BARRETT; WILKEN; COLE, 2000, LI; JOHNSTON, 2001). Dentre as principais características que determinam esse polimorfismo floral estão a hercogamia recíproca, que é o posicionamento recíproco dos estigmas e anteras nos morfos florais, e a incompatibilidade auto e intra-morfo. Assim como hipotetizado por Darwin (1987 apud PÉREZ-BARRALES; VARGAS; ARROYO, 2006), que apenas a polinização entre estruturas reprodutivas de alturas recíprocas é possível, acredita-se que ambas as características citadas acima funcionam como um mecanismo que evita a autopolinização e que aumenta a eficiência da transferência do pólen entre as plantas (KOHN; BARRETT, 1992).

A heterostilia pode apresentar vários tipos de polimorfismos e dentre eles está a distília, na qual a espécie apresenta dois morfotipos florais, o brevistilo e longistilo, que se diferenciam basicamente pela diferença no comprimento dos estiletes e estames, sendo os estiletes curtos e estames longos no primeiro morfotipo e os estiletes longos e os estames curtos no segundo. Acredita-se que esse tipo de polimorfismo tenha evoluído independentemente pelo menos 28 vezes dentro das angiospermas (ARROYO; BARRETT, 2000).

Turneraceae está entre as famílias da ordem Malpighiales (APG, 2003) que apresentam espécies distílicas junto com Erythroxylaceae, Hypericaceae e Linaceae (BARRETT, 1992, 2002; BARRETT; RICHARDS, 1990; GANDERS, 1979). A família Turneraceae compreende 10 gêneros e 226 espécies, sendo a maioria distribuída nos Neotrópicos (SHORE; ARBO;

¹ Univerdidade Federal de Uberlândia (alicevilhena@gmail.com)

² Univerdidade Federal de Uberlândia (yamamotomarcela@yahoo.com.br)

³ Universidade Nacional de Córdoba (apwiemer@gmail.com)

⁴ Universidade Federal da Pernambuco

⁵ Universidade Nacional da Colômbia (jmrossol@yahoo.com.br)

FERNÁNDEZ, 2006). O gênero *Turnera* apresenta aproximadamente 128 espécies, das quais quatro (*Turnera oculata* Story, *Turnera thomasii* (Urb.) Story, *Turnera ulmifolia* L. e *Turnera subulata* Smith) foram introduzidas e se espalharam em várias regiões neotropicais do mundo (ARBO, 2005).

Turnera subulata é uma herbácea ruderal comum na região do Baixo Jaguaribe (Ceará) e em outras áreas do nordeste brasileiro. Ela é popularmente conhecida como flor-do-guarujá ou chanana e suas populações ocorrem normalmente nas margens das estradas e em áreas associadas com algum distúrbio antrópico.

Schлиндwein e Medeiros (2006) viram que as flores de *T. subulata* atraem principalmente abelhas e que *Protomelitura turnerae* foi a única espécie oligolética visitante. Os autores acreditam que a reprodução desta espécie de abelha depende completamente da presença das flores de *T. subulata*, tanto pelo recurso alimentar quanto para estabelecimento dos territórios dos machos, além do uso das flores como local de cópula (MEDEIROS; SCHILINDWEIN, 2003).

Muitos trabalhos têm tentado entender a origem da distília, seus aspectos genéticos e reprodutivos (BARRETT; SHORE, 1985; RICHARDS 1997; SHORE; ARBO; FERNÁNDEZ, 2006). No entanto, poucos têm focado os visitantes dessas flores e de como a diferença nos aspectos morfológicos nos dois tipos de morfos florais podem interferir no comportamento do polinizador. Neste sentido, esse trabalho procurou responder duas perguntas: I. Quão diferentes são os morfos de *Turnera subulata*? II. Os visitantes florais são capazes de diferenciar, de alguma forma, os morfos?

Os objetivos propostos neste trabalho foram: 1) conhecer aspectos da biologia floral de *T. subulata*; 2) comparar os morfotipos florais quanto às características da morfometria floral, reprodutivas e do néctar; 3) analisar a proporção dos morfotipos na área de estudo; e 4) determinar a frequência e riqueza dos visitantes nos morfotipos.

Material e métodos

Os estudos de campo foram realizados nos dias 19 e 20 de maio de 2008 na área experimental do Centro de Ensino Tecnológico Sen. Carlos Jereissati, CENTEC. O local está situado na região do Baixo Jaguaribe a aproximadamente 30 km da cidade de Limoeiro do Norte (5°08'44" S; 38°05'33" W), Ceará, Brasil. O clima caracteriza-se pela presença de uma estação chuvosa chamada "inverno" que vai desde fevereiro a maio e outra estação seca ou "verão" se estende de junho a janeiro. A temperatura varia entre a máxima de 36°C e mínima 24°C. A vegetação predominante é de pequeno porte, plantas ruderais e do tipo caatinga, que se apresenta verdejante nas épocas chuvosas e ressequidas, durante a estação seca (ANDRADE-LIMA 1981, UVO et al., 1998).

Turnera subulata Smith é uma planta herbácea cujas flores são efêmeras devido ao fato de estarem abertas um dia só. A flor tem forma de funil, suas cinco pétalas são de cor creme e roxo na base, formando um guia de néctar (Fig. 1 a-c). Apresenta cinco estames com anteras rimosas, o ovário é súpero, tricarpelar, gamocarpelar e unilocular. Os estiletes se apresentam separados e os estigmas são pilosos. Esta espécie é heterostílica distílica, pois apresenta dois morfotipos florais: o brevistilo (B) e o longistilo (L) (Fig. 1 d-g).

Os eventos da antes foram avaliados em botões ($n=3-5$ de cada morfotipo) marcados antes da abertura e observados para determinar o horário de antese (início da separação das pétalas), deiscência da antera e liberação de pólen e a receptividade estigmática, que foi determinada com peróxido de hidrogênio 20% (KEARNS; INOUE, 1993). Foi utilizada a técnica de coloração com Vermelho Neutro para verificar a viabilidade dos grãos de pólen.

Análises morfométricas das flores foram realizadas no campo e no laboratório com material vivo ($n=15$). Foram tomadas medidas de: diâmetro da corola, diâmetro do guia de néctar, comprimento do gineceu e dos estames.

A contagem dos grãos de pólen das anteras dos dois morfotipos ($n=5$) foi feita com o uso da Câmara de Neubauer, no laboratório de Morfologia Vegetal, Microscopia e Imagem da Universidade Federal de Uberlândia. Também foi registrado o número de óvulos e sementes em flores e frutos ($n=10$) coletados no campo.

O padrão de secreção de néctar ($n= 25$ B, 22 L) e o néctar acumulado ao longo da vida da flor ($n=11$ B, 8 L) foram quantificados a partir de flores ensacadas em pré-antese. Para tanto, foram utilizados capilares para medida de volume e refratômetro de mão para concentração de açúcares. A recompensa calórica, medida de quantidade de sacarose e energia, por flor foi estimada a partir de tabelas de conversão (GALLETO; BERNARDELLO, 2005).

Foi feita a contagem de todos os indivíduos brevistilos e longistilos na população estudada, para posteriormente calcular a proporção de cada morfotipo na área de estudo.

Os visitantes e seu comportamento nas flores foram observados desde a antese até o fechamento das flores no segundo dia de trabalho de campo. A frequência de visitas foi registrada levando-se em conta o morfotipo floral visitado. Os visitantes foram capturados com redes entomológicas para serem montados e identificados no laboratório. Foram classificados como “prováveis polinizadores” os visitantes que durante as visitas faziam contato com as partes reprodutivas e que, posteriormente, foram observados com pólen no corpo e como “pilhadores”, os visitantes que não faziam contato com as partes reprodutivas e não foram observados grãos de pólen no corpo. Documentação fotográfica das visitas foi obtida para a maior parte dos visitantes.

Análise estatística. Para realizar comparações entre os morfotipos florais, as variáveis de morfometria floral, reprodutivas e do néctar foram analisadas com o teste *t* de Student com o auxílio do software Infostat.

Resultados

As flores de *Turnera subulata* permaneceram abertas por aproximadamente seis horas, sendo o início da antese às 05:10 horas (Fig. 1b). Os estigmas apresentaram receptividade no momento em que as anteras abriram completamente e liberaram pólen, e permaneceram receptivos durante toda a antese. Os grãos de pólen de ambos os morfos eram 100% viáveis. Os eventos da antese estão detalhados na tabela 1.

Tabela 1 - Eventos da antese das flores de *Turnera subulata* na área experimental do Instituto Centec em Limoeiro do Norte, CE.

Horário	Evento da antese
05:10	Pétalas e anteras abrindo;
07:00	Flores abertas, anteras abertas e liberação do pólen, estigmas receptivos
09:45	Início da secreção do néctar
11:00	Início do fechamento das flores
12:00	Flores fechadas

Apenas o comprimento do gineceu e androceu apresentou diferença significativa nas medidas entre os morfotipos ($p < 0,0001$; $t = 13,05$ e $t = -10,8$ respectivamente) (Tab. 2). As medidas do gineceu e estames dos dois morfotipos mostraram-se bem parecidas (gineceu = 1,28 cm L; estames = 1,23 B; estames = 0,76 L; gineceu = 0,78 B). O número de óvulos e sementes mostraram diferenças significativas entre os morfos florais ($t = -2,59$; $p = 0,0186$; $t = 3,49$; $p = 0,0026$ respectivamente), exceto para o número de grãos de pólen por planta ($t = -0,19$,

$p = 0,4307$) (Tab. 2). As flores brevistilas possuem mais óvulos (55,1), enquanto que as flores longistilas produzem mais sementes (41,6). Os grãos de pólen das flores brevistilas são ligeiramente maiores e mais ornamentados do que os encontrados nas longistilas (Fig. 1 d-g). As medidas do néctar, padrão de secreção e néctar acumulado não apresentaram diferenças significativas entre os morfotipos (Tab. 2).

Figura 1 - Detalhes de *Turnera subulata* (Turneraceae): a) uma das plantas observadas na área de estudo; b) abertura dos botões florais; c) flor em antese com a guia de néctar de cor roxo na base das pétalas; d) flor do morfo brevistila; e) pólen do morfo brevistila; f) flor longistila e g) pólen do morfo longistila. Setas A indicando a altura dos estames e B a altura dos estiletes.

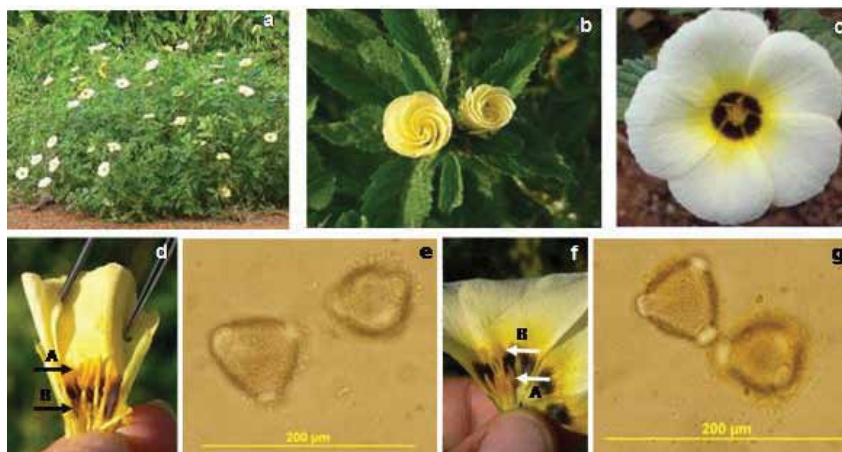


Tabela 2 - Teste t das variáveis de morfometria floral, reprodutivas e variáveis de néctar de flores longistilas e brevistilas de *Turnera subulata* na área experimental do Instituto Centec em Limoeiro do Norte, CE. X= média, DP= desvio padrão.

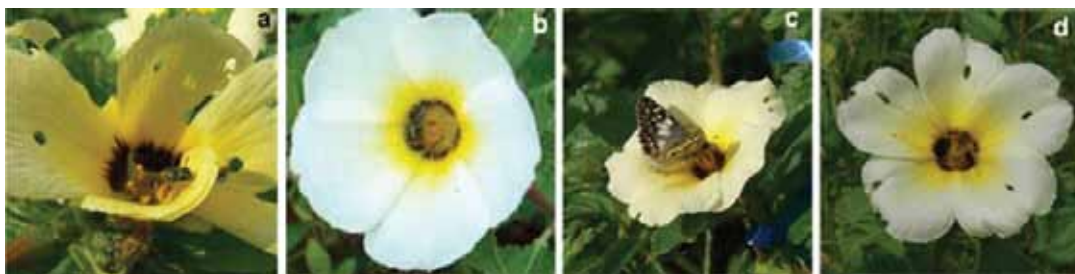
Parâmetros		Longistila	brevistila	Teste t	p
Flor	Corola	4,73±0,61	4,67±0,57	0,31	0,7581
	Guia de néctar	1,01±0,13	10,7±0,17	-1,21	0,2368
	Pistilo	1,28±0,09	0,78±0,12	13,05	<0,0001
	Óvulos	44,9±7,17	55,1±10,19	2,59	0,0186
	Sementes	41,6±7,78	29,5±7,71	3,49	0,0026
	Estames	0,76±0,05	1,23±0,07	10,8	<0,0001
	Anteras	0,37±0,08	0,41±0,15	2	0,0548
	Pólen/flor	17900±10575,03	16790±7606,13	-0,19	0,4307
Néctar secretado	Volume (µl)	1,13±0,34	1,15±0,5	-0,17	0,8697
	Concentração (%)	33,86±6,05	36,4±6,76	-1,35	0,1847
	Sacarose (mg/µl)	0,43±0,14	0,47±0,17	-0,84	0,4045
	Energia (J)	7,09±2,32	7,92±2,93	-1,07	0,2898
Néctar acumulado	Volume (µl)	1,09±0,21	1,04±0,43	0,31	0,762
	Concentração (%)	1,09±34,88	39,36±8,14	-1,2	0,2465
	Sacarose (mg/µl)	0,43±0,12	0,47±0,21	-0,49	0,6279

A proporção de indivíduos brevistilos na área de estudo foi de 63,2% e de longistilos de 36,7%. As flores de *T. subulata* receberam 77 visitas de 12 espécies de insetos pertencentes a três ordens: Hymenoptera, Lepidoptera e Diptera (Tab. 3, Fig. 2 a-d). As flores brevistilas receberam 39 visitas e as longistilas 38. Acredita-se que as abelhas são os prováveis polinizadores devido à frequência de visitas, ao comportamento de coleta de pólen, e à presença de grãos de pólen aderidos no corpo, sobretudo de *Ceratina* sp. e *Protomeliturga* sp. que foram as mais frequentes (Tab. 3, Fig. 2 a-b). A primeira espécie de abelha coletou pólen diretamente sobre as anteras e néctar na base da flor. Por outro lado, a segunda espécie coletou apenas pólen, como também observado nas visitas de *Diadasina riparia* e *Trigona spinipes*. Algumas espécies de borboletas foram observadas visitando as flores em busca somente de néctar, sendo consideradas, portanto, como pilhadoras assim como uma espécie de Diptera. Analisando-se a frequência de visitas por hora de observação, é possível verificar que as abelhas começaram as visitas a partir das 07:00 horas, quando as flores já estavam abertas (Tab. 1), e continuaram ao longo de toda a antese, apresentando um pico de visitas entre às 08:00 e 08:30 horas (Fig. 3). As borboletas começaram as visitas após as abelhas e entre 10:00 e 10:30 horas foram os visitantes mais frequentes, logo depois do começo de secreção do néctar (Tab. 1). Também foram observados exemplares de Coleoptera predando flores de *T. subulata*, além de formigas *Camponotus* sp. e vespas observadas em visita a nectários extraflorais.

Tabela 3 - Visitantes florais de *T. subulata* na área experimental do Instituto Centec em Limoeiro do Norte, CE. NP= néctar e pólen; N= néctar; P= pólen; PP= provável polinizador; PI= pilhador; indet.= indeterminado.

Visitantes	Frequência absoluta		Frequência relativa (%)	Recurso	Comportamento
	Brevistila	Longistila			
HYMENOPTERA					
Ceratinini					
Ceratina sp.	16	21	43,53	N/P	PP
Protomeliturgini					
Protomeliturga sp	9	4	15,29	P	PP
Emphorini					
Diadasina riparia Ducke, 1908	1	0	1,18	P	PP
Meliponini					
Trigona spinipes Fabricius, 1793	1	0	1,18	P	PP
Sp1	0	1	1,18	N	Indet.
LEPIDOPTERA					
Sp1	2	0	2,35	N	PI
Sp2	5	4	10,59	N	PI
Sp3	1	0	1,18	N	PI
Sp4	7	6	15,29	N	PI
Sp5	1	0	1,18	N	PI
Sp6	2	2	4,7	N	PI
DIPTERA					
Bombylidae					
Sp1	1	1	2,35	Indet.	Indet.
Total	39	38	100		

Figura 2 - Visitantes de *Turnera subulata* (Turneraceae) na área experimental do Centro de ensino Tecnológico, CENTEC, Limoeiro no Norte, CE: a) Hymenoptera, *Ceratina* sp. e b) *Protomeliturga* sp.; c) Lepidoptera, sp1; d) Diptera, Bombyliidae, sp1.



Discussão

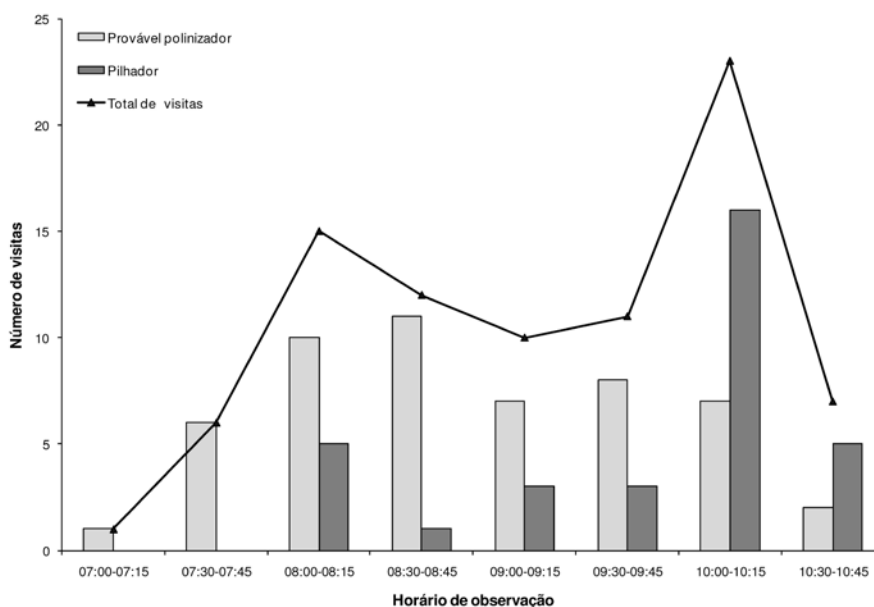
As diferenças no tamanho da corola não foram significativas entre os morfos, como também verificado em *T. sidoides* (L.) (PANSERI; SEIJO; SOLÍS, 2004). No entanto, os morfos apresentaram características típicas da hercogamia recíproca do tipo dicogamia, uma vez que o comprimento do gineceu do morfo longistila foi equivalente à altura das anteras do morfo brevistila e vice-versa. Assim, parece razoável o fato dos morfotipos não

apresentarem diferenças nas características atrativas (tamanho da corola, guia de néctar) e recompensas (néctar e pólen), o que poderia explicar uma frequência semelhante de visitação das florais para os dois morfotipos. Estas características das flores fazem com que o sistema reprodutivo de *T. subulata* seja especializado para favorecer a polinização intermorfos (BARRETT; WILKEN; COLE et al., 2000; LI; JOHNSTON, 2001).

As variáveis reprodutivas analisadas apresentaram diferenças significativas, sendo que os morfos brevistilos apresentaram uma maior quantidade de óvulos e os longistilos produziram mais sementes. Talvez isso seja uma maneira de compensar a baixa proporção de indivíduos longistilos na população da área de estudo. Essa diferença na proporção dos morfos, também pode ser explicada geneticamente, visto que o morfo brevistilo é Ss (heterozigoto) e o longisilo é ss (homozigoto recessivo) (LEWIS; JONES, 1992).

As abelhas foram consideradas os prováveis polinizadores de *T. subulata*, devido à frequência de visitas, ao comportamento de coleta e à presença de grãos de pólen no seu corpo. A pequena longevidade da flor dessa espécie reduz o tempo em que ela pode ser polinizada. Por mais essa característica, acredita-se que as abelhas são importantes polinizadoras de *T. subulata*, já que são ativas no período da manhã e frequentes nas suas visitas às flores.

Figura 3 - Frequência de visitas dos prováveis polinizadores e pilhadores de *T. subulata* na área experimental do Instituto Centec em Limoeiro do Norte, CE.



Turnera subulata apresenta flores agrupadas com moderada quantidade de néctar e energia. Isso faz com que os insetos tenham que visitar um número maior de flores para suprir suas necessidades, favorecendo a polinização cruzada. Por outro lado, Schlindwein e Medeiros (2006) consideraram a espécie como uma importante fonte de néctar e pólen

para as abelhas uma vez que a planta apresenta flores ao longo de todo ano. Isto está de acordo com as observações de campo do presente trabalho, a espécie de abelha mais frequente, *Ceratina* sp, coletava pólen e néctar, enquanto que as outras três espécies coletavam apenas pólen.

O número de grãos de pólen produzidos por flor foi mais próximo do encontrado por Rama Swamy & Bahadur (1984) na Índia do que por Schlindwein e Medeiros (2006). Rama Swamy e Bahadur (1984) viram que somente 3,07% desse pólen é depositado nos estigmas, sendo o restante coletado por insetos.

Locatelli, Machado e Medeiros et al. (2004) observaram visitas de 11 espécies de abelhas em *T. subulata* em um fragmento de mata serrana em Pernambuco, enquanto que Schlindwein e Medeiros (2006) registraram 24 espécies de abelhas, além de representantes de Lepidoptera e Coleoptera na Paraíba. Embora o esforço amostral tenha sido de apenas um dia no presente estudo, observou-se visitantes florais dos grupos das abelhas, Lepidoptera e Diptera. E assim como Schlindwein e Medeiros (2006), não foi observada preferência nas escolhas dos morfos pelos visitantes florais. Além disso, não foram registradas visitas de *Apis mellifera* às flores de *T. subulata* como no estudo de Schlindwein e Medeiros (2006), no qual ela foi considerada polinizadora, além de ser a segunda espécie mais frequente.

As visitas de formigas e vespas nos nectários extraflorais localizados próximos a flores de *T. subulata* podem influenciar no comportamento e na frequência de visitantes florais e consequentemente no seu sucesso reprodutivo, conforme observado para *T. ulmifolia* (CUATLE; RICO-GRAY, 2003). Herbívoros florais de *T. subulata*, como o besouro *Pristimerus calcaratus* (Curculionidae), também podem influenciar na frequência de visitas dos polinizadores (SCHLINDWEIN; MEDEIROS, 2006). Sendo assim, *T. subulata* constitui um modelo interessante de estudos de interações, inclusive em como estas relações podem afetar o seu sucesso reprodutivo.

Agradecimentos

Aos organizadores e a todos os professores pela oportunidade de participar no curso, especialmente ao professor Leonardo Galletto por seu grande apoio e conselhos nos momentos críticos do trabalho em grupo. A monitora Daniele de Abreu Silva por sua ajuda no campo, aos demais monitores e colegas pelo agradável convívio durante o curso.

Referências

APG - Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 141, p. 399-436. 2003.

- ARBO, M. M. Estudios sistemáticos en *Turnera* (Turneraceae). III. Series Anomalaes y *Turnera*. *Bonplandia*, v. 14, p. 115-318, 2005.
- ARROYO, J.; BARRETT, S. C. H. Discovery of distyly in *Narcissus* (Amaryllidaceae). *American Journal of Botany*, v. 87, p. 748-751, 2000.
- ANDRADE-LIMA, D. The caatingas dominium. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 4, p. 149-153, 1981.
- BARRETT, S. C. H. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics*, v. 3, p. 274-284, 2002.
- BARRETT, S. C. H.; WILKEN, D. H.; COLE, W. W. Heterostyly in the Lamiaceae: the case of *Salvia brandegeei*. *Plant Systematics and Evolution*, v. 223, p. 211-219, 2000.
- BARRETT, S. C. H. Evolution and function of heterostyly. *Monographs on Theoretical and Applied Genetics*, v. 15, 1992.
- BARRETT, S. C. H.; RICHARDS, J. H. Heterostyly in tropical plants. *Memorial New York Botanical Garden*, v. 55, 35-61, 1990.
- BARRETT, S. C. H.; SHORE, J. S. Dimorphic incompatibility in *Turnera hermannioides* Camb. (Turneraceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 72, p. 259-263, 1985.
- CUAUTLE, M.; RICO-GRAY, V. The effect of wasp and ants on the reproductive success of the extrafloral nectaried plant *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Functional Ecology*, v. 17, p. 417-423, 2003.
- GALETTO, L.; BERNARDELLO, G. Néctar. In: DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. (Ed.). Practical pollination biology. Cambridge: Enviroquest, 2005. p. 261-312.
- GANDERS, F. R. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany*, v. 17, p. 607-635, 1979.
- KEARNS, C. A.; INOUE, W. D. *Techniques for pollination biologist*. Niwot: University press of Colorado, 1993.
- KOHN, J. R.; BARRETT, S. C. H. Experimental Studies on the Functional Significance of Heterostyly. *Evolution*, v. 46, p. 43-55, 1992.
- LEWIS, D.; JONES, D. A. The genetics of heterostyly, In: BARRETT, S. C. H. (Ed.). *Evolution and function of heterostyly*, [S.l.]: Springer, 1992. p. 129-150,
- LI, P.; JOHNSTON, M. O. Comparative floral morphometrics of distyly and homostyly in three evolutionary lineages of *Amsinckia* (Boraginaceae). *Canadian Journal of Botany*, v. 79, p. 1332-1348, 2001.
- LOCATELLI, E. M.; MACHADO, I. C.; MEDEIROS, P. Riqueza de abelhas e a flora apícola em um fragmento de Mata Serrana (Brejo de Altitude) em Pernambuco, Nordeste do Brasil. In: PÔRTO, K.C.; CABRAL, J. J.; TABARELLI, M. (Org.). *Brejos de altitude: história natural, ecologia e conservação*. Brasília: MMA/PROBIO. 2004. p. 153-177.

MEDEIROS, P. C. R.; SCHLINDWEIN, C. Território de machos, acasalamento, distribuição e relação com plantas em *Protomelitura turnerae* (Ducke, 1907) (Hymenoptera, Andrenidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 47, p. 589-596, 2003.

PANSERI, A. F.; SEIJO, G.; SOLÍS NEFFA, V. G.. *Variación del tamaño de la corola en Turnera sidoides* (Turneraceae). Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. 2004. Disponível em: < <http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/6-Biologia/B-007.pdf> > . Acesso em: 22 jun. 2010.

PÉREZ-BARRALES, R.; VARGAS, P. ; ARROYO, R. New evidence for the Darwinian hypothesis of heterostyly: breeding systems and pollinators in *Narcissus* sect. Apodanthi. *New Phytologist*, v. 171, p. 553-567, 2006.

RAMA SWAMY, N.; BAHADUR, B. Pollen flow in dimorphic *Turnera subulata* (Turneraceae), *New Phytologist*, v. 98, p. 205-209, 1984.

RICHARDS, A. J. *Plant Breeding Systems*. 2. ed. London : Chapman & Hall, 1997.

SCHLINDWEIN, C.; MEDEIROS, P. C. R. Pollination in *Turnera subulata* (Turneraceae): unilateral reproductive dependence of the narrowly oligolectic bee *Protomelitura turnerae* (Hymenoptera, Andrenidae). *Flora*, v. 201, p. 178-188, 2006.

SHORE, J. S.; ARBO, M. M.; FERNÁNDEZ, A. Breeding system variation, genetics and evolution in the Turneraceae. *New Phytologist*, v. 171, p. 539-551, 2006.

UVO, C.B. et al. The relationships between tropical Pacific and Atlantic SST and Northeast Brazil monthly precipitation. *Journal of Climate*, v. 11, p. 551-562, 1998.

Relação entre a disponibilidade de pólen de *Sorghum bicolor* (L.) e a frequência de visita de *Toxomerus politus* (Say, 1823) (Diptera: Syrphidae)

Patricia Nunes Silva¹

Guaraci Duran Cordeiro²

Diana Obregon³

José Ferreira Lima Neto⁴

Sempre se considerou as gramíneas plantas anemófilas. Plantas que são polinizadas pelo vento geralmente possuem flores com estigmas plumosos, alta quantidade de pólen em relação à quantidade de óvulos, pólen com ornamentação reduzida e com “polenkitt” ausente ou em pequena quantidade, estames longos e com nectários, perfume e perianto reduzidos ou ausentes. As flores são hermafroditas e organizadas de forma condensada em inflorescências pêndulas e localizadas longe da vegetação, acima das folhas (SOLDERSTOM; CALDERÓN, 1971; CULLEY; WELLER; SAKAI, 2002).

No entanto, muitas espécies de plantas anemófilas também podem ser polinizadas por insetos sequencialmente ou simultaneamente à polinização pelo vento, em uma mesma estação, como plantas da família Salicaceae e Arecaceae antes consideradas exclusivamente anemófilas (CULLEY; WELLER; SAKAI, 2002).

Considera-se que o sorgo *Sorghum bicolor* (L.) seja polinizado pelo vento, entretanto, muitas espécies de abelhas coletam pólen nessa espécie na África (IMMELMAN; EARDLEY, 2000; SCHMIDT; BOTHMA, 2005).

Em uma região do Rio Grande do Sul, as famílias Apiaceae e Asteraceae foram visitadas por grande número de espécies e indivíduos de Syrphidae, porém muitas também visitaram espécies de Poaceae (MORALES; KÖHLER, 2008). Foi registrado por Terrell e Batra (1984) Poaceae sendo visitada por *Toxomerus politus* (Say, 1823) (Syrphidae).

Adultos de Diptera se alimentam de uma grande variedade de alimentos líquidos ou semi-líquidos. As partes bucais de todas as espécies, indiferentemente da origem do recurso, são

¹ Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto (pnsilva@usp.br)

² Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto (guaradc@ig.com.br)

³ Universidad Nacional de Colômbia (dianaobregonc@yahoo.com.br)

⁴ Universidade Federal de Sergipe (netoagr@yahoo.com.br)

funcionais e são compostas de: um par de mandíbulas, maxila, labro, hipofaringe e lábio. No entanto as mandíbulas são ausentes em muitos Diptera que visitam flores (KRENN; PLANT; SZUCSICH, 2005).

Em Diptera (Syrphidae) há uma estrutura que é vital para obter o pólen das anteras e conduzi-los para o canal alimentar. Esta estrutura é a labela, que auxilia na coleta do pólen por repetidos movimentos de batidas e esfregões diretamente na antera. O pólen que fica aderido na superfície da labela é ingerido para o canal alimentar. Uma grande quantidade de saliva é secretada no canal alimentar, mais precisamente no final da hipofaringe, que se junta com os grãos formando uma suspensão de grãos de pólen. Medidas no diâmetro do canal alimentar de uma espécie de Syrphidae mostraram que é correspondente ao diâmetro de grãos de pólen coletados pelos adultos; espécies de flores das quais os grãos de pólen são maiores do que o canal alimentar, não são aceitos (SCHUHMACHER; HOHANN, 1982).

O pólen é utilizado pelas fêmeas como fonte de proteína para desenvolver os tecidos reprodutivos e para a produção dos nutrientes nitrogenados depositados no vitelo dos ovos (GILBERT, 1986; HASLETT, 1989). O consumo de pólen é essencial para o funcionamento normal dos ovários (SCHNEIDER, 1969). Fêmeas grávidas apresentam mais pólen no intestino que fêmeas não grávidas (IRVIN; WARTTEN; FRAMPOTON, 1999).

As larvas de sirfídeos também apresentam vários tipos de alimentação, incluindo fitofagia, micofagia e entomofagia. As larvas de algumas espécies de *Volucella* alimentam-se do pólen de ninhos dos himenópteros dos quais também se alimentam (ROTHERAY; GILBERT, 1999; STÅHLS et al., 2003). Larvas de *T. politus* podem se alimentar de pólen das anteras de milho (RICHARDSON, 1915).

Durante uma visita a uma plantação de sorgo (*Sorghum bicolor*), uma grande quantidade de *T. politus* (Diptera: Syrphidae) foi observada visitando a plantação. Dessa maneira, a questão principal do trabalho foi se havia relação entre disponibilidade de pólen de *Sorghum bicolor* e a frequência de visita por essa espécie de sirfídeo. Outras questões surgiram durante o desenvolvimento do trabalho: se a razão entre machos e fêmeas de sirfídeos visitando as flores muda ao longo do tempo; se tanto os machos quanto as fêmeas comem pólen; se as larvas (provavelmente imaturos de *T. politus*) comem pólen e se *T. politus* poderia contribuir para a polinização do sorgo.

Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido em Limoeiro do Norte (5°08'44" S e 38°05'33" W), localizado na região do Baixo Jaguaribe, Ceará, Brasil. O ponto de coleta de dados foi uma plantação comercial de sorgo de uma fazenda agrícola e os procedimentos de laboratório foram realizados na Faculdade de Tecnologia CENTEC, Limoeiro do Norte.

A região está localizada dentro do bioma Caatinga e a vegetação predominante é de pequeno porte. Na estação chuvosa a vegetação se apresenta verdejante e com ressecamento e desfolhamento durante a estação seca. O clima da região é característico do semi-árido. A temperatura varia entre a máxima de 36°C e mínima 24°C. No município ocorrem duas estações bem distintas. A estação chuvosa, chamada de “inverno”, de janeiro a junho e a estação da seca chamada “verão” de julho a dezembro. O relevo é de altitudes modestas e com terrenos arenosos, destaca-se a Chapada do Apodi, divisória entre os estados do Ceará e do Rio Grande do Norte.

A espécie encontrada visitando o sorgo foi *T. politus*. O gênero *Toxomerus* é característico das regiões temperada e tropical do Novo Mundo e é muito abundante, com mais 150 espécies descritas, sendo que 143 são neotrópicas.

Para testar a relação da disponibilidade de pólen de *Sorghum bicolor* e as visitas por *T. politus* todos os parâmetros abaixo foram observados a cada hora entre as 6:00 e 17:00h.

Para contabilizar a frequência de visitas de *T. politus* em *S. bicolor* contamos estas visitas a cada hora por cinco minutos, em oito plantas, e se estes visitantes eram machos ou fêmeas. O padrão de movimentação foi observado conforme o trajeto que os visitantes traçavam na inflorescência. A atividade dos visitantes foi observada para elucidar se estes se alimentavam e/ou ovipositavam na inflorescência.

Em *S. bicolor* um parâmetro observado foi a receptividade estigmática, testada com pingos de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com pipeta no ápice de cada estigma, sendo analisados quatro estigmas por hora de uma mesma inflorescência. Se o ápice do estigma borbulhava com o H_2O_2 este era considerado receptivo. Outro parâmetro observado foi a liberação de pólen, utilizando lupa manual comum para avaliar o estado das anteras e se estas estavam dispersando ou não o pólen. Para verificar a presença de pólen nos estigmas foi coletada uma inflorescência por hora e posteriormente, com o auxílio de microscópio quatro estigmas foram checados.

A disponibilidade de pólen no ar foi avaliada utilizando-se quatro armadilhas para pólen (figura 1), com quatro mega estigmas cada (16 mega estigmas por hora). No entanto, foi realizada a contagem do pólen de um mega estigma de cada armadilha por hora. A velocidade do vento foi medida a cada hora com anemômetro(m/s).

Resultados

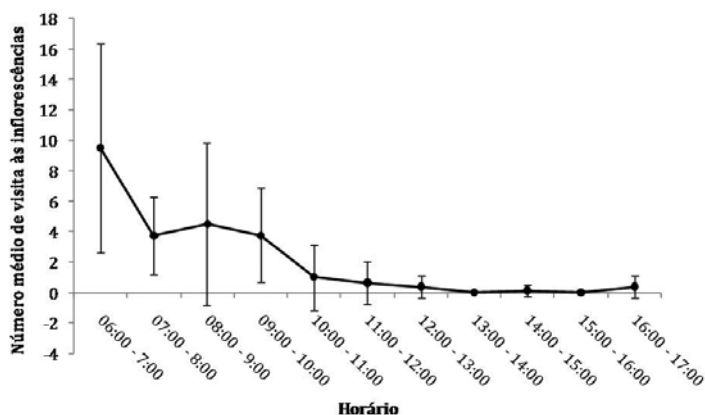
Uma maior frequência de visitas às inflorescências de sorgo ocorreu entre 6:00 e 10:00h. Após esse horário, o número de visitas diminuiu drasticamente (Fig. 1).

Antes das 8:00 horas (Fig. 1), as anteras estavam túrgidas e apresentavam o pólen em sua superfície, porém, este ainda não estava sendo disperso pelo vento, permanecendo

na superfície das anteras. Após esse horário as anteras secavam e o pólen era disperso pelo vento.

Apesar da quantidade de fêmeas visitando as inflorescências ter sido maior que a quantidade de machos em todos os horários (teste de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$), a razão sexual dos sirfídeos visitando as inflorescências de sorgo mudou entre 6:00 e 10:00 horas: a proporção de fêmeas nas inflorescências aumentou, enquanto que no controle (sirfídeos coletados nas pernas dos observadores) não houve grandes mudanças, exceto entre 9:00 e 10:00 horas (Fig. 2).

Figura 1 - Número médio de visita às inflorescências de sorgo (*Sorghum bicolor*).

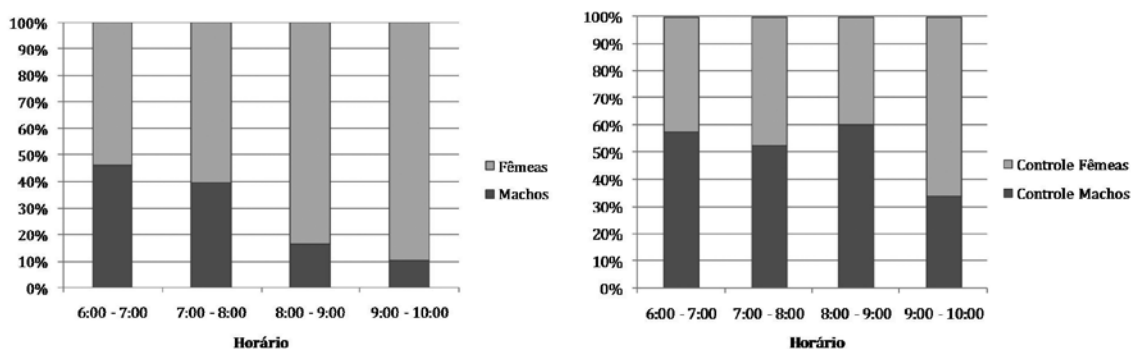


Em relação à alimentação de *T. politus*, tanto as fêmeas quanto os machos se alimentam do pólen do sorgo. Eles pousavam sobre a inflorescência, seguravam as anteras com as pernas anteriores e comiam o pólen da antera. Em seguida andavam sobre a inflorescência até encontrar outra antera.

As larvas foram encontradas no sorgo em entre 6:00 e 7:00 horas. Elas andavam

pelas inflorescências e foram observadas com a cabeça encostada nas anteras, com movimentos que indicavam que estas estavam se alimentando. Ao serem dissecadas, grãos de pólen de sorgo foram encontrados em grande quantidade no sistema digestivo dessas larvas. Larvas e pupas foram enviadas para análise genética para verificar se são os imaturos de *T. politus* visitantes do sorgo.

Figura 2 - Razão sexual dos sirfídeos (*Toxomerus politus*) visitando as inflorescências de sorgo (*Sorghum bicolor*) de 6:00 a 10:00 horas.



Os estigmas estavam receptivos de 6:00 a 11:00 horas da manhã, contudo, problemas na técnica utilizada foram encontrados. Os estigmas eram muito pequenos e era difícil colocar H_2O_2 somente na superfície estigmática. Além disso, a formação de bolhas não era facilmente observável e não há certeza de que a mudança na coloração dos estigmas após a utilização de H_2O_2 seja indicativa da receptividade do estigma.

O número de grãos de pólen de sorgo encontrado nas armadilhas variou de acordo com a velocidade do vento (Fig. 3). Houve uma correlação negativa ($r=-0,25$; $p<0,05$) entre a quantidade de pólen presente nas armadilhas e a frequência de visitas de *T. politus* às inflorescências (Fig. 4).

Discussão

O número de grãos de pólen de sorgo encontrado nas armadilhas variou de acordo com a velocidade do vento. Entretanto, um maior número de visitas de *T. politus* às inflorescências de sorgo ocorreu quando foi encontrada uma menor quantidade de pólen nas armadilhas. Essa medida, quantidade de pólen nas armadilhas, poderia ser um indicativo de maior disponibilidade de pólen, porém, ela somente indicou uma maior disponibilidade de pólen no ar, quando o pólen estava pulverulento. No momento em que ocorreu uma maior quantidade de visitas ao sorgo pelos sirfídeos, antes das 8:00 horas, as anteras estavam túrgidas e apresentavam o pólen em sua superfície, porém, este ainda não estava sendo disperso pelo vento, permanecendo na superfície das anteras, ou seja,

Figura 3 - Velocidade máxima do vento (m/s) e número médio de grãos de pólen de sorgo presentes na armadilha ao longo dia.

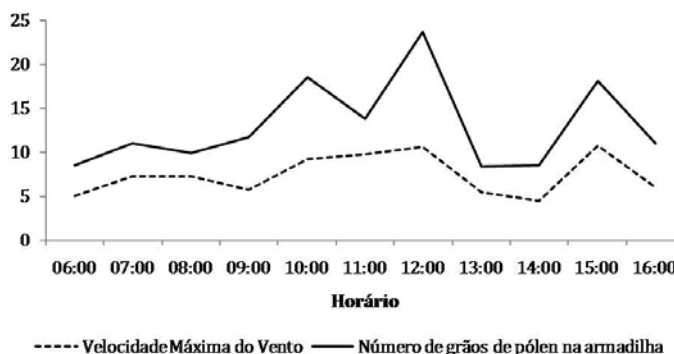
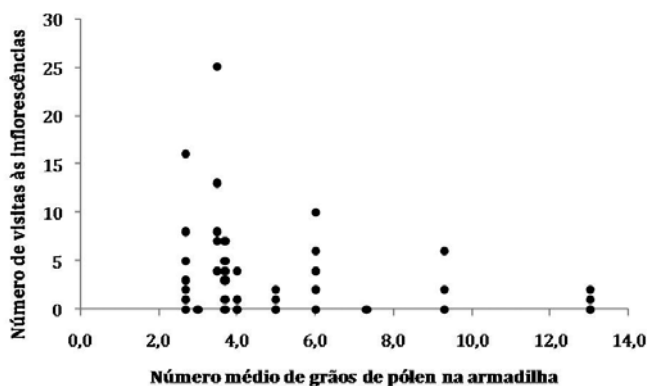


Figura 4 - Relação entre o número médio de visitas às inflorescências de sorgo e o número médio de grãos de pólen dessa planta na armadilha.



mais disponível aos *T. politus*. Dessa maneira, a maior frequência de visitas coincidiu com a maior disponibilidade de pólen.

Em relação à alimentação dessa espécie de sirfídeos, tanto as fêmeas quanto os machos se alimentaram do pólen do sorgo. O mesmo padrão comportamental com que os adultos se alimentavam foi observado por Richardson (1915), porém em indivíduos forrageando em milho. No Cinturão Verde (RS – Brasil), *T. politus* também foi encontrado visitando quatro espécies de plantas da família Poaceae, sendo uma delas *Paspalum conspersum*, as outras três não foram identificadas (MORALES; KÖHLER, 2008).

A razão sexual da taxa de visita indicou que um maior número de fêmeas visitava a plantação de sorgo. Isso pode indicar que as fêmeas necessitam mais de pólen que os machos, visto que precisam de proteína para o desenvolvimento e funcionamento dos órgãos reprodutivos e para a formação dos ovos (GILBERT, 1986; HASLETT, 1989; SCHNEIDER, 1969), no entanto, também pode ser apenas um reflexo de uma razão sexual populacional desviada para fêmeas.

Larvas foram encontradas se alimentando no sorgo. Quando dissecadas, pólen de sorgo foi encontrado no sistema digestivo dessas larvas, comprovando que elas também comiam pólen. Richardson (1915) observou larvas de *T. politus* se alimentando de pólen das anteras de milho e descreve relatos de outros pesquisadores que observaram larvas se alimentando tanto de pólen como de partes da planta e afídeos e conclui que o hábito de se alimentar de pólen pode ser ocasional e que normalmente as larvas devem ser predadoras e viver escondidas na vegetação.

Larvas e pupas encontradas no *S. bicolor* e adultos de sirfídeos foram enviados para análise genética para verificar se esses são os imaturos dos sirfídeos visitantes do sorgo. A hipótese é que esses estágios realmente sejam os imaturos desses sirfídeos, pois as fêmeas que visitavam o sorgo ovipositavam nas inflorescências, no espaço entre uma flor e outra e as pupas foram encontradas também nesses locais. Se essa hipótese for corroborada, a hipótese de que esses sirfídeos dependem dessas plantas, pelo menos nesse local de estudo, durante todo o seu ciclo de vida.

Os sirfídeos da espécie *Cheilosia albitarsis* (Meigen, 1822) se alimentam de pólen e néctar de *Ranunculus repens* (HASLETT, 1983). Dos visitantes de *Brassica rapa*, 61,70% são Syrphidae e é apontado como o efetivo polinizador (FELDMAN, 2006). Muitas espécies de sirfídeos da família Syrphinae e a subfamília Eristaline provavelmente são polinizadores importantes (GRIMALDI; ENGEL, 2005). Dessa forma, é possível que *T. politus* possa contribuir para a polinização do sorgo, visto que durante as visitas, tocam tanto os órgãos femininos quanto masculinos da planta, no período que o estigma está receptivo (entre 6:00 e 11:00h), podendo assim atuar como agente transportador de pólen.

Agradecimentos

Aos professores: Peter G. Kevan, Leonardo Galetto, Blandina Felipe Viana, Breno Magalhães Freitas e Favízia Freitas de Oliveira. Aos monitores: Issac Gabriel Abrahão Bomfim, Patrícia Barreto de Andrade e Rômulo Augusto Guedes Rizzardo. Ao professor Peter G. Kevan pelas análises genéticas.

Referências

CULLEY, M. T.; WELLER, S. G.; SAKAI, A. K. The evolution of wind pollination in angiosperms. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 17, n. 8, p. 361-369, 2002.

FELDMAN, T. S. Pollinator aggregative and functional responses to flower density: does pollinator response to patches of plants accelerate at low-densities? *Oikos*, v. 115, p.128-140, 2006.

GILBERT, F. S. *Hoverflies*. New York: Cambridge University Press, 1986.

GRIMALDI, D.; ENGEL, M. *Evolution of the insects*. Cambridge University press: New York, 2005.

HASLETT, J. R. Adult feeding by holometabolous insects: pollen and nectar as complementary nutrient sources for *Rhingia campestris* (Diptera: Syrphidae). *Oecologia*, v. 81, p. 361-363, 1989.

HASLETT, J. R. A photographic account of pollen digestion by adult hoverflies. *Physiological Entomology*, v. 8, p.167-171, 1983.

IMMELMAN, K.; EARDLEY, C. Gathering of grass pollen by solitary bees (Halictidae, Lipotriches) in South Africa. Mitteilung des Museums für Naturkunde Berlin, *Zoologische Reihe*, v. 76, p. 263-268, 2000.

IRVIN, N. A.; WRATTEN, S. D.; FRAMPOTON, C. M. The phenology and pollen feeding of three hover fly (Diptera: Syrphidae) species in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, v. 26, p.105-115, 1999.

KRENN, H. W.; PLANT, J. D.; SZUCSICH, N. U. Mouthparts of flower-visiting insects. *Arthropod Structure & Development*, v. 34, p. 1-40, 2005.

MORALES, M. N.; KÖHLER, A. Comunidade de Syrphidae (Diptera): diversidade e preferências florais no Cinturão Verde (Santa Cruz, RS, Brasil). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 52, n. 1, p. 41-49, 2008.

RICHARDSON, C. H. A contribution to the life history of the corn-feeding syphus fly (*Mesogramma polita* Say). *Journal of Economic Entomology*, v. 8, p. 338-342, 1915.

ROTHERAY, G.; GILBERT, F. Phylogeny of Palaearctic Syrphidae (Diptera): evidence from larval stages. *Zoological Journal of Linnean Society*, v. 127, p. 1-112, 1999.

SCHMIDT, M. R.; BOTHMA, G. Indications of bee pollination in sorghum and its implications in transgenic biosafety. *International Sorghum and Millets Newsletter*, v. 46, p. 72-75, 2005.

SCHNEIDER, F. Bionomics and physiology of aphidophagous Syrphidae. *Annual Review Entomology*, v. 14, p. 103-124, 1969.

SCHUHMACHER, H.; HOFFMANN, H. Zur Funktion der Mundwerkzeuge von Schwebfliegen bei der Nahrungsaufnahme (Diptera: Syrphidae). *Entomologia Generalis*, v. 7, p. 327-342, 1982.

SODERSTROM, T. R; CALDERON, C. E. Insect Pollination in Tropical Rain Forest Grasses. *Biotropica*, v. 3, n. 1, p. 1-16, 1971.

STÅHLS, G. et al. Phylogeny of Syrphidae (Diptera) inferred from combined analysis of molecular and morphological characters. *Systematic Entomology*, v. 28, p. 433-450, 2003.

TERRELL, E. E.; BATRA, S. W. T. Insects Collect Pollen of Eastern Wildrice, *Zizania aquatica* (Poaceae). *Castanea*, v. 49, n. 1, p. 31-34, 1984.

Aspectos da biologia floral, visitantes florais e sucesso reprodutivo de *Mimosa caesalpiniiifolia* (Benth) em Limoeiro do Norte, Ceará, Brasil

Betina Blochtein¹

Sidia Witter Freitas²

Márcia de Fátima Ribeiro³

Maria de Fátima Vidal⁴

Marcelo Casimiro Cavalcante⁵

Mimosa caesalpiniiifolia Benth (Mimosoidae), vulgarmente conhecida por sabiá, cebiá, sansão do campo ou unha de gato, é uma planta perene, decídua, heliófita, seletiva xerófita, nativa da região Nordeste, com maior índice de ocorrência no Ceará e Piauí. É considerada endêmica da caatinga embora também ocorra em carrasco (LORENZI, 2000).

É uma planta de crescimento rápido, podendo ocorrer em todos os tipos de solo, exceto os alagados. Sua madeira é pesada, dura, compacta. Suas raízes apresentam simbiose com bactérias *Rhizobium* e fungos micorrízicos, formando nódulos capazes de fixar nitrogênio no solo (LORENZI, 2000).

É uma das primeiras espécies da caatinga a apresentar folhas após as chuvas, e a floração ocorre em seguida, nos meses de março e abril, podendo perdurar por quase dois meses, uma vez que a floração é seqüencial na planta, e entre plantas. Pode alcançar altura de 5-8m, com tronco de 20-30 cm de diâmetro, que é ramificado, com ramos aculeados, sendo os acúleos de pontas recurvadas. As folhas são compostas e bipinadas. As flores são brancas, pequenas, apresentam odor e estão reunidas em espigas cilíndricas (5-10 cm de comprimento), axilares ou em panículas terminais. As flores são bissexuais, suavemente perfumadas, pequenas, com longos estames, de coloração branca-creme, com 0,5 - 0,7 mm de comprimento (CARVALHO, 2007, RIBASKI et al., 2003).

¹ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (betinabl@puccrs.br)

² Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (sidia-witter@fepagro.rs.gov.br)

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (marcia.ribeiro@cpatsa.embrapa.br)

⁴ Banco do Nordeste do Brasil (fatimavidal@bnb.gov.br)

⁵ Universidade Federal do Ceará (marcelufc@yahoo.com.br)

O fruto é um legume de 7-10 cm de comprimento por 10-13 mm de largura, dividido em artículos (5-9) que possuem sementes pequenas, em forma de disco (RIBASKI et al., 2003; RIZZINI, 1995; LORENZI, 2000). A frutificação ocorre de maio a outubro, com a queda dos frutos começando a partir de setembro (RIBASKI et al., 2003).

O sabiá é muito utilizado na região nordeste, sendo usado na produção de estacas, mourões, apoio e sustentação em parreirais, cercas vivas, quebra-vento e ainda para lenha e carvão. Por possuir regular massa de folhagem, pode ser utilizada na alimentação animal especialmente durante a época seca do ano (CARNEIRO; VIANA, 1989; RIBASKI et al., 2003). Esta espécie ainda é muito utilizada na recomposição de áreas degradadas, pois é uma planta pioneira (LORENZI, 2000), tem grande potencial para produção de álcool combustível e coque siderúrgico (CARVALHO et al., 1990) e sua casca possui propriedades medicinais (DRUMOND; OLIVEIRA; LIMA, 1999). Além disso, de acordo com relato de apicultores, o sabiá é de grande importância na atividade apícola por fornecer considerável quantidade de pólen e pela notável oferta de flores no período de escassez de recursos, sendo importante para a manutenção das abelhas nesta época. Apesar das várias pesquisas desenvolvidas acerca do aproveitamento econômico de *M. caesalpiniiifolia* (RIBASKI et al., 2003; CALDAS 2007; MELO; PAES 2006; MOURA et al., 2006) há carência de estudos sobre a biologia floral e a polinização dessa espécie.

O sabiá ocorre naturalmente nos estados do Piauí, Ceará e numa pequena parte do Rio Grande do Norte, e as estacas desta planta estão sendo exportadas, em grande quantidade, da zona norte do Ceará para outros estados brasileiros. Em decorrência disso, ela está praticamente extinta no Rio Grande do Norte e, caso prossigam as coletas indiscriminadas, seu desaparecimento é eminente (LIMA, R., 1995). Para a conservação da espécie nos locais de ocorrência natural torna-se indispensável conhecer sua biologia reprodutiva e em especial os mecanismos de polinização necessários à formação de frutos. Assim, este estudo teve por objetivo estudar aspectos da biologia floral de *M. caesalpiniiifolia*, sua relação com agentes polinizadores e seu sucesso reprodutivo em Limoeiro do Norte, Ceará, Brasil.

Material e métodos

O estudo foi conduzido no período de 19 a 21 de maio de 2008, na fazenda de propriedade de Afonso Odério Nogueira Lima, no município de Limoeiro do Norte, no estado do Ceará (05°08'44"S 38°05'33" W). A região de estudo apresenta vegetação típica de caatinga, com certa abundância de *Mimosa caesalpiniiifolia*.

Nesse trabalho foram analisados aspectos da biologia floral, polinização e reprodução de quatro plantas de *M. caesalpiniiifolia*, que estavam em final de floração e início de frutificação. Para o estudo morfológico, quatro inflorescências foram coletadas e observadas sob microscópio estereoscópico contando-se 10 flores, do terço médio das mesmas, com idade de um dia e identificando-se o número de flores masculinas e femininas. Algumas flores foram dissecadas para verificar a fórmula floral.

A antese das flores foi acompanhada a partir das 4h e os estágios de desenvolvimento e abertura das flores foram descritos (n=12 flores) através do exame das mesmas sob microscópio estereoscópico. Para isso, partes de inflorescências contendo flores no mesmo estágio foram marcadas com linhas, etiquetadas e monitoradas a cada hora, registrando-se as mudanças observadas.

A receptividade do estigma foi verificada a partir dos estigmas de 12 flores em diferentes estágios de desenvolvimento, mergulhados em uma gota de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). A formação de bolhas na superfície estigmática da flor foi considerada como sendo indicativo do estigma receptivo, conforme metodologia proposta por Dafni (1992).

Para obtenção dos dados referentes ao néctar, inflorescências foram marcadas e ensacadas desde a pré-antese, observando-se as flores com lupa de mão a cada hora no período das 4:00h às 18:00h. As inflorescências com flores em antese eram então levadas ao laboratório para serem observadas ao microscópio a fim de verificar a presença de néctar para posterior quantificação, através da coleta por capilares e concentração de açúcar com o uso de um refratômetro.

A presença de pólen kit foi verificada a partir da observação de grãos de pólen obtidos de anteras deiscentes de flores, montados em preparações histológicas com uma gota de água e observadas ao microscópio ótico.

Para estimar a quantidade de grãos de pólen por antera, duas flores em pré-antese (seis anteras cada) foram maceradas em solução aquosa de azul de metileno e examinadas com microscópio óptico. O número de grãos de pólen foi estimado a partir da delimitação de três campos (4% cada), correspondentes a 12% da área de abrangência da preparação.

A análise sensorial das flores foi realizada inicialmente inspirando-se o odor de inflorescências diretamente na planta. Posteriormente, inflorescências com flores jovens e senescentes foram coletadas e colocadas separadamente em recipientes fechados por 1h. Em seguida o odor foi verificado por cinco indivíduos, que descreveram sua percepção olfativa. A intensidade do odor foi caracterizada segundo categorias assim estabelecidas: imperceptível (-), fraco (+), forte (++). Quanto à sensação, foi usado o critério: agradável (A) ou desagradável (D). Visando-se identificar a presença de osmóforos, algumas flores foram coletadas, coradas com vermelho neutro e examinadas ao microscópio óptico.

Para avaliar a dispersão de grãos de pólen pelo vento, utilizou-se uma armadilha composta por 10 lâminas revestidas por fita adesiva (megaestigma) para captura de pólen. A armadilha foi disposta a cerca de 30 cm de distância de duas árvores de *M. caesalpiniiifolia* em floração, no período das 6:00h às 15:30h, durante dois dias. As amostras (n=10 lâminas) foram então coradas com vermelho neutro e examinadas ao microscópio óptico. Previamente lâminas de referência dos grãos de pólen da espécie em estudo foram confeccionadas para facilitar a identificação dos grãos de pólen aderidos na armadilha.

Para identificar os visitantes florais, Inflorescências foram inspecionadas e os insetos foram contados, e registrados de acordo com o táxon, durante uma caminhada lenta ao redor de uma árvore, durante 15 min/hora, entre 5h e 15h 30min, por dois dias. Durante as observações foram observados e anotados os recursos florais coletados pelos insetos.

Com o intuito de avaliar o sucesso reprodutivo de *M. caesalpiniiifolia*, contou-se o número de óvulos/flor, a partir de cortes longitudinais do ovário de 5 flores. O número de abscisões e de frutos em 10 inflorescências foi contado diretamente em duas plantas. Além disso, 70 frutos maduros foram coletados e avaliados quanto ao número de sementes produzidas, permitindo a aplicação do cálculo do sucesso reprodutivo (SR). Onde $SR = \frac{\text{número de flores} \times \text{número de óvulos}}{\text{número de sementes}}$.

Avaliou-se ainda a disposição espacial dos frutos nas inflorescências, distinguindo-se as regiões basal, média e apical.

Resultados e discussão

As flores de *M. caesalpiniiifolia* são organizadas em uma inflorescência complexa, com função de flor única, sub-inflorescências do tipo espiga (Fig. 1) e simetria actinomorfa. A flor é monóica, com 3 pétalas semi-fundidas, 3 sépalas fundidas e uma bráctea, ovário súpero, 6 estames e anteras com deiscência longitudinal. Sua fórmula floral é: $K_{(3)} C_{(3)} E_6 G_1^9$.

A antese das flores ocorre à noite, a partir das 4h, e aos primeiros raios de luz, ela é interrompida. As flores marcadas que não estavam abertas ao amanhecer, não abriram durante todo o dia, e só o fizeram na noite seguinte. Nas mesmas inflorescências havia flores em diferentes estágios de desenvolvimento (Fig. 1, Tab. 1). Considerando-se as fases de desenvolvimento das flores ao longo da vida, observou-se a deiscência das anteras limitada à segunda fase do desenvolvimento (Fig. 2) e a receptividade do estigma na fase 4, infere-se que as flores são protândricas (Tab. 1).

Figura 1 - Fases de desenvolvimento durante a antese das flores nas inflorescências de *M. caesalpiniiifolia*.



Não foi possível detectar e coletar néctar nas flores em nenhuma fase de desenvolvimento. Assim, sugere-se que a quantidade de néctar armazenada seja reduzida, ou mesmo que não haja secreção nos nectários florais. Entretanto, foram detectados nectários extraflorais na axila da folha e no pecíolo.

Pela análise sensorial as flores apresentaram odor variável sendo mais intenso nas jovens, e sutil nas senescentes (Tab. 2). Além disso, a reação fracamente positiva observada com o uso do vermelho neutro, indicou que as pétalas possuem osmóforos.

Figura 2 - Estames e pistilos de flores de *M. caesalpiniiifolia*: (A) fase 2 e (B) fase 3 de desenvolvimento.

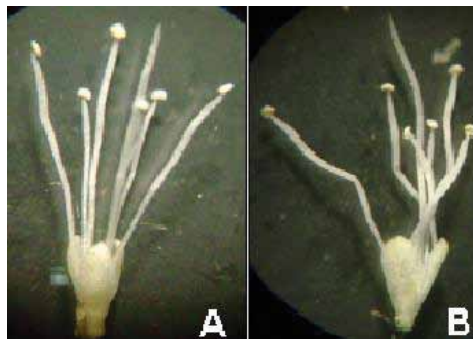


Tabela 1 - Fases do desenvolvimento das flores (Antese) de *M. caesalpiniiifolia*: (1) pré-antese; (2) antese; (3-5) senescência, Limoeiro do Norte, Ceará, Brasil.

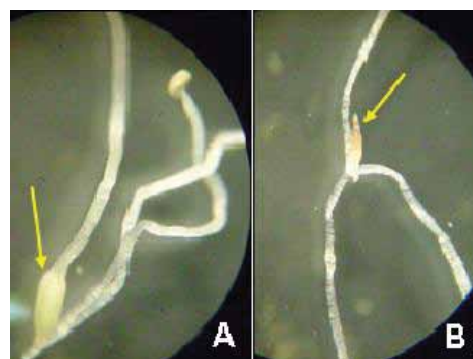
Fases da antese	Estames (aparência)	Anteras (estado)	Pistilo (altura)	Estigma: receptividade, textura, coloração
1 (pré-antese)	enovelados	Indeiscentes	~ 3 anteras > 3 anteras	(-), liso, claro
2	Eretos	deiscentes	~ 3 anteras > 3 anteras	(-), liso, claro
3	Início da senescência	Algumas ausentes	> 6 anteras	(-), liso, claro
4	Senescentes	ausentes	> 6 anteras	(+), rugoso, ferrugíneo
5	Senescentes	ausentes	Senescentes	(-)

Receptividade do estigma (n=12): não receptivo (-), receptivo (+)

Analisando-se quatro inflorescências verificou-se que duas destas apresentavam 100% de flores com ovários desenvolvidos enquanto as demais continham 50% e 80% de flores funcionais masculinas com pistilos reduzidos (pistilóides), respectivamente na base das mesmas (Fig. 3).

O valor médio de grãos de pólen por antera foi de $406,96 \pm 72,66$ grãos. Apesar de não constatar-se a presença de pólen kit nos grãos de pólen de *M. Caesalpiniiifolia*, na análise das lâminas adesivas da armadilha verificou-se

Figura 3 - Detalhe da flor de *M. Caesalpiniiifolia*: (A) ovário desenvolvido; (B) pistilóide.



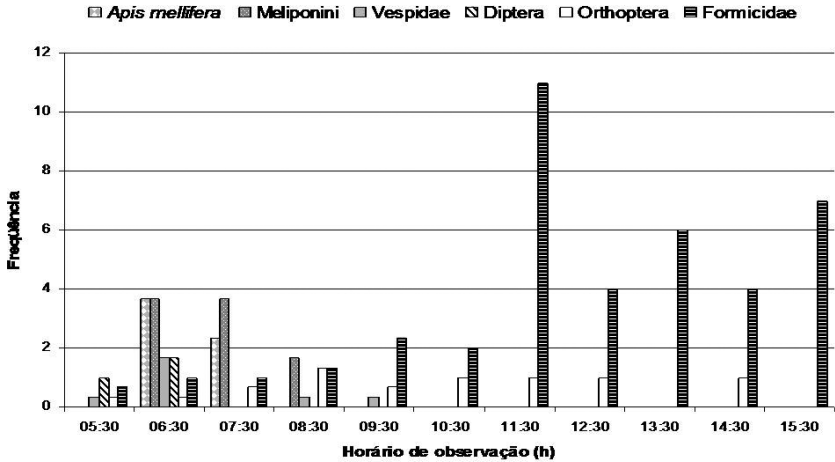
apenas a presença de dois grãos de pólen, indicando baixa dispersão dos mesmos pelo vento. Análises mais detalhadas são necessárias para verificar a dispersão do pólen em curta distância, avaliando-se a contribuição da gravidade e do vento neste processo.

As flores de *M. caesalpiniiifolia* foram visitadas por insetos das ordens Hymenoptera, Diptera e Orthoptera. Indivíduos de *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758), bem como de *Trigona spinipes* (Frabricius, 1973) e *Melipona subnitida* (Ducke, 1911), Vespidae e Diptera visitaram as flores somente durante o período matutino, com um pico de visitação entre 6:30h e 7:30h (Fig. 4). Por outro lado, os insetos da família Formicidae visitaram as inflorescências ao longo de todo o período de observação, sendo a maior intensidade registrada entre 11:30h e 15:30h. Indivíduos de *M. caesalpiniiifolia* também foram visitados pelas abelhas melíferas no Piauí (Jesus 1996) e Carvalho (2007) cita além de *Apis mellifera*, a presença de 'diversos insetos pequenos', embora não mencione quais sejam estes insetos.

Tabela 2 - Análise sensorial das flores de *Mimosa caesalpiniiifolia*, Limoeiro do Norte, Ceará, Brasil. Intensidade: imperceptível (-), suave (+), forte (++) . Sensação: agradável (A), desagradável (D)

Indivíduos	Intensidade		Odor	
	Inflor. Jovem	Inflor. Senesc.	Inflor. Jovem	Inflor. Senesc.
1	++	+	A	D
2	+	-	D	-
3	++	+	D	?
4	+	-	A	-
5	++	-	A – D	+
	++	-	A	-

Figura 4 - Frequência de insetos antófilos em flores de *M. caesalpiniiifolia*.



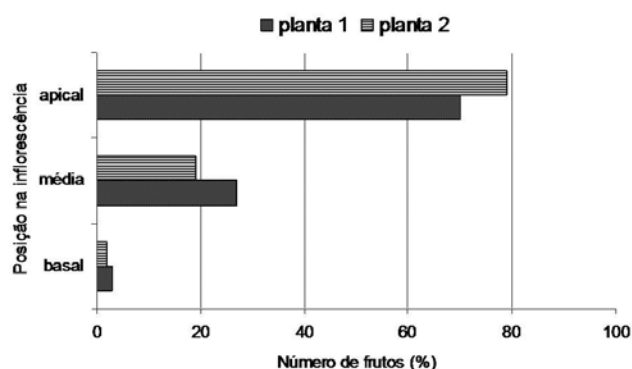
O maior percentual de frutos foi observado na posição apical da inflorescência. Portanto, os dados indicaram que o sucesso reprodutivo de *M. caesalpiniiifolia* é extremamente baixo, atingindo apenas 0,88% da conversão de óvulos em sementes (Tab. 3, Fig. 5). As características das flores, reunidas na tabela 4, indicam que as síndromes de polinização mais prováveis de *M. caesalpiniiifolia* são a entomofilia e a anemofilia. Portanto, considera-se que o resultado da polinização deveu-se, provavelmente, à ação combinada dos insetos, da gravidade e em menor grau também do vento. Na literatura menciona-se que a polinização de *M. caesalpiniiifolia* é essencialmente entomófila (RIBASKI et al., 2003).

Tabela 3 - Sucesso reprodutivo nas flores de *M. caesalpiniiifolia*, Limoeiro do Norte, Ceará, Brasil.

	Flores/inflor. (n=10)	Óvulos (n=5)	Frutos/inflor. (n=70)	Sementes/fruto (n=70)	Produtividade
Média ± sd	156,1 ± 29,54	9	1,74 ± ?	7,13 ± 1,41	12,40
% sucesso		100%	1,11%	79,22%	0,88%

A indicação de geitogamia em *M. caesalpiniiifolia*, atribuída à protandria das flores (Tab. 3) e a baixa visitação de insetos nas flores, necessários como agentes polinizadores para a transferência dos grãos de pólen das flores masculinas para as femininas, excluindo-se fatores fisiológicos, elucidam o baixo sucesso reprodutivo da espécie estudada. Os dados relativos ao sucesso reprodutivo ainda sugerem tratar-se de uma espécie auto-incompatível, já que numerosas flores vizinhas permanecem com baixo índice de frutificação. Além disso, a presença de flores masculinas, com pistilos reduzidos, que não produzem frutos e sementes, também foi um fator que influenciou a produtividade, embora não tenha sido contabilizado neste estudo de caso.

Figura 5 - Percentual de frutos em função da disposição espacial dos mesmos nas inflorescências de *M. caesalpiniiifolia*.



Considerações finais

Lima, A. (1995) destacou *M. caesalpiniiifolia* como a espécie mais importante na estação chuvosa (principalmente março, abril e maio) para o fornecimento de pólen às abelhas, em Limoeiro do Norte, CE. Além disso, segundo Noronha (1997) esta também é uma das plantas de maior importância para produção de

mel no sertão cearense. Freitas (1991) já havia salientado anteriormente que a época chuvosa sem dúvida é a mais propícia à apicultura, por fornecer maior quantidade de recursos alimentares às abelhas. Este autor também mencionou *M. caesalpiiniifolia* como uma planta presente na dieta das abelhas, tanto fornecendo pólen quanto néctar. Ela seria ainda importante na produção apícola, sendo visitada pelas abelhas para coleta de néctar e pólen (FREITAS 1996).

Tabela 4 - Características de *M. caesalpiiniifolia* associadas às síndromes florais.

Características da planta	Entomofilia	Anemofilia	Diversas síndromes
Antese noturna		X	X
Grãos de pólen pequenos		X	
Ausência de néctar		X	
Pólen kit não evidente		X	
Inflorescência conspicua	X		
Flores brancas	X	X	X
Floração massiva	X		
Corola curta			
Odor	X		
Atração à insetos	X		

Em um trabalho realizado por Aires e Freitas (2001) os autores concluíram que os méis produzidos por *Apis mellifera* no litoral e sertão cearenses analisados eram predominantemente heteroflorais, formados a partir de combinações variadas de néctares de 3 a 10 espécies vegetais, inclusive *M. caesalpiiniifolia*, entre outras.

Entretanto, neste estudo, a impossibilidade de detecção de néctar e a alta disponibilidade de pólen nas flores de *M. caesalpiiniifolia* estudadas sugerem que a representatividade dos grãos de pólen nos méis possa ser elevada, relativamente ao néctar correspondente. O método usual para a análise da origem botânica do mel leva em conta os percentuais de pólen presentes e estes, eventualmente, podem diferir em proporção quando relacionados ao conteúdo de néctar da mesma planta. Realmente, entre as plantas poliníferas, isto é, que produzem muito pólen e relativamente pouco néctar (como por exemplo, espécies do gênero *Mimosa*) pode haver uma super-representação nos espectros polínicos (FREITAS, 1991; BARTH, 2009). Assim como a frequência e densidade das espécies vegetais na Caatinga variam bastante entre as localidades (FREITAS, 1996), uma determinada espécie poderia ter fluxos de produção de néctar também variável, em locais diversos.

Finalmente, o valor desta espécie botânica também deve ser considerado para a manutenção das populações de abelhas sociais nativas, a exemplo de *Melipona subnitida*, especialmente em ambientes antropizados. A relação entre abelhas e flores *M. caesalpiiniifolia* foi positiva, configurando o característico mutualismo. Também a presença

de Formicidae, forrageando nos nectários extraflorais desta espécie, estabelece benefícios líquidos positivos para ambos os parceiros, conforme Bronstein (1994).

Agradecimentos

Agradecemos ao Sr. Afonso Odério Nogueira Lima pelas facilidades e gentileza no uso de sua fazenda e instalações que permitiram a realização deste trabalho. Também somos gratos pela disponibilidade e auxílio dos professores Peter G. Kevan, Blandina F. Viana, Breno Magalhães Freitas, Favízia Freitas de Oliveira e Leonardo Galetto.

Referências

AIRES, E. R. B.; FREITAS, B. M. Caracterização palinológica de algumas amostras de mel do Estado do Ceará. *Ciência Agronômica*, v. 32, p. 22-29, 2001.

BARTH, O. M. *Análise polínica de mel: avaliação de dados e seu significado*. Mensagem Doce, n. 81. 2009. Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/81/artigo.htm>> Acesso em: 23 mar. 2009.

CALDAS, G. G. *Caracterização de plantas de sabiá (Mimosa caesalpinifolia Benth) submetidas à fertilização fosfatada. Itambé-PE*. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. Disponível em: <<http://www.pgз.ufpe.br/files/dissertacoes07/Glauco%20Gouvea.pdf>> . Acesso em: 13 mar. 2009.

CARNEIRO, M. S. S.; VIANA, O. J. Plantas forrageiras xerófilas. III - Sabiá - *Mimosa caesalpinifolia* Benth, no semi-árido cearense. *Ciência Agronômica*, v. 20, p. 19-82, 1989.

CARVALHO, J. H. et al. Seleção de sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth) para obtenção de plantas sem acúleos. Mossoró: ESAM, 1990. (Coleção mossoroense. Série B, 782)

CARVALHO, P. E. R. Sabiá: *Mimosa caesalpinifolia*. Circular técnica 135. EMBRAPA Florestas. Colombo, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/circtec/edicoes/Circular135.pdf>> Acesso em: 23 mar. 2009.

DAFNI, A. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford : Oxford University Press, 1992.

DRUMOND, M. A.; OLIVEIRA, V. R.; LIMA, M. F. *Mimosa caesalpinifolia*: estudos de melhoramento genético realizados pela Embrapa Semi-Árido. 1999. Disponível em: < <http://www.cpatsa.embrapa.br:8080/catalogo/livrorg/sabiasemiarido.pdf> > . Acesso em: 21 jun. 2010.

FREITAS, B. M. Caracterização e fluxo de néctar e pólen na Caatinga do Nordeste. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11., 1996, Teresina. *Anais...* Teresina, 1996. p.181-185.

_____. *Potencial da Caatinga para produção de pólen e néctar para exploração apícola*. Fortaleza. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). 1991. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

JESUS, B. 1996. Estudo botânico da flora melífera na área do CEFAS. In: In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 11., 1996, Teresina. *Anais...* Teresina, 1996.

LIMA, A. O. N. *Pólen coletado por abelhas africanizadas em apiário comercial na caatinga cearense*. 1995. 118 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

LIMA, R. R. A. *Projeto Áridas - Nordeste: uma estratégia para geração de emprego e renda*. 1995. Disponível em: <www.ipea.gov.br/pub/td/td_387.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2009.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2000.

MELO, R. R.; PAES, J. B. Resistência natural de 4 tipos de madeira do Semi-Árido brasileiro a fungos xilófagos em condições de laboratório. *Revista da Caatinga*, v. 19, n. 2, p. 169-175, 2006. Disponível em: <http://artigocientifico.uol.com.br/uploads/artc_1161627552_16.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2009.

MOURA, O. N. et al. Conteúdo de nutrientes na parte aérea e eficiência nutricional em *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 1, p. 23-29, 2006. Disponível em: <<http://www.proqualiti.org.br>>. Acesso em: 13 mar.2009.

NORONHA, P. R. G. Caracterização de méis cearenses produzidos por abelhas africanizadas: parâmetros químicos, composição botânica e colorimetria. 1997. 147 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

RIBASKI, J. et al. Sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia*) Árvore de Múltiplo uso no Brasil. Comunicado técnico 104. Embrapa Florestas. 2003. Disponível em: www.cnpf.embrapa.br/publica/comuntec/edicoes/com_tec104.pdf. Acesso em: 13 mar. 2009.

RIZZINI, C. T. *Árvores e madeiras úteis do Brasil*. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1995.

Avaliação da produção de néctar de *Caesalpinia ferrea* (Mart.) (Fabaceae: Papilionoideae) e sua relação com os visitantes florais (legítimos e roubadores) em Limoeiro do Norte-Ceará-Brasil

Jaqueline Figuerêdo Rosa^{1,2}

João Paulo Loyola de Oliveira²

Elisabete Alves³

Carlos Daniel Melo Ortiz⁴

O gênero *Caesalpinia* apresenta distribuição pantropical e abrange cerca de 130 espécies (Lewis & Gibbs 1999). A espécie *Caesalpinia ferrea* Mart. (Fabaceae) é arbórea e está distribuída por toda a região tropical do Brasil. É perenifólia ou semi-decídua, de ampla dispersão, com baixa densidade populacional e apresenta tolerância em áreas abertas sendo então utilizada em programas de reflorestamento de áreas degradadas (Lorenzi 1992). Popularmente conhecida como pau-ferro, tem importância econômica, principalmente na indústria de fármacos e na construção civil (Lorenzi 1992).

Segundo Vogel (1990) o gênero *Caesalpinia* apresenta quatro tipos de flores, e cada tipo está adaptado a diferentes polinizadores, sugerindo que as diferentes características florais das espécies dentro do gênero *Caesalpinia* podem estar fortemente relacionadas com os tipos de polinizadores. Alguns estudos mostraram uma diversidade desses visitantes florais que potencialmente polinizam os indivíduos desse gênero (Cruden & Hermann-Parker 1979, Lewis & Gibbs 1999, Moré *et al.* 2006).

O néctar é o recurso floral mais freqüente entre as angiospermas (Endress 1996). A secreção de néctar pode variar em função do local, do horário, da idade e do tamanho da flor e/ou em função de condições ambientais externas (Zimmerman & Pyke 1988, Sazima *et al.* 1994, Vicentini & Fischer 1999). Além disso, a disponibilidade e a distribuição do néctar entre flores e ao longo do dia podem influenciar o comportamento de polinizadores com respeito à freqüência de visitas, ao número de flores visitadas e ao tempo de duração da visita (Rathcke 1992).

1 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano (jaquefrosa@gmail.com)

2 Universidade Federal da Bahia e Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (biologojoao@gmail.com)

3 Universidade Federal da Bahia (betybio@yahoo.com.br)

4 Universidad Nacional de Colombia (cardanielco@gmail.com)

Acredita-se que características do néctar como volume, concentração e tipos de açúcares, e concentração de outros constituintes possam estar associadas ao tipo de polinizador ao qual a planta está adaptada, e que variações nessas características estão relacionadas às necessidades nutricionais e estruturas das partes bucais dos seus polinizadores (Proctor 1996, Opler 1983).

O relacionamento entre plantas e animais polinizadores é considerado mutualístico, pois ambos os grupos se beneficiam da relação (Howe & Westley 1988). Entretanto este mutualismo está sujeito a “trapaceiros” que utilizam o recurso oferecido pela planta sem realizar a polinização (Maloof & Inoye 2000). Alguns animais, por exemplo, são roubadores de néctar, eles removem o néctar das flores através de um orifício feito na corola. Eles são chamados de roubadores primários, se fazem o furo, ou secundário, se utilizam furos feitos por outro animal (Inouye 1980).

Segundo Maloof & Inoye (2000) os visitantes roubadores (que injuriam a flor durante a coleta do recurso), normalmente, são considerados trapaceiros que têm efeito negativo no sucesso reprodutivo da flor, entretanto esses animais podem ter efeito neutro ou positivo também.

A abelha *Trigona spinipes* (Fabricius, 1793) (Hymenoptera: Apidae), por exemplo, é uma espécie considerada prejudicial a certas culturas (Gallo *et al.* 1988, Sazima & Sazima 1989), devido ao seu comportamento forrageador, a defesa de recursos alimentares contra outras espécies de abelhas e a sua ação pilhadora (Johnson & Hubell 1974, Cobert & Willmer 1980).

Neste trabalho estudou-se *Caesalpinia ferrea*, importante espécie arbórea da Caatinga, um dos biomas mais vulneráveis do Brasil, quanto sua dinâmica de produção de néctar e sua interação com os visitantes florais no município de Limoeiro do Norte do estado do Ceará.

Os objetivos do estudo foram: (1) Observar e identificar os visitantes florais de *Caesalpinia ferrea* e identificar os possíveis polinizadores; (2) Avaliar a frequência e comportamento dos visitantes florais durante o período de duração da flor; (3) Analisar a curva de produção de néctar; (4) Avaliar se há relação entre a frequência de visitantes florais (legítimos e roubadores) e a produção de néctar; (5) Avaliar se há produção de néctar pelas flores afetadas por roubadores de néctar e (6) Avaliar se há diferença nos visitantes florais (legítimos e roubadores) entre uma área florestada urbana e uma rural.

Materiais e métodos

Para a análise das fenofases, as flores de *Caesalpinia ferrea* foram observadas das 05:00 da manhã até o fechamento por dois dias. No primeiro dia, dez flores que fecharam foram marcadas para verificar se elas abriam novamente no dia seguinte. Cinco flores foram monitoradas a cada trinta minutos para registrar o período de liberação do pólen das anteras.

A morfologia floral foi analisada através da observação de algumas flores utilizando um microscópio estereoscópico. Foram preparadas lâminas do pólen, que foram analisadas em microscópio óptico, visando a identificação de “pollenkit”.

O néctar foi extraído utilizando-se microcapilares de vidro graduados de cinco μL , sem remoção da flor da planta e tomando cuidado para não danificar os nectários ou outras estruturas da flor. Duas variáveis puderam ser medidas em campo: o volume em μL e a concentração de açúcar. A concentração foi medida utilizando-se refratômetro. No dia anterior às medições, os botões florais foram ensacados com sacos de papel para evitar visitas. Os dados referentes ao néctar foram coletados no Centro de Articulação e Educação Ambiental (CAEA) do Município de Limoeiro do Norte, Ceará.

O padrão de secreção de néctar e o efeito da remoção foram determinados através da extração do néctar em três grupos de flores. Cada flor do primeiro grupo foi submetida a três extrações em intervalos de quatro horas começando às 7:00 (Tratamento 1). As flores do segundo grupo foram submetidas a duas extrações em intervalos de quatro horas começando às 11:00 (Tratamento 2). Nas flores do terceiro grupo foi realizada apenas uma extração às 15:00 (Tratamento 3). Cada grupo foi constituído de 25 flores, distribuídas equitativamente entre 5 árvores.

As primeiras remoções de néctar de cada tratamento foram comparadas com o teste de Kruskal-Wallis, visto que os dados desviavam muito da homocedasticidade. O teste de comparações múltiplas de Dunn foi utilizado para verificar quais dos pares de tratamento diferiam entre si.

Para verificar o efeito da remoção, as produções totais de cada tratamento foram comparadas utilizando a análise de variância (ANOVA) e com o teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer foram avaliados quais pares de tratamento diferiam entre si.

Para avaliar se haviam diferenças entre as retiradas sucessivas dos tratamentos 1 e 2 foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis porque os dados desviaram das premissas de normalidade e homocedasticidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa estatístico GraphPad InStat.

Foram realizados três tratamentos (visita legítima simulada, roubo simulado e roubo natural) para avaliar se as abelhas *Trigona spinipes* extraem quantidades significantes de néctar na sua primeira visita e se o roubo efetuado por estas abelhas afeta a produção posterior de néctar. Cada tratamento foi repetido em seis flores distribuídas aleatoriamente entre as árvores de *C. ferrea* do CAEA.

No tratamento roubo natural, o néctar residual foi extraído e seu volume foi aferido imediatamente após o roubo de flores não visitadas anteriormente. Para garantir que aquela era a primeira visita, as árvores foram monitoradas e foi observado o comportamento da abelha desde sua chegada na flor até sua completa extração do néctar. As flores foram ensacadas imediatamente após o roubo e aferição do volume residual.

No tratamento roubo simulado, foi utilizado uma agulha de seringa para simular o orifício e o roubo realizado pelas abelhas *T. spinipes*. O néctar foi retirado com microcapilar e o volume verificado, e as flores foram ensacadas.

Nesses dois primeiros tratamentos, as flores foram submetidas a medições do volume de néctar produzido a cada três horas, totalizando quatro extrações. Todas as extrações posteriores foram realizadas pelos mesmos orifícios da primeira extração, sejam eles do roubo natural ou simulado.

Para o tratamento visita legítima simulada foram selecionadas, aleatoriamente, seis flores que receberam o tratamento 1 (grupo 1) quando feita a caracterização da dinâmica de produção de néctar (seção anterior).

Visto que os dados não eram normais e/ou homogêneos, para avaliar se haviam diferenças entre tratamentos, quanto a primeira extração e a produção posterior, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis. E para avaliar quais pares de tratamento diferiam entre si foi realizado o teste de comparações múltiplas de Dunn.

Os dados sobre os visitantes florais foram obtidos em duas áreas no município de Limoeiro do Norte, Ceará. Foi selecionada uma área urbana de remanescente de mata e de reflorestamento de espécies nativas, localizada dentro dos limites da cidade: o Centro de Articulação e Educação Ambiental (CAEA). A segunda área foi a Fazenda Altamira, localizada na zona rural e trata-se de uma área de preservação natural onde existe atividade de criação de abelhas *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) e, em menor escala, de *Melipona subnitida* (Ducke, 1911).

Em cada uma das áreas foram feitas contagens do número de visitantes por 10 minutos de cada hora, iniciando-se às 7:00 e encerrando-se às 17:10. Foram registrados a espécie, o comportamento e o recurso utilizado. Um indivíduo de cada espécie foi coletado, utilizando-se rede entomológica, para posterior identificação por especialista.

Resultados

As flores de *Caesalpinia ferrea* (Mart.) apresentam cinco pétalas e cinco sépalas, são zigomorfas, pequenas (15 x 10 mm), amarelas e hermafroditas. Apresentam um hipanto, dentro do qual se encontra o ovário semi-ífero e as glândulas produtoras de néctar, formando, assim, uma câmara nectarífera que acumula o néctar produzido (Fig. 1). As duas pétalas inferiores apresentam formato oval e as três superiores são circulares, sendo a superior mediana (estandarte, cerca de sete mm de largura) a mais interna, apresenta um espessamento das suas paredes e pontuações vermelhas que representam guias de néctar (Fig. 2). Para o visitante floral ter acesso legítimo ao néctar, ele deve exercer pressão sobre essa pétala estandarte de modo a deslocá-la e poder inserir a estrutura sugadora na câmara nectarífera. Neste processo, o visitante entra em contato com as estruturas reprodutivas da planta, em geral, através da região abdominal do mesmo; assim a flor de *C. ferrea* é esternotríbica.

Foi constatado a presença de “pollenkitt” nos grãos de pólen de *C. ferrea*, como as anteras nessa flor ficam expostas a maior parte do tempo pode-se prever no “pollenkitt” a função de proteção contra a radiação ultra-violeta como pontuado por Pacini & Hesse (2005).

As flores de *C. ferrea* duram um dia, iniciam a antese às 05:30, estando completamente abertas por volta das 07:00, e começam a fechar às 16:20. Por volta das 06:20 inicia-se a secreção de néctar e o pólen é liberado pelas anteras entre 09:30 e 10:00.

Figura 1-3. Flor de *Caesalpinia ferrea* Mart. 1. Corte longitudinal mostrando a câmara nectarífera. 2. Vista frontal. 3. Hipanto mostrando o orifício feito por *Trigona spinipes*.

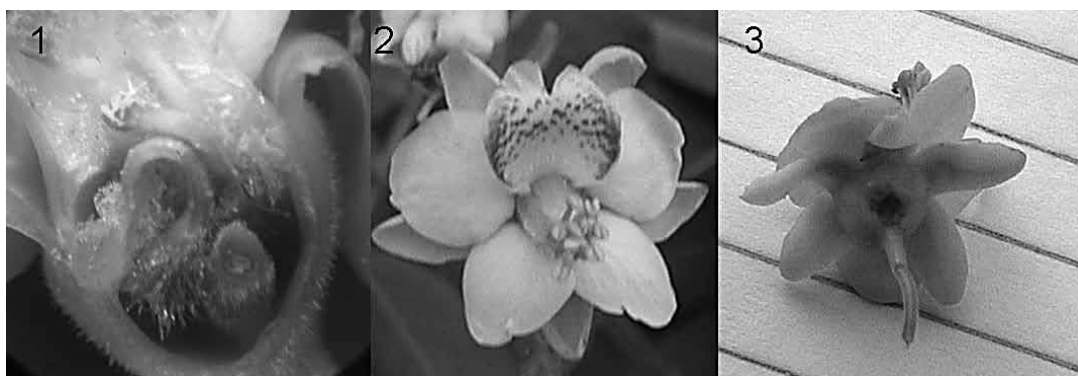
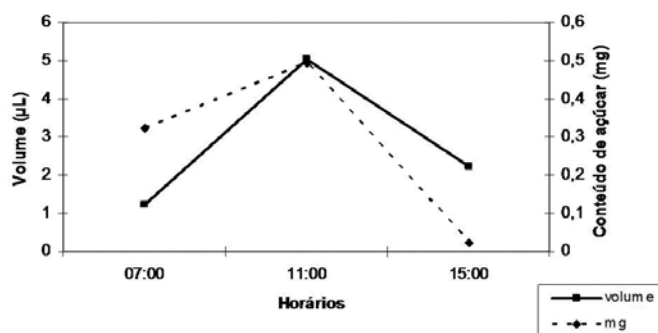


Figura 4. Produção de néctar de *Caesalpinia ferrea* Mart. ao longo do dia.



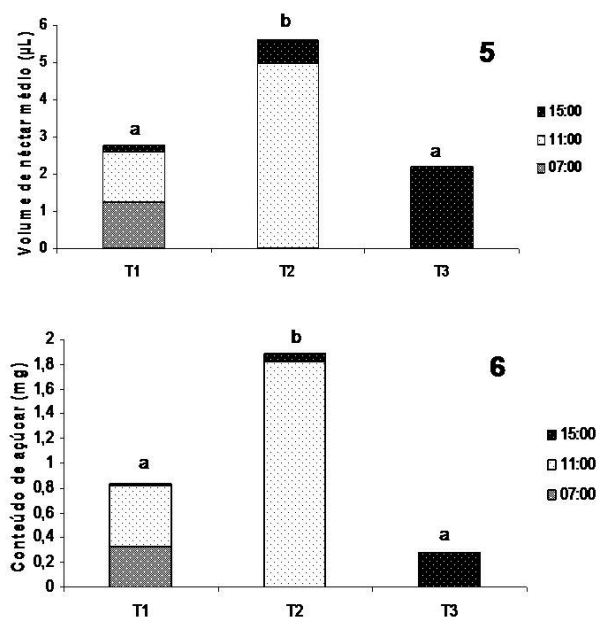
Considerando-se apenas as primeiras retiradas de néctar de cada tratamento, existiram diferenças estatísticas na quantidade de néctar coletado entre os horários (Kruskal-Wallis: $p=0.0001$), sendo que a quantidade das 11:00 diferiu significativamente das 7:00 e das 15:00 (Dunn: $p<0.001$ e $p<0.01$, respectivamente). Assim, ocorreu um aumento no volume de néctar

no período da manhã e uma diminuição pela tarde. O mesmo padrão é encontrado para a concentração do néctar e a quantidade de solutos (açúcar) disponíveis (Fig. 4).

Considerando a quantidade total de néctar produzido, a produção de néctar também diferiu estatisticamente entre os tratamentos (ANOVA, $p=0.0002$), onde o tratamento 2 diferiu do tratamento 1 e 3 (Tukey-Kramer: $P<0.01$ e $P<0.001$, respectivamente). Isto sugere que existe um efeito deletério da retirada de néctar sobre a sua produção pelas flores de *C. ferrea* (Fig. 5 e 6). Entretanto, não houve diferenças estatísticas (Kruskal-Wallis: $p=0.3550$) no volume de néctar produzido entre as retiradas subsequentes de néctar dos

tratamentos 1 e 2, sugerindo que o número de retiradas não influencia na produção do néctar subsequente (Fig. 7).

Figura 5-6. Produção de néctar médio por flor com efeito das retiradas. 5. Produção em volume. 6. Produção em miligramas de açúcar. (T1 = tratamento com três retiradas; T2 = tratamento com duas retiradas; T3 = tratamento com uma retirada). Letras diferentes sobre as barras indicam diferenças significativas entre as médias.



A produção total máxima de néctar, em volume, de *C. ferrea* foi de 11,07 µL e as concentrações médias foram 24% às 7:00, 32% às 11:00, e 12% às 15:00.

C. ferrea foi visitada por uma grande diversidade de animais (Tab. 1), incluindo vertebrados (aves) e invertebrados (abelhas, vespas, borboletas, formigas e moscas). As abelhas foram os visitantes mais abundantes e estavam distribuídas em nove espécies.

Apesar de serem os visitantes florais mais abundantes tanto no CAEA (95,7%) quanto na Fazenda Altamira (40,3%), as abelhas *Trigona spinipes* apresentaram o comportamento roubador (Tab. 1). Essas abelhas removiam pedaços da parede do hipanto nas flores de *C. ferrea*, fazendo orifícios circulares (Fig. 3; dois mm de diâmetro) por onde elas

acessavam o néctar sem tocar as estruturas reprodutivas da flor. No CAEA, elas iniciam suas visitas muito cedo, até antes das flores estarem completamente abertas (05:30), mas o pico de visitação se deu entre 8:00 e 12:00, declinando pela tarde. Entretanto, a primeira visita que resultou em furo e roubo deu-se às 06:55, e às 11:00, 95% de todas as flores já haviam sido furadas em uma das árvores. Essas abelhas apresentaram, também, o comportamento de revisitar orifícios feitos anteriormente.

Outros visitantes florais que atuaram como roubadores foram *Apis mellifera* e *Melipona subnitida*, entretanto essas abelhas utilizaram os orifícios feitos por *T. spinipes*, atuando assim como roubadores secundários.

Os visitantes que apresentaram visita legítima e que, provavelmente, atuaram como polinizadores foram: *Megachile* sp1, *Megachile* sp2, *Melipona subnitida*, *Xylocopa frontalis* (Olivier, 1789), *Xylocopa grisescens* (Lepelleties, 1841), *Centris* sp1, Halictidae sp1 e as Aves. Nas abelhas do gênero *Xylocopa* a deposição de pólen foi na região do esterno (esternotribica).

As vespas (*Brachygastra lecheguana* (Latreille, 1824) e Vespidae sp1) não foram observadas coletando néctar nem pólen, estes insetos vasculhavam as flores e botões de *C. ferrea* a procura de ovos e larvas. Causavam danos à planta, pois cortavam botões e estruturas florais durante a procura de suas presas (larvas e ovos).

Formicidae foi visto uma vez na planta e não foi possível analisar qual o recurso que eles procuravam. As moscas foram observadas seis vezes em plantas na Fazenda Altamira e supõe-se que elas sejam as progenitoras dos ovos e larvas presentes nos botões florais e nas flores abertas de *C. ferrea*.

Na área da Fazenda Altamira a frequência de roubadores, especialmente *Trigona spinipes*, foi cerca de quatro vezes menor que no CAEA. E, além dos dois locais diferirem bastante nas espécies que apresentaram visitas legítimas, no primeiro o número dessas visitas foi cerca de duas vezes maior. Ademais, na Fazenda Altamira o número de visitantes que não procuravam como recurso néctar ou pólen foi bem superior ao registrado no CAEA, especialmente quando se leva em consideração as vespas que, sozinhas, totalizaram 28,9% das visitas na área da Fazenda.

No CAEA, os visitantes que coletavam néctar concentraram suas visitas principalmente pela manhã, apresentando um considerável declínio pela tarde. Entretanto na Fazenda, a frequência manteve-se relativamente constante ao longo do dia, apresentando um rápido declínio nas duas últimas horas da tarde (Fig. 8).

Aparentemente houve correlação entre a quantidade de néctar presente na flor e o número de visitantes florais de *C. ferrea* (Fig. 9) no CAEA. Assim, no período da manhã ocorreu tanto o pico de produção de néctar como o pico de abundância de visitantes florais,

Figura 7. Comparação das produções sucessivas de néctar, após a primeira extração. (T1 = tratamento 1; T2 = tratamento 2).

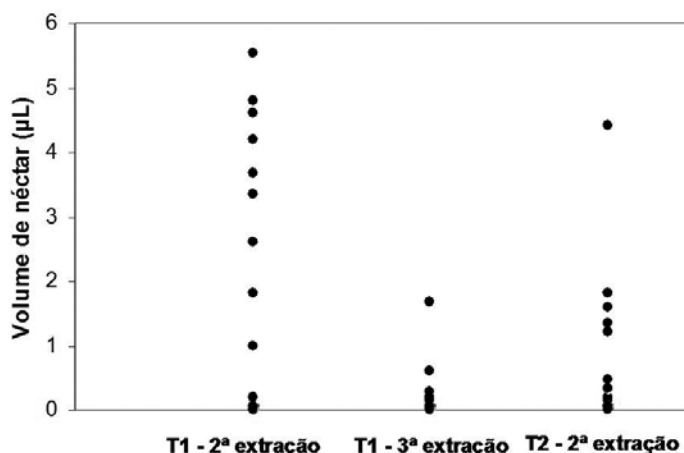
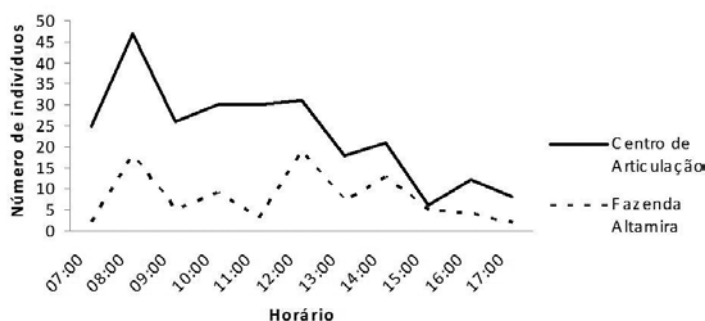


Figura 8. Abundância dos visitantes florais de *Caesalpinia ferrea* Mart em duas localidades (Centro de Articulação e Educação Ambiental, Fazenda Altamira) ao longo do dia.



entretanto, no período da tarde ocorreu uma diminuição da quantidade de néctar disponível e concomitantemente uma diminuição na abundância de visitantes florais.

O teste de Kruskal-Wallis mostrou diferenças significantes ($p=0,0046$) entre a quantidade residual de néctar após o roubo das abelhas *Trigona spinipes* e as quantidades extraídas nos tratamentos visita legítima simulada e roubo simulado (Fig.10). Ademais, o teste de comparações múltiplas de Dunn indicou que estas diferenças se dão entre os tratamentos visita legítima simulada e roubo natural, e entre roubo simulado e roubo natural, corroborando que as abelhas *T. spinipes* extraem quantidade significativa de néctar nas suas primeiras visitas.

Também houve diferenças significantes (teste de Kruskal-Wallis: $p= 0,0107$) na produção posterior de néctar entre os três tratamentos. O teste de Dunn indicou diferenças entre os tratamentos visita legítima simulada e roubo natural, e entre roubo simulado e roubo natural (Fig. 11).

Figura 9. Comparação entre a abundância de visitantes florais atraídos e o volume de néctar produzido por flores de *Caesalpinia ferrea* Mart no Centro de Articulação e Educação Ambiental.

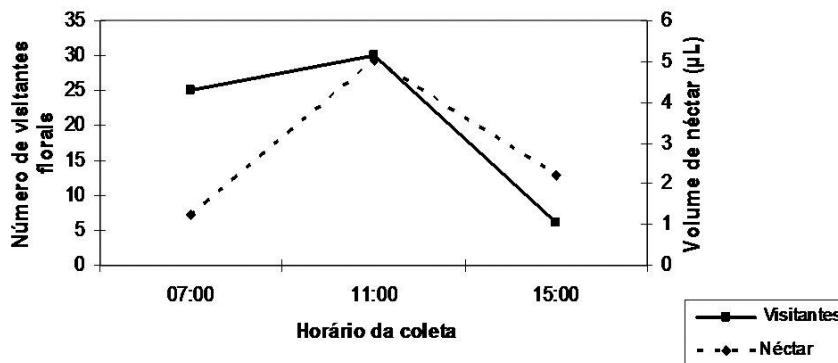


Figura 10-11. Comparação da produção de néctar entre os tratamentos visita legítima simulada, roubo simulado e roubo natural. 10. Primeira extração do néctar produzido ou residual. 11. Produção do néctar após primeira extração ou roubo. Letras diferentes sobre as barras indicam diferenças significativas entre as médias.

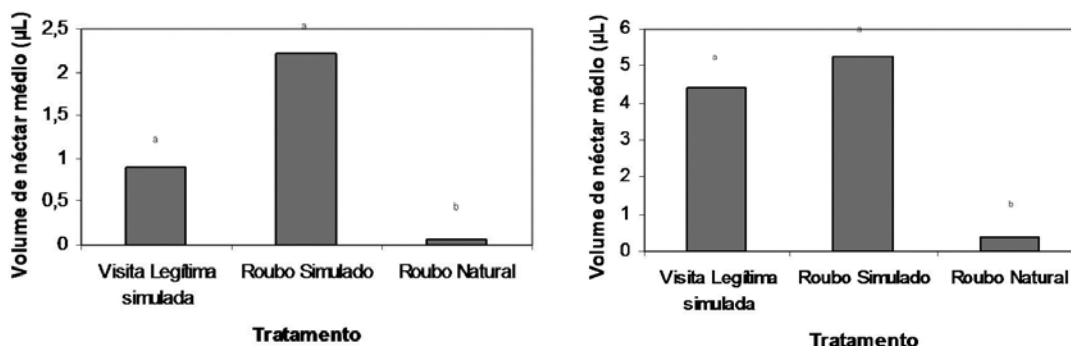


Tabela 1. Número de indivíduos e comportamento dos visitantes florais de *Caesalpinia ferrea* Mart em uma área florestada urbana (Centro de Articulação e Educação Ambiental) e uma rural (Fazenda Altamira) no município de Limoeiro do Norte (CE). (RS = roubo secundário; RP = roubo primário; CB = corte do botão; VL = visita legítima).

Visitante	Centro de Articulação		Fazenda Altamira	
	Nº de indivíduos	Recurso/Comportamento	Nº de indivíduos	Recurso/Comportamento
<i>Apis mellifera</i>	2	Néctar/RS e Pólen	0	
<i>Trigona spinipes</i>	244	Néctar/RP	60	Néctar/RP e Pólen
<i>Megachile sp1</i>	1	Néctar/VL	0	
<i>Megachile sp2</i>	0		7	Néctar/ VL
<i>Melipona subnitida</i>	2	Néctar/ VL	11	Néctar/ VL ou RS
<i>Xylocopa frontalis</i>	1	Néctar/ VL	0	
<i>Xylocopa grisescens</i>	1	Néctar/ VL	0	
<i>Centris sp1</i>	0		4	Néctar/ VL
Halictidae sp1	1	Néctar/ VL	0	
Aves	1	Néctar/ VL	4	Néctar/ VL
<i>Brachygastra lecheguana</i>	0		43	Ovos e Larvas/CB
Vespidae sp1	1	Ovos e Larvas/CB	12	Ovos e Larvas/CB
Diptera	0		6	Postura de ovos?
Formicidae	0		1	Néctar?
Lepidoptera	1	Néctar/ VL	1	Néctar/ VL
Total	255		149	

Discussão

A dinâmica de produção de néctar de *Caesalpinia ferrea* parece incluir as fases de secreção, cessação e reabsorção de néctar. A produção se inicia logo que a flor abre e existe aumento da quantidade de néctar entre 7:00 e 11:00, esse pode ser caracterizado como o período de secreção. Neste período, não apenas o volume do néctar aumentou, mas a concentração também, que se caracteriza como um aumento na quantidade de açúcar secretado. Após este período de secreção, ocorre a cessação da produção de néctar e se inicia a reabsorção, que pode ser inferida (e diferenciada da evaporação de água) baseada na diminuição não só do volume, mas também da concentração de néctar, se houvesse evaporação o néctar ficaria mais concentrado.

No CAEA, o período de maior visitação coincidiu com o período de maior produção de néctar, e o período de reabsorção coincidiu com o período de menor visitação. Entretanto, este padrão em *C. ferrea* resulta, principalmente, devido à abundância de abelhas *Trigona spinipes* (roubadores primários e não polinizadores). Contrariamente, os visitantes que poderiam atuar como polinizadores de *C. ferrea* foram vistos nas suas flores, quase exclusivamente, no período da tarde (período de reabsorção). Esse padrão está em

desacordo com a afirmação de Cruden *et al.* (1983) de que reabsorção ocorre quando os polinizadores estão inativos.

Assim, algumas situações alternativas podem ser sugeridas. As flores de *C. ferrea* realizam reabsorção do néctar antes de murchar, e assim podem reutilizar a energia alocada nos constituintes do néctar para outras funções da flor ou da planta independentemente da presença dos visitantes florais, e esta diminuição da quantidade de néctar leva a uma diminuição da abundância das abelhas *Trigona spinipes*. A diminuição da abundância de *T. spinipes* pode se dar, simplesmente, devido ao fato dos recursos florais terem sido exauridos ao longo do dia. A presença das abelhas *Trigona*, gênero que apresenta espécies com comportamento agressivo na defesa de recursos (Roubik 1982), estaria excluindo prováveis polinizadores das flores de *C. ferrea* no período de maior quantidade de néctar quando é realmente vantajoso defender o recurso.

Na área da Fazenda Altamira, a frequência dos prováveis polinizadores deu-se regularmente ao longo do dia e em abundância três vezes maior que no CAEA. Visto que a pressão de forrageio de abelhas *Trigona* é menor na Fazenda (três vezes menos), torna-se plausível a hipótese de ausência de visitantes legítimos relacionada à presença de *Trigona*, nos períodos de maior quantidade de néctar disponível. Entretanto, não foi observado o comportamento de ataque das abelhas *T. spinipes* em relação a outros visitantes, o que não exclui a possibilidade de exclusão via competição por exploração, por exemplo, Irwin & Brody (1998) observaram que os beija-flores polinizadores de *Ipomopsis aggregata* (Push.) V. E. Grant. evitam plantas e flores intensamente roubadas.

Contrariamente ao observado neste estudo, Bernardello *et al.* (1994) e Rivera *et al.* (1996) observaram concordância da relação entre padrão de secreção e comportamento dos polinizadores com a hipótese de Cruden e colaboradores (1983) para as espécies vegetais *Combretum fruticosum* (Loefl.) Stuntz e *Ligaria cuneifolia* (Van Tigh.), respectivamente. Características peculiares das áreas de amostragem (por exemplo, roubo primário por *T. spinipes* e roubo secundário por prováveis polinizadores) podem ser os determinantes das diferenças nos padrões observados entre esses estudos e nosso trabalho.

Propõe-se que a alta abundância de abelhas *Trigona spinipes* e/ou a carência de outros recursos florais no CAEA no período de coleta ou de florescimento da *C. ferrea* tenha guiado a alta pressão de forrageio dessas abelhas nessas flores e a exclusão competitiva (por interferência ou exploração) de polinizadores efetivos da planta.

A produção total de néctar diminuiu com a remoção do néctar em *C. ferrea*. Esse tipo de efeito de remoção já foi observado muitas vezes em outras espécies, por exemplo, *cuneifolia* (Rivera *et al.* 1996), *fruticosum* (Bernardello *et al.* 1994), *Nicotiana longiflora* (Cav.) (Galleto & Bernardello 1993) e *Puya spathacea* (Griseb.) Mez. (Galleto & Bernardello 1992). Este padrão parece útil caso visitas adicionais não aumentem o número de sementes produzidas, e assim a secreção continuada de néctar seria um desperdício energético (Cruden *et al.* 1983). Os benefícios da diminuição da produção de néctar após a remoção parecem lógicos, já que a flor poderá transferir os recursos, que gastaria na produção de

néctar, para outras funções como desenvolvimento de óvulos. Entretanto, se uma visita não resultar na fertilização dos óvulos, a redução na atração do polinizador decorrente da redução da quantidade de néctar, pode resultar num menor sucesso reprodutivo se a espécie for auto-incompatível. Neste estudo não foi possível avaliar o sistema reprodutivo de *C. ferrea*.

O número de retiradas provavelmente não influenciou a produção subsequente total de néctar em flores de *C. ferrea*. Entretanto, observando-se a figura 3, percebe-se que um terço das flores na segunda extração do tratamento 1 (primeira extração às 7:00) apresentaram alta produção de néctar, comparável a quantidade de néctar extraído na primeira extração às 11:00. Isso poderia sugerir que algumas flores apresentam produção normal de néctar após a primeira retirada se ela fosse feita no período inicial da secreção do néctar, isso garantiria uma maior atração de polinizadores para estas flores e um aumento do sucesso reprodutivo total da espécie. Experimentos controlados devem ser feitos para testar esta hipótese.

O volume máximo de néctar produzido por *C. ferrea* (11,07 μ L) é um valor intermediário entre os volumes máximos médios de flores adaptadas a beija-flores (16,8 μ L) e grandes abelhas (9,75 μ L) encontrados por Opler (1983). Entretanto, muitas flores polinizadas tanto por beija-flores como por grandes e médias abelhas apresentam valores máximos de néctar semelhantes a *C. ferrea* (ver Opler 1983, Galetto & Bernardello 1992, Torres & Galetto 1998). Possivelmente, esta característica da produção de néctar desta planta tenha favorecido a atratividade tanto de abelhas e aves nos locais de estudo.

Visto que a síndrome da melitofilia é largamente distribuída no gênero *Caesalpinia* L., alguns propõem que esta seria a síndrome floral basal deste grupo (Cocucce *et al.* 1992, Lewis & Gibbs 1999). Poucas espécies são conhecidamente não melitófilas, por exemplo, *C. gilliesii* (Wall. ex Hook) D. Dietr. é polinizada por esfingídeos (Cocucce *et al.* 1992) e *C. pulcherrima* (L.) é polinizada por borboletas (Cruden & Herman-Parker 1979). No município de Limoeiro do Norte (CE), 85% das visitas legítimas em flores de *C. ferrea* foram realizadas por abelhas; adicionalmente, em outra área de Caatinga, no recôncavo sul da Bahia, a *C. ferrea* caracterizou-se como uma das principais fontes de néctar de abelhas *Centris*, sendo visitada por quatro espécies deste gênero (Aguiar *et al.* 2003). Assim, apesar de esporadicamente visitadas por aves, as flores de *C. ferrea* parecem apresentar a síndrome basal do gênero, a melitofilia.

Em uma área de caatinga em Livramento do Brumado (no sudoeste da Bahia), a espécie *Caesalpinia calycina* (Benth.) apresentou o volume máximo de néctar (35 μ L) superior ao de *C. ferrea*, entretanto, recebeu apenas uma visita de beija-flor que não contactou as estruturas reprodutivas da flor (Lewis & Gibbs 1999). Ademais, *C. calycina* (Benth.) e *C. pluviosa*, ambas em Livramento do Brumado, tiveram como polinizadores efetivos, algumas espécies também consideradas polinizadoras de *C. ferrea*: *Xylocopa grisescens*, *Xylocopa frontalis*, e espécies de *Centris* não identificadas (Lewis & Gibbs 1999).

Apesar das poucas ocorrências (duas) de abelhas *Centris* nas flores de *C. ferrea* em Limoeiro do Norte (CE), estas abelhas são freqüentes em flores de *Caesalpinia* na caatinga

do recôncavo sul da Bahia (Aguiar *et al.* 2003). *Centris* foram observadas em flores de *C. calycina* (duas espécies), *C. ferrea* (quatro espécies), *C. pyramidalis* Tul. (sete espécies) e *C. microphylla* (Mart.) (quatro espécies), sendo que as 3 últimas espécies foram classificadas entre as principais fontes de néctar dessas abelhas *Centris* (Aguiar *et al.* 2003).

Vespas do grupo Polistinae, incluindo a espécie *Brachygastra lecheguana* Latreille, 1824, utilizam presas como fonte de proteína para as larvas, e néctar como fonte de energia para o adulto e larvas (Hermes & Köhler 2006). São freqüentemente reportadas como importantes polinizadoras de algumas espécies vegetais (Mussury *et al.* 2003, Hermes & Köhler 2006, Nadia *et al.* 2007), ou visitante não polinizador sem, no entanto, causar danos à flor (Rodriguez & Sanoja 2004). Entretanto, em *C. ferrea*, esta vespa não visitou flores abertas em busca do néctar, o que possibilitaria a polinização, mas procuravam larvas e ovos nos botões e neste processo cortava-os e destruíam as estruturas das flores, o que poderia reduzir o sucesso reprodutivo desta espécie vegetal na Fazenda Altamira, onde as vespas foram mais abundantes. Uma vez que são vespas sociais, elas possuem alta capacidade de recrutamento, permitindo-as explorar fontes de presas abundantes com alta eficiência (Richter 2000), o que explicaria sua alta abundância na Fazenda Altamira.

A área da Fazenda Altamira apresentou uma maior riqueza de visitantes florais, maior número de visitas legítimas e um menor número de abelhas roubadoras. Isso já era esperado pois partindo do princípio que esta é uma área florestada maior e mais preservada, o número e diversidade de espécies vegetais que poderiam oferecer o recurso néctar seria maior resultando em menor pressão de forrageio, nas flores de *C. ferrea*, pelas abelhas *Trigona*, que sabidamente podem excluir outros visitantes florais por competição, seja ela por interferência (Roubik 1982) ou exploração.

Tradicionalmente, os roubadores de néctar são considerados “trapaceiros” que causam efeitos negativos para a planta roubada. Entretanto, segundo a revisão de Maloof & Inouye (2000), medidas de efeitos negativos, neutros e positivos dos roubadores de néctar sobre a produção de sementes estão igualmente distribuídas na literatura. Então, estes autores propõem seis questões que ajudariam a prever se a presença do roubador causa consequência positivas ou negativas para o fitness da planta: (1) Os roubadores estão polinizando? (2) Que tipo de organismo é o roubador? (3) O roubador muda o comportamento do polinizador legítimo? (4) Qual a identidade do polinizador legítimo? (5) Quanto néctar é deixado pelo roubador? (6) Quais outros recursos estão disponíveis para o polinizador? Nos próximos parágrafos, as cinco primeiras perguntas são discutidas para avaliar o efeito do comportamento roubador de *Trigona spinipes* sobre a *C. ferrea*.

(1) Os roubadores estão polinizando? - Avaliando o comportamento das *T. spinipes* na flor da *C. ferrea*, não há nenhum indício de que estas abelhas atuem como polinizadoras desta espécie vegetal. Essa abelha pousa diretamente na base da flor e faz o furo sem entrar em contato com as estruturas reprodutivas da mesma. Assim, apesar de algumas espécies roubadoras atuarem esporadicamente como polinizadoras ao tocar as estruturas da flor acidentalmente (Maloof & Inouye 2000) ou atuando como polinizadoras a depender do recurso que coletam (Morris 1996), a *T. spinipes* não atua como polinizadora de *C. ferrea*.

(2) Que tipo de organismo é o roubador? - Algumas espécies de abelhas roubadoras (por exemplo, *Xylocopa* e *Bombus*) são freqüentemente associadas a efeitos positivos ou neutros sobre a produção de semente dos seus hospedeiros (Malloof & Inouye 2000). Entretanto abelhas do gênero *Trigona* estão sempre associadas a efeitos negativos (Roubik 1982, Malloof & Inouye 2000). Isso porque, em geral, estas abelhas apresentam comportamento agressivo e territorialista que guiam a exclusão dos polinizadores por interferência direta (Roubik 1982), e, como apresentam capacidade de recrutamento altamente eficiente, elas podem recrutar companheiras do ninho e explorar o recurso de um modo eficiente tornando a planta menos atrativa para o polinizador (Irwin & Brody 1998).

(3) O roubador muda o comportamento do polinizador legítimo? - Não foi possível avaliar o efeito das *T. spinipes* sobre a distância de voo, o número de flores visitadas e o tempo gasto por flor dos polinizadores, esses são fatores que comprovadamente podem influenciar positivamente ou negativamente o sucesso reprodutivo das plantas (Morris 1996). Entretanto, foi observado que certas abelhas (*Melipona subnitida*) que atuam como polinizadoras podem mudar o comportamento, passando a atuar como roubador secundário, quando encontraram flores anteriormente roubadas por *T. spinipes*. Isso, inevitavelmente, trará danos ao sucesso reprodutivo da planta, visto que os polinizadores deixam de contatar as estruturas reprodutivas e efetuar a transferência de pólen. Além disso, abelhas que não costumam visitar a planta (*Apis mellifera*), provavelmente porque não conseguem acessar o néctar legitimamente, passam a explorar este recurso como roubadoras secundárias, aproveitando os furos realizados pela *T. spinipes*, e potencializando a diminuição da atratividade das flores aos potenciais polinizadores.

(4) Qual a identidade do polinizador legítimo? - Neste trabalho não foi possível verificar se os prováveis polinizadores podem discriminar entre flores roubadas e não roubadas. Entretanto, sabe-se que na área da Fazenda Altamira, onde a pressão de forrageio das abelhas *T. spinipes* foi menor, o número de visitantes que coletam néctar legitimamente foi superior que no CAEA. Sabe-se que alguns beija-flores apresentam a capacidade de evitar plantas intensamente roubadas (Irwin & Brody 1998, Malloof & Inouye 2000), talvez por isso eles foram mais observados na Fazenda.

(5) Quanto néctar é deixado pelo roubador? - Como pode ser visto na figura 10, as abelhas *T. spinipes* extraem quantidades significantes de néctar durante o roubo, deixando muito pouco ou nada de néctar para os próximos visitantes, visto que apenas uma flor apresentava néctar residual. Se compararmos com a produção média da flor até às 07:00, observamos que estas abelhas extraem cerca de 2 μ L de néctar em uma visita, quantidade semelhante ao encontrado por Roubik (1982). Ademais, a despeito do efeito da remoção natural, a produção de néctar posterior de flores que sofreram roubo por *T. spinipes* foi significativamente inferior a produção posterior de flores que sofreram os tratamentos roubo simulado e visita legítima simulada. Isso indica que a visita de abelhas *Trigona* danifica substancialmente as flores, deixando-as sem recurso e menos atrativas para os polinizadores. Se os polinizadores de *C. ferrea* apresentam capacidade de evitar flores sem néctar, então, a presença de *T. spinipes* pode causar sérios danos ao sucesso reprodutivo desta planta.

Não se sabe qual a causa da significativa redução da produção de néctar após roubo de *T. spinipes*. Irwin & Brody (1998) encontraram que abelhas *Bombus occidentalis* (Greene, 1858) removem, assim como as *T. spinipes*, todo o néctar disponível em uma única visita às flores de *Ipomopsis aggregata*, entretanto ocorre uma produção posterior de um néctar mais concentrado devido à evaporação de água pelo buraco feito pela abelha. Entretanto, o reduzido volume de néctar após roubo natural em *C. ferrea* não deve estar associado à evaporação de água pelo buraco feito pela *T. spinipes*, visto que no tratamento roubo simulado, onde um buraco foi feito artificialmente, o volume posterior de néctar foi similar à produção do tratamento visita legítima simulada, onde nenhum orifício foi realizado, e foi maior que a produção posterior no tratamento roubo natural. Uma vez que os tecidos glandulares no roubo simulado também foram danificados como no roubo natural, esta também não é uma explicação alternativa provável. Propõe-se, então, que alguma(s) substância(s) presente nas partes bucais (salivais) de *T. spinipes* deva exercer algum tipo de inibição da secreção de néctar nas flores de *C. ferrea*.

Uma vez que as abelhas *T. spinipes* não atuam como polinizadores de *C. ferrea*, é freqüentemente associada a efeitos negativos no sucesso reprodutivo das plantas em que roubam néctar, influenciam o comportamento de polinizadores legítimos (*Melipona subnitida*) tornando-os roubadores secundários, extraem praticamente todo o néctar e reduzem a produção posterior das flores, é possível concluir que estas abelhas causam efeitos negativos na produção de frutos e sementes de *C. ferrea*. No entanto, estudos adicionais sobre os efeitos destas abelhas sobre a remoção e deposição de pólen e sobre a produção de frutos devem ser feitos para se avaliar com mais cuidado os efeitos de *T. spinipes* sobre o sucesso masculino e feminino dessa planta.

Agradecimentos

Aos organizadores do Curso Internacional sobre Ecologia da Polinização, com Ênfase em Agricultura que nos possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho como parte das atividades do curso; em especial, ao Msc Afonso Odério Nogueira Lima (Instituto CENTEC) pela dedicada ajuda logística nas coletas de campo; ao Programa de Pós Graduação em Ecologia e Biomonitoramento da Universidade Federal da Bahia (UFBA) por financiar nossa ida ao curso; aos instrutores do curso que nos ajudaram com suas trocas de conhecimento e dedicação na discussão e execução do projeto; aos professores Dr. Breno M. Freitas, Dr. Peter Kevan, Dr^a. Blandina Felipe Viana, e em especial à professora Dr^a Favízia Freitas de Oliveira (Universidade Federal da Bahia) pela identificação dos espécimes; e ao professor Dr. Leonardo Galetto (Universidad Nacional de Córdoba) pelas orientações técnicas. Às agências fomentadoras de nossas bolsas de mestrado FAPESB e CAPES.

Referências

- Aguiar, C.M.L.; Zanella, F.C.V.; Martins, C.F. & Carvalho, C.A.L. 2003. Plantas Visitadas por *Centris* spp. (Hymenoptera: Apidae) na Caatinga para Obtenção de Recursos Florais. *Neotropical Entomology*, 32: 247-259.
- Bernardello, L.; Galetto, L. & Rodriguez, I.G. 1994. Reproductive biology, variability of néctar features and pollination of *Combretum fruticosum* (Combretaceae) in Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 114: 293-308.
- Cobert, S.A. & Willmer, P.G. 1980. Pollination of the yellow passion fruit: nectar, pollen and carpenter bee. *Journal of Agricultural Science* 95: 655-666.
- Cocucci, A.A.; Galetto, L. & Sersic, A. 1992. El síndrome floral de *Caesalpinia gilliesi* (Fabaceae-Caesalpinioideae). *Darwiniana*, 31: 111-135.
- Cruden, R.W. & Hermann-Parker, S.M. 1979. Butterfly pollination of *Caesalpinia pulcherrima*, with observations on a psychophilous syndrome. *The Journal of Ecology*, 67: 155-168.
- Cruden, R.W.; Hermann, S.M. & Peterson, S. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. p.80-125. In Bentley B. & Elias, T. (eds.). *The Biology of Nectaries* Columbia University Press, New York.
- Endress, P.K. 1996. *Diversity and evolutionary biology of the tropical flowers*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Galetto, L. & Bernardello, L. 1992. Nectar secretion pattern and removal effects in six Argentinean Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Botanica Acta*, 105: 292-299.
- Galetto, L. & Bernardello, L. 1993. Nectar secretion pattern and removal effects in three species of Solanaceae. *Canadian Journal of Botany*, 71: 1394-1398.
- Gallo, D.O.; Nakano, S.; Silveira Neto, R.P.L.; Carvalho, G.; C. de Batista; E. Berti Filho; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B. & Vendramim, J.D. 1988. *Manual de entomologia agrícola*. 2º ed. Agronômica Ceres, São Paulo.
- Hermes, M.G. & Köhler, A. 2006. The flower-visiting social wasps (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae) in two areas of Rio Grande do Sul State, southern Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 50: 268-274.
- Howe, H.F. & Westley, L.C. 1988. *Ecological Relationships of Plants and Animals*. Oxford University Press, New York.
- Inouye, D.W. 1980. The terminology of floral larceny. *Ecology*, 61: 1251-1253.
- Irwin, R.E. & Brody, A.K. 1998. Nectar robbing in *Ipomopsis aggregata*: effects on pollinator behavior and plant fitness. *Oecologia*, 116: 519-527.

- Johnson, L.K. & Hubbel, S.P. 1974. Aggression and competition among stingless bees: field studies. *Ecology*, 55:120-127.
- Lewis, G. & Gibbs, P. 1999. Reproductive biology of *Caesalpinia calycina* and *C. pluviosa* (Leguminosae) of the caatinga of north-eastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 217: 43-53.
- Lorenzi, H. 1992. Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum.
- Maloof, J.E. & Inouye, D.W. 2000. Are nectar robbers cheats or mutualists? *Ecology*, 81: 2651 – 2661.
- Moré, M.; Sérsic, A.N. & Cocucci, A.A. 2006. Specialized use of pollen vectors by *Caesalpinia gilliesii*, a legume species with brush-type flowers. *Biological Journal of the Linnean Society*, 88: 579–592.
- Morris, W. 1996. Mutualism Denied? Nectar-robbing bumble bees do not reduce female or male success of bleubells. *Ecology*, 77: 1451-1462.
- Mussury, R.M.; Fernandes, W.D. & Scalon, S.P.Q. 2003. Atividade de alguns insetos em flores de *Brassica napus* L. em Dourados-MS e a interação com fatores climáticos. *Ciência e Agrotecnologia*, 27: 382-388.
- Nadia, T.L.; Machado, I.C. & Lopes, A.V. 2007. Fenologia reprodutiva e sistema de polinização de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae): atuação de *Apis mellifera* e de visitantes florais autóctones como polinizadores. *Acta Botanica Brasílica*, 21: 835-845.
- Opler, P. 1983. Nectar production in tropical cosystem. p.30-79. In Bentley, B. & Elias, T. (eds.). *The biology of nectaries* Columbia University Press, New York.
- Pacini, E. & Hesse, M. 2005. Pollenkitt – its composition, forms and functions. *Flora*, 200:399-415
- Proctor, M., Yeo, P. & Lack, A. 1996. *The natural history of pollination*. The Bath Press, London.
- Rathcke, B.J. 1992. Nectar distribution, pollinator behavior and plant reproductive success. p.113-138. In Hunter, M.D.; Ohgushi, T. & Price, P.W. (eds.). *Effects of resource distribution on animal-plant interactions*. Academic Press, New York.
- Richter, R. 2000. Social wasp (Hymenoptera:Vespidae) foraging behavior. *Annual Review of Entomology*, 45: 121-150.
- Rivera, G.L.; Galetto, L. & Bernardello, L. 1996. Nectar secretion pattern, removal effects, and breeding system of *Ligaria cuneifolia* (Loranthaceae). *Canadian Journal of Botany*, 71: 1996-2000.
- Rodríguez, L.R. & Sanoja, E. 2004. Aspectos de la biología reproductiva de erisma uncinatum warm., (Vochysiaceae), la primera especie maderable del estado bolívar, Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 27.
- Roubik, D.W. 1982. The ecological impact of nectar-robbing bees and pollinating hummingbirds on a tropical shrub. *Ecology*, 63: 354-360.

- Sazima, M.; Sazima, I. & Buzato, S. 1994. Nectar by day and night: *Siphocampylus sulfureus* (Lobeliaceae) pollinated by hummingbirds and bats. *Plant Systematics and Evolution*, 191:237-246.
- Sazima, I. & M. Sazima. 1989. Mamangavas e irapuás (Hymenoptera, Apoidea): visitas, interações e conseqüências para polinização do maracujá (Passifloraceae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 33: 109-118.
- Torres, C. & Galetto, L. Patterns and implications of floral nectar secretion, chemical composition, removal effects and standing crop in *Mandevilla pentlandiana* (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 127: 1998.
- Vicentini, A. & Fischer, E. 1999. Pollination of *Moronobea coccinea* (Clusiaceae) by the Golden-Winged Parakeet in Central Amazon. *Biotropica*, 31:692-696.
- Vogel, S. 1990. Radiación adaptive del síndrome floral en las familias neotropicales. *Boletín de Academia Nacional de Ciencias*, 59:5-30.
- Zimmerman, M. & Pyke, G.H. 1988. Experimental manipulations of *Polemonium foliosissimum*: effects on subsequent nectar production, seed production, and growth. *Journal of Ecology*, 76:777-789.

Relating flower morphology and rewards to flower visitors in invasive convolvulaceae species, NE, Brazil

Sandra Villa Rodriguez¹

Juliano Silva Lima²

Josenilton Alves Sampaio³

Fabiana Oliveira da Silva⁴

Leila Flávia do Nascimento Lima⁵

Floral diversification is the outstanding characteristic of the angiosperm radiation. In a broad sense, abundant evidence now confirms that pollinators play a major role in this diversification (KAY et al., 2007). Flowers exhibit an amazing variety of sizes, shapes, colours, arrangements, scents, rewards and sexual systems. However, which factors promote angiosperm diversification, especially the role of floral traits and sexual system is an enduring question and its solution is a central goal in plant evolutionary biology (KAY, et al., 2007).

Animal pollination is one of the most striking features of Angiosperms and because successful pollen transfer is so important to fitness, pollinators exert selection on flower traits (PROCTOR; YEO; LACK, 1996). Convolvulaceae flowers bears high variable features, ranging from generalist to specialist flowers in which flower morphology constrain the number of flower visitors. Most of this family flowers are related to bee pollination, being visited by a huge number of visitors (NEVES et al., 2006; SILVA et al, 2010).

Some studies suggest that flowers specialize in pollinators through pollen and pollinators specialize in flowers through nectar (WESTERKAMP, 2006), leading to the prediction that in flowers that are easily handle and accessible nectar to nectar feeders will be more attractive to visitors. The Convolvulaceae species *Jacquemontia velutina* (Choisy), *Merremia aegyptia* (L.) Urb. and *Ipomoea bahiensis* (Choisy), except for radial symmetry, have different flower traits, specially in shape, size, colour, scent and reward accessibility. These species are also considered important resource of pollen and nectar for the Africanized honey bee *Apis mellifera* (Linnaeus, 1958), bred and used as a pollinator in the region Valle do Jaguaribe.

¹ University of Guelph (sandravilla07@yahoo.com.br)

² Universidade Federal de Sergipe (julianobios@yahoo.com.br)

³ Universidade Federal de Sergipe (jalvessampaio@gmail.com)

⁴ Universidade Federal da Bahia (fabia714@gmail.com)

⁵ Secretaria de Estado da Agricultura e do Desenvolvimento Agrário – SEAGRI-AL (leilaflavialima@uol.com.br)

Our hypothesis is that morphological and nectar characteristics of Convolvulaceae flowers influence the composition of floral visitors. Specifically, we address the following points: (1) Compare floral morphology of three Convolvulaceae species, considering shape, size, scent and color, while relating it to floral visitors morphology; (2) Quantitative analyses of nectar, and amino acids composition on flowers during floral lifespan for each species; (3) Relate nectar variables with composition and visitation pattern of floral visitors on flowers throughout the day.

Material and methods

The study area was approximately 380m²; it was divided in 42 quadrants (6x7 quadrants) of 9m² each. The populations considered for this study occur naturally at Chapada do Apodi, Limoeiro do Norte, CE, Brasil. The specimens were collected at the agricultural zone of the Campo Experimental CENTEC, in Limoeiro do Norte, CE, Brazil. Observations were conducted on March 21st and 22th, 2008 between 04h30 min and 16h30 min. Vouchers of *Jacquemontia velutina* (Choisy) (number 42769 EAC), *Merremia aegyptia* (L.) Urb (number 42763 EAC) and *Ipomoea bahiensis* (Willd. ex Roem. & Schult.) (number 42764 EAC), are deposited at herbário da Universidade Federal do Ceará.

The species of *Merremia* and *Ipomoea* compete with crops in water usage, nutrients and light. Make the harvest difficult because they enroll in the crop and reduce the grain quality. Infest annual and perennial cultivars, besides open land and side roads (LORENZI, 2000). This species is native to tropical america and the common name hairy-woodrose (locally know as jitirana).

Jacquemontia velutina (Choisy), known as clustervine, is a herbaceous vine; steam hairy; 5-sepal and gamopetal white corolla; 2 ovary locules and 2 ovules per locule; fruit is a globose capsule.

Merremia aegyptia ((L.) Urb) is an annual vine herb, voluvel and grow on obstacles may reach 4m high; reproduce by seed, fruit is a dry septifragous capsule. Leafs alternated, surface pilosa and herbaceous consistence, segmented limb. Flowers showny and big, white and tubular corolla, monoclina.

Ipomoea bahiensis (Willd. ex Roem. & Schult.), is a herb highly branched vine, growing upon other plants; steam is white to red colour. Trifoliate green leafs. Sepals greenish-white with green apex. Flowers are showny, corolla tube lilac, white anthers, filete pale-pink, com lilac hairs in the base, white pistil.

We selected flowers growing at different heights in the area of study, being positioned both in sunlight and in shade. Five flowers per species were chosen, considering the following parameters: characteristics of the corolla (depth, length, exposed diameter, color, shape and symmetry) and smell of flower. For the latter three persons evaluated absence/presence, intensity and description for each sample. Odor was studied by placing samples of flowers

of each species into sealed flasks at five different times, every time being the same for each. Finally, the times of anthesis and senescence were registered.

Drawn micropipettes were used for extracting nectar from five flowers of each species during four different times within the anthesis/senescence period of the flowers (07h, 10h, 13h, 16h). Selected flowers were bagged before the time of anthesis, and nectar was extracted from different flowers for every sampling. Flowers differed in their position (in sunlight or in shade) and in the height they grew (low, medium, high). Percentages of nectar concentration were measured in the field using a hand refractometer (Reichter Jung; range 0.50%). From these percentages we calculated the amount of sugar produced (mg) (DAFNI; KEVAN; HUSBAND, 2005). Estimation of amino acid content was conducted using the colorimetric test (DAFNI; KEVAN; HUSBAND, 2005).

For this study we considered both, visits from native insects and the exotic Africanized honey bee *A. mellifera*, focusing on visitation rates and use of resources during flower lifespan. Visits from *A. mellifera* were rated in two manners: number of flowers visited by one individual (60 sec) and number of visits in five flowers (600 sec). Because of the intense visitation, *A. mellifera* was sometimes observed but not collected. Three collectors registered number and composition of visits from other species of insects all the time throughout the study. Collected insects were identified and deposited in The Zoological Museum at Universidade Estadual de Feira de Santana.

Simple statistical analyses were used for studying the information obtained. For flower morphology we used media of repeated measures and their corresponding standard deviation. Visitation proportions were calculated using percentages of visitation from different groups of insects.

Results and discussion

The main flower features of the three plant species studied are in table I. In relation to morphology they present same coincident features, except for corolla shape and size. The most contrasting characteristic between the corolla size was the diameter of the exposed corolla, *I. rosea* presenting the largest measure, followed by *M. aegyptia* and *Jacquemontia velutina*. The same tendency was registered for tube depth and width (Tab. 1). Only *I. bahiensis* differs in colour. Those characteristics partially fits the melitophily syndrome, and attract a great number of nectarivorous insects to feed in their flowers. As common in Convolvulaceae, flowers are easily handle and nectar is readily accessible, even in tubular flowers.

Although observations for odor relayed on perception, some patterns can be stated. *I. bahiensis* presented strong scents throughout all the times of the sampling. In contrast, the fragrance of *velutina* was in most cases imperceptible and very low in intensity; at two times of the day (10h35min and 10h45 min) it presented no perceptible odor. The odor of *M. aegyptia* was present in all the samples, however, most of the times the odor was weak.

The UV photography for *Jacquemontia montana* (Moric.) Meisn., in Mucuge (SILVA et al., 2010), revealed a contrasting pattern for the species analysed, with high UV absorbency in the inner part of the flower, coinciding with nectary location. These areas may work as nectar guides, while the outer surface work as landing place, specially in species with tubular corolla. Although UV pictures were not take, the landing and resource gathering behavior by the visitors in the studied Convolvulaceae is similar to *J. montana*.

Table 1 - Main floral morphology and biology traits for the three Convolvulaceae flowers, in Limoeiro do Norte, CE.

Flower trait	<i>Jacquemontia velutina</i>	<i>Merremia aegyptia</i>	<i>I. rosea</i>
Size (cm)	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD
Tube width	3.10 $\pm$ 0.39	8.77 $\pm$ 0.43	10.85 $\pm$ 0.32
Tube depth	3.10 $\pm$ 1.17	15.67 $\pm$ 1.61	19.93 $\pm$ 2.23
Diameter of Exposed corolla	19.14 $\pm$ 1.11	34.49 $\pm$ 2.72	63.53 $\pm$ 3.17
Shape	Bowl	tubular	tubular
Symmetry	Actinomorphic	actinomorphic	actinomorphic
Colour	White	white	lilac
Scent	Present	present	present
Smell	Sweet	sweet	bitter
Intensity	Weak	weak	strong
Time antheses	05h00min	04h50min	05h37min
Senescence	15h45min	14h25min	15h30min
Longevity	10h45min	9h15min	9h53min
Nectar	Present	present	present
Stigma receptivity	Lifespan	lifespan	lifespan

Table 2 summarizes the main results obtained for studies of nectar features. Throughout the day, *I. rosea* presented the most variable volume (μ l) of nectar during the sampling. At the beginning of the anthese *I. rosea* had not yet produced nectar, but by 10h00 and 16h00 it produced more nectar than the other two species. *M. aegyptia* and *velutina* had similar volume of nectar at anthese. The production of nectar in *velutina* was more steady than that of *M. aegyptia*, the later presenting a peak of production at 10h00. However, *J. velutina* produced more nectar at senescence.

Table 2 - Main nectar features from the three Convolvulaceae species studied in Limoeiro do Norte, CE.

Nectar characteristics	<i>Jacquemontia velutina</i>	<i>Merremia aegyptia</i>	<i>I. bahiensis</i>
	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD	mean $\pm$ SD
Volume (μ l)	1.54 $\pm$ 1.41	1.32 $\pm$ 0.64	1.3 $\pm$ 0
Concentration (%)	52.56 $\pm$ 34.65	43.88 $\pm$ 16.97	52.08 $\pm$ 28.28
Sugar (Mg)	1.21 $\pm$ 1.84	0.81 $\pm$ 0.25	1.73 $\pm$ 0.96
Amino acid (mg/ μ l)	0.000419	0.000185	0.000147

Jacquemontia velutina and *M. aegyptia* presented concentrations of sugar since the beginning of anthesis, the former had the highest concentration during the sampling time among the three species. *M. aegyptia* appears to have a higher content of sugar in less volume of nectar at 13h, and less concentration by the time of senescence. *J. velutina* and *J. velutina* presented the largest concentration of sugars on nectar.

The three species presented similar patterns on the concentration of nectar and the sugar produced (mg), suggesting that the results obtained were consistent. *I. rosea* presented no production at the beginning of anthesis, a peak of production at 10h, lower production at 13h and the highest production at 16h. As for *Jacquemontia velutina*, both measures grew steadily during the day. In the case of *M. aegyptia* both cases have the same, however the time with the highest production of sugar was at 10h. This difference could be explained by considering that evaporation was slower because of the tubular shape of the flower.

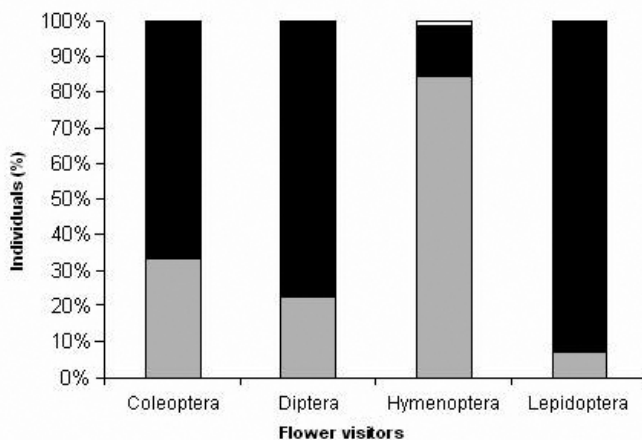
Visitation rates of *A. mellifera* to *velutina* don't present a corresponding pattern to that of production of nectar. Nectar production is steady while visitation rate is not. Visits from *A. mellifera* were most frequent around 06h to 07h and from 11h to 12h. Few visits were recorded at 09h and they stopped near the time of senescence of the flower, when nectar was still being produced. Other floral visitors were abundant at 07h and at 09h, after this point their visitation rate became low until it stopped at the time of senescence of the flowers.

M. aegyptia received few visitations from *A. mellifera*, although these visits started even before the beginning of nectar production (between 05h and 06h). Highest visitation rate was at 10h, corresponding to the time of highest production of nectar. For other floral visitors, the most frequent visits were recorded between 05h and 07h, no visits were recorded from 09h to 10h. Visits from *A. mellifera* and other floral visitors stopped at 13h, time at which concentration of nectar was at its highest.

I. bahiensis received no visits from *A. mellifera* (Linnaeus, 1758). Visits from other species started between 06h and 07h having to visitation peaks between 07h and 08h, and 11h and 12h. These peaks correspond to the beginning (07h) and the highest level (after 10h) of nectar production. Few visits were recorded ant 13h, which is the time of lower production on nectar. After that time flower produced more nectar but visits stopped.

I. bahiensis was visited by more species from Hymenoptera than any of the other two Convolvulaceae species in the study (n=9). However, it was not visited by any other group of insects. *J. velutina* was visited by only one species of Diptera and one species of Lepidoptera, presenting the lower rates in visitation for these two families (n=1 for each group). *J. velutina* was visited by more species than *M. aegyptia* in the case of Coleoptera (n=3 and n=2, respectively) and Hymenoptera (n=7 and n=1, respectively). In the case of visits from Diptera and Lepidoptera, *M. aegyptia* was visited by more species that the other two Convolvulacea flowers, with visits from six species of Diptera and eight species of Lepidoptera.

Figure 1 - Comparison of individuals (%) of each insect orders visiting Convolvulacea species, from 5h30 to 4h, in Limoeiro do Norte, CE.



Coleoptera and Diptera have similar visitation rates for *Jacquemontia velutina* (~35 and ~25%, respectively) and *M. aegyptia* (~75 and ~85%, respectively). The visiting groups that differ the most are Hymenoptera and Lepidoptera. Visits from Hymenoptera were significantly more frequent for *velutina* (~85%) than they were for Lepidoptera (~10%); on the other hand, Lepidoptera represented about the 90% of the visits to *M. aegyptia*, whilst Hymenoptera visited about 9%

of this species and had almost no record for visits to *I. bahiensis* (~1%). The proportion of Hymenopterans visiting *Jacquemontia* sp. is very high (80-90%) mainly because of the high abundance of *A. mellifera*, while *M. aegyptia* received few visits (~9%) and *I. bahiensis* received almost none (~1%). The proportions of visitation to *I. bahiensis* and *J. velutina*, from other Hymenoptera only, are very similar (almost 50% for each species) and the proportional difference of Hymenopterans and Coleopterans visiting *J. velutina* is reduced by approximately 40%.

Table 3 - Hymenoptera collected on flowers of the three species of Convolvulaceae studied in Limoeiro do Norte, CE.

	Family	species
Bees	Andrenidae	<i>Acamptopoeum prinii</i> Holmberg, 1884
	Andrenidae	<i>Acamptopoeum prinii</i> Holmberg, 1884
	Anthophoridae	<i>Melitomella</i> sp.
	Anthophoridae	<i>Ancyloscelis</i> sp.
	Anthophoridae	<i>Ancyloscelis</i> sp.
	Anthophoridae	<i>Ancyloscelis</i> sp.
	Anthophoridae	<i>Ancyloscelis</i> sp.
	Anthophoridae	<i>Ancyloscelis apiformis</i> Fabricius, 1793
	Apidae	<i>Plebeia</i> sp.
	Apidae	<i>Plebeia</i> sp.
	Apidae	<i>Plebeia</i> sp.
	Apidae	<i>Plebeia</i> sp.
	Apidae	<i>Plebeia</i> sp.
	Apidae	<i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758
	Colletidae	<i>Nomiocolletes</i> sp.
	Colletidae	<i>Nomiocolletes</i> sp.
	Colletidae	<i>Nomiocolletes</i> sp.
	Colletidae	<i>Nomiocolletes</i> sp.
	Colletidae	<i>Nomiocolletes</i> sp.
	Colletidae	<i>Nomiocolletes</i> sp.
	Chalcididae	Sp
	Halictidae	<i>Augochloropsis</i> sp.
	Megachilidae	<i>Dicranthidium arenarium</i> Ducke, 1907
	Pompilidae	<i>Pompilidae</i> sp.
Wasp	Vespidae	<i>Polybia ruficeps xanthops</i> (Richards, 1978)
		<i>Polybia ruficeps xanthops</i>
		<i>Polybia ruficeps xanthops</i>
		<i>Polybia ruficeps xanthops</i>
		<i>Polybia ruficeps xanthops</i>
		<i>Polybia</i> sp.
		<i>Polybia</i> sp.
		<i>Polybia</i> sp.

Final remarks

The data obtained shows no evident relation between floral morphology and composition of floral visitors, except with regard to *A. mellifera*, which does not visit *I. rosea*. There was low abundance of native bees; however, visitation patterns were coincident to *A. mellifera* activity in *Jacquemontia* sp. and *M. aegyptia*. Flower visitors activity was reported as high during the morning to collect pollen, and later during the day to collect pollen and nectar. No visits from Coleoptera, Diptera or Lepidoptera were reported for *I. bahiensis*. Visits from Coleoptera and Díptera are relatively similar for *Jacquemontia velutina* and *M. aegyptia*. Lepidopterans showed a clear preference for flowers of *M. aegyptia*. In order to confirm that differences in visitation are statistically significant it is necessary to perform regression analyses with correspondent tests such as student t-test or chi-square.

Acknowledgment

We are grateful to Dra. Favizia Freitas de Oliveira for insect identification. To Luiz Wilson Lima Verde for plant species identification. To Leonardo Galletto for field support and suggestions on nectar analyses. To the professors at the Pollination Course for the valuable comments and suggestions to the final version of the manuscript.

References

- DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. Practical Pollination Biology. Cambridge: Enviroquest, 2005.
- KAY, K. M. et al. Floral characters and species diversification. In: HARDER, L. D.; BARRETT, S. C. H. *Ecology and Evolution of flowers*. Oxford: Oxford University Press, 2007. P. 311-325.
- LORENZI, H. J. *Plantas daninhas do Brasil*. 3.ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2000.
- PROCTOR, M.; YEO P.; LACK. A. The Natural History of Pollination. Portland : Timber Press, 1996.
- NEVES, E. L. et al. Flower characteristics and visitors of *Merremia macrocalyx* (Convolvulaceae) in the Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. *Lundiana*, v. 7, n. 2, p. 97-102, 2006.
- SILVA, F. O. et al. Records on floral biology and visitors of *Jacquemontia montana* (Moric.) meisn. (Convolvulaceae) in Mucugê, Bahia. *Brazilian Journal of Biology*. v. 70, n. 4, 2010. No prelo.

Parte III

Contribuições do curso de campo em biologia e
ecologia da polinização - 2009



Biologia floral e visitantes de *Kielmeyera cuspidata* (Saddi) (Clusiaceae) em campos rupestres, na Bahia

Annelise de Souza Rosa¹

Letícia Azambuja Lopes²

Raquel Andrea Pick³

Rozileudo da Silva Guedes⁴

Clusiaceae é uma família com distribuição pantropical, incluindo cerca de 30 gêneros e 1000 espécies, sendo que no Brasil ocorrem 18 gêneros e cerca de 150 espécies (SOUZA; LORENZI, 2008). As plantas são lenhosas com látex, folhas de margem inteira, pétalas livres, ovário sincárpico e súpero (BITTRICH, 2010).

O gênero *Kielmeyera* (Martius) compreende 50 espécies, distribuídas na América do Sul, sendo que a maioria delas ocorre no cerrado (SOUZA; LORENZI, 2005) e talvez *Kielmeyera cuspidata* seja um dos poucos exemplares encontrados no campo rupestre. Essa espécie é uma planta lenhosa de pequeno porte ou subarbusto, com látex branco e pegajoso. As folhas são coriáceas, alternas, caracterizadas pelo ápice alongado e acuminado. As flores são grandes, vistosas, actinomorfas, hermafroditas. O ovário é tricarpelar, com óvulos numerosos. O fruto é uma cápsula lenhosa, alongada quando fechada (HARLEY; GIULIETTI, 2004; BITTRICH, 2010).

Estudos sobre sistemas de reprodutivos de *Kielmeyera* foram desenvolvidos por Oliveira (1986) e por Barros (2002). Detalhes sobre a polinização de *K. coriacea* (Mart. & Zucc.), *K. speciosa* (A. St.-Hill), *K. abdita* (Saddi) e *K. variabilis* (Mart. & Zucc.) e seus polinizadores foram documentados (AGOSTINI; SAZIMA, 2003; BARROS, 2002; GOTTSBERGER, 1977; OLIVEIRA, 1986). Contudo não há registros sobre a biologia floral e a interação com polinizadores de *K. cuspidata*.

Dessa maneira, o presente estudo teve como objetivo descrever a biologia floral e conhecer os visitantes de duas morfo-florais de *K. cuspidata*: uma com flores de pistilo longo e de pistilo curto, em área de campo rupestre na região central da Bahia.

¹ Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (annesouzar@gmail.com)

² Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto (leazambuja@gmail.com)

³ Universidade Federal da Paraíba (pickraquel@hotmail.com)

⁴ Universidade Federal de Campina Grande (rozileudo@gmail.com)

Material e métodos

O trabalho foi realizado em uma área de campo rupestre, ao longo da trilha do Projeto Sempre Viva, no Parque Municipal de Mucugê (12°59'18"S e 41°20'27"W), Mucugê, BA. Foram realizadas observações sobre a biologia floral e comportamento dos visitantes florais em dois morfos florais de *K. cuspidata*, durante o período de 4 a 6 de maio de 2009. A área é conhecida como Serra do Sincorá. A região apresenta clima tipo Cwb, (KÖPPEN, 1948) com estação chuvosa, de outubro a março e seca, de abril a setembro. A média anual de precipitação pluviométrica é em torno de 1.100 mm. O solo é raso, até aproximadamente 50 cm de profundidade, e geralmente pobre em nutrientes. A temperatura média anual é de 20°C (STRADMANN, 1998). Existem várias fitofisionomias no Parque Sempre-viva, mas na área estudada houve predominância dos campos rupestres.

A fim de quantificar a população de *K. cuspidata* foram marcados os 40 indivíduos encontrados na trilha e distinguidos em dois diferentes morfos florais, plantas com flores de pistilo longo e plantas com flores de pistilo curto. Paralelamente, diversos botões florais em pré-antese dos diferentes morfos foram marcados e ensacados para verificar o horário da abertura floral e a disponibilidade dos recursos aos visitantes.

Para verificar a receptividade estigmática e a integridade polínica, três botões florais de cada morfo floral foram previamente ensacados e, posteriormente à sua abertura, em três diferentes horários, às 8:00, 10:00 e 12:00h e submetidos aos testes. A receptividade estigmática foi determinada colocando-se o estigma de cada morfo em contato com solução de peróxido de hidrogênio com o intuito de constatar ou não a formação de bolhas. Para verificar a integridade polínica, 20 anteras/flor de cada morfo foram removidas e colocadas em tubos *ependorf* com solução de azul de metileno. Posteriormente, em laboratório, sob microscópio óptico, foram contados 100 grãos de pólen corados com azul de metileno, distinguindo-se os grãos com e sem conteúdo citoplasmático. Para detectar a presença de *pollenkitt*, os grãos de pólen foram colocados em contato com o corante vermelho neutro, em uma lâmina de microscopia.

Seguindo o método de Dafni, Kevan e Husband (2005), para localização das possíveis glândulas de emissão de odor (osmóforos), uma flor de cada morfo previamente ensacada foram mergulhadas em solução de vermelho neutro 1%, sendo observadas, após quatro horas, as partes florais coradas. Como forma complementar ao teste de coloração de osmóforos, outras duas flores (um de cada morfo) previamente ensacadas foram submetidas ao teste organoléptico, onde os diferentes elementos florais são colocados separadamente em recipientes com tampa e, após 30 minutos, distribuídos a seis diferentes avaliadores para fornecerem seus pareceres a respeito da emissão ou não de odores.

Os insetos associados às flores de *K. cuspidata* foram registrados visualmente por quatro observadores, em duplas, onde cada dupla fazia observações sobre dois indivíduos (um de cada morfo), durante 30 minutos. Paralelamente aos registros visuais, os insetos que pousavam nas flores foram coletados com auxílio de rede entomológica. Foram realizadas observações

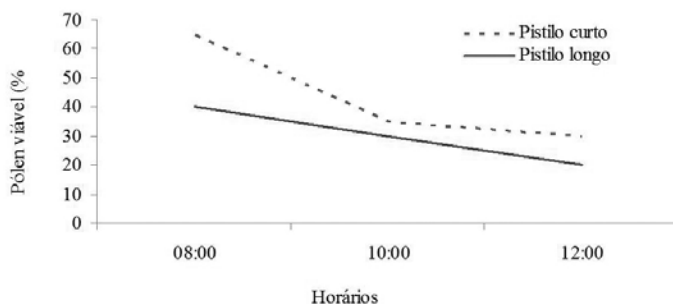
sobre o comportamento dos visitantes florais, nos intervalos de 30 minutos, verificando-se o contato com anteras e estigma, o tipo de recurso coletado e o tempo despendido nas flores. Os visitantes florais foram considerados polinizadores, conforme o comportamento apresentado durante as visitas às flores (INOUE, 1980). As coletas e as observações foram realizadas entre as 6:00h e 16:30h, sendo complementadas com registros fotográficos. Posteriormente, em laboratório, os espécimes coletados foram montados, determinados e inseridos na Coleção Entomológica da Universidade Federal da Bahia.

A fim de quantificar os grãos de pólen de *K. cuspidata* transportados no corpo dos visitantes coletados, os grãos aderidos a sua parte ventral foram retirados diretamente através do contato com gelatina glicerizada e, imediatamente, a mesma foi derretida e coberta com lamínula. Em seguida, sob microscópio óptico, foi determinada a proporção entre os grãos de pólen de *K. cuspidata* e outros grãos encontrados.

Resultados e discussão

Foram encontrados e marcados, no total, 40 indivíduos de *K. cuspidata* ao longo da trilha do “Projeto Sempre Viva”, distinguindo-se dois morfos florais: plantas com flores de pistilo longo (10 indivíduos) e plantas com flores de pistilo curto (30 indivíduos). A partir dos botões previamente ensacados, verificou-se que ambos os morfos iniciaram a antese a partir das 4:00h e que as flores permaneceram abertas pelo menos por três dias. Paralelamente à análise da antese, verificou-se que as flores de *K. cuspidata* disponibilizaram pólen, mas não ofertaram néctar. Os estigmas estiveram receptivos desde 8:00 até 12:00h. As análises mostraram que os grãos de pólen nas flores de pistilo longo e nas de pistilo curto mantiveram pelo menos 20 e 29% de integridade, respectivamente, até o final da manhã (Fig. 1). Uma vez que a atividade de insetos sobre as flores de *K. cuspidata* ocorre especialmente durante o período matinal, pode-se inferir que boa parte dos grãos de pólen aderidos ao corpo dos visitantes estava viável. Em acréscimo, considerando que nesse mesmo momento os estigmas estavam receptivos, há uma grande probabilidade de que um

Figura 1 - Percentual da viabilidade polínica nos dois morfos florais de *Kielmeyera cuspidata*, em diferentes horários ao longo do dia, no Parque Municipal de Mucugê, Mucugê, BA.



inseto que possua o tamanho do corpo compatível com o tamanho da flor tenha contato com ambas as estruturas reprodutivas possibilitando que a polinização, seja na mesma flor ou entre flores diferentes.

A presença de *pollenkitt* nos grãos de pólen de *K. cuspidata* foi confirmada por meio das análises das lâminas. Os estames possuem glândulas apicais

produtoras de aroma, osmóforos (Fig. 2), como verificado também por Barros (2002), sendo o odor adocicado mais marcante no morfo floral de pistilo longo.

As flores de *K. cuspidata* foram visitadas por oito espécies pertencentes as ordens Hymenoptera (03 Apidae, 02 Formicidae), Diptera (01 Syrphidae) e Coleoptera (01 Chrysomelidae e 01 Bruchidae). As abelhas foram os visitantes florais mais freqüentes, com representantes somente para a família Apidae. Barros (2002) amostrou 21 espécies de abelhas, entre elas, Halictidae, não registradas para *K. cuspidata*.

Os visitantes florais foram mais freqüentes pela manhã e esporádicos no período da tarde (Tab. 1 e 2). Contudo, devido à chuva, a coleta dos visitantes florais foi prejudicada, refletindo negativamente na abundância e diversidade dos mesmos.

Figura 2 - Coloração dos osmóforos nos dois morfos florais de *Kielmeyera cuspidata*. A seta amarela indica a coloração acentuada na parte apical dos estames na flor com pistilo longo (A) e não colorido na flor com pistilo curto (B).



Tabela 1 - Lista dos visitantes coletados na morfo floral de pistilo curto de *Kielmeyera cuspidata*, com registros do horário, tempo de visitação, contatos com as anteras/estigma e recurso coletado, no Parque Municipal de Mucugê, Mucugê, BA. Legenda: Po=pólen e Pe=pétalas.

Flor pistilo curto					
Visitante	Horário	Tempo de visita	Anteras	Estigmas	Recurso
Formicidae	8:45-9:00	-	-	-	*
<i>Frieseomelitta francoi</i> (Moure, 1946)		19"	Sim	-	Po
<i>Frieseomelitta</i> sp.		5"	Sim	-	Po
<i>Apis mellifera</i> (Linnaeus, 1758)		12"	Sim	Sim ventral	Po
<i>Apis mellifera</i>		6"	Sim	sim	Po
Coleoptera		10'			Pe
<i>Apis mellifera</i>	9:00-9:15	39"	Sim na pétala	-	Po
<i>Apis mellifera</i>		24"	Não	não	*
<i>Apis mellifera</i>	10:00-10:15	28"	Sim	Sim ventral	Po
<i>Apis mellifera</i>	10:15-10:30	10"			
<i>Apis mellifera</i>	10:30-10:45	25"	Sim	sim	Po
<i>Apis mellifera</i>		20"	Sim	sim	Po

* Dados não registrados.

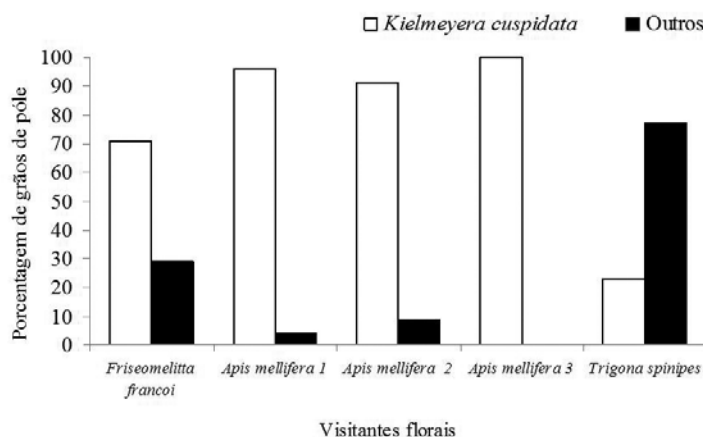
Tabela 2 - Lista dos visitantes coletados na morfo floral de pistilo longo de *Kielmeyera cuspidata*, com registros do horário, tempo de visitação, contatos com as anteras/estigma e recurso coletado, no Parque Municipal de Mucugê, Mucugê, BA.

Flor pistilo longo					
Visitante	Horário	Tempo de visita	Anteras	Estigmas	Recurso
Formicidae	9:00 – 9:15	4'17"	Não	não	*

* Dados não registrados. Nos demais horários devido à chuva não foram registrados visitantes florais.

O comportamento dos visitantes junto às flores foi distinto entre os insetos (Tab. 1 e 2). Abelhas de pequeno porte, como *Frieseomelitta francoi* (Moure, 1946) e *Trigona spinipes* (Fabricius, 1793), raramente tocaram o estigma durante as visitas às flores. *Apis mellifera* (Linnaeus, 1758) foi considerada como potencial polinizador, por apresentar grande percentual de grãos de pólen da planta alvo na parte ventral de seu corpo e contatar o estigma e as anteras durante o forrageamento do pólen nas flores de *K. cuspidata* (Fig. 3). O gênero *Frieseomelitta* e a espécie *Trigona spinipes* também apresentaram alto percentual de grãos de pólen da planta alvo na parte ventral do corpo, entretanto, em menor porcentagem que *A. mellifera*. Os demais visitantes florais registrados (coleópteros e formigas) não foram considerados polinizadores. Os espécimes de Coleoptera perfuraram a corola durante as visitas às flores e as formigas caminharam pela mesma estrutura e entre os estames, não alcançando as estruturas reprodutivas da flor.

Figura 3 - Porcentagem de grãos de pólen encontrados no corpo dos visitantes florais de *Kielmeyera cuspidata* no Parque Municipal de Mucugê, Mucugê, BA.



Em divergência, estudos realizados no cerrado, registraram como potenciais polinizadores em flores de *K. coriacea* e *K. speciosa*, abelhas de grande porte, como *Xylocopa frontalis* (Olivier, 1789) e *X. hirsutissima* (Maidl, 1912), (Oliveira, 1986). Barros (2002) também registrou elevada frequência dessas espécies de abelhas em outras *Kielmeyera* spp.

Barros (2002) estudou quatro espécies de *Kielmeyera*, todas xenogâmicas e auto-incompatíveis. As flores dessas espécies apresentaram corola branca, estames de coloração amarelo-ouro, em forma de pincel e glândulas apicais produtoras de aroma, padrão muito semelhante ao observado para *K. cuspidata*. Nesse contexto, seria interessante realizar testes de polinização para determinar o sistema reprodutivo de *K. cuspidata* e avaliar a interação com os visitantes florais.

Estudos realizados por Oliveira (1986), Barros (2002) e Agostini e Sazima (2003) afirmam que a síndrome de polinização para outras espécies do gênero *Kielmeyera* é a melitofilia. No presente estudo, *K. cuspidata*, reuniu diversas características compatíveis com a síndrome de polinização entomófila e melitófila, como por exemplo a presença de osmóforos, *pollenkit*, antese diurna, corola em forma de prato e ter sido visitada por insetos, possivelmente corroborando com os resultados dos autores acima.

Agradecimentos

Agradecemos à Profa. Favízia Freitas de Oliveira (UFBA) pela identificação das abelhas, ao Prof. Leonardo Galetto (Universidade de Córdoba, Argentina) pelas sugestões e ajuda no campo. À Profa. Fabiana O. Silva (UFBA) pelas sugestões durante o trabalho, a Profa. Márcia Motta Maués (EMBRAPA - Amazônia Oriental), pela revisão do manuscrito e aos organizadores do Curso Internacional de Campo sobre Polinização 2009, por essa oportunidade de aprendizado e aperfeiçoamento.

Referências

AGOSTINI, K.; SAZIMA, M. Plantas ornamentais e seus recursos para abelhas no Campus da Universidade Estadual de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil. *Bragantia*, v. 62, n. 3, p. 335-343, 2003.

BARROS, M. A. G. Floração sincrônica e sistemas reprodutivos em quatro espécies de *Kielmeyera* Mart. (Guttifera). *Acta Botanica Brasilica*, v. 16, n.1, p. 113-122, 2002.

BITTRICH, V. Clusiaceae. In: *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. 2010. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000089>>. Acesso em: 21 jun. 2010.

DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. *Practical Pollination Biology*. Cambridge: Enviroquest, 2005.

GOTTSBERGER, G. Some aspects of beetle pollination in the evolution of flowering of plants. *Plant Systematics and Evolution*. v. 1, p. 211-226, 1977. Supplement.

HARLEY, R. M.; GIULIETTI, A. M. *Flores nativas da Chapada Diamantina*. São Carlos: RiMa, 2004.

INOUE, D. W. The terminology of floral larceny. *Ecology*, v. 61, p. 1251-1253, 1980.

KÖPPEN, W. *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. México: Fondo de Cultura Econômica, 1948.

OLIVEIRA, P. E. A. M. *Biologia de reprodução de espécies de Kielmeyra (Guttiferae) de cerrados de Brasília, DF*. 1986. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704p.

_____. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2005. 640p.

STRADMANN, M. P. S. *Plano de Manejo – Parque Municipal de Mucugê*. Mucugê: Projeto Sempre-Viva. Mucugê: Prefeitura Municipal de Mucugê, 1998. MMA/PNMA/PED 96CV00027/96.

Dimorfismo sexual em *Kielmeyera cuspidata* (Saddi) (Clusiaceae) em uma área de campo rupestre, no Município de Mucugê, Bahia

Cristine Rodrigues Benevides¹

Marcos da Costa Dórea²

Jumara Marques Sousa³

Maria Cristina Affonso Lorenzon⁴

A família Clusiaceae (Guttiferae) possui cerca de 30 gêneros e 1000 espécies com distribuição pantropical, sendo que no Brasil são amplamente distribuídas ocorrendo cerca de 18 gêneros e 150 espécies (SOUZA; LORENZI, 2008). O gênero *Kielmeyera* (Mart.) é endêmico da América do Sul, compreende cerca de 47 espécies, sendo 45 destas nativas dos cerrados brasileiros do Rio Branco a São Paulo, porém é mais frequente na região centro-oeste (RIZZINI, 1963; SADDI, 1982).

Algumas espécies de *Kielmeyera* (*K. coriaceae* Mart. & Zucc., *K. speciosa* A.St.-Hil., *K. abdita* Saddi e *K. variabilis* Mart. & Zucc.) foram estudadas quanto à sincronia de floração, biologia floral, sistema reprodutivo, polinização, dispersão e sistema sexual (BARROS, 2002; OLIVEIRA; SAZIMA, 1990;). Em relação ao sistema sexual, já foram registrados para o gênero, espécies hermafroditas e andromonóicas (OLIVEIRA; SAZIMA, 1990).

Kielmeyera cuspidata (Saddi) é uma das espécies de Clusiaceae encontrada nos campos rupestres e cerrados da Chapada Diamantina, Bahia. É encontrada nas margens de rios, em solos arenosos úmidos e entre as rochas. Possui hábito arbustivo, 1-4 m de altura, folhas alternas, elípticas, glabras, com ápice cuspidado, base cuneada e pecíolo de 2-3 cm de comprimento. Os botões florais e as sépalas são tingidos de vermelho, as pétalas são brancas e há numerosas anteras amarelas (HARLEY; SIMMONS, 1986).

Kielmeyera cuspidata possui dimorfismo floral, exibindo flores com gineceu grande e flores com gineceu pequeno, ambas apresentando estames, distribuídas em plantas distintas. Também foi observado em campo que nem todos os indivíduos da população

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro/Museu Nacional (crisbenevides@yahoo.com.br)

² Universidade Estadual de Feira de Santana (mcdorea@gmail.com)

³ Universidade Estadual de Feira de Santana (jumara.marques@gmail.com)

⁴ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (lorenzoni@ufrj.br)

produzem frutos. A partir dessas observações foi testada a hipótese de que as diferenças referentes ao gineceu das flores estão relacionadas com o sistema sexual de *K. cuspidata*.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar uma população de *Kielmeyera cuspidata* ocorrente numa área de campo rupestre quanto à morfologia das flores, à funcionalidade das estruturas reprodutivas e à associação entre o dimorfismo floral e o sucesso reprodutivo da espécie.

Material e métodos

O estudo foi realizado no Parque Municipal (Projeto Sempre-Viva) de Mucugê, Bahia, localizado entre as coordenadas 12°59'46"S e 41°20'40"W, a 959 m de altitude. O clima da região, segundo a classificação de Köppen (1948), é do tipo Cwb, subtropical moderado úmido, com precipitações concentradas no verão e no final da primavera, sendo a média anual de 1.100 mm (STRADMANN, 1998). A temperatura média anual é de 19,8°C, com mínimas que podem chegar aos 13°C no inverno e máximas de 30°C no verão (STRADMANN, 1998). A região é composta de diversos tipos vegetacionais como caatinga, cerrado, matas ciliares, "capitinga" e campo rupestre, sendo o último predominante no Parque.

As observações de campo ocorreram no período de 4 a 6 de março de 2009. Foram amostrados 40 espécimes em uma das trilhas do Parque. Para cada indivíduo foram feitas observações do número de botões por inflorescência, o tipo morfológico das flores em antese e a presença de frutos. Para avaliar se a proporção entre os espécimes de cada morfo floral é 1:1, foi aplicado o teste do χ^2 (VIEIRA, 1981).

Flores dos dois morfos foram coletadas ao acaso e tiveram as seguintes medidas (mm) tomadas com auxílio de um paquímetro: diâmetro floral; comprimento do gineceu e estame; e, diâmetro do estigma, comprimento e largura do ovário e óvulos. Além disso, foram quantificados o número de estames, de óvulos, o número de grãos de pólen por antera, a razão pólen/óvulo e o número de sementes por fruto. As médias de cada morfo foram comparadas pelo teste t Student.

Botões em pré-antese (n=5 botões de cada morfo floral) foram marcados e observados nos horários de 1, 3 e 6 h da manhã para registrar a abertura e liberação dos grãos de pólen. As mesmas flores foram acompanhadas nos horários de 12 e 17 h durante três dias consecutivos para registrar a longevidade floral.

Para a receptividade estigmática foram ensacados botões em pré-antese (5 botões de cada morfo). As flores em diferentes fases da antese foram testadas *in vivo* com peróxido de hidrogênio (H₂O₂ a 10%) e posteriormente descartadas. Foi realizada a germinação de grãos de pólen *in vitro*, utilizando solução de sacarose a 20% e 50% (DAFNI, 1992).

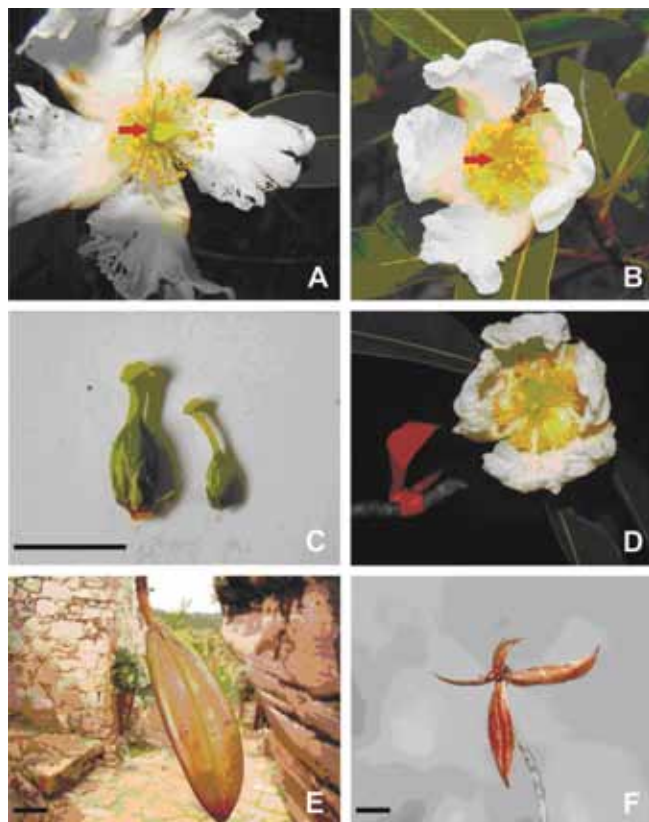
Para a descrição morfológica dos grãos de pólen foram utilizados botões em pré-antese provenientes de indivíduos com gineceu longo e curto. De cada botão foram retiradas

algumas anteras e colocadas em tubos de ensaio contendo ácido acético glacial. Em seguida as amostras foram submetidas ao método da acetólise (ERDTMAN, 1960) e, por fim, montadas em lâminas com gelatina glicerizada e seladas com parafina. Para cada amostra foram tomadas medidas (μm) de 25 grãos de pólen para o diâmetro equatorial e polar.

Resultados

Kielmeyera cuspidata possui flores morfológicamente perfeitas, actinomorfas, pentâmeras, gamossépalas e gamopétalas. As sépalas são brancas com tons avermelhados nas extremidades, as pétalas são brancas. O androceu é polistêmone, as anteras apresentam coloração amarela com deiscência longitudinal das anteras. O gineceu tem coloração verde, o ovário é súpero e sincárpico, o estigma apresenta secreção durante a antese. A flor não apresenta nectários, o pólen é o único recurso oferecido. O fruto é uma cápsula com as sementes aladas (Fig. 1A-F).

Figura 1 - Flores de *Kielmeyera cuspidata* dos campos rupestres do município de Mucugê, Bahia. **A.** Flor com gineceu grande. **B.** Flor com gineceu pequeno. **C.** Destaque para os gineceus de diferentes tamanhos. **D.** Flor polistêmone. **E-F.** Fruto do tipo cápsula. Escala=2,5 mm.



Apesar de possuírem flores morfológicamente perfeitas, foi observado dimorfismo nos tamanhos do gineceu. A população estudada mostra a ocorrência de indivíduos que apresentam exclusivamente flores de gineceu grande e, outros, flores de gineceu pequeno (Fig. 1A-C). O comprimento do gineceu, diâmetro do estigma, comprimento/largura dos ovários, comprimento/largura dos óvulos e número de óvulos por ovário foram os caracteres que diferiram significativamente de um morfo floral para o outro (Tab. 1). Além disso, todos os indivíduos com flores de gineceu grande apresentaram frutos, em média foram registradas 22,33 sementes por fruto, já nos indivíduos com flores de gineceu pequeno, verificou-se a presença de apenas um fruto com cerca de 30 sementes. Os dois morfos

florais não diferiram significativamente em relação ao diâmetro floral, comprimento dos estames, número de estames e número de grãos de pólen por antera. Os dois tipos florais também apresentaram uma alta razão pólen óvulo. Foram encontrados na população 30 indivíduos com flores de gineceu pequeno e 10 com flores de gineceu grande. A proporção dos dois morfos florais na população é de 3:1 e significativamente diferentes ($X^2= 10$) ao nível de 5%.

Tabela 1 - Medidas das estruturas florais em flores de gineceu grande e gineceu pequeno em *Kielmeyera cuspidata* no Parque Municipal Sempre Viva, Mucugê, BA.

Caracteres	Gineceu grande	n	Gineceu pequeno	n
Diâmetro floral	72,92 $\pm$ 7,39	13	72,09 $\pm$ 13,54	11
Número de estames	125,27 $\pm$ 23,14	11	154,32 $\pm$ 23,22	11
Comprimento dos estames	10,46 $\pm$ 1,61	13	10,55 $\pm$ 2,22	11
Gineceu**	12,69 $\pm$ 1,32	13	8,82 $\pm$ 1,17	11
Diâmetro estigma**	2,15 $\pm$ 0,55	13	1	11
Comprimento do ovário**	7,23 $\pm$ 0,93	13	4,18 $\pm$ 0,75	11
Largura do ovário**	3,62 $\pm$ 0,65	13	2,36 $\pm$ 0,50	11
Número de óvulos*	48,17 $\pm$ 5,98	6	33,60 $\pm$ 6,80	5
Comprimento do óvulo**	0,93 $\pm$ 0,17	18	0,51 $\pm$ 0,14	15
Largura do óvulo**	1,17 $\pm$ 0,24	18	0,13 $\pm$ 0,61	15
Número de grãos de pólen/ antera	124894,67 $\pm$ 27682,22	3	164496 $\pm$ 211441,86	3
Número de sementes/fruto	22,33 $\pm$ 7,45	9	***	1
Razão pólen/óvulo	2592,79		4895,71	
Diâmetro polar (pólen)	43 $\pm$ 0,5	25	44,7 $\pm$ 0,5	25
Diâmetro equatorial (pólen)	44,6 $\pm$ 0,6	25	49,4 $\pm$ 0,5	25

* Significativo ao nível de 5%

** Significativo ao nível de 1%

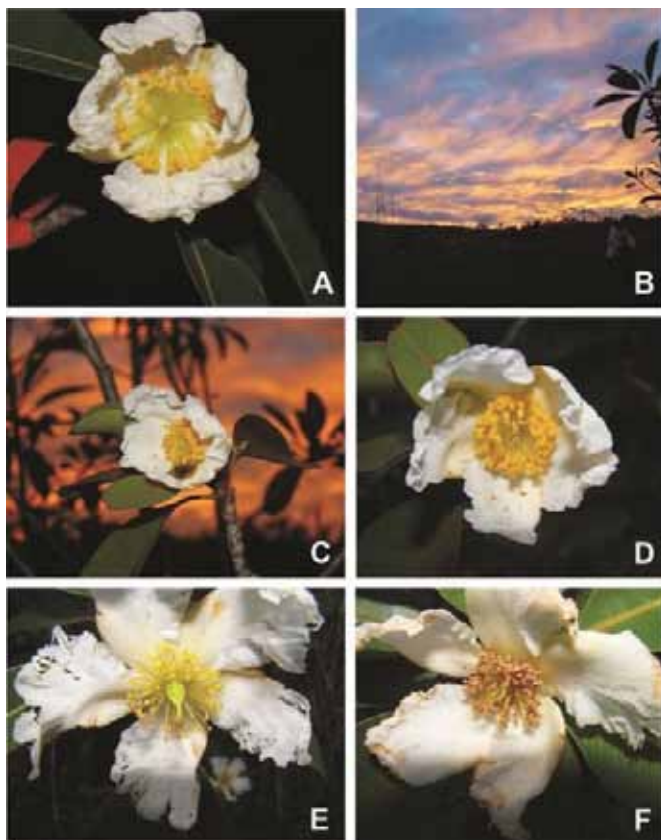
*** Apenas um fruto em um indivíduo, com cerca de 30 sementes

As flores estão dispostas em inflorescências terminais, o número de botões por inflorescência foi em média 6,83 $\pm$ 3,34 (n=25) para os indivíduos com gineceu pequeno e 4,22 $\pm$ 2,63 (n=8) para os indivíduos com gineceu grande, as diferenças encontradas não foram significativas ao nível de 5% (p=0,62).

As flores de ambos os morfos florais possuem antese diurna com duração de dois dias. Na tarde anterior à abertura, os botões encontram-se túrgidos, observando-se o início da antese durante a madrugada (3h da manhã), marcado pela abertura das pétalas e deiscência de algumas anteras, apesar de a superfície estigmática permanecer seca nesse período (Fig. 2A). Por volta das 6h da manhã, as flores estão abertas, com todas as

antras deiscntes (Fig. 2C-E), neste período o estigma está úmido e brilhante. Ao longo do primeiro dia de antese, os grãos de pólen são liberados; no segundo dia, as flores apresentam antras secas e sem pólen, mas os estigmas continuam úmidos mostrando receptividade; no terceiro dia, as flores apresentam superfície estigmática escura, não estando mais em antese, neste período não foi observada queda das flores, mesmo em pós-antese, elas permanecem na planta (Fig. 2F). Testes utilizando peróxido de hidrogênio confirmaram receptividade estigmática durante o primeiro e segundo dias de antese.

Figura 2 - Longevidade floral em *Kielmeyera cuspidata* dos campos rupestres do município de Mucugê, Bahia. **A.** Início da antese. **B-C.** Alvorescer na Chapada Diamantina e flores em antese. **D.** Deiscência das antras no início da manhã. **E.** Início da senescência das flores. **F.** Flor senescente com o estigma escuro e ainda persistindo na planta.



Testes de germinação *in vitro* dos grãos de pólen de ambos os morfos florais mostraram tubos polínicos em solução de sacarose com concentração de 20%.

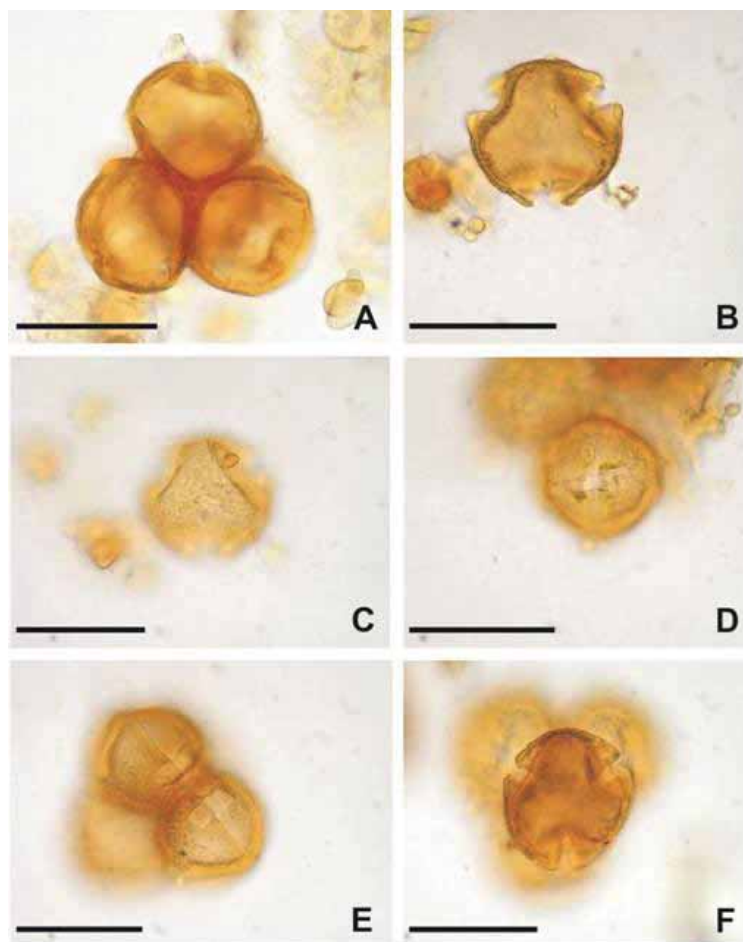
A análise da morfologia polínica revelou que tanto as flores com gineceu grande quanto as de gineceu pequeno produzem em suas antras grãos de pólen morfológicamente idênticos. São mônades (comumente são encontradas em grupo de quatro, podendo ser confundidas com tétrades), de tamanho médio, forma oblato-esferoidal, exina reticulada-verrucada, 3-colporadas, ectoaberturas longas com extremidades afiladas e endoaberturas lalongadas (Fig. 3).

Discussão

Kielmeyera cuspidata possui dimorfismo floral em relação ao tamanho do gineceu. Os dois morfos florais possuem receptividade estigmática e grãos de pólen funcionais, mas a ausência de frutos nos indivíduos que apresentam gineceu pequeno sugere uma androdioicia funcional. Na população estudada ocorrem indivíduos masculinos, com flores estaminadas e indivíduos hermafroditas, com flores perfeitas.

Na família Clusiaceae são registrados desde espécies hermafroditas até sexualmente dimórficas (CAVALCANTE, 1996; LOPES; MACHADO, 1998; CORREIA et al. 1999; DUNTHORN, 2004; SOUZA ; LORENZI, 2008). No gênero *Kielmeyera* têm sido observadas espécies andromonóicas e hermafroditas (OLIVEIRA; SAZIMA, 1990; BARROS, 2002). A androdioiccia é considerada um sistema sexual raro entre as angiospermas (LLOYD, 1975; CHARLESWORTH, 1984) e geralmente está associado a espécies com flores cujo único recurso é o pólen (MAYER; CHARLESWORTH, 1991). Em muitos estudos, espécies morfologicamente androdioicas têm demonstrado ser funcionalmente dióicas (criptodioiccia). Nestes casos, as flores perfeitas são na verdade funcionalmente pistiladas devido à presença de estames não funcionais, embora bem desenvolvidos com anteras que podem ser indeiscentes, ou que liberam grãos de pólen estéreis ou inaperturados ou ainda anteras vazias (MAYER; CHARLESWORTH, 1991; CANE, 1993; DUNTHORN, 2004).

Figura 3 - Grãos de pólen de *Kielmeyera cuspidata* dos campos rupestres do município de Mucugê. Flores com gineceu grande: **A.** Mônades unidas em grupo de quatro. **B.** Mônade em vista polar. **C.** Grão de pólen em corte óptico evidenciando a ornamentação da exina. **D.** Detalhe da abertura colporada. Flores com gineceu pequeno: **E.** Grupo de mônades evidenciando ornamentação da exina e cólporos. **F.** Mônade em vista polar. Escala=5 μ m.



A dioícia críptica também foi registrada para algumas espécies de Clusiaceae, em *Garcinia brasiliensis* (Mart.) uma espécie nectarífera, as anteras das flores perfeitas não apresentam grãos de pólen (SILVA, 2005), já em *Mammea* sp, espécie polínifera, as anteras possuem grãos, mas são inaperturados (DUNTHORN, 2004). Algumas hipóteses tentam explicar a retenção dos estames funcionais (androdioícia) ou não funcionais (criptodioícia) em flores morfológicamente perfeitas: quando o pólen é um fator limitante para o sucesso reprodutivo da espécie, os estames funcionais podem ser mantidos, favorecendo o fluxo de pólen na população, outro fator é quando o conjunto de estames é um importante atributo floral na atração dos polinizadores e/ou está envolvido na produção de pólen como único recurso floral, não havendo outras recompensas (MAYER; CHARLESWORTH, 1991; CANE, 1993).

Por outro lado, a retenção do gineceu não funcional nas flores estaminadas tem sido associada a um estágio recente da evolução do hermafroditismo para sistemas sexuais dimórficos, não havendo tempo evolutivo o suficiente para a completa supressão das estruturas não funcionais (MAYER; CHARLESWORTH, 1991). A presença da receptividade estigmática nas flores estaminadas e de um fruto encontrado em um indivíduo masculino sugere que a função feminina pode não estar completamente suprimida.

Modelos matemáticos têm revelado que a manutenção dos indivíduos masculinos na população androdioica só é possível se o sucesso na transferência de genes via pólen destes indivíduos for no mínimo duas vezes maior que o sucesso da função masculina nos indivíduos hermafroditas (LLOYD, 1975; CHARLESWORTH, 1984). O sucesso das flores estaminadas está associado ao número de grãos de pólen produzidos, número de flores emitidas e frequência na população (LLOYD, 1975; CHARLESWORTH, 1984).

O número de grãos de pólen encontrados nos dois tipos florais de *K. cuspidata* não diferiu significativamente, fato também observado para outras espécies androdioicas (ISHIDA; HIURA, 1998; LANDRY, RATHCKE, 2007). Nos exemplos levantados (APPANAH, 1982; ISHIDA; HIURA, 1998), geralmente há maior número de flores por inflorescência nos indivíduos masculinos em comparação com os hermafroditas, diferente do observado para *K. cuspidata*.

A proporção de 3 indivíduos masculinos para 1 feminino mostra o grande número de plantas masculinas na população em estudo, fato que pode favorecer o sucesso da função masculina nestes indivíduos e, conseqüentemente, sua permanência na população. Ao mesmo tempo, o grande número de flores estaminadas disponíveis na população aumenta a atratividade de visitantes florais, garante alimento para os polinizadores, já que o pólen é o único recurso oferecido pelas flores de *K. cuspidata*, e permite um maior fluxo de pólen entre plantas (LANDRY; RATHCKE, 2007).

A antese das flores perfeitas ocorre durante dois dias, com a função masculina somente no primeiro dia, já nas flores estaminadas, embora tenham receptividade estigmática, a não formação de frutos mostra um período de antese de um dia, já que os grãos de pólen são dispersos no primeiro dia. Flores de ambos os morfos permanecem na planta por um

período de pós-antese, essa permanência pode ser um mecanismo de atração visual para polinizadores (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979). A maior longevidade das flores femininas também foi registrada para muitas espécies dimórficas e esse mecanismo está associado a maiores chances de fertilização (BAWA, 1975; BAWA, 1980).

Flores de *K. cuspidata* são planas e apresentam numerosos estames bem acessíveis, sugerindo a ausência de mecanismos de exclusão de visitantes, o que é confirmado pela observação de dípteros, coleópteros e himenópteros coletando grãos de pólen das anteras (ROSA et al., 2010). Estudos em espécies de *Kielmeyera* (OLIVEIRA; SAZIMA, 1990) registraram abelhas como principais polinizadoras. As abelhas coletam somente de pólen, enquanto os coleópteros e dípteros foram visitantes ocasionais.

Observações sobre a morfologia das flores, funcionalidade das estruturas reprodutivas, antese floral e produção de frutos revelaram que *K. cuspidata* é funcionalmente androdioica, entretanto, experimentos reprodutivos e ontogênicos são necessários para maior esclarecimento sobre o sucesso da função masculina presente nas flores estaminadas e perfeitas, e o momento em que a função feminina é suprimida nos indivíduos masculinos, permitindo assim, maior compreensão do sistema sexual desta espécie.

Agradecimentos

Aos professores, monitores e alunos do Pollination Course 2009, realizado no município de Mucugê, Chapada Diamantina, BA, em especial aos professores Leonardo Galetto e Fabiana Oliveira da Silva pelas sugestões durante a coleta de dados e a professora Heloisa Alves de Lima pelas valiosas sugestões durante a redação do manuscrito.

Referências

- APPANAH, S. Pollination of androdioecious *Xerospermum intermedium* Radlk. (Sapindaceae) in a rain forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 18, p.11-34, 1982.
- BAWA, K. S. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review Ecology Systematic*, v. 11, p. 15-39, 1980.
- BAWA, K. S. Dioecism in tropical forest trees. *Evolution*, v. 29, p. 167-174, 1975.
- BARROS, M. A. G. Floração sincrônica e sistemas reprodutivos em quatro espécies de *Kielmeyera* Mart. (Guttiferae). *Acta Botanica Brasílica*, v. 16, n.1, p.113-122, 2002.
- CANE, J. H. Reproductive role of sterile pollen in cryptically dioecious species of flowering plants. *Current Science*, v. 65, n. 3, p. 223-225, 1993.

- CAVALCANTE, P. B. *Frutas comestíveis da Amazônia*. 6. ed. Belém: CNPq/Museu Paraense Emílio Goeldi, 1996. (Coleção Adolpho Ducke)
- CHARLESWORTH, D. Androdioecy and the evolution of dioecy. *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 23, p. 333-348, 1984.
- CORREIA, M. C. R. et al. Biologia da reprodução de *Clusia lanceolata* Camb. *Hoehnea*, v. 26, n.1, p. 61-73, 1999.
- DAFNI, A. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford : Oxford University Press, 1992.
- DUNTHORN, M. Cryptic dioecy in *Mammea* (Clusiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, v. 249, p.191-196, 2004.
- ERDTMAN, G. The acetolysis method. A revised description. *Sv. bot. Tidskr.*, 1960. v. 54, n. 4, p. 561-564, 1960.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. *The principles of pollination Ecology*. Oxford: Pergamon Press, 1979.
- HARLEY, R.M.; SIMMONS, N. A. *Florula of Mucugê*. Brough: Kew Publishing, 1986.
- ISHIDA, K; HIURA, T. Pollen fertility and flowering phenology in na androdioecious tree, *Fraxinus lanuginosa* (Oleaceae), in Hokkaido, Japan. *International Journal of Plant Science*, v. 159, p. 941-947, 1998.
- KÖPPEN, W. *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. México: Fondo de Cultura Econômica, 1948.
- LANDRY, C. L.; RATHCKE, B. J. Do inbreeding depression and relative male fitness explain the maintenance of androdioecy in white mangrove *Laguncularia racemosa* (Combretaceae)? *New Phytologist*, v. 176, p. 891-901, 2007.
- LOPES, A. V.; MACHADO, I. C. Floral Biology and Reproductive ecology of *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) in northeastern, Brasil. *Plant Systematics and Evolution*, v. 213, p. 71-90, 1998.
- LLOYD, D. G. The maintenance of gynodioecy and androdioecy in Angiosperms. *Genética*, v. 45, p. 325-339, 1975.
- MAYER, S. S.; CHARLESWORTH, D. Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends Ecology and Evolution*, v. 6, p. 320- 325, 1991.
- OLIVEIRA, P. E. A.; SAZIMA, M. Pollination biology of two species of *Kielmeyera* (Guttiferae) from cerrado vegetation. *Plant Systematic and Evolution*, v. 172, p. 35-49, 1990.
- RIZZINI, C. T. A flora do cerrado. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO. 1963. São Paulo. *Anais...* São Paulo: EDUSP, 1963. p. 125-177.
- ROSA, A. et al. Visitantes florais de *Kielmeyera cuspidata* (Clusiaceae) e as suas relações com a morfofisiologia floral. In: VIANA, B. F.; OLIVEIRA, F. F. de. *Biologia e Ecologia da polinização: cursos de campo*. Salvador: EDUFBA, 2010.

SADDI, N. *A taxonomic revision of the genus Kielmeyera Mart.(Guttiferae)*. 1982. PhD thesis. University of Reading. UK.

SILVA, R. C. P. Estudos reprodutivos em *Garcinia brasiliensis* Mart. na Restinga de Maricá, RJ. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Rio de Janeiro/ Museu Nacional, Rio de Janeiro.

SOUZA, V.; LORENZI, H. *Botânica sistemática*. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

STRADMANN, M. T. S. *Plano de Manejo do Parque Municipal de Mucugê. Projeto Sempre Viva*. Mucugê, Prefeitura Municipal de Mucugê, 1998.

VIEIRA, S. *Introdução à bioestatística*. Rio de Janeiro: Campus, 1981.

Biologia floral e síndrome de polinização de *Mandevilla moricandiana* (A. DC) Woodson (Apocynaceae)

Fabiana Pioker¹

Mariana Taniguchi²

Mauro Prato³

Solange Kerpel⁴

Apocynaceae *sens. lat.* é um grande grupo vegetal, composto por aproximadamente 5100 espécies (APG II, 2003) de lianas, árvores, arbustos e ervas. Possui distribuição principalmente tropical e suas plantas são importantes fontes de drogas e venenos (MABBERLEY, 1987). Suas flores são alvo de muita curiosidade entre os botânicos, por apresentarem distinta estrutura floral acompanhadas de um elaborado mecanismo de polinização.

O gênero *Mandevilla* (Lindl.) é o maior e mais diversificado da tribo Mesechiteae, uma das tribos mais representativas e bem distribuídas de Apocynaceae nos neotrópicos. Abriga cerca de 150 espécies (LEEJWENBERG, 1994) distribuídas nas regiões quentes da América Central e do Sul (WOODSON, 1933). Todas as espécies são lianas e ascendem através das árvores, atingindo o dossel das florestas. Quando crescem em ambientes abertos, seus ramos podem atingir até dois metros, eretos ou apoiando-se sobre outras plantas. Constituem inflorescências simples e laterais que formam densos racemos. Suas flores são tubulares e os órgãos reprodutivos encontram-se no interior do tubo. Como a maioria da apocynáceas, possui morfologia distinta. As anteras e o estigma encontram-se fundidos entre si em forma de um cone pentalobado (cinco estames) com a zona estigmática situada abaixo das anteras. No espaço existente entre as tecas, é secretado um líquido pegajoso derivado da cabeça do estilete. O pólen é liberado através de fendas longitudinais das anteras e se acumula na base do cone, acima do estigma. A porção superior do tubo e a superfície dos filamentos são recobertos por muitos tricomas. O nectário pode estar presente e encontrar-se em diferentes posições e estruturas de acordo com a espécie. Pode apresentar-se na base da corola, ao redor do ovário, ou consistir de glândulas alternas

1 Universidade de São Paulo (fpiocker@ib.usp.br)

2 Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto (marit08@uol.com.br)

3 Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto (mauroprato@gmail.com)

4 Universidade do Pará/Museu Paraense Emílio Goeldi (skerpel@museu.goeldi.br)

aos estames (WOODSON; MOORE, 1938). Como o tubo é muito estreito, só existem cinco entradas de acesso ao néctar, delimitadas pelos filamentos. O visitante deve possuir uma probóscide fina o bastante para passar pelas entradas e longa o bastante para alcançar o recurso no fundo da corola. Estas condições servem como mecanismos para estreitar o espectro dos polinizadores, tornando a interação mais especializada (PROCTOR; YEO; LACK, et al. 1996).

No momento em que o inseto retira a probóscide, encosta-a primeiramente no líquido pegajoso e depois no pólen, carregando-o consigo. Numa próxima visita pode depositá-lo próximo à superfície estigmática ao remover a probóscide. Esse processo é facilitado pelos tricomas presentes na parede da corola. Essa complexa arquitetura floral, com apresentação secundária do pólen, impede a auto-polinização e permite que o pólen seja depositado no lugar exato nos polinizadores (ENDRESS, 1994). No entanto, as flores dependem da visita de um polinizador para transferir o pólen para o estigma (FALLEN, 1986). Mesmo ocorrendo baixa frequência de visitantes numa população de *Mandevilla*, uma única visita já garante sucesso na transferência de pólen, se o inseto tiver visitado previamente outra flor (LÖHNE et al. 2004).

Há registros de polinização em *Mandevilla* realizada principalmente por insetos lepidópteros, porém himenópteros, dípteros e algumas espécies de beija-flores também visitam as flores. Alguns estudos de caso com espécies de *Mandevilla* encontraram características esfingófilas em *M. longiflora* (Desf.) Pichon, *M. laxa* (Ruiz & Pav.) Woodson e *M. petrea* (A. St.-Hil.) Pichon (MORE; SÉRSIC; COCUCCHI et al. 2007). Todas apresentam flores tubulares de coloração esbranquiçada, com antese noturna, exalam odores e secretam néctar com baixa concentração de açúcares. Foram registrados esfingídeos polinizando *M. longiflora* (SILBERBAUER-GOTTSBERGER; GOTTSBERGER, 1975) e *M. petrea* (GALETTI, 1997). No estudo com *M. laxa* não foram observados visitantes diurnos (GALETTI, 1997). Em espécies sem estas características, como *M. pentlandiana* (A. DC.) Woodson, de tubo floral mais curto, coloração esverdeada, flores que se abrem ao longo do dia e que secretam néctar relativamente concentrado, foram observadas abelhas mamangavas, *Apis mellifera* e beija-flores visitando durante o dia, não tendo sido observado visitante algum nesta espécie durante a noite (GALETTI, 1997; TORRES; GALETTI, 1998; TORRES; GALETTI, 1999). Já em *M. tenuifolia* (CONCEIÇÃO; GIULIETTI, 2002), de tubo floral longo, coloração rósea, sem odor e de antese com duração de aproximadamente quatro dias (abertura no início da manhã) foram observadas apenas borboletas visitando as flores (ALVINO; MACHADO; QUIRINO, 2007).

A espécie *M. moricandiana* (A. DC.) Woodson possui três variedades conhecidas: *M. moricandiana*, *M. bahiensis* e *M. typica* (Woodson, 1933). Essa espécie possui flores gamopétalas com tubos longos, de coloração branca a rosa, sendo que no interior do tubo a coloração se torna amarela; exalam odores e permanecem abertas tanto durante o dia quanto à noite, quando principalmente as de coloração branca, se destacam na vegetação. A espécie aparentemente possui distribuição ampla dentro da formação de

campos rupestres do interior da Bahia (região da Chapada Diamantina), porém nenhum trabalho que referencie seguramente sua área de ocorrência foi encontrado.

Os campos rupestres são formações vegetais herbáceo-arbustivas que ocorrem em afloramentos rochosos ou solos geralmente rasos, formados pela decomposição das rochas (MOURÃO; STEHMANN, 2007). No Brasil, estão localizados nas serras do sul da Bahia, Goiás e Minas Gerais, em altitudes de 1000 a 1800 m (EITEN, 1983). A vegetação é constituída por um estrato herbáceo mais ou menos contínuo, entremeado por pequenos arbustos perenifólios e esclerófilos. Contudo, os campos rupestres não constituem um tipo de vegetação homogêneo, mas um mosaico de comunidades relacionadas e controladas pela topografia, declividade, microclima e natureza do substrato (GIULIETTI et al., 2000). Os campos rupestres podem ocorrer sobre diferentes tipos de rochas. Na maior parte da Cadeia do Espinhaço, como na Chapada Diamantina e Serra do Cipó, predominam o quartzito e solos arenosos, originados da decomposição dessa rocha (GIULIETTI et al., 1987; HARLEY, 1995). Os campos rupestres apresentam grande riqueza em espécies e endemismos (GIULIETTI et al., 1987, 1997; MENEZES; GIULIETTI, 2000), sendo que muitas espécies desta formação estão em vias de extinção, devido à pequena área que ocupam e da forte pressão antrópica que vêm sofrendo (MENEZES; GIULIETTI, 2000). Dentre os fatores de perturbação antrópica nos campos rupestres, chama a atenção o alto grau de impacto que as intensas atividades de mineração promovem, pois as áreas deixadas com subsolo ou cascalho expostos permanecem destituídas de vegetação mesmo tendo sido abandonadas por décadas (GIULIETTI; PIRANI; HARLEY, 1997; MENEZES; GIULIETTI, 2000).

Embora as espécies de *Mandevilla* tenham sido bastante estudadas, ainda há carência de estudos com fiéis observações florais, informações sobre visitantes com pólen aderido ao corpo e análises do funcionamento do mecanismo de polinização. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivos estudar a biologia floral de *Mandevilla moricandiana*, enfocando os aspectos relacionados à sua polinização: síndrome, produção de néctar ao longo do dia, visitantes florais e possíveis polinizadores.

Materiais e métodos

O presente estudo foi conduzido no município de Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil, em ponto amostral localizado nas proximidades do Km 90 da Rodovia BA-142. A área de estudo se encontra a cerca de 1.100 m de altitude, onde predomina a formação vegetal típica dos Campos Rupestres. O clima nos locais estudados é do tipo Tropical do Brasil Central, sub-quente, semi-úmido, com verão úmido e quatro a cinco meses secos concentrados na primavera (NIMER, 1989). Arenitos e quartzitos formados na era Pré-Cambriana compõem a topografia acidentada da Chapada Diamantina, decorrente da erosão diferencial (MOREIRA; CAMELIER, 1977). Os afloramentos rochosos estudados são incluídos no Grupo Chapada Diamantina, que se inicia próximo à Mucugê, estendendo-se

até Santo Inácio, fazendo parte da Formação Tombador (TORQUATO; FOGAÇA, 1981). Em afloramentos rochosos nos topos de serras da Chapada Diamantina, os sedimentos onde a vegetação está associada às maiores proporções de rocha exposta são rasos, arenosos e ácidos, concentrando elevado teor de matéria orgânica e argilas em relação aos locais com vegetação mais contínua (CONCEIÇÃO; GIULIETTI 2002; CONCEIÇÃO; PIRANI, 2005).

Durante o experimento, foram acompanhadas duas populações de *Mandevilla moricandiana*, separadas entre si por cerca de 800 metros. Para avaliar a biologia floral, 45 botões semi-abertos (em pré-antese) e 10 flores com coloração entre rosa e branco (“intermediárias”) foram cobertos com um saco de organza e acompanhados durante dois dias. Foram registradas as diferenças de coloração e de produção e reposição de néctar ao longo dos dois dias, em quatro períodos principais, variando as observações durante os dias de coleta: 1º dia-manhã (entre 06:30 e 08:30 horas), início da tarde (entre 12:30 e 14:30 horas), final da tarde (entre 17:00 e 19:00 horas) e noite (entre 22:30 e 00:30 horas); 2º dia- nos três primeiros períodos (colocar o período); 3º dia - apenas no período da manhã. Os botões foram divididos em quatro grupos, de acordo com o horário da primeira retirada de néctar (Tab. 1). O néctar foi extraído por sucção, com a utilização de capilares de vidro graduados, sem a remoção das flores das plantas. Este procedimento foi realizado cuidadosamente, para evitar danos aos nectários e outras estruturas da flor que poderiam contaminar as amostras de néctar com látex ou pólen, ou até mesmo água acumulada em decorrência de chuvas. O volume do néctar retirado foi registrado a partir da graduação do capilar ou, quando isso não foi possível devido a bolhas de ar, comparando-se o tamanho da gota a gotas de volume conhecido. A concentração de açúcar do néctar (% de sacarose) foi imediatamente medida com um refratômetro manual. Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis com auxílio do programa SPSS 8.0.

Tabela 1 - Horários de retirada de néctar dos botões semiabertos de *M. moricandiana* no município de Mucugê, Chapada Diamantina, Ba, de 4 a 6 de maio de 2009.

Horários das medições (início-final)									
Grupo	nº de botões	6:30-8:30	12:30-14:30	17:00-19:00	22:30-0:30	6:30-8:30	12:30-14:30	17:00-19:00	06:30-08:30
I	15	X	X	X	X	X	X		X
II	11		X	X	X		X		X
III	9			X	X			X	X
IV	10				X				X

Para avaliar a receptividade dos estigmas ao longo do desenvolvimento da flor, foram ensacados 36 botões semi-abertos (em pré-antese), que tiveram os estigmas retirados em horários determinados: início da tarde e noite do 1º dia, início da tarde do 2º dia e manhã do 3º dia. Também foi testada a receptividade dos estigmas para cinco flores brancas, que permaneceram ensacadas por 24 horas. A receptividade foi determinada gotejando-se

peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 3% sobre os estigmas e verificando a formação de bolhas de ar, indicativas de que a superfície receptiva do estigma está ativa (KEARNS; INOUE, 1993).

Foi verificada a viabilidade dos grãos de pólen através da observação de sua germinação ao longo dos três dias de estudo. Para isso, em cada um dos dias, as anteras de 10 botões em pré-antese e de 10 flores intermediárias foram retiradas e mergulhadas em solução de sacarose, pelo menos por 30 minutos. Posteriormente, as amostras foram coradas com hematoxilina e observadas sob microscopia óptica comum, com observações quanto ao desenvolvimento do tubo polínico.

A observação dos visitantes florais foi realizada por dois coletores em quatro períodos de 30 minutos (início e final da manhã, meio da tarde e noite), ao longo de dois dias, totalizando oito horas de observação. Nas observações noturnas, foram utilizadas lanternas cobertas com plástico vermelho, para que a luz não interferisse nas observações. Os insetos foram coletados dentro das flores ou ao pousar sobre as flores ou galhos e depositados em frascos contendo acetato de etila. Para verificar a presença de grãos de pólen nos insetos coletados passou-se gelatina corada com hematoxilina sobre o corpo dos animais e observou-se ao microscópio óptico comum. Os grãos observados foram comparados aos retirados das flores para certificar-se serem grãos da *M. moricandiana*. Os espécimes coletados foram depositados na coleção entomológica da UFBA ou na coleção entomológica Paulo Nogueira Neto (CEPANN), no IBUSP.

Para verificar como se daria a deposição de grãos de pólen nos estigmas após a visita de um inseto com probóscide longa, foi introduzido um fio de nylon na flor até tocar o nectário. Registrou-se a altura da deposição de grãos de pólen no fio. Em seguida, outro fio foi coberto com corante em pó azul até a distância observada de deposição de pólen no primeiro fio. O fio com o corante foi introduzido na flor da mesma forma, até tocar o nectário. Em seguida, a flor foi dissecada e observou-se o local de deposição do corante na flor.

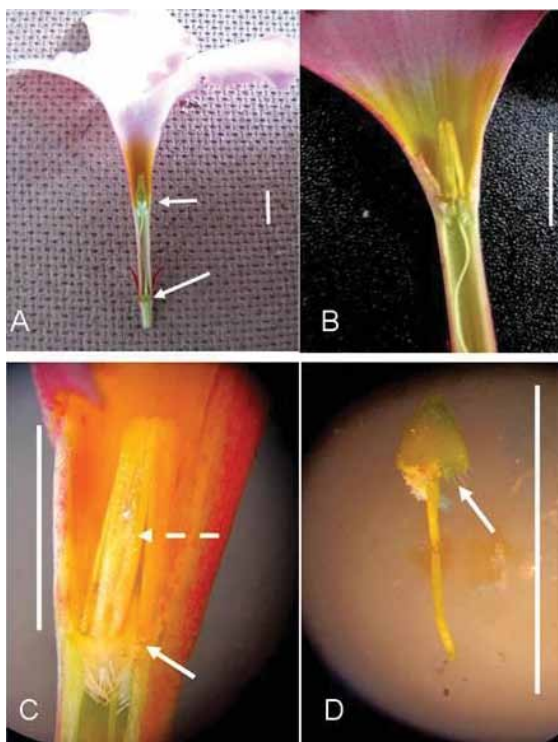
Resultados

As flores de *Mandevilla moricandiana* seguem o padrão geral de morfologia observado para outras espécies do gênero: inflorescências em racemos; flores tubulares de coloração vistosa, com os órgãos reprodutivos no interior do tubo; anteras e estigmas fundidos entre si, formando um cone com cinco estames cobrindo a zona estigmática; presença de líquido pegajoso entre as tecas, que se abrem longitudinalmente (Fig. 1). Na base do cone, situada abaixo da zona estigmática, há uma densa pilosidade. Observa-se um par de nectários situados no fundo do tubo, bem abaixo do cone reprodutivo.

A coloração das flores variou de acordo com seu desenvolvimento: os botões fechados apresentavam coloração rosa intenso; os botões em pré-antese variavam de rosa intenso a intermediário, assim como as flores recém abertas; flores abertas há um ou dois dias apresentavam coloração intermediária; flores abertas há mais de dois dias apresentavam

coloração variando de intermediária a branco (Fig. 2). Assim, pôde-se observar que as flores tendem a descolorir-se de acordo com seu tempo de abertura, embora existam variações entre racemos de plantas diferentes e dentro da mesma planta. O tempo de duração da flor não foi possível de ser determinado, pois as flores continuaram vivas após três dias de observação, mesmo as que começaram a ser observadas já abertas. Assim, conclui-se que o tempo de duração da flor é maior que três dias.

Figura 1 - Morfologia interna da flor de *M. moricandiana* coletadas em Mucugê, Chapada Diamantina, Ba, no dia 6 de maio de 2009. **(A)** corte longitudinal da flor, mostrando a localização do cone reprodutivo (seta superior) e dos nectários (seta inferior); **(B)** Detalhe de corte longitudinal ilustrando o cone reprodutivo e a coloração amarela da corola ao seu redor; **(C)** Detalhe do cone reprodutivo, ilustrando a posição do estigma entre as anteras (seta tracejada) e a localização da abertura das anteras (seta contínua); **(D)**: Detalhe do estigma, ilustrando a região receptiva (seta). Barras verticais: escala 1 cm.



A produção de néctar ocorreu durante os quatro períodos amostrados ao longo do dia (manhã, início da tarde, final da tarde e meia-noite). A quantidade de açúcar presente no néctar variou ao longo do período, apresentando dois picos, um ao meio-dia e um à meia-noite (Fig. 3). No entanto, as diferenças observadas não foram estatisticamente significativas (Kruskal-Wallis; $p > 0,05$ entre os grupos e par-a-par).

Houve variação na reposição do néctar, ocorrendo esta de forma diferenciada, conforme o horário da primeira retirada e a frequência de retiradas, apresentando grande variabilidade (Fig. 4). Para o grupo I, observou-se uma pequena reposição no segundo ponto de retirada, e uma reposição total somente após 24 horas da primeira retirada. Para o grupo II, não foi observada reposição, mesmo com uma janela de 12 horas entre a 3ª e a 4ª retirada. O grupo III foi o único em que a reposição foi maior do que a retirada inicial. Neste grupo, a reposição se deu após uma janela de 18 horas entre a 2ª e a 3ª retirada. Para o grupo IV, não foi observada reposição, mesmo após um intervalo de 18 horas entre as retiradas.

Entretanto, a segunda retirada foi feita

somente no 3º dia, quando foi retirado o néctar de todos os botões. Entre a noite do segundo dia e a manhã do terceiro houve uma forte chuva, que pode ter interferido na reposição de néctar dos botões, já que somente um dos 45 botões amostrados apresentou néctar. Os dados do grupo IV e do 3º dia não foram incluídos na figura 4.

Quanto à receptividade dos estigmas, observou-se um aumento na proporção de estigmas receptivos no 2º dia de abertura, - estabilizando-se no 3º dia de abertura (Figura 5). Das cinco flores brancas testadas, indicativas de flores mais velhas, apenas duas apresentaram estigmas receptivos (dados não incluídos na Fig. 5). Quanto à viabilidade do pólen, observou-se que eles foram viáveis desde a fase de botão até o 3º dia de observação.

Figura 2 - Variação geral da coloração das flores de *M. moricandiana* ao longo do tempo, desde botões fechados (esquerda) a flores abertas a mais de três dias (direita), coletadas em duas populações de Mucugê, Chapada Diamantina, Ba, nos dias 4 a 6 de maio de 2009. Notar a crescente descoloração dos botões da esquerda para a direita.



Figura 3 - Quantidade de néctar produzido pelas flores *M. moricandiana* de acordo com o horário da primeira retirada, em populações de Mucugê, Chapada Diamantina, Ba, nos dias 4 a 6 de maio de 2009.

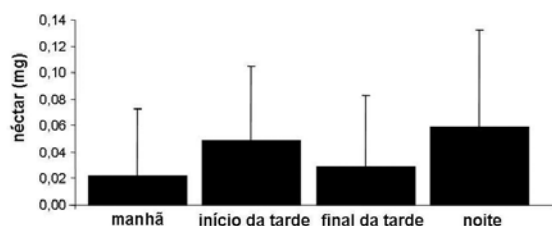
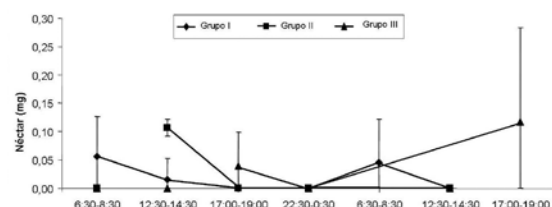


Figura 4 - Reposição de néctar de *M. moricandiana* de acordo com o horário da primeira retirada e o intervalo entre as retiradas, em populações de Mucugê, Chapada Diamantina, Ba, entre os dias 4 a 6 de maio de 2009. Os grupos estão especificados na Tabela 1.



Quanto à visitação, foram coletados 10 insetos dentro das flores dois Diptera (Drosophilidae), um Thysanoptera, um Hemiptera, seis Homoptera (Aphidae) e um Lepidoptera (Sphingidae). Esta última trata-se de uma mariposa que estava sobre os ramos e sobrevoou insistentemente as flores. Além disso, foi observada uma borboleta pousada sobre uma flor (com a probóscide introduzida em seu tubo), tendo sido considerada como uma visitação real. No entanto, não foi possível coletá-la devido à sua fuga.

Quanto à observação da presença de pólen no corpo dos insetos coletados, apenas em um dos Diptera e no Thysanoptera este procedimento não foi realizado. Não foi encontrado pólen de *M. moricandiana* tanto no outro indivíduo de Diptera e quanto no Hemiptera (havia

grãos presentes, porém estes eram diferentes da espécie estudada). Nos Aphidae, não foi detectada a presença de grãos de pólen. Na mariposa, foram encontrados grãos de pólen de pelo menos três espécies vegetais, incluindo aqueles da espécie estudada. No entanto, pode ter havido contaminação no exame da mariposa, pois o equipamento utilizado para retirar o pólen de sua probóscide foi o mesmo utilizado para dissecar as anteras, fato que só foi constatado depois do exame. No entanto, devido ao comportamento de sobrevôo insistente sobre as flores e ao tamanho compatível de sua propóscide com o comprimento do tubo da flor, consideramos a mariposa coletada como um possível visitante e provável polinizador de *M. moricandiana* (Fig. 6).

No teste da deposição de grãos de pólen, observamos que houve fixação de grande quantidade de pólen sobre o fio de nylon após a primeira introdução (Fig. 7A). Além disso, houve grande deposição do pó azul na pilosidade presente sob o estigma após apenas uma inserção do fio (Fig. 7B), indicando que apenas uma visita feita por um inseto que tenha visitado outra flor deve ser suficiente para que ocorra a polinização.

Discussão

O estreito espaço entre o tubo floral e o cone reprodutivo de *M. moricandiana* restringem o acesso aos nectários florais. A profundidade em que estes se encontram sugere que o

Figura 5 - Porcentagem de flores de *M. moricandiana*, ensacadas como botões semiabertos, com estigmas receptivos ao longo do tempo, em populações de Mucugê, Chapada Diamantina, Ba, de 4 a 6 maio de 2009. Os números sobre os pontos indicam o número de flores testadas.

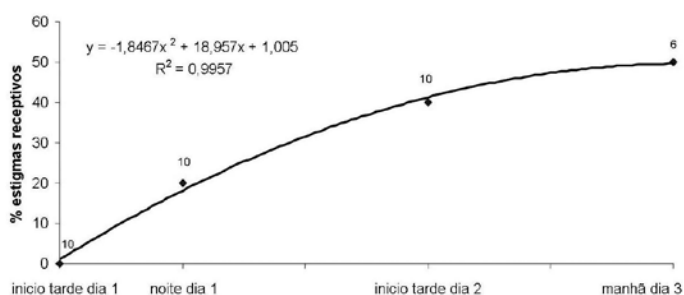
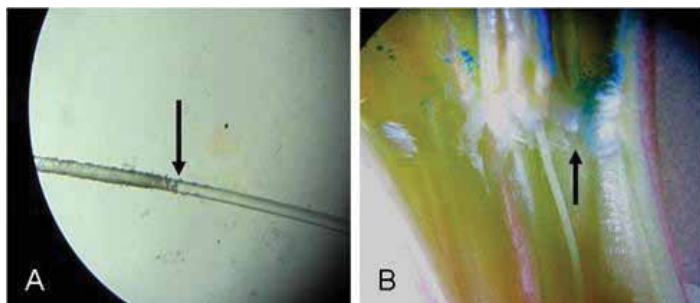


Figura 6 - Mariposa coletada sobre os ramos de *M. moricandiana* em Mucugê, Chapada Diamantina, Ba, no dia 6 de maio de 2009. A probóscide estendida ilustra o tamanho compatível com o comprimento do tubo da flor desde a entrada até os nectários.



Figura 7 - Detalhe das anteras de *M. moricandiana* coletadas em populações de Mucugê, Chapada Diamantina, Ba, de 4 a 6 de maio de 2009. **(A)** Deposição de grãos de pólen no fio de nylon após uma inserção do fio na flor e **(B)** deposição de pó azul na pilosidade sob as anteras após uma inserção.



da probóscide no interior da flor. Portanto, durante a primeira inserção da probóscide na flor ocorreria a adesão dos grãos de pólen, conforme o obtido no teste de deposição, e na segunda inserção, provavelmente em outra flor, ocorreria a polinização.

Foi observado comportamento de sobrevôo insistente do mesmo esfingídeo sobre as flores, assim como uma borboleta com a probóscide inserida no tubo floral. A presença de grãos de pólen sobre o esfingídio também aponta no sentido da polinização por lepidópteros, ainda que a suspeita de contaminação enfraqueça esta suposição.

A coloração das flores de *M. moricandiana* muda de acordo com o passar dos dias de um rosa intenso a quase branco, sendo que todas são bastante conspícuas à noite, quando a maioria das mariposas está em atividade. O néctar está presente desde o início da abertura das flores, assim como o pólen mostrou-se sempre viável, porém, a receptividade do estigma aumenta do segundo para o terceiro dia. Os dados obtidos indicaram que as flores tendem a apresentar maior proporção de estigmas receptivos entre o segundo e o terceiro dia após sua antese, diminuindo a receptividade quando ficam mais velhas. Para confirmar esse possível padrão, seria necessário testar a receptividade por um período mais longo que três dias, assim como em um maior número de flores. De qualquer forma, o estigma encontra-se mais receptivo quando a flor já está desbotada em relação ao botão em pré antese, característica esta que reforça a possibilidade de polinização de *M. moricandiana* pelo esfingídeo capturado neste estudo. Em outros estudos já haviam sido encontrados esfingídeos polinizando *M. longiflora*, *M. laxa* e *M. petrea* (SILBERBAUER-GOTTSBERGER; GOTTSBERGER, 1975; GALLETO, 1997). Assim como *M. moricandiana* tais espécies apresentam flores tubulares de coloração esbranquiçada, exalam odores e secretam néctar com baixa concentração de açúcares. Adicionalmente, Moré, Sérscic e Cocucci (2007) consideram tais características compatíveis com a polinização por esfingídeos.

Não foi possível afirmar sobre a manutenção ou não da receptividade do estigma e também sobre o tempo de vida da flor *M. moricandiana* depois do terceiro dia, uma vez que as observações não ultrapassaram esse período. Segundo Conceição e Giulietti (2002), *M.*

acesso ao néctar deve ser obtido somente por animais com probóscides longas, tais como as borboletas e as mariposas. O comprimento do tubo floral e a probóscide da mariposa coletada neste estudo são compatíveis para que ocorra a polinização por lepidópteros. Além disso, o resultado do teste realizado com o fio de nylon indica que a polinização deve ocorrer durante a segunda inserção

tenuifolia apresenta duração de aproximadamente quatro dias. Similar a espécie estudada, apresenta tubo floral longo, coloração rósea, sendo que Alvino, Machado e Quirino (2007) observaram apenas borboletas visitando suas flores.

Por outro lado, a produção de néctar ocorreu durante os quatro períodos do dia examinados. Embora não tenha sido observada diferença significativa na quantidade de açúcar entre os períodos amostrados, houve dois picos, um no início da tarde e um à noite. Ambos são considerados horários de maior atividade das borboletas e mariposas, respectivamente. Portanto, também sob este aspecto, ambas podem ser os possíveis polinizadoras de *M. moricandiana*.

Quanto à reposição de néctar, esta dependeu do horário da primeira retirada e foi maior quando o tempo entre as retiradas também aumentou. Houve reposição para um volume relativamente maior do que o inicial nas flores em que o néctar foi retirado num intervalo de 18 horas (grupo III). O grande intervalo da reposição poderia diminuir as chances do polinizador visitar duas vezes a mesma flor, isto faria com que as possibilidades de autopolinização também diminuíssem. No teste do nylon, confirmou-se que deve haver uma segunda visita para que ocorra a polinização. Desta forma, o intervalo de reposição do néctar favoreceria uma segunda visita, uma vez que a flor só seria interessante novamente após 18 ou 24 horas, período em que poderia receber a visita de um polinizador que teria vindo de outra flor, e não do mesmo visitante. Por outro lado, a reposição de néctar diminuiu com a frequência de retiradas, com isto, os pequenos volumes de néctar obrigariam o visitante a procurar diversas flores em um curto período, possibilitando a polinização cruzada. Assim, parece que *M. moricandiana* não investe na quantidade de néctar, mas na quantidade de flores, aumentando as chances de polinização.

Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que *M. moricandiana* seja, possivelmente, polinizada tanto por borboletas, quanto por mariposas. Entretanto, estudos adicionais serão necessários para confirmação de tais visitantes, e para o acompanhamento do tempo de vida da flor além do período de três dias, e observação de parâmetros como a receptividade do estigma e intensidade da cor.

Agradecimentos

Agradecemos a Professora Blandina Felipe Viana pela oportunidade de desenvolver este estudo, à equipe de monitores sempre atenciosos e prestativos, ao professor Leonardo Galletto pelo acompanhamento ao trabalho e animadas sugestões e a Maria Cleopatra Pimienta e Vinicius Lourenço Garcia de Brito pelas opiniões. Ainda, ao pessoal da pousada pela hospitalidade e às centenas de flores de *Mandevilla moricandiana* sacrificadas para este estudo.

Referências

- ALVINO, L. D.; MACHADO, I. C.; QUIRINO, Z. G. M. Ecologia da polinização de *Mandevilla tenuifolia* (J.C.Mikan) Woodson uma Apocynaceae exclusivamente psicófila. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8., 2007. Caxambu. *Anais eletrônicos...* Caxambu: Sociedade de Ecologia do Brasil, 2007. Disponível em: < <http://www.seb-ecologia.org.br/viiiceb/trabalhos.html>>. Acesso em: 22 jun. 2010.
- APG - Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 141, p. 399-436. 2003.
- CONCEIÇÃO, A. A.; GIULIETTI, A. M. Composição florística e aspectos estruturais de campo rupestre em dois platôs do Morro do Pai Inácio, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Hoehnea*, v. 29, p. 37-48, 2002.
- CONCEIÇÃO, A. A.; PIRANI, J. R. Delimitação de habitats em campos rupestres na Chapada Diamantina: substratos, composição florística e aspectos estruturais. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, v. 23, n. 1, p. 85-111, 2005.
- EITEN, G. *Classificação da vegetação do Brasil*. Brasília: CNPq, 1983.
- ENDRESS, P. K. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1994.
- FALLEN, M. E. Floral structure in the Apocynaceae: morphological, functional, and evolutionary aspects. *Botanische Jahrbuch Systematic*, v. 106, p. 245-286, 1986.
- GALETTI, L. Flower structure and nectar chemical composition in three Argentine Apocynaceae. *Flora*, v. 192, p. 197-207, 1997.
- GIULIETTI, A. M. et al. Caracterização e endemismos nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. In: CAVALCANTI, T. B.; WALTER, B. M. T. (Ed.). *Tópicos atuais de botânica*. Brasília: EMBRAPA/ Recursos Genéticos, 2000. p 311-318.
- GIULIETTI, A. M.; PIRANI, J. R.; HARLEY, R. M. Espinhaço Range Region, Eastern Brazil. In: DAVIS, S. D. et al. *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation*. Cambridge: The Americas IUCN Publication Unity, 1997. p. 397-404 (v. 3)
- GIULIETTI, A. M. et al. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista das espécies. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, v. 9, p. 1-151, 1987
- HARLEY, R. M. Introduction. In: STANNARD, B. L. (Ed.). *Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil*. Brough: Kew Publishing. 1995. p. 1-42.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. *Techniques for pollination biologists*. Niwot: University Press of Colorado, 1993.

LEEUWENBERG, A. J. M. Taxa of the Apocynaceae above the genus level - Series of Apocynaceae XXXVIII. *Wageningen Agricultural University Papers*, v. 94, p. 47- 60, 1994.

LÖHNE, C. et al. Pollination biology of a *Mandevilla* species (Apocynaceae), characteristic of NE-Brazilian inselberg vegetation. *Botanische Jahrbuch Systematic*, v. 125, p.229-243, 2004.

MABBERLEY, D. J. The Plant-Book. A portable dictionary of the higher plants. Cambridge: Cambridge University Press, 1987.

MENEZES, N. L.; GIULIETTI, A. M. Campos rupestres. In: MENDONÇA, M. P. ; LINS, L.V. *Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas de Extinção da Flora de Minas Gerais*. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas; Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte, 2000. p. 65-73.

MORÉ, M.; SÉRSIC, A. N.; COCUCCHI, A. A. Restriction of pollinator assemblage through flower length and width in three long-tongued hawkmoth-pollinated species of *Mandevilla* (Apocynaceae, Apocynoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 94, p. 487-506, 2007.

MOREIRA, A. A. N.; CAMELIER, C. Relevô. In: IBGE. *Geografia do Brasil: Região Nordeste*. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1977. (v. 2)

MOURÃO, A.; STEHMANN, J. R. Levantamento da flora do campo rupestre sobre canga hemetítica couraçada remanescente na mina do Brucutu, Barão de Cocais, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia*, v. 58, n. 4, p. 775-786, 2007.

NIMER, N. *Climatologia do Brasil*. 2. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1989.

PROCTOR, M.; YEO, P.; LACK, A. *The natural history of Pollination*. Portland: Timber Press, 1996.

SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I; GOTTSBERGER, G. Über sphingophile Angiospermen Brasiliens. *Plant Sysematics and Evolution*, v. 123, p. 157-184, 1975.

TORQUATO, J. R.; FOGAÇA, A. C. C. Correlação entre o supergrupo Espinhaço no Brasil, o grupo Chela em Angola e as formações Nasib e Khoabendus da Namíbia. In: SIMPÓSIO SOBRE O CRATON DO SÃO FRANCISCO E SUAS FAIXAS MARGINAIS. 1981. Salvador. *Anais...* Salvador: Sociedade Brasileira de Geologia, Núcleo da Bahia, Coordenação da Produção Mineral, 1981. p. 87-99.

TORRES, C.; GALETTO, L. Patterns and implications of floral nectar secretion, chemical composition, removal effects and standing crop in *Mandevilla pentlandiana* (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 127, p. 207-233, 1998.

TORRES, C.; GALETTO, L. Factors constraining fruit set in *Mandevilla pentlandiana* (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 129, p. 187-205, 1999.

WOODSON, R. E.; MOORE, J. A. The vascular anatomy and comparative morphology of apocynaceous flowers. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, v. 65, p. 135-169, 1938.

WOODSON, R. E. Studies in Apocynaceae. IV: the american genera of Echitoideae. *Annals of the Missoure Botanical Gardens*, v. 20, p. 605-790, 1933.

Are floral nectar parameters distinct among different floral types?

Yasmine Antonini¹

Carlos Victor Mendonça Filho²

Francisco Plácido Oliveira³

Nectar is considered the most important floral reward offered by flowers to animal visitors (SIMPSON; NEFF, 1981) and many studies have tried to understand the evolutionary relationships between plants and animals (e.g. BAKER; BAKER, 1983; GALETTO; BERNARDELLO, 2003; KEVAN; BAKER, 1999). Nectar is directly taken and consumed on the flower mostly by birds, bats, other small mammals, butterflies, moths, flies, bees, and their relatives (PROCTOR; YEO; LACK, 1996).

Nectar composition is dominated mainly by sugar as total solute that represents the major energy source for visitors (PERCIVAL, 1961; FREEMAN; REID; JACKSON, 1991; STILES; FREEMAN, 1993). The three most common sugars in nectar are disaccharide sucrose and two monosaccharides, the hexoses fructose and glucose (PERCIVAL, 1961). Different proportions of these three sugars have been associated with different types of pollinators as part of the “pollination syndrome” concept (BAKER; BAKER 1983; PROCTOR; YEO; LACK, 1996). Some authors have shown that sucrose is the main sugar component in species pollinated by hummingbirds, moths and long-tongued bees, whereas nectar of species pollinated by passerines, short-tongued bees and neotropical bats is dominated by hexoses (BAKER; BAKER, 1983, 1990; MARTÍNEZ DEL RIO; BAKER; BAKER, 1992; VAN WYK, 1993, PROCTOR; YEO; LACK, 1996; BAKER; BAKER; HODGES et al. 1998; GALETTO; BERNARDELLO 2003; DUPONT et al. 2004).

Baker and Baker (1975) suggested that differences in nectar concentrations are coadaptations to the main group of visitors of the plants. High nectar sugar concentrations are common features in insect- than vertebrate-pollinated species as showed by Cruden, Hermann and Peterson (1983) and others cited by Proctor, Yeo and Lack (1996).

¹ Universidade Federal de Ouro Preto (antonini@iceb.ufop.br)

² Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (cvmendonca@gmail.com)

³ Universidade Federal do Pará (placidomagalhaes@yahoo.com.br)

Divergent nectar features can be found in plant taxa from the same lineage that have maintained a close relationship to distinct pollinator guilds (CHALCOFF; AIZEN; GLETTTO et al. 2006). However, some species differing in pollinator type may show similar nectar composition due to their close phylogenetic relationship (ELISENS; FREEMAN, 1988; VAN WYK, 1993; GALETTO; BERNARDELLO; SOSA, 1998, HINGSTON; MCQUILLAN, 2000; PERRET et al. 2001; GALETTO; BERNARDELLO, 2003).

The study of floral nectar traits are still incipient, mainly sugar composition and concentration. The knowledge of the relation of floral nectar, floral types, phylogenetic and populational constrains will help to unveil patterns of a complex evolutionary scenario, bringing up subsidies for the conservation of an important tropical biome.

In this paper, the following are analyzed: (a) the nectar sugar concentration of 12 species native to the outcrops fields of Bahia State, Brazil; and (b) the relationships between nectar features and flower types (based on flower morphology and main pollinators); also the amount of intra-population variation in nectar traits is assessed for some of the species. This is the first work of this kind in the outcrops of Brazil, and the nectar-sugar composition data compiled in this study were first reports for most species.

Materials and methods

The study was carried out at the Mucugê Municipal Park, located at the municipality of Mucugê, at Serra do Sincorá, around 4 km of the Mucugê town, at 12°59'02"-13°00'18"S and 41°19'40"-41°21'33"W, at an altitude about 1.000 m above sea level, and occupies an area of 4.5 km² (STRADMAN, 1998; AZEVEDO; VAN DEN BERG, 2007). The area includes rivers, waterfalls, caves, rocky pools and mountains rising over 1700 metres and a typical and well-preserved campo rupestre flora, occupying 523 hectares. The landscape is composed of ancient Pre-cambrian sandstones and conglomerates, eroded and dissected by water, and the thin soils are nutrient-poor, with acid sands mixed with black peat (HARLEY; GIULIETTI, 2004). The climate is type Cwb (KÖPPEN, 1948). Mean annual precipitation is 1100 mm. The rainy season occurs from November to may, and the rainiest month is December (172 mm). The dry season starts in July and lasts to October, being August the driest month (46 mm). Mean temperatures range from 15°C to 26°C, sometimes going to 0°C, between June and August and 30°C between December and January (NOLASCO et al. 2008).

Nectar was sampled from natural populations of 12 animal pollinated plant species (out of 8 families) native to the outcrops fields of Bahia State, during the autumn season of 2009. At the study area all species begin flowering during the autumn, winter (pers. obs.). The 12 species included in this study were selected to represent three of the principal life forms that occur in the region (trees, shrubs and herbs) and most of the flower types (which reflect associations with different pollinator assemblages). Plant species populations studied, and the number of individuals and flowers sampled per population are listed in Table 1. Fertile

specimens of all species were collected and oven-dried. Plant identification was performed using specific literature, specialist advisor and herbarium comparisons. Voucher specimens were kept at the herbarium ALCB ("Universidade Federal da Bahia"). Family names followed APG II (2003). The abbreviations of the names of the botanical authorities followed The International Plant Names Index (2010).

Nectar was extracted with capillary glass tubes from one to five flowers per individual and placed together on Whatman No. 1 chromatography paper (i.e. nectar samples obtained from different flowers of an individual were pooled for chromatographic analysis). The number of flowers sampled per plant was variable because of differences in the number of open flowers available among individuals of the same species and among species (Tab. 1). Likewise, the number of plants sampled per population was variable because of differences in the availability of flowering individuals (Tab. 1). Only recently opened flowers were sampled and nectar extraction was always carried out on sunny days mainly in the morning, although some species can be pollinated during the night.

Nectar sugar concentration in sucrose equivalents [$\% \text{ sugar} = (\text{sugar mass} / \text{total mass}) \cdot 100$] was measured with a hand refractometer (range 0–50 %) only for samples with volumes $\geq 1 \mu\text{l}$ because of the reading threshold of the refractometer. To evaluate the occurrence of relationships between pollinators and nectar characteristics (as suggested by Baker and Baker, 1983), the main flower type for each plant species was determined. We use the flower-type concept to the 'pollination syndrome' classification (WYATT, 1983; PROCTOR; YEO; LACK 1996), but not only floral characteristics were taken into account but also field observations on flower visitor and the previous knowledge of the observers. Despite using all existing available sources, pollinator information for most plant species should be considered as best educated guesses because of a lack of data on actual measures of pollen transfer.

However, it is felt that the present classification into broad categories reflects the main trends in plant–pollinator associations in the outcrops fields of Bahia. According to this, species were classified as hummingbird-pollinated (mostly species with red and tubular corollas), diurnal short-tongued insect-pollinated (mostly species with shallow corollas ≤ 1 cm visited by small bees and flies), diurnal long-tongued insect-pollinated (species with corolla tubes > 1 cm but not red, and visited by bumblebees and other large bees) and nocturnal insect pollinated (species releasing strong odor and/or with nocturnal anthesis and visited by moths and/or sphingids) (Tab. 2). Only these four flower-type categories were considered because the number of plant species analyzed in this study was not large enough to carry out a more detailed classification. *Stachytarpheta crassifolia* Schauer was classified into two syndromes based on observations of visitors. However, for analysis were used only the hummingbird syndrome.

Intraspecific variation in nectar traits was evaluated in those species with two or more populations sampled (two species were represented by two and five populations and three by three and four patches (Tab. 1).

To analyze the effect of plant–pollinator association on nectar sugar concentration and nectar sugar composition, one-way ANOVAs with flower type as the independent variable was used followed by a posteriori Tukey test where appropriate. Because all variables were expressed as percentages or proportions, the arcsin root-square transformation was used.

Table 1 - The species studied, sample size and reproductive traits of 12 species from the outcrop fields of Bahia State, Brazil

Family/species	P	I	F	GF	C	S	D
BIGNONIACEAE							
<i>Jacaranda irwinii</i> A.H.Gentry	1	1	3	S	P	Z	D
ERICACEAE							
<i>Agarista</i> cf. <i>pulchella</i> G.Don	5	4	3	S	W	A	D
<i>Gaylussacia virgata</i> Mart.	5	3	3	S	W	A	SD
<i>Gaylussacia</i> sp. 2	3	1	5	S	W	A	SD
FABACEAE							
<i>Calliandra bahiana</i> Renvoize	4	2	3	H	R	A	S D
<i>Calliandra</i> cf. <i>viscidula</i> Benth.	3	2	5	S	W	A	SD
<i>Calliandra</i> sp. 2	4	1	3	S	W	A	SD
GENTIANACEAE							
<i>Prepusa montana</i> Mart	2	1	4	T	G	A	D
HUMIRIACEAE							
<i>Humiria balsamifera</i> Aubl.	3	2	3	T	G	A	S
LYTHRACEAE							
<i>Diplusodum</i> sp.	3	2	3	S	P	A	S
VELLOZIACEAE							
<i>Vellozia</i> sp.	1	1	3	H	L	A	D
VERBENACEAE							
<i>Stachytarpheta crassifolia</i> Schrad.	5	3	2	H	B	A	D

P. patch number; I. number of individuals sampled per population; F. number of flowers sampled per individual; GF. growth form (T. tree; S. shrub; H. herbaceous); C. flower colour (B. blue; W. white; G. greenish; L. lilac; R. red; P. pink); S. flower symmetry (A. actinomorphic; Z. zygomorphic); D. flower depth [D. deep (corolla > 1 cm); S. shallow (corolla ≤ 1 cm)].

Table 2 - Nectar concentration, volume and flower type (FT) of 12 species from the outcrop fields of Bahia, Brazil.

FAMILY/SPECIES	P	% CONC.	VOL	FT
BIGNONIACEAE				
Jacaranda irwinii	1	34.17±1.57	6.33±2.83	DLTI
ERICACEAE				
Agarista pulchella	1	13.80±0.00	1.00±0.00	NI
	2	14.10±6.12	2.29±1.56	
	3	16.10±5.24	2.82±1.82	
	4	14.50±3.86	2.84±1.50	
	5	17.00±7.00	3.33±1.52	
Gaylussacia virgata	1	18.75±6.00	1.00±1.10	DSTI
	2	14.00±0.00	2.30+1.70	
	3	17.50±4.00	2.76±2.66	
	4	20.60±4.50	3.33±4.00	
	5	24.00±5.02	2.72±1.83	
Gaylussacia sp. 2	1	23.60±1.02	3.00±2.00	DSTI
	2	14.00±4.35	3.00±1.73	
	3	24.00±2.50	2.80±0.40	
FABACEAE				
Calliandra bahiana	1	23.50±2.94	2.00±0.81	HUM
	2	16.6±1.32	3.40±1.12	
	3	21.5±1.97	2.34±1.30	
	4	21.5±2.27	1.7±1.54	
Calliandra cf. viscidulla	1	17.88±0.28	8.33±3.84	HUM
	2	18.33±0.47	7.00±1.410	
	3	17.67±1.88	4.33±0.47	
Calliandra sp. 2	1	22.75±1.19	8.33±3.38	HUM
	2	16.75±2.04	7.00±0.00	
	3	15.33±0.47	4.33±0.47	
	4	17.00±0.00	5.00±0.00	
GENTIANACEAE				
Prepusia montana	1	19.25±4.48	8.16±8.49	HUM
	2	22.00±2.85	7.40±3.90	
HUMIRIACEAE				
Humiria balsamifera	1	13.60±2.50	1.90±0.47	DSTI
	2	12.00±1.75	2.10±0.56	
	3	12.00±2.30	1.30±0.32	
LYTHRACEAE				
Diplusodum ulei	1	15.30±0.50	1.66+1.00	DSTI
	2	10.30±1.30	1.50±0.00	
	3	11.50±0.50	1.33±0.00	

VELLOZIACEAE				
<i>Vellozia</i> sp.	1	14.60± 6.10	2.00±1.33	DLTI
VERBENACEAE				
	1	20.00±5.33	9.50±2.80	
<i>Stachytarpheta crassifolia</i>	2	17.00±0.00	8.00±4.00	D L T I , HUM
	3	23.80±1.08	5.00±0.00	
	4	23.50±1.65	6.00±3.90	

P, patch number (see Table 1); % Conc., nectar concentration (mass/mass as percentage); FT, flower-type categories (DLTI, diurnal long-tongued insects; DSTI, diurnal short-tongued insects; HUM, hummingbirds; NI, nocturnal insects).

Results

Mean nectar concentration ($\pm$ standard deviation) for all species was $17.92\pm6.03\%$, ranging from 5.75% in one individual of *Gaylussacia virgata* (patch 1) to 34.17% in *Jacaranda irwinii* (Tab. 2).

Differences in nectar concentration were observed between species from different genera within the same family but with contrasting flower types (Tab. 2). In the Ericaceae, *Agarista pulchella*, a nocturnal insect-pollinated species showed 15.1% of sugar concentration, whereas in *Gaylussacia virgata* and *Gaylussacia* sp.2, a diurnal insect-pollinated species, the sugar concentration were higher, 18.97 and 20.53, respectively. Differences between the mean concentrations were found only between *Agarista pulchella* and *Gaylussacia* sp.2 ($t=2,77$, $p=0,006$).

Table 3 - Coefficient of variation [$CV = (SD/\text{species mean}) \cdot 100$; data are from patches] for sugar concentration (% Conc.) for the ten species with more than one patch studied.

Plant species	N Patch	%C
<i>Agarista pulchella</i>	5	5.602
<i>Calliandra bahiana</i>	4	12.250
<i>Calliandra</i> cf. <i>viscidulla</i>	3	0.836
<i>Calliandra</i> sp. 2	4	15.791
<i>Diplusodum</i> sp.	3	50.100
<i>Gaylussacia virgata</i>	5	14.171
<i>Gaylussacia</i> sp.2	3	22.513
<i>Humiria balsamifera</i>	3	6.018
<i>Prepusia montana</i>	2	6.667
<i>Stachytarpheta crassifolia</i>	4	13.496

N patch, number of patches (see Tab. 1).

On the other hand, species from the same genus and floral types presented similar sugar concentration as observed in Fabaceae, where the three hummingbird-pollinated *Calliandra* species showed similar sugar concentrations (Tab. 2).

Intraspecific variation in nectar traits was evaluated in those species with two or more patches sampled (nine species were represented by three to five patches and *Prepusia montana* by two patches; Tab. 1). The data indicated a large intra-specific variability in nectar concentration only for *Diplusodum ulei* (i.e. CVs $>50\%$, Tab. 3).

Nectar concentration differed significantly among flower-type categories (one-way

Table 4 - Mean nectar concentration and volume for the different flower type categories (DSTI, diurnal short-tongued insect-pollinated; DLTI, diurnal long-tongued insect-pollinated; HUM, hummingbird-pollinated; NI, nocturnal insect-pollinated)

Syndrome	N	% conc	volume
DLTI	3	23.74±2.53	6.863±2.532
DSTI	5	15.46±3.06	2.191±3.063
HUM	5	19.78±1.95	5.531±1.951
NI	1	15.43±6.95	2.118±6.28

higher variability for nectar sugar concentration although only one species was sampled in this group (Tab. 4). We found only one plant species with zygomorphic symmetry and no test were performed to know the influence of this characteristics in nectar volume or concentration.

Nectar volume also differed significantly among flower-type categories (one-way ANOVA, $F = 40.82$; $P < 0.001$) and a posteriori test showed that this differences could be attributed to the high nectar volume of DLTI and Hummingbirds ($p = 0.05$) (Tab. 4, Fig. 2).

Figure 1 - Nectar concentration and floral syndrome (DSTI, diurnal short-tongued insect-pollinated; DLTI, diurnal long-tongued insect-pollinated; HUM, hummingbird-pollinated; NI, nocturnal insect-pollinated)

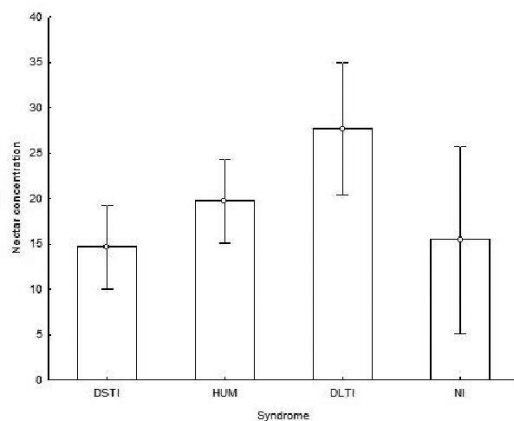
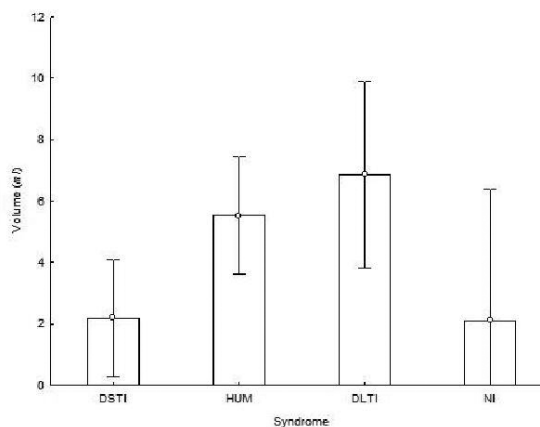


Figure 2 - Volume of nectar in different syndromes (DLTI, diurnal long-tongued insect-pollinated; HUM, hummingbird-pollinated; NI, nocturnal insect-pollinated)



Discussion

Baker and Baker (1990) indicated that nectar sugar ratios show a close relationship with the pollinator type that visit the flowers, irrespective of the plants taxonomic order. Thus, when nectar composition is taken in conjunction with the flower and inflorescence morphology,

sugar ratio can be a good predictor of the pollinators a plant species may have (BAKER; BAKER, 1983).

The average nectar sugar concentration of the 12 species native to the outcrops fields of Bahia State, Brazil (17,92%) presents, in general, low sugar concentration as compared to temperate forest of South America (31.9%) and also two different sites of the neighbouring Patagonian steppe (44.6% and 42.4%, respectively) (FORCONE; GALETTO; BERNARDELLO et al. 1997; CHALCOFF; AIZEN; GALETTO et al. 2006). This trend is more common in hummingbird-pollinated species. The deep corolla tubes characteristic of hummingbird-pollinated flowers are usually associated with nectars of low concentration due to either lower evaporation than in more open flowers (PLOWRIGHT, 1987) or the innate preferences, physical limitations and special requirements of hummingbirds for sugar solutions of low viscosity (PYKE; WASER, 1981). In spite of the fact that there were five hummingbird-pollinated species in our sample species recorded, which could explain this pattern, there were no statistical differences between nectar concentration of hummingbird and insect-pollinated species, although diurnal long tongue species had shown average concentrations over 23%. Chalcoff, Aizen and Galetto (2006) in their study of nectar traits of temperate forest species of South America also reported low nectar concentration for hummingbird and insect-pollinated species.

Nectar concentration is highly influenced by environmental factors, especially temperature and humidity (RATHCKE, 1992). According to Chalcoff, Aizen and Galetto (2006) the relatively low mean nectar concentration of temperate forest species of southern South America could be related to the lower mean maximum temperatures and higher precipitation characteristic of the forest environment in comparison with the nearby steppe. At the studied area, the average temperature was between 15° to 20° and the days were rainy.

In a study carried out at Bocaina Mountains in southern Brazil (FREITAS; GALETTO; SAZIMA, 2006) with nine Ericaceae species there were no statistical differences in nectar concentration between hummingbird and insect-pollinated species. The authors suggested that nectar composition seems to be a more conservative trait than floral morphology, suggesting that plant-visitor interactions may cause more rapid change in floral structure than in nectar composition.

In general, nectar traits were shown to be highly variable at any taxonomic scale. This is the case for the three species analysed that were from the same family (Ericaceae). *Agarista pulchella* presents mean nectar concentration lower than the two species of *Gaylussacia*. Each member of these species is characterized by a particular nectar composition that seems to be related to its association with different pollinators. *Agarista* is probable pollinated by moths and *Gaylussacia* are visited mainly by diurnal insects. Nevertheless, pairs of congeneric species (*Gaylussacia*) present divergent sugar ratios despite their association with similar pollinator assemblages (Tab. 3). Similar results were found for three species of *Vaccinium* pollinated mainly by large bees in Belgium, the species showed large differences in their sugar ratios (JACQUEMART, 1992).

Jacaranda irwinii the species with the highest values of nectar concentration is visited mainly by Euglossine bees and other long tong insects (Yasmine Antonini, pers. obs.). Galletto (1995) showed that *Jacaranda mimosifolia* also with high nectar concentration was visited mainly by *Bombus* bee species.

It is interesting to point out that in *Calliandra*, only *C. bahiana* presents the red tubular hummingbird-pollinated flowers. The other two species showed white tubular flowers in spite of the fact they were also hummingbird-pollinated. All these species showed high nectar concentration if compared with bee pollinated species.

The high intra-specific variability of sugar concentration (over 50%) observed only in *Diplusodum ulei* could be related to the shallow corolla of the species be desiqually affected within the population, by the previous day storm. Chalcoff, Aizem and Galetto (2006) stated that intra-specific variability could be related to environmental plasticity, local selective factors and genetic drift as observed in Argentine species of *Embothrium coccineum* (Proteaceae). The authors also suggested that intra-specific variation in nectar sugar composition shows the underlying potential for evolutionary change in nectar traits under different selective pressures (cf. SCHLUTER, 2000), a situation that merits further investigation.

Chalcoff, Aizem and Galetto (2006) indicated that pollinators are not the only force modeling nectar traits and probably there are a more complex evolutionary scenario including herbivores, nectar robbers, seed predators and/or seed dispersers influencing different reproductive traits in plants. However, basic information on nectar traits is still in a urge, particularly in a region of astonished biodiversity as the rocky fields of the Espinhaço mountain range in Brazil.

Acknowledgements

We wish to thank Leonardo Galletto for his help on nectar field collection, all the professors, the anonymous reviewers of this chapter and the staff of the pollination course, particularly Blandina Viana and Peter Kevan for the success of this pollination course held at Mucugê-BA.

References

- APG - Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 141, p. 399-436. 2003.
- AZEVEDO, C. O.; VAN DEN BERG, C. The Orchidaceae of "Parque Municipal de Mucuge" Bahia, Brazil. *Lankesteriana*, v. 7, n. 1-2, p. 443-445, 2007.

BAKER, H. G.; BAKER, I.; HODGES, S. A. Sugar composition of nectars and fruits consumed by birds and bats in the tropics and subtropics. *Biotropica*, v. 30, p. 559-586, 1998.

BAKER, H. G.; BAKER, I. The predictive value of nectar chemistry to the recognition of pollinator types. *Israel Journal of Botany*, v. 39, p. 157-166, 1990.

_____. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). *Handbook of experimental pollination Biology*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1983. p. 117-141.

CHALCOFF, V. R.; AIZEN, M. A.; GALETTO, L. Nectar concentration and composition of 26 species from the temperate forest of South America. *Annals of Botany*, v. 97, p. 413-421, 2006.

CRUDEN, R.W.; HERMANN, S. M.; PETERSON, S. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. In: BENTLEY, B.; ELIAS, T. S. (Ed.). *The biology of nectaries*. New York: Columbia University Press, 1983. p. 80-125.

DUPONT, Y. L. et al. Evolutionary changes in nectar sugar composition associated with switches between bird and insect pollination: the Canarian bird-flower element revisited. *Functional Ecology*, v. 18, p. 670-676, 2004.

ELISENS, W. J.; FREEMAN, C. E. Floral nectar sugar composition and pollinator type among new world genera in tribe Antirrhineae (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany*, v. 75, p. 971-978, 1988.

FREEMAN, C. E.; REID, W. H.; JACKSON, W. H. Floral nectar sugar composition of some South and Southeast Asian species. *Biotropica*, v. 23, p. 568-574, 1991.

FREITAS, L.; GALETTO, L.; SAZIMA, M. Pollination by hummingbirds and bees in eight syntopic species and a putative hybrid of Ericaceae in Southeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, v. 258, p. 49-61, 2006.

FORCONE, A.; GALETTO, L.; BERNARDELLO, L. Floral nectar chemical composition of some species from Patagonia. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 25, p. 395-402, 1997.

GALETTO, L.; BERNARDELLO, G. Nectar sugar composition in angiosperms from Chaco and Patagonia (Argentina): an animal visitor's matter? *Plant Systematics and Evolution*, v. 238, p. 69-86, 2003.

GALETTO, L.; BERNARDELLO, G.; SOSA, C. A. The relationship between floral nectar composition and visitors in *Lycium* (Solanaceae) from Argentina and Chile: what does it reflect? *Flora*, v. 193, p. 303-314, 1998.

GALETTO, L. Nectary structure and nectar characteristics in some Bignoniaceae. *Plant Systematics and Evolution*, v. 196, p. 99-121, 1995.

HARLEY, R. M.; GIULIETTI, A. M. 2004. *Wild flowers of The Chapada Diamantina*. São Carlos: RiMa, 2004.

HINGSTON, A. B.; MCQUILLAN, P. B. Are pollination syndromes useful predictors of floral visitors in Tasmania? *Austral Ecology*, v. 25, p. 600-609, 2000.

INTERNATIONAL PLANT NAMES INDEX. Disponível em: <<http://www.ipni.org/index.html>>. Acesso em: 11 fev. 2010.

JACQUEMART, A. L. *Pre ´liminaires sur la production de nectar chez trois espe `ces de Vaccinium*. *Apidologie*, v. 23, p. 453-464, 1992.

KEVAN, P. G.; BAKER, H. G. Insects on flowers. In: HUFFAKER, C. B.; ELIAS, A. P. (Ed.). *Ecological Entomology*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons, 1999. p. 553-584.

KÖPPEN, W. *Climatologia com un estudio de los climas de la Tierra*. Tradução de P. R. H. Peres. Mexico: Fondo de Cultura Economica, 1948.

MARTÍNEZ DEL RIO, C.; BAKER, H. G.; BAKER, I. Ecological and evolutionary implications of digestive processes: bird preferences and the sugar constituents of floral nectar and fruit pulp. *Experientia*, v. 48, p. 544-551, 1992.

NOLASCO, M. C. et al. Aspectos físicos da Serra de Sincorá Chapada Diamantina (Bahia). In: FUNCH, L. S.; FUNCH, R. R.; QUEIROZ, L. P. (Org.). *Serra do Sincorá Parque Nacional da Chapada Diamantina*. Feira de Santana: Radami, 2008. p. 17-33.

PERCIVAL, M. S. Types of nectar in angiosperms. *New Phytologist*, v. 60, p. 235-281, 1961.

PLOWRIGHT, R. C. Corolla depth and nectar concentration: an experimental study. *Canadian Journal of Botany*, v. 65, p. 1011-1013, 1987.

PROCTOR, M. P.; YEO, P.; LACK, A. *The natural history of pollination*. Portland: Oregon Timber Press, 1996.

PYKE, G. H.; WASER, N. M. The production of dilute nectars by hummingbird and honeyeater flowers. *Biotropica*, v. 13, p. 260-270, 1981.

RATHCKE, B. J. Nectar distributions, pollinator behavior, and plant reproductive success. In: HUNTER, M. D.; OHGUSHI, T.; PRICE, P. W. (Ed.). *Effects of resource distribution on animal-plant interactions*. New York: Academic Press, 1992. p. 113-138.

SCHLUTER, D. *The ecology of adaptative radiation*. Oxford : Oxford University Press, 2000.

SIMPSON, B. B.; NEFF, J. L. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 8, p. 301-322, 1981.

STILES, F. G.; FREEMAN, C. E. Patterns in floral nectar characteristics of some bird-visited plant species from Costa Rica. *Biotropica*, v. 25, p. 191-205, 1993.

STRADMANN, M. T. S. *Plano de Manejo do Parque Municipal de Mucugê*. Mucugê: Prefeitura Municipal de Mucugê. 1998.

VAN WYK, B. E. Nectar sugar composition in Southern African Papilionoideae (Fabaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 21, p. 271-277, 1993.

WYATT R. *Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems*. In: REAL, L. (Ed.). *Pollination biology*. Orlando: Academic Press, 1983. p. 51-86.

Anexo

.....

Cursos de campo sobre polinização: uma proposta pedagógica¹

Blandina Felipe Viana^{2,4}

Breno Magalhães Freitas³

Fabiana Oliveira da Silva⁴

Favizia Freitas de Oliveira⁵

Leonardo Galetto⁶

Peter G. Kevan⁷

Resumo

A polinização é um importante serviço ecológico para o funcionamento dos ecossistemas. É um processo chave na produção de alimentos e na conservação da biodiversidade, pois os polinizadores asseguram a reprodução da maioria das espécies vegetais com flores. Para viabilizar ações que visem a conservação e o uso sustentável dos polinizadores é essencial investir na formação de profissionais para atuarem nesse campo do conhecimento. Nesse contexto, iniciativas voltadas para o desenvolvimento de estratégias pedagógicas inovadoras, que logrem bons resultados em curto espaço de tempo devem ser incentivadas. Os cursos internacionais de campo sobre polinização é uma dessas iniciativas. O curso visa qualificar pesquisadores, docentes de instituições de ensino superior, discentes de pós-graduação e demais profissionais que atuam na área de polinização e/ou que possuem o perfil para atuarem nesta área, como futuros pesquisadores, formadores de recursos humanos e disseminadores de conhecimentos em nível local e/ou regional. O formato original desses cursos foi concebido e desenvolvido pelo Prof. Dr. Peter Kevan, da Universidade de

¹ Artigo Publicado em: *Oecologia Australis*, 14(1):299-306, Março 2010, doi:10.4257/oeco.2010.1401.18

² Laboratório de Biologia e Ecologia de Abelhas, Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia. Campus de Ondina. Salvador, Bahia, Brasil. CEP: 40170-210. E-mail: blandefv@ufba.br

³ Grupo de Pesquisa com Abelhas, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Ceará. Campus do Pici, Bloco 948. Caixa Postal: 12168. Fortaleza, Ceará, Brasil .CEP: 60021-970. E-mail: freitas@ufc.br

⁴ Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Biomonitoramento, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia. Campus de Ondina. Salvador, Bahia, Brasil. CEP: 40170-210. E-mail: fabia714@gmail.com

⁵ Laboratório de Sistemática de Insetos (LASIS), Depto. de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Av. Universitária, s/n, km 03 BR 116, Campus Universitário, CEP: 44031-460, Feira de Santana, Bahia, Brasil, E-mail: favosgyrl@gmail.com

⁶ Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Casilla de Correo 495, 5000 Córdoba, Argentina. E-mail: leo@imbiv.unc.edu.ar

⁷ Applied Ecology and Anthecology Laboratory, Department of Environmental Biology, University of Guelph, N1G 2W1, Guelph, Ontario, Canada. E-mail: pkevan@uoguelph.ca

Guelph no Canadá, na década de 90. No Brasil já foram realizadas cinco edições desses cursos, sendo quatro na Bahia (Chapada Diamantina) e uma no Ceará (Limoeiro do Norte). A sexta edição está sendo preparada para novembro de 2010, no Rio Grande do Sul e a sétima para 2011, no Pará. O curso é teórico e prático e tem a duração de duas semanas. A proposta pedagógica e o cronograma do curso serão apresentados neste artigo.

Palavras-chave: Ensino, polinizadores, pós-graduação, interdisciplinar, disciplina.

Abstract

FIELD COURSE ON POLLINATION: A PEDAGOGICAL ADVENTURE. Pollination is an important and ecological service for ecosystem function. It is a key process for food production and biodiversity conservation because pollinators mediate reproduction in most flowering plant species. To take practical actions directed to conservation and sustainable management of pollinators, it is essential to invest in training experts with appropriately deep knowledge in the field. In this context, initiatives devoted to improving novel pedagogical strategies that generate highly qualified personnel in a short time must be improved. The international pollination field course is one of such initiatives. The aim of this course is to qualify researchers, professors at higher education institutions, undergraduate and graduate students and other professionals working in the general area of pollination with practical and theoretical skills as future researchers, human resource trainers and disseminators of knowledge in local and/or regional levels. The original format of the course was conceived and developed by Professor Dr. Peter Kevan, from University of Guelph, in Canada, in the 1990's. In Brazil, the course has been offered five times to date four times in Bahia (Chapada Diamantina) and once in Ceará (Limoeiro do Norte). The sixth presentation is being organized for November 2010, in Rio Grande do Sul state and the seventh for 2011, in Pará state. The course, with both theoretical and practical phases, lasts two weeks. The pedagogical details and chronogram of the course are presented in this article.

Key-words: education, pollinators, teaching, interdisciplinary, discipline.

Resumen

CURSOS DE CAMPO SOBRE POLINIZACIÓN: UNA PROPUESTA PEDAGÓGICA. La polinización es un importante servicio ecológico para el funcionamiento de los ecosistemas. Es un proceso clave en la producción de alimentos y en la conservación de la biodiversidad, pues los polinizadores garantizan la reproducción de la mayoría de las especies vegetales con flores. Para viabilizar acciones que busquen la conservación y el uso sostenible de los polinizadores, es esencial invertir en la formación de profesionales que actúen en ese campo del conocimiento. En este contexto, deben ser incentivadas iniciativas dirigidas al

desarrollo de estrategias pedagógicas innovadoras, que logren buenos resultados en un corto intervalo de tiempo. Los cursos internacionales de campo sobre polinización son una de esas iniciativas. El curso pretende formar investigadores, docentes de instituciones de educación superior, alumnos de posgrado y demás profesionales que actúan en el área de polinización y/o poseen el perfil para actuar en esta área, como futuros investigadores, formadores de recursos humanos y divulgadores de conocimiento a nivel local y/o regional. El formato original de estos cursos fue concebido y desarrollado por el profesor Dr. Peter Kevan, de la Universidad de Guelph, en Canadá, en la década de 1990. En Brasil han sido realizadas cinco ediciones de estos cursos, cuatro en Bahia (Chapada Diamantina) y una en Ceará (Limoeiro do Norte). La sexta edición está siendo preparada para noviembre de 2010, en Rio Grande do Sul y la séptima para 2011, en Pará. El curso es teórico y práctico y tiene una duración de dos semanas. La propuesta pedagógica y el cronograma del curso serán presentados en este artículo.

Palabras clave: Educación, polinizadores, posgrado, interdisciplinar, disciplina.

Introdução

A polinização é vital para a reprodução das plantas, pois os polinizadores asseguram o fluxo de gametas masculinos na maioria das espécies vegetais com flores, sendo, portanto, um processo chave na produção de alimentos e na manutenção da biodiversidade. Atualmente há um consenso internacional de que a polinização é crítica para a conservação e sustentabilidade da flora e fauna do planeta (Kevan & Viana 2003).

Assim, o Programa Brasileiro para conservação e uso sustentável dos polinizadores, denominado Iniciativa Brasileira dos Polinizadores (IBP), dentre suas muitas ações, tem ressaltado a importância da formação de recursos humanos para atuarem na conservação dos “serviços” de polinização e no manejo dos polinizadores autóctones no Brasil.

A proposta para a formação de profissionais que será apresentada nesse artigo se articula com os objetivos da IBP e consiste em cursos de campo com duas semanas de duração e oferta anual. Esses cursos têm por objetivos formar recursos humanos de nível superior para atuarem na área de Biologia e Ecologia da Polinização e permitir o intercâmbio de informações entre profissionais que atuam nessa área do conhecimento.

O formato original desses cursos foi concebido e desenvolvido pelo Prof. Dr. Peter Kevan, da Universidade de Guelph, (UOGUELPH) no Canadá, inspirado nos cursos práticos demonstrativos realizados pelo Prof. Dr. Amots Dafni, da Universidade de Haifa, em Israel. Algumas edições desses cursos foram realizadas nos anos 90 na Costa Rica e no México e mais recentemente, no Brasil, onde cinco edições já foram concluídas, sendo quatro na Bahia (Chapada Diamantina) e uma no Ceará (Limoeiro do Norte), e três já estão sendo programadas para Rio Grande do Sul, em 2010, Pará, em 2011, e Mato Grosso do Sul, em 2012.

A realização dos cursos de campo sobre polinização no Brasil iniciou-se em 2003, como resultado da parceria entre o Prof. Dr Peter Kevan e a Profa. Dra. Blandina Felipe Viana, da Universidade Federal da Bahia. A proposta inicial era de cursos binacionais (Brasil/Canadá), oferecidos pelos Programas de Pós-Graduação das duas Instituições envolvidas. Nas edições seguintes essa proposta foi ampliada, tornando-os internacionais.

A partir de 2005, professores e pesquisadores, oriundos de diversas instituições de ensino e pesquisa nacionais e internacionais, com perfil profissional convergente à proposta do curso, eram convidados a participar como colaboradores, ministrando aulas teóricas e/ou práticas. Alguns desses docentes convidados, por apresentarem grande afinidade com a estratégia de ensino e por possuírem formação acadêmica complementar que atendia o conteúdo programático do curso, engajaram-se na proposta formando assim o atual corpo docente permanente do curso.

O conteúdo do curso é amplo. As aulas teóricas introduzem em temas básicos como, morfologia floral e os sistemas de polinização, a diversidade de visitantes florais, recompensas e atrativos florais, comportamento de forrageio dos polinizadores e evolução das interações entre flores e visitantes. Durante o período em que o conteúdo básico vai sendo ensinado, há pequenas excursões a campo, que exploram as flores e os polinizadores na área onde o curso está sendo apresentado, enquanto que demonstrações de técnicas de estudos da biologia floral e reprodutiva das plantas, em laboratório, vão ajudando a consolidar esse conhecimento.

O curso contempla ainda outros temas da disciplina, tais como, polinização pelo vento, ecologia de comunidades de polinizadores, conservação dos “serviços” de polinização em paisagens em mosaico com matriz agroflorestal, polinização em sistemas agrícolas e criação e manejo de polinizadores nativos e exóticos para uso na agricultura. A metodologia de ensino e a sua aplicação no Brasil serão apresentadas a seguir.

Metodologia de ensino e conteúdo programático

O curso de campo sobre polinização é proposto para ser desenvolvido ao longo de duas semanas (Tabela 1). No primeiro encontro com os professores, são apresentadas aos participantes a dinâmica e a proposta pedagógica do curso, cuja dialética fundamenta-se na experimentação, com estímulo a reflexões acadêmicas, participação e trabalho em equipe.

Ao longo da primeira semana é ministrada a maioria das aulas teóricas, que abordam desde questões relacionadas à evolução das interações entre plantas e animais à biologia da conservação, com ênfase nos polinizadores. Os conteúdos teóricos iniciais visam promover o conhecimento e integração dos alunos ao contexto ambiental, reconhecimento dos ecossistemas, diversidade da fauna e flora. Estes contatos iniciais estimulam a curiosidade e subsidiam os alunos na seleção dos modelos biológicos para estudo. Nessas aulas são

também tratados temas específicos em biologia e ecologia da polinização e discutidas questões teóricas diversas nessa área do conhecimento.

Nessa primeira semana são ainda realizados exercícios e demonstrações em campo e em laboratório. Estas atividades são fundamentadas em uma dialética interativa, sendo essas essenciais para a internalização do conhecimento teórico, esclarecimento de dúvidas e troca de informações e experiências entre colegas e destes com os professores. Ao final dessa semana os participantes elaboram propostas preliminares de mini-projetos, em grupos, que serão, em uma primeira etapa, apresentados e debatidos com o conjunto de professores e, posteriormente, compartilhados com os demais membros do curso.

Na segunda semana, após os mini-projetos terem sido definidos pelos grupos, os mesmos são executados, no qual os participantes aprimoram suas habilidades no uso de técnicas e de procedimentos de amostragens rápidas aprendidos na semana anterior, sob a supervisão dos professores e dos monitores. Durante as fases de concepção e execução dos mini-projetos, os professores, auxiliados pelos monitores, dedicam um tempo importante do curso para acompanhar os alunos em campo, demonstrar-lhes diferentes técnicas e materiais específicos, e discutir o uso das metodologias de amostragem no momento em que essas serão empregadas no campo, permitindo, assim, que os alunos aperfeiçoem as suas habilidades na coleta dos dados e na realização de um desenho experimental de maneira confiável.

Após a coleta de dados em campo, é reservado um tempo para análise e interpretação dos significados biológicos dos dados coletados. Esse tempo representa oportunidade para o aluno lidar com situações inusitadas, propor alternativas e solucionar problemas de pesquisa. Nessa etapa é fomentada a discussão entre professores, monitores e alunos acerca das melhores alternativas disponíveis para análise preliminar dos dados coletados, o que permitirá a elaboração de uma breve apresentação das idéias principais desenvolvidas nos mini projetos.

Nessa apresentação, ao final do curso, espera-se que os alunos estabeleçam uma conexão entre os conteúdos teóricos específicos, a geração de hipóteses, o planejamento da coleta de dados e a discussão dos resultados. Espera-se ainda que as críticas e sugestões feitas pelos colegas e professores durante as apresentações sejam incorporadas pelos grupos nos trabalhos escritos, que deverão ser entregues no prazo de 90 dias após o término do curso os quais, após terem sido revisados pelos professores, farão parte de uma publicação, a exemplo dos livros Kevan & Greco (1994), Kevan & White (1996), Tam *et al.* (2001) e Viana & Oliveira (2006), que reúnem os resultados dos mini-projetos desenvolvidos durante os cursos.

Essa proposta pedagógica incentiva os alunos a refletirem sobre a importância de cada etapa da investigação e a perceberem a necessidade de explicitarem a coerência entre a pergunta e os objetivos postulados, o desenho experimental e as implicações dos resultados obtidos, ou seja, permite uma aproximação completa com o processo de investigação científica.

Em resumo, a metodologia proposta para o curso de campo sobre polinização tem uma base construtivista (Grossi 1993, Matui 1998), aonde os alunos vão incorporando os distintos conceitos teóricos e metodologias para a investigação científica a partir de discussões constantes entre professores e alunos e entre alunos sobre o desenvolvimento dos projetos de investigação.

Aplicação da metodologia no Brasil

No Brasil, a primeira edição desse curso de campo foi baseada neste formato, porém, com alguns pequenos ajustes, dentre esses, ampliação do corpo docente para colaboração nas aulas práticas, incluindo também monitores para auxiliarem professores e alunos nos trabalhos de campo. Essa primeira edição realizada em maio de 2003 foi promovida pelo Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Biomonitoramento do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e pelo Departamento de Biologia Ambiental da UOGUELPH. A oficina contou com a participação de 30 pessoas, sendo quatro professores, Dr. Peter Kevan, Dra. Blandina Felipe Viana (UFBA), Dra. Marina Siqueira de Castro e Dra. Favizia Freitas Oliveira, ambas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), 03 monitores e 23 alunos, dentre esses 06 do Canadá, 01 da Colômbia, 06 da Bahia e os demais oriundos de 08 Instituições de Ensino Superior brasileiras.

Na segunda edição da oficina no Brasil, realizada em maio de 2005, o corpo docente foi ampliado e foram incorporados novos conceitos teóricos sobre os aspectos, a exemplo de uma aula sobre os aspectos fitofisionômicos e a flora da Chapada Diamantina, Bahia, local da oficina, e a apresentação de estudos de caso, realizados no Brasil, sobre conservação de polinizadores. Nesta 2ª edição passou-se a adotar como literatura básica o livro de Dafni *et al.* (2005). Reservou-se ainda um horário na programação para discussão e planejamento dos mini-projetos, a serem desenvolvidos e apresentados pelos alunos ao final da oficina. Trinta e duas pessoas participaram dessa oficina, sendo 06 professores, Dr. Peter Kevan e Dr. Vernon Thomas (UOGUELPH), Dra. Blandina Felipe Viana, Dra. Lygia Funch (UEFS) e Dra. Favizia Freitas de Oliveira e MSc. Fabiana Oliveira da Silva (UFBA), 04 monitores e 22 alunos, a grande maioria estudantes de Mestrado e Doutorado em Ciências Biológicas e áreas afins de diversas IES do País. Essa oficina foi promovida pelos programas de pós-graduação em Ecologia e Biomonitoramento da UFBA e em Botânica da UEFS e do Departamento de Biologia Ambiental da UOGUELPH.

Em 2007, na terceira edição da oficina de campo no Brasil, ajustes significativos foram incorporados à proposta pedagógica. Conteúdos teóricos específicos foram acrescentados graças à participação de novos professores, além dos acima mencionados, como: Dr. Washington Rocha (UEFS), que apresentou o mapeamento e o plano de manejo da paisagem da Chapada Diamantina, síntese dos resultados de projeto coordenado por ele e apoiado pelo PROBIO/MMA, Dra. Nadia Roque (UFBA) que ministrou aulas teóricas

e prática sobre a flora de Mucugê ressaltando as características morfológicas florais das espécies botânicas presentes nas áreas de estudo, o Dr. Leonardo Galetto, da Universidade de Córdoba, na Argentina, que ministrou aulas, teórica e prática, sobre o néctar floral e Dr. Breno Freitas, da Universidade Federal do Ceará (UFC), que apresentou os resultados dos seus estudos, sobre polinização de culturas agrícolas. Algumas aulas foram abertas à participação do público local, em Mucugê, dentre eles professores do ensino médio e fundamental, agricultores, comerciantes e líderes de associações dos setores de ensino e agropecuário. Incluímos ainda nessa edição visitas às fazendas com plantações de café, abóbora, maçã e ameixa, e incentivamos os alunos a desenvolverem mini-projetos nesses cultivos.

Outro aspecto relevante nessa edição de 2007 foi o fato da mesma ter sido promovida pela Rede Baiana de Polinizadores (REPOL), iniciativa que congrega pesquisadores e professores de 12 instituições de ensino, fomento e pesquisa na Bahia e que visa ampliar os conhecimentos relacionados à diversidade da fauna e da flora e a conservação dos polinizadores em ecossistemas naturais e agrícolas no Estado. Essa edição contou com o apoio de outras instituições e empresas, além dos acima mencionados, tais como: a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), a Associação Brasileira de Estudos Canadenses (ABECAN), o Ministério do Meio Ambiente (MMA), da Prefeitura Municipal de Mucugê e da Associação dos Irrigantes da Chapada Diamantina. A demanda para esse evento também foi superior as duas versões anteriores. Um total de 45 pessoas participou dessa oficina, sendo 08 professores, 05 monitores e 32 alunos, quatro desses eram canadenses. Dentre os alunos, destacamos a participação de vários profissionais com nível de doutorado, que já atuam como professores em Instituições de Ensino Superior e/ou como pesquisadores de empresas de pesquisa no País.

Em 2008, realizamos uma edição especial do curso em Limoeiro do Norte, Ceará, cujo enfoque foi dado à polinização em agroecossistemas. Nesse sentido, incluímos no conteúdo programático excursões a fazendas de cultivo de fruteiras de importância econômica no País, onde observamos as atividades dos visitantes florais e potenciais polinizadores, bem como aulas com uma abordagem comparativa sobre manejo de *Apis mellifera* (Brasil-Canadá) e sobre técnicas de criação de abelhas nativas (Meliponinae, *Centris* e *Xylocopa*, por exemplo), com aulas de campo demonstrativas bem planejadas dessas técnicas. Nesse ano o curso contou além do quadro atual de professores permanentes do curso, formado por: Dra. Blandina Felipe Viana, Dr. Breno Freitas, Msc. Fabiana Oliveira da Silva, Dra. Favízia de Oliveira, Dr. Leonardo Galetto e Dr. Peter Kevan, com os seguintes professores convidados: Dra. Francisca Soares (Universidade Federal do Ceará), que ministrou aula sobre os aspectos botânicos e fitogeográficos da região e o M.Sc. Afonso Odério Nogueira Lima (Faculdade CENTEC) que ministrou aulas teóricas e práticas sobre apicultura. Além dos brasileiros de vários estados, havia entre os trinta alunos representantes da Colômbia, Argentina e México. O curso recebeu apoio do Ministério do Meio ambiente, da Prefeitura de Limoeiro do Norte e, pela primeira vez, do Banco do Nordeste, que também enviou uma técnica, engenheira agrônoma e mestre em fitotecnia, para participar como aluna.

A edição de 2009, realizada em Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, foi promovida pela Rede Baiana de Polinizadores (REPOL) e contou além do quadro de professores permanentes do curso, com os seguintes professores convidados: Dr. Roy Funch (Fundação Chapada Diamantina) que ministrou aula sobre os aspectos fitogeográficos e geológicos da região, Dra Nadia Roque (Universidade Federal da Bahia), que ministrou aulas teórica e prática sobre morfologia floral o seu papel no entendimento do sistema planta-polinizador, Dra. Marcia Maués (EMBRAPA) que ministrou aula sobre os sistemas reprodutivos de plantas e o Dr. Danilo Boscolo (Universidade Federal da Bahia) que ministrou aula sobre conservação dos serviços de polinização em paisagens em mosaico com matriz de agricultura. Essa edição do curso foi a mais concorrida, houve 56 inscrições, dentre essas 30 candidatos foram selecionados, sendo 26 brasileiros e 04 estrangeiros (EUA, Colômbia e Argentina). O curso contou ainda com a participação de cinco monitores, previamente treinados para colaborar nas aulas práticas e apoiar os alunos no desenvolvimento dos seus projetos em campo. Como na edição de 2008, o curso recebeu apoio do Ministério do Meio ambiente e do Banco do Nordeste, além da Prefeitura de Mucugê e da Empresa Baiana de Pesquisa Agropecuária – EBDA. As próximas três edições já estão programadas para o Rio Grande do Sul, em 2010, Pará, em 2011 e Mato Grosso do Sul, 2012.

Vale ressaltar ainda que em todas as edições do curso realizadas no Brasil as aulas são ministradas em inglês e em português, foram ainda incluídas no cronograma aulas teóricas e práticas sobre a morfologia e taxonomia das abelhas. Como parte do treinamento, os participantes aprendem a distinguir as abelhas dos demais grupos de Hymenoptera (Vespidae e Sphecidae) e outros insetos e a identificar os insetos coletados nos seus mini-projetos, durante o curso. A ênfase dada às abelhas em nossos cursos deve-se a importância dessas para a polinização de plantas nativas e cultivadas nos diversos ecossistemas neotropicais.

Considerações finais

A partir de 2009 a oferta dos cursos de campo passou a ser anual e itinerante, ficando a cargo dos representantes das instituições promotoras locais a organização dos mesmos. Para evitar que os objetivos principais do curso sejam desvirtuados, para assegurar que as edições futuras do curso mantenham a metodologia e o currículo mínimo estabelecidos pelo corpo docente permanente e que as aulas complementares, a cargo dos organizadores locais e convidados, não ultrapassem a 20% do total da carga horária do curso, recomenda-se seguir o roteiro da Tabela I todos àqueles que desejam replicar esses cursos nas suas regiões de origem.

Uma estratégia pedagógica bem planejada e estruturada como a proposta destes cursos de campo sobre biologia e ecologia da polinização, promovida pela Iniciativa Brasileira dos Polinizadores (IBP) e os programas de pós-graduação associados, e que aliadas às

informações teóricas e bem argumentados com atividades praticas participativas, pode causar um grande impacto para: (a) formação de profissionais que repercutirão em ações efetivas voltadas para a conservação e manejo dos polinizadores e o desenvolvimento sustentável de atividades econômicas relacionadas com as interações planta-polinizador; (b) capacitação de profissionais para realizar investigações científicas de alto nível nesse campo de estudo; e (c) promoção da conscientização sobre a sua responsabilidade social como recursos humanos altamente capacitados.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio logístico e o auxílio financeiro dos seguintes parceiros aos cursos: Universidade Federal da Bahia, Universidade Federal do Ceará, University of Guelph - Kinross Canada-Brazil Network for Advanced Education and Research in Land Resource Management, Universidad Nacional de Cordoba, Instituto Centro de Ensino Tecnológico – CENTEC, Artigo No. 2 do Canadian Pollination Initiative (NSERC-CANPOLIN), Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Associação Brasileira de Estudos Canadenses (ABECAN), Ministério do Meio Ambiente (MMA), Banco do Nordeste (BNB), Alpina Hotel de Mucugê, Empresa Baiana de Desenvolvimento Agrícola (EBDA), UNIMED Saúde, Prefeituras Municipais de Mucugê e de Limoeiro do Norte. Somos gratos ainda aos produtores rurais da Chapada Diamantina e de Limoeiro do Norte que nos permitiram o acesso às suas propriedades.

Referencias

- DAFNI, A.; PG. KEVAN & HUSBAND, B.C. (eds.). 2005. *Practical Pollination Biology*. Enviroquest, Ltd., Cambridge, Ontario, Canada. 590p.
- GROSSI, E. & BORDIN, J. 1993. *Construtivismo pós-piagetiano: um novo paradigma sobre aprendizagem*. Ed. Vozes, Petrópolis, RJ. 224p.
- KEVAN, PG. & GRECO, C. (eds.). 1994. *Pollination Biology*. Biología de la Polinización: Chamela, Mexico. 78p.
- KEVAN, PG. & WHITE, N. (eds.). 1996. *Pollination Biology*. Biología de la Polinización: Chamela, Mexico. 172p.
- KEVAN, PG. & VIANA, B.F. 2003. The global decline of pollination services. *Biodiversity*, 4(4): 3-8.
- MATUI, J. 1998. *Construtivismo*. Teoria construtivista sócio-histórica aplicada ao ensino. Ed.Moderna, São Paulo, SP. 247p.

TAM, L.; TAKI, H. & KEVAN, P.G. (eds.). 2001. *Pollination Biology*. Biología de la Polinización: Los Tuxtlas, Mexico 1999, St. Louis USA 2001, El Sur de Turrubares, Costa Rica 2001, and additional contributions. 282 pp

VIANA, B.F. & DE OLIVEIRA, F.F. 2006. *Biologia e ecologia da polinização: cursos de campo*. EDUFBA, Salvador, BA. 144p.

Tabela 1. Cronograma do Curso de Campo sobre Polinização

Semana 1

Hora/Data	Segunda-feira	Terça-feira	Quarta-feira	Quinta-feira	Sexta-feira	Sábado
07:00	Viagem ao local do curso	Café da manhã	Café da manhã	Café da manhã	Café da manhã	Café da Manhã
08:00		Aula teórica sobre a diversidade da flora local	Aula teórica sobre os aspectos zoológicos da polinização	Aula teórica sobre os recursos florais	Aula teórico-prática sobre polinização pelo vento	Atividades de campo e demonstrações a cargo dos organizadores locais
9:30		Aula teórica sobre os sistemas reprodutivos das plantas	Aula teórica sobre a diversidade de insetos com ênfase na taxonomia de abelhas			
12:00		Almoço	Almoço	Almoço	Almoço	Almoço
13:00	Chegada Organização dos Equipamentos e Materiais	Atividade de campo: Percorrer trilhas nos arredores para conhecimento da flora local	Aula prática de laboratório sobre a morfologia floral das espécies presentes no local	Aula teórico- prática sobre técnicas para o estudo da biologia sexual e reprodutiva das plantas	Atividade de campo e demonstrações a cargo dos organizadores locais	Discussão dos mini-projetos pelos estudantes
14:30						
15:30						
17:00	Reunião sobre o programa do curso e metodologia	Integração social (Grupo)	Integração social (Grupo)	Integração social (Grupo)	Integração social (Grupo)	
18:30	Jantar	Jantar	Jantar	Jantar	Jantar	Jantar
19:30	Aula teórica: Apresentação da região/Bioma	Aula teórica sobre os aspectos botânicos da polinização	Aula teórica sobre atrativos florais	Aula teórica sobre o comportamento de forrageio dos polinizadores	Aula teórica sobre evolução dos sistemas reprodutivos e genômica	Aula teórica sobre Ecologia de comunidades de visitantes florais

Tabela 1. Cronograma do Curso de Campo sobre Polinização, *continuação*

Semana 2

Hora/Data	Domingo	Segunda-feira	Terça-feira	Quarta-feira	Quinta-feira	Sexta-feira	Sábado
07:00	Café da manhã	Café da manhã	Café da manhã	Café da manhã	Café da manhã	Café da manhã	Café da manhã
08:00	Atividade de campo: Visita a região/bioma	Discussão dos mini projetos dos estudantes com os professores	Atividade de campo: Projetos dos estudantes	Atividade de campo: Projetos dos estudantes	Atividade de campo: Projetos dos estudantes	Preparação das apresentações pelos estudantes	Viagem de volta:
12:00		Almoço	Almoço	Almoço	Almoço	Almoço	
13:00		Planejamento das atividades dos mini-projetos e seleção dos materiais a serem utilizados nos mesmos	Atividade de campo: Projetos dos estudantes	Atividade de campo: Projetos dos estudantes	Atividade de campo: Projetos dos estudantes	Apresentação dos mini projetos pelos estudantes	
17:00						Cerimônia de entrega dos certificados	
18:30	Jantar	Jantar	Jantar	Jantar	Jantar	Jantar de confraternização	Livre
19:30							
20:00	Livre	Aula teórica sobre polinização de culturas agrícolas	Aula teórica sobre conservação de polinizadores	Aula teórica sobre ecologia evolutiva da polinização	Aula teórica com tema sugerido pelos organizadores locais	Empacotamento dos equipamentos e materiais usados no curso	
21:00							

Colofão

Formato	200 x 270 mm
Tipografia	Swiss 721 BT
Papel	Alta Alvura 75 g/m² (miolo) Cartão Supremo 300 g/m² (capa)
Impressão e acabamento	ESB Serviços Gráficos
Tiragem	500 exemplares



ISBN - 978-85-232-0711-3



9 788523 207113 >

