

LAÉRCIO PEIXOTO DO AMARAL NETO

**Forma e funcionamento das flores com quilha invertida em Faboidae e interações comportamentais com abelhas visitantes**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, do Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador:

Prof. Dr. Gabriel A. R. Melo

Co-orientador:

Prof. Dr. Christian Westerkamp

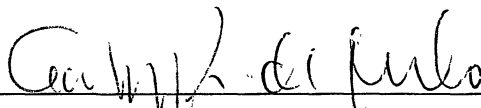
Curitiba

2011

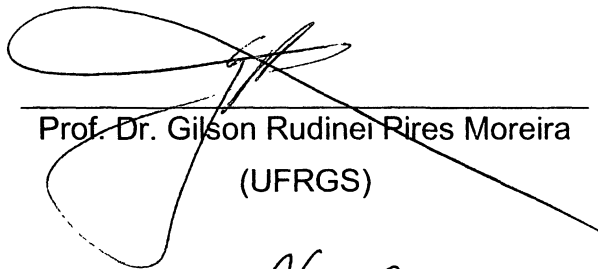
LAÉRCIO PEIXOTO DO AMARAL NETO

“Forma e funcionamento das flores com quilha invertida em Faboideae e interações comportamentais com abelhas visitantes”

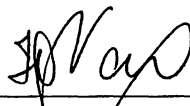
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de “Mestre em Ciências Biológicas”, no Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Prof. Dr. Gabriel Augusto Rodrigues de Melo (Orientador)  
(UFPR)



Prof. Dr. Gilson Rudinei Pires Moreira  
(UFRGS)



Profa. Dra. Isabela Galarda Varassin  
(UFPR)

Curitiba, 22 de fevereiro de 2011.

Às quilhas invertidas, às normais e aos bichos que as visitam. Que continuem interagindo e cada um conseguindo o que quer. E me deixem tentar entender e também conseguir o que EU quero...

## AGRADECIMENTOS

A cada página da nossa história mudam os personagens, os cenários, as tramas, mas ainda posso me considerar um protagonista de sorte, pois mesmo sem poder escolher muitas coisas do destino do personagem, o escritor desta história tem me sido bastante generoso.

Agradeço sobretudo ao Livreiro por ter me acompanhado a cada página, mesmo quando aparentemente me esquecera dele. Àquela personagem que de tudo fez e faz para que o protagonista seja feliz para sempre, que um dia possa eu fazer o mesmo. À dona do Vestido de Solíris, que mesmo distante me acompanha e dá forças pra maioria das minhas aventuras. Ao Domador de Sementes, pra manter a tradição. A todos os habitantes da Casa de Lã, pois sei que qualquer que for a aventura, eles estarão lá pra ajudar, ou simplesmente para estar também. Aquela que me deu olhos compostos para melhor enxergar as ciências e dois pares de asas membranosas para que eu possa voar por mim mesmo. Aquele que primeiro me fez ver o fantástico mundo que se esconde entre as cores e cheiros das flores e os zumbidos e vôos das abelhas. Àquele que me recebeu mesmo que com um tema um pouco diferente do seu, mas que nem por isso deixou faltar boas idéias. À minha nova família que encontrei aqui e por terem me adotado, mesmo sabendo que eu como demais. Às novas adições a não curta lista de amizades que elas durem o suficiente pra nunca deixar de ter sido bom. Àqueles que não vão brigar comigo por que o nome não está aqui (até porque, se fizer isso, não merece ter o nome aqui). E finalmente ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.

“Essa é a minha história.”

Tidus (Final Fantasy X) e

Duas-Páginas (Eruma)

## SUMÁRIO

Lista de figuras.....	x
Lista de tabelas.....	xii
Prefácio.....	xiii

### CAPÍTULO I: Forma e funcionamento das flores com quilha invertida em Faboideae e interações comportamentais com abelhas visitantes

Resumo.....	2
Abstract.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	4
1.1. Polinização por insetos.....	4
1.2. Adaptações em flores entomófilas: Flores com quilha e flores com quilha invertida.....	6
1.3. Grupos funcionais.....	10
1.4. Problemática.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Locais de estudo.....	14
3.2. Caracterização das espécies.....	15
3.2.1. <i>Canavalia brasiliensis</i> .....	15
3.2.2. <i>Clitoria fairchildiana</i> .....	16
3.2.3. <i>Centrosema pascuorum</i> .....	17
3.2.4. Flores com quilha.....	18
3.3. Estudo das flores.....	19
3.3.1. Observações de campo.....	19
3.3.2. Observações de laboratório.....	20
3.3.3. Terminologia utilizada.....	21
3.4. Estudo dos visitantes.....	23

3.4.1. Observações de campo .....	23
3.4.2. Observações de laboratório.....	24
3.4.3. Classificação e definição dos grupos funcionais.....	24
4. RESULTADOS.....	27
4.1. Características gerais.....	27
4.2. Características gerais - Visitantes.....	33
4.3. Comportamento dos visitantes nas flores .....	38
4.3.1. <i>Canavalia brasiliensis</i> .....	38
a) Horários de visitas.....	38
b) Padrão de forrageamento.....	38
c) Comportamento dos visitantes na flor.....	39
d) Mecanismo de polinização.....	41
4.3.2. <i>Clitoria fairchildiana</i> .....	42
a) Horários de visitas.....	42
b) Padrão de forrageamento.....	43
c) Comportamento dos visitantes na flor.....	45
d) Mecanismo de polinização.....	48
4.3.3. <i>Centrosema pascuorum</i> .....	49
a) Horários de visitas.....	49
b) Padrão de forrageamento.....	50
c) Comportamento dos visitantes na flor.....	52
d) Mecanismo de polinização.....	58
4.3.4. Flores com quilha.....	60
a) Horários de visitas.....	60
b) Comportamento dos visitantes na flor.....	60
c) Mecanismo de polinização.....	67
5. DISCUSSÃO.....	69
5.1. Flores com quilha.....	69
5.2. Flores com quilha invertida.....	74

5.3. Comportamento dos visitantes nas flores.....	77
5.3.1. Comportamento dos visitantes nas flores com quilha invertida Versus flores com quilha normal.....	77
5.3.2. Morfologia dos visitantes nas flores com quilha invertida e flores com quilha normal e como esta afeta o comportamento durante a visita.....	80
5.4. Cenário evolutivo para o surgimento das flores com quilha invertida.....	87
5.4.1. Efeito da competição em comunidades de plantas e polinizadores.....	87
5.4.2. Reconstruindo o cenário do surgimento das flores com quilha invertida.....	90
a) Onde teriam surgido as flores com quilha invertida?.....	90
b) Inversão das flores com quilha normais.....	91
c) O cenário.....	93
d) O processo.....	95
6. CONCLUSÃO.....	100
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102

CAPÍTULO II: Comportamento de autolimpeza e agregamento de pólen em  
abelhas

Resumo.....	125
Abstract.....	126
1. INTRODUÇÃO.....	127
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	130
2.1. Metodologia.....	130
2.2. Locais de estudo.....	130
2.3. Terminologia.....	131
3. RESULTADOS.....	134
3.1. Comportamento de limpeza nas flores.....	134



3.1.1. <i>Bombus morio</i> em <i>Dillenia indica</i> .....	134
3.1.2. <i>Bombus morio</i> em <i>Clitoria fairchildiana</i> e <i>Centrosema pascuorum</i> .....	135
3.1.3. Demais abelhas nas flores.....	135
3.2. Câmara de limpeza.....	135
3.3. Agregamento de pólen Vs autolimpeza .....	138
4. DISCUSSÃO.....	139
5. CONCLUSÃO.....	143
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	144
FIGURAS.....	148

## LISTA DE FIGURAS

**Fig. 1.** Esquema de uma ala mostrando a posição das estruturas na pétala (baseada em Stirton, 1981) da forma como será descrita: (A) Flor com quilha e (B) flor com quilha invertida..... 22

**Fig 2.** Esquema de corte longitudinal de flor bilabiada (esquerda, Westerkamp e Claßen-Bockoff, 2007) e de quilha invertida *Canavalia brasiliensis* (direita) mostrando a posição do lábio superior (linha pontilhada), lábio inferior (linha contínua), estruturas de reprodução (cinza), canal de alinhamento (A), câmara de polinização (B) e posição do nectário (N)..... 22

**Fig. 3.** Flores e visitantes. (A-F) *Canavalia brasiliensis*. (A) *Xylocopa grisescens*, mostrando local de deposição do pólen. (B) *X. grisescens*, mostrando forma como a abelha interage com a flor. (C) *Xylocopa frontalis*, macho. (D) *Xylocopa cearensis*. (E) *Centris fuscata*. (F-J) *Clitoria fairchildiana*. (F) *Epicharis dejeanii*. (G) *Bombus morio*. (H) *Eufrisea mussitans*. (I) *Epicharis flava*. (J) *Xylocopa frontalis*. (K - O) *Centrosema pascuorum*. (K) *Bombus morio*, entrando na flor, primeiro inserindo as partes bucais funcionalmente prognatas. (L) *B. morio* ativando mecanismo da flor com partes bucais voltadas pra baixo e com a cabeça empurrando a quilha. (M) *Xylocopa frontalis*. (N) *Epicharis fasciata*. (O) *Euglossa anodorhynchi*..... 148

**Fig. 4.** Aspecto geral das flores e medidas das estruturas que interagem com os visitantes. Da coluna da esquerda para direita (A-E) *Canavalia brasiliensis*, (F-J) *Clitoria fairchildiana* e (L-O) *Centrosema pascuorum*. (A, F e L) vista frontal e (B, G e M) vista lateral (latero-superior para *C. fairchildiana*) das flores. (C e D, H e I, M e N) Locais onde foram medidas as estruturas da flor. a) largura do lábio superior; b) Altura da câmara de polinização (b1, altura na entrada da flor e b2, altura da dobra na margem da quilha); c) Profundidade do canal de alinhamento; d) Comprimento do lábio inferior; v) Largura entre as margens espessadas das alas; w) ângulo de inclinação da quilha; x) largura da dobra na margem da quilha; y) comprimento da quilha e; z) Comprimento do arco formado pelo androceu + gineceu. (E, J e O) esquemas da vista lateral das flores. Verde escuro - Cálice, Verde claro - profilo, Laranja - estandarte, Rosa -Alas, Roxo - Quilha, Amarelo - Androceu. As escalas representam 0,5 cm..... 149

**Fig. 5.** Cortes com as estruturas das flores (A-G) *Canavalia brasiliensis*. (A) Flor em vista lateral com o cálice removido e; (B) Com o estandarte removido. (C) Vista frontal das margens espessadas das alas. (D) Posição das partes reprodutivas. (E) Bolso sobre a margem espessada das alas. (F) Encaixe entre alas e quilha. (G) Entrada do canal de alinhamento e união do tipo botão de pressão entre alas e quilha. (H-N) *Clitoria fairchildiana*. (H) Vista lateral sem cálice mostrando dano de *X. grisescens*. (I) Vista lateral mostrando o gineceu, nectário e a câmara de néctar. (J) Vista lateral, mostrando a posição das garras

das alas. (K) Vista frontal, sem corte. (L) Posição das estruturas reprodutivas. (M) Entrada do canal de alinhamento. (N) Posição das pétalas no interior. (O-R) *Centrosema pascuorum*. (O) Vista lateral da posição dos órgãos reprodutivos dentro da quilha. (P) Vista frontal. (Q) Anteras na frente do estilete, o qual não é visto. (R) Encaixe entre alas e quilha. Verde escuro - Cálice, Verde claro - perfilo, Laranja - estandarte, Rosa - Alas, Roxo - Quilha, Amarelo - Androceu, Marrom - Gineceu. As barras representam 0,25 cm..... 150

**Fig. 6.** Flores com quilha. (A-C) Visitantes de *Lathyrus* sp.. (A) *Bombus morio* (B) *Xylocopa augustii* em visita ilegítima. (C) *X. augustii*, agora em visita legítima, com o estilete passando pelo lado direito do visitante. (D-F) Esquemas de *Lathyrus* sp. (D) Vista lateral sem cálice e estandarte cortado. (E) Corte 9: encaixe de botão de pressão entre alas e quilha. (F) Corte 15: As partes da corola fechando a passagem para a câmara de néctar. (G-I) *Crotalaria* sp. (G) Vista lateral: Lamelas lunadas na ala. (H) Vista lateral sem o estandarte: Entrada da câmara de néctar e bolsos da quilha. (I) Vista superior: entrada para câmara de néctar. (J-O) *Dioclea violacea*. (J) Vista lateral. (K) Vista lateral: garra do estandarte sobre a câmara de néctar, as aurículas inflectidas do estandarte se encaixam com as aurículas das alas. (L) Vista lateral sem estandarte. (M) Corte 1: Encaixe entre alas e quilha. (N) Corte 3: Entrada do canal de alinhamento. (O) Corte 4: Posição das pétalas no interior da cálice. Verde - Cálice, Laranja - estandarte, Rosa - Alas, Roxo - Quilha, Amarelo - Androceu, Marrom - Gineceu. au - Aurículas da ala. As escalas representam 0,25 cm..... 151

**Fig. 7.** Abelhas. (A-F) Grupos funcionais de abelhas. (A) Operária de *Bombus morio* em flor de *Clitoria fairchildiana*, abelha pequena. (B) *Euglossa stellfeldi*, com aparelho bucal longo. (C) *B. morio*, partes bucais funcionalmente prognatas. (D) *Epicharis dejeanii* em flor de *C. fairchildiana*, abelha grande. (E) *Centris bicolor*, aparelho bucal curto. (F) *Xylocopa brasiliatorum*, aparelho bucal funcionalmente hipognato. (G) Medidas das abelhas: a) largura da cabeça, b) comprimento do aparelho bucal c) altura e, d) comprimento. (H) *B. morio* em flor de *Dillenia indica*. (I) Experimento de limpeza das abelhas: a figura mostra um indivíduo de *B. morio* pulverizado com amido de milho. (J-L) Esquema mostrando a seqüência de movimentos de limpeza da asa em *B. morio*. (M-O) Esquema mostrando a seqüência de movimentos de limpeza do dorso do metassoma e olho em *X. frontalis*. As estruturas em negrito são aquelas que participam do movimento..... 152

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Características das peças florais nos gêneros estudados. (CA) Canal de alinhamento, (CP) Câmara de polinização. (Esp) espessada..... 29

**Tabela 2.** Medidas (média e desvio padrão) em centímetros das partes florais que interagem com os visitantes. Cada flor interage de maneira diferente com as abelhas, por isso foram feitas algumas medidas de estruturas diferentes em cada flor..... 35

**Tabela 3.** Medidas (médias e desvio padrão) em centímetros das partes dos visitantes que se relacionam com as partes florais. O ângulo entre as partes bucais e o corpo das abelhas foi medido em apenas um espécime..... 36

## PREFÁCIO

A interação de polinização entre plantas e insetos em geral sempre chamou a atenção de pesquisadores e naturalistas. Principalmente a partir das idéias de Darwin sobre síndromes de polinização e como características das flores podem indicar qual o grupo de animais funcionam como seus polinizadores, vários outros estudos tem relacionado e descrito a interação entre plantas e polinizadores e como esta interação pode influenciar na evolução dos dois grupos.

De fato a maioria das plantas com flores dependem de insetos para sua polinização e, entre os insetos, as abelhas ocupam um papel de maior destaque. Essa relação que é sempre retratada como mutualística, mas é também uma espécie de paradoxo: uma vez que o pólen contem os gametas masculinos necessários para a reprodução das plantas e as abelhas coletam o pólen para própria subsistência e alimentação de suas larvas, a interação entre estes grupos é ao mesmo tempo de dependência mútua e de disputa. Estes aspectos da interação exerce uma pressão seletiva, sobretudo nas plantas, no sentido das flores apresentarem características que evitam uma grande retirada de pólen pelas abelhas e ainda assim garantir que estas continuem sendo visitadas por este grupo de polinizadores. As abelhas, em contrapartida, também possuem uma série de comportamentos e características que podem ser relacionadas à sua função como polinizadores e visitantes florais para obtenção de diferentes recursos.

A partir desse ponto de vista o presente trabalho busca compreender a interação entre abelhas enquanto visitantes florais de um grupo de plantas da subfamília Faboideae que apresentam flores com duas morfologias distintas, as flores com quilha e flores com quilha invertida. Entre os objetivos do estudo busca-se compreender o mecanismo de funcionamento nestas flores, o comportamento e morfologia dos visitantes florais, sejam estes polinizadores ou não, compreender quais as causas dos diferentes comportamentos dos visitantes florais e entender como ocorreu a evolução nessa subfamília destas duas morfologias diferentes de flores.

O trabalho foi dividido em dois capítulos. O primeiro intitulado “Forma e funcionamento das flores com quilha invertida em Faboideae e interações comportamentais com abelhas visitantes” traz parte desta discussão de forma e função das flores e visitantes e dos processos evolutivos que culminaram nestas morfologias enquanto o segundo capítulo, “Comportamento de autolimpeza e agregamento de pólen em abelhas”, é devotado a dois comportamentos pós visitação das abelhas mas que interferem na transferência de pólen entre as flores.

## **CAPÍTULO I**

**Forma e funcionamento das flores com quilha invertida em Faboideae e interações comportamentais com abelhas visitantes**

## RESUMO

### Forma e funcionamento das flores com quilha invertida em Faboideae e interações comportamentais com abelhas visitantes

Na subtribo Faboideae as flores apresentam simetria bilateral e órgãos reprodutivos dentro da quilha, uma estrutura formada pelas pétalas que fica na posição ventral, que restringe o acesso dos visitantes ao pólen. Em algumas espécies esta morfologia floral sofre uma inversão e a quilha fica na região dorsal, sendo chamadas flores com quilha invertida. Para entender o funcionamento destas flores com quilha invertida e como se deu a evolução desta morfologia, três gêneros de plantas com esta característica (*Canavalia brasiliensis*, *Centrosema pascuorum* e *Clitoria fairchildiana*) foram estudadas e comparadas com flores com quilha (*Lathyrus* sp., *Crotalaria* spp. e *Dioclea violacea*). O comportamento e morfologia dos visitantes foram estudados a fim de definir quais as características destes que se encaixam com a morfologia das flores. Foi observado que as características morfológicas para funcionamento das flores com quilha invertida são modificações de estruturas presentes nas flores com quilha como: desenvolvimento do encaixe entre alas e quilha e maior rigidez do estandarte. Algumas estruturas são exclusivas de cada morfologia: margem espessada das alas nas flores com quilha invertida e presença de lamelas lunadas em flores com quilha. Cada gênero com flor com quilha invertida possui uma série de particularidades morfológicas, indicando que estas podem ter surgido independentemente. Os visitantes florais apresentaram uma série de características morfológicas e comportamentais que se encaixam com a morfologia da flor, porém muitos utilizaram outras características para obterem o néctar sem funcionarem como polinizadores, mas sim como pilhadores. Foi feita uma distinção entre as características comportamentais e morfológicas de cada tipo de visitantes. A forma como as abelhas visitam as flores com quilha e quilha invertida foi semelhante e seu comportamento mostrou ligação às características morfológicas tanto da flor como do próprio visitante. Por fim é proposto um cenário de como as flores com quilha teriam surgido a partir de flores com quilha ancestrais. Sugere-se um surgimento simpátrico das duas morfologias florais com abelhas menores mais efetivas na obtenção de recurso nas flores com quilha. A competição por recursos florais entre abelhas maiores e menores cria uma situação de complementaridade de nicho e sua manutenção no tempo evolutivo selecionaria características relacionadas a polinização por abelhas grandes nas flores com quilha invertida e por abelhas menores nas flores com quilha.

Palavras-chave: Biologia da polinização, melitofilia, Faboideae, flores com quilha invertida, grupos funcionais, comportamento de abelhas.

## ABSTRACT

### Morphology and function of Inverted keel blossoms of Faboideae and associated behavior of their bee visitors

Flowers in the subtribe Faboideae have bilateral symmetry and the reproductive organs inside a keel, a structure formed by the petals which is ventral in position, restricting visitor access to pollen. In some species this floral morphology is inverted and the keel rests in a dorsal position. These flowers are called inverted keel blossoms. To understand the workings of inverted keel blossoms and how was the evolution of this morphology, three genera of plants with this characteristic (*Canavalia brasiliensis*, *Centrosema pascuorum* and *Clitoria fairchildiana*) were studied and compared with keel blossoms (*Lathyrus* sp., *Crotalaria* spp. e *Dioclea violacea*). Behavior and morphology of the flowers visitors were studied to define how their characteristics fit with the morphology of the flowers. It was observed that most of the characteristics necessary for the functioning of inverted keel blossoms are modifications of structures of keel blossoms such as development of linkage between wings and keel and hardening of flag petals. Some structures are exclusive for each morphology such as thicker wing margin of inverted keel blossoms and lunate lamellae of average keel blossom. Each genus of inverted keel blossoms has a number of morphological peculiarities, indicating that these may have arisen independently. The floral visitors showed a series of morphological and behavioral characteristics that fit with the morphology of the flower, but some features are used to obtain floral nectar as thieves or robbers, rather than pollinators. It was made a distinction between behavior and morphology of each kind of visitors. In despite of the differences in morphology of the flowers, the behavior of bees during visits was similar and this behavior seems to link the morphological characteristics of both the flower itself as the visitor. Finally we propose a scenario of how the inverted keel blossoms would have arisen from ancestors with keel blossoms. We suggest a sympatric occurrence of the two floral morphologies where smaller bees are more effective in getting flowers sources from keel blossoms. Competition for floral resources between larger and smaller bees creates a situation of niche complementarity and its maintenance over evolutionary time would select traits related to pollination by large bees in the inverted keel blossoms and those related to smaller bees in the keel blossoms.

Keywords: pollination biology, melittophily, Faboideae, inverted keel blossoms, functional groups, behavior of bees.



## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 POLINIZAÇÃO POR INSETOS

Interações entre Insetos e as plantas visitadas por estes afetam a evolução destes grupos. Evidências paleontológicas indicam que a co-radiação dos grupos de insetos visitantes florais e as angiospermas teve início no Cretáceo (Grimaldi, 1999), precedidos no fim do Jurássico e início do Cretáceo por insetos com partes bucais mastigadoras ou picadoras, provavelmente utilizado para alimentação de seiva de plantas ou pólen de gimnospermas (Labandeira, 1997, 1998). A interação com as flores levou a uma série de adaptações nos insetos visitantes que vão desde adaptações comportamentais e de aprendizagem (Jander, 1976, Niv et al., 2002, Cakmak et al., 2009), aumento da capacidade de vôo (Dudley, 2000) e adaptações morfológicas das partes bucais (Krenn et al., 2005).

Registros fósseis aliados ao crescente conhecimento das relações filogenéticas entre as angiospermas mostram que as primeiras flores apresentavam características indicativas de polinização por insetos: flores pequenas, reduzido número de anteras, pouca produção de pólen, presença de *pollenkitt* no grão (o qual auxilia na aderência deste no polinizador), tamanho do grão de pólen inadequado para a anemofilia, flores bissexuais e tendência inicial a um número reduzido do número de órgãos florais. (Robertson, 1917, Endress, 2001a,b, Willis & McElwan, 2002, Grimaldi & Engel, 2005, Endress & Doyle, 2009, Pennizi, 2009, Soltis et al., 2009, Thien et al., 2009).

A polinização cruzada mediada por insetos apresenta uma vantagem para as plantas, pois aumenta a variabilidade genética dentro das populações, tornando-as menos suscetíveis às mudanças ambientais. Embora em certos casos a auto-compatibilidade seja vantajosa (Daehler, 1998, Knight et al., 2005), a maior parte dos táxons vegetais são incapazes de se auto fecundarem

(Bawa, 1979, Takebayashi & Morrel, 2001) e existem cerca de 11 mecanismos diferentes que resultam na auto-incompatibilidade (Lewis, 1979, Pandey, 1979).

Mesmo no que se refere à polinização abiótica, como é o caso da anemofilia, há indicações de que esse sistema de polinização tenha surgido secundariamente, derivado de flores entomófilas (Faegri & Pijl, 1979). A polinização pelo vento, por exemplo, pode ter surgido entre as angiospermas como uma solução alternativa para a polinização cruzada de plantas entomófilas em face da variabilidade na disponibilidade de polinizadores (Goodwillie, 1999).

Os insetos visitam flores buscando diferentes recursos, os quais elas utilizam como chamarizes, entre eles: perfumes, falsos “parceiros” sexuais, abrigo, resina (Ayasse et al., 2000, Morgan, 2000, Aguiar et al., 2003, Machado & Lopes, 2004, Krenn et al., 2005) mas o principal objetivo é a busca por fontes de nutrientes: pólen e néctar (Westerkamp, 2007b).

Entre os visitantes florais, as abelhas, sem dúvida, ocupam maior destaque. Diferente de outros insetos que visitam flores apenas para obter o próprio alimento, as abelhas visitam uma maior quantidade de flores, pois além daquele destinado à própria subsistência, ainda há a coleta de pólen e néctar para a alimentação de suas larvas. Estudos recentes com 41 espécies de abelhas mostraram que cerca de 35 delas precisam visitar mais de 30 flores apenas para provisão de uma única célula de cria, sendo que algumas espécies, como *Megachile parietina* e *Anthidium manicatum*, precisam realizar mais de 1000 visitas (Müller et al., 2006). Como as abelhas chegam a construir de 10 a 30 células durante a construção dos ninhos, o número de flores visitadas ultrapassa facilmente 1000 para cada fêmea de abelha (Müller et al., 2006).

O pólen coletado ou ingerido pelas abelhas pode ser considerado perdido para efeitos de reprodução das plantas, uma vez que este nunca entrará em contato com o estigma de outra flor (Westerkamp, 2004). Portanto, a retirada excessiva de grãos de pólen pelas abelhas ou a transferência insuficiente de pólen para os estigmas receptivos cria uma condição de

limitação de pólen na população das plantas (Motten et al., 1981). Essa condição ocorre quando a produção de frutos e sementes é menor que o esperado se a quantidade de pólen fosse adequada (Knight, et al., 2005).

A dispersão do pólen, portanto, aumenta quando a capacidade de remoção deste pelos visitantes florais é restringida, e a flor é capaz de se utilizar de todos os polinizadores disponíveis para transferir o pólen das anteras até o estigma receptivo de outra planta (Harder & Thompson, 1989, Harder, 1990). Em termos energéticos, a produção de pólen é de alto custo e sua produção envolve a utilização de nitrogênio que freqüentemente é um fator limitante (Westerkamp, 2004). Dessa forma, apenas algumas espécies de plantas o oferecem como recurso exclusivo para os visitantes e, assim mesmo, uma parcela destes grãos é separada para serem destinados exclusivamente para polinização (Marazzi et al., 2007, Müller et al., 2006 ).

Por outro lado o néctar, em essência composto apenas por água e açúcares, é de fácil produção em relação aos outros recursos florais (Westerkamp, 1996, Bernadello & Galleto, 2005). As duas hipóteses para seu surgimento apontam para um "vazamento" de seiva, a partir do floema devido à alta pressão hidrostática no tecido ou para uma excreção do excesso de açúcar nos tecidos florais (Barrera & Nobel, 2004). Desse modo, as flores entomófilas que inicialmente ofereciam apenas o pólen como recurso, passaram a ofertar o néctar para atrair animais para a polinização ou, no caso de nectários extraflorais, para defesa contra herbivoria (Pacini et al., 2003, Robertson, 1917). A secreção de néctar é encontrada em poucos representantes dos grupos basais das angiospermas, mas estas não apresentam nectários especializados como os encontrados nas Mono e Eudicotiledôneas (Endress, 2001b, Thien et al., 2009). É comum que as flores ofereçam o néctar aos visitantes, desviando a atenção destes do pólen e aumentando, em termos energéticos, a efetividade na reprodução (Westerkamp, 2004).

## 1.2 ADAPTAÇÕES EM FLORES ENTOMÓFILAS: FLORES COM QUILHA E FLORES COM QUILHA INVERTIDA

Várias características das flores podem ser interpretadas como adaptações contra uma excessiva retirada de pólen pelas abelhas. Em algumas flores como no gênero *Senna* existe uma divisão de trabalho entre anteras de diferentes tamanhos (heteranteria, ver: Vogel, 1978), em que parte das anteras deposita pólen no lado ventral (deposição esternotribica) ou nas pernas da abelha para coleta dos visitantes, enquanto outras depositam o pólen sobre o dorso do visitante (deposição nototribica), sendo esse pólen transferido para o estigma de outras flores (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988, Marazzi et al., 2007). Em flores nototribicas de Lamiaceae, onde as anteras ocupam uma posição elevada abaixo do lábio superior e depositam o pólen no dorso do visitante, abelhas e vespas que coletam pólen desenvolveram pêlos especializados na cabeça para retirada ativa do pólen antes ou após a coleta de néctar (Müller, 1996). Existem ainda flores onde o pólen está encerrado no interior de anteras poricidas, uma característica da subtribo Cassiinae (Caesalpiniaceae) (Marazzi et al., 2007) e também presente em cerca de 72 famílias de angiospermas (Buchmann, 1983), entre elas Solanaceae (Taura & Laroca, 2004) e Ochnaceae (Nadia & Machado, 2005). Para uma polinização efetiva nessas flores é necessário que o pólen, tanto para coleta como para polinização sejam expelidos pela vibração produzida pela abelha (Buchmann, 1983).

Um aspecto na forma das flores que funciona restringindo o acesso ao pólen por visitantes pode ser encontrado nas flores com quilha (*keel blossoms*, em inglês). Nessas flores a corola pentâmera possui pétalas diferenciadas em estandarte (vexilo), duas alas (asas) e quilha (carina), esta última formada por duas pétalas onde os esporofilos ficam escondidos no interior (Westerkamp, 1997b), desta forma impedindo um livre acesso dos visitantes florais ao pólen. Diferentes autores sugerem diferentes aspectos adaptativos que levaram ao surgimento desta característica: (1) adaptação para proteger o pólen contra a chuva (Sprengel, 1793), (2) proteção do ovário contra os efeitos destrutivos dos bicos de aves no caso de flores originalmente ornitófilas (Grant, 1950) ou ainda (3) são flores originalmente melitófilas e suas adaptações surgiram em respostas à interação entre as flores e abelhas (Faegri & Pijl, 1979). A hipótese

mais bem aceita postula que as flores com quilha surgiram como uma adaptação contra uma coleta excessiva de pólen pelas abelhas (Westerkamp, 1997b, 2007).

Flores com quilha são características de muitos membros da família Fabaceae, sendo a principal característica da subfamília Faboideae, mas também podem ser encontradas independentemente em muitas outras famílias (Westerkamp, 1997). Na maioria dos casos essas flores oferecem néctar, embora existam exceções como em *Lupinus sericeus* que oferece pólen (Harder, 1990, Westerkamp, 1997b). Quando o visitante se esforça para alcançar o néctar, o complexo alas-quilha é movido para baixo e o pólen é assim exposto. O pólen é então depositado lateralmente ou ventralmente sobre o visitante, raramente ocorrendo deposição sobre a parte dorsal de seu corpo (Westerkamp, 1997, Etchevery et al., 2003). Embora seja uma característica efetiva no impedimento do acesso direto ao pólen, os visitantes podem ainda usar as pernas ou escopa ventral para obterem esse recurso (Westerkamp, 2007).

Mesmo em Fabaceae, as flores com quilha surgiram independentemente mais de uma vez. Na subfamília Caesalpinioideae muitos gêneros apresentam o padrão de flores com quilha semelhante ao de Faboideae. A tribo Cercidae (Caesalpinioideae), por exemplo, é apontada em várias análises moleculares como grupo basal para a família (Doyle et al., 2000, Sulaiman et al., 2003, Bruneau et al., 2001, Kajita et al., 2001), a qual estaria entre os primeiros grupos a se diferenciar e que possui no gênero *Cercis* flores semelhantes ao padrão zigomórfico das flores de Faboideae (Käss & Wink, 1996, 1997, Wojciechowski, 2003). Essa hipótese do posicionamento basal de Cercidae conflita com a hipótese de que tal posição seria ocupada por legumes da subfamília Caesalpinioideae com flores simétricas ou ainda com análises cladísticas com características morfológicas que sugerem uma posição mais derivada dessa tribo (Wojciechowski, 2003). Estudos ontogenéticos comprovam, no entanto que o surgimento desta característica ocorreu por convergência evolutiva (Tucker, 2003).

Faboideae consiste em um grupo monofilético que divergiu dos outros legumes a cerca de 45 a 50 milhões de anos (Käss & Wink, 1996, Pennigton et al., 2001, Kajita et al., 2001, Sulaiman et al., 2003, Bruneau et al., 2001, Wojciechowski, 2003). Um fato interessante é que a forma de flores com quilha não é encontrada em muitas das linhagens basais de Faboideae. A condição ancestral das flores para a família permanece um mistério, em parte graças ao relacionamento não compreendido na base da árvore da subfamília Faboideae, onde se encontram alguns membros das tribos parafiléticas Swartzieae e Sophoreae (Pennigton et al., 2001, Mansano et al., 2002). A resolução das relações entre estas linhagens basais é importante para a compreensão da evolução da forma da flor (Wojciechowski, 2003).

Entre as Faboideae algumas dessas flores com quilha são ressupinadas, ou seja, possuem uma inversão na morfologia das flores, de modo que a quilha assume uma posição dorsal e o estandarte uma posição ventral. Dessa forma, ao invés da deposição do pólen ser estenotribica, estas flores com quilha ressupinadas (invertidas) depositam o pólen no dorso do visitante, onde não pode ser alcançado (Westerkamp & Classen-Bockhoff, 2007). Devido a posição que a quilha assume nestas flores ressupinadas, doravante estas serão chamadas **flores com quilha invertida** de forma a diferenciá-las das **flores com quilha**, que a possuem em posição ventral. Uma vez que os animais possuem uma organização dorsiventral e bilateral, com as pernas na posição ventral, a região dorsal do visitante é a posição mais segura para deposição do pólen. As flores bilabiadas também oferecem néctar aos visitantes, porém esse acesso muitas vezes é fechado (nectarostégio). Em algumas espécies apenas a presença do néctar é o suficiente para desviar a atenção do visitante floral e o pólen não fica tão escondido, porém, em muitas delas o pólen fica oculto sob o lábio superior e só é exposto após a passagem da abelha (Westerkamp & Classen-Bockhoff, 2007). Mais uma vez, quando os visitantes tentam acessar o néctar eles são alinhados e ativam um sistema de alavancas que deposita o pólen no dorso do visitante. Dessa forma as flores com quilha são predominantemente esternotribicas enquanto as flores bilabiadas e com quilha invertida, devido à deposição no dorso do visitante, são nototribicas (Müller, 1996).

### 1.3 GRUPOS FUNCIONAIS

Muitos autores discutem a idéia de que combinações das características das flores podem ser usadas para se inferir seus polinizadores, sendo o conjunto dessas características chamado de "síndromes de polinização" (Darwin, 1862, Vogel, 1954, Stebbins, 1970, Faegri & Pijl, 1971, Johnson & Steiner, 2000). Segundo esses autores estas síndromes - incluindo diferentes cores, formas e recursos florais - seriam resultado de uma evolução conjunta entre as flores e seus polinizadores e estariam relacionadas com a atração e utilização de um grupo específico de polinizadores.

Entretanto, dados de trabalhos sobre polinização mostram que as flores são visitadas por diversas espécies de animais, algumas delas funcionando como polinizadores (Motten, et al., 1981, Antonini et al., 2005, Nadia & Machado, 2005, Westerkamp et al., 2006, Nascimento & Del-Claro, 2007). São raros os casos onde flores e visitantes são espécie-específicos com relação de interdependência obrigatória entre eles, como entre a yucca (*Yucca* sp. – Agavaceae) e a mariposa da yucca (*Tegenticula* sp. e *Parategenticula* sp.) (Pellmyr & Krenn, 2002) e entre o cacto *Lophocereus schottii* (Cactaceae, Pachycepherae) e a mariposa *Upiga virescens* (Pyralidae, Glaphyriinae) (Fleming & Holland, 1998).

Segundo Fenster et al. (2004), um importante passo para se estudar a relevância evolutiva das síndromes de polinização é reconhecer que o conceito implica que os polinizadores podem ser agrupados em grupos funcionais que se comportam e impõem similar pressão de seleção às características das flores. Do mesmo modo, uma morfologia específica das flores pode exercer uma pressão evolutiva sobre características dos visitantes (Müller, 1996). Vale observar, porém, que modificações morfológicas podem ocorrer em flores e nos polinizadores sem que seja resultado da pressão mútua entre os grupos (Kiestler et al., 1984, Gorelick, 2001).

Assim, uma espécie de planta possui polinização especializada quando é polinizada com sucesso por apenas um grupo funcional restrito de potenciais

polinizadores, sendo tais plantas consideradas como ocupando um determinado "nicho de polinização" (Fenster et al., 2004).

#### 1.4 PROBLEMÁTICA

Embora as flores com quilha invertida de Faboideae sejam incluídas dentro do mesmo grupo funcional das flores bilabiadas (Westerkamp & Classen-Bockhoff, 2007), os dois grupos apresentam entre si uma grande diferença em seus aspectos morfo-funcionais. Diferente da maioria das flores bilabiadas, os órgãos reprodutivos nas flores com quilha invertida estão cerrados no interior das pétalas (alas e quilhas) e, portanto, a simples passagem do visitante para o interior da flor não seria o suficiente para que ocorra a transferência de pólen para o corpo do visitante. Assim é possível que seu funcionamento exija uma série de modificações específicas para tal, tanto consoante a morfologia da flor quanto ao comportamento e morfologia dos visitantes.

Tendo em vista a idéia de grupos funcionais de polinizadores e a complexidade morfológica das flores com quilha invertida questiona-se: Quais características definem o grupo funcional de visitantes das flores com quilha invertida? Como é o funcionamento destas flores relacionado com seus visitantes? Quais os comportamentos dos visitantes associados à morfologia e funcionalidade das flores com quilha invertida? Em outras palavras: Qual o nicho de polinização ocupado pelas flores com quilha invertida?

Nas flores com quilha, todo o mecanismo é ativado enquanto a abelha utiliza simultaneamente as pernas, além das partes bucais (Westerkamp, 1997b). Na flor com quilha invertida, o mecanismo semelhante deve funcionar apenas com a interação das partes da flor com a cabeça e partes bucais do visitante. Tal mecanismo ressalta a necessidade de um visitante com força suficiente para que o néctar seja alcançado.



Como são observadas abelhas menores visitando as flores com quilha invertida, acredita-se que estas só o fazem porque apresentam alguma característica morfológica ou comportamental que lhes permite a retirada de néctar, já que o acesso a este recurso é restrito.

Uma vez que as relações das plantas com seus polinizadores podem influenciar na evolução de cada um dos grupos (Herlich & Raven, 1864, Thompson, 1994, Johnson & Steiner, 2000, Morgan, 2000) a compreensão das interações entre flores com quilha e quilha invertida com seus polinizadores e demais visitantes florais pode contribuir com a elucidação dos processos evolutivos que levaram ao surgimento e manutenção das duas morfologias.

## 2. OBJETIVOS

1. Definir quais as características do grupo funcional que atua como polinizador nas flores com quilha invertida.
2. Verificar as características morfológicas associadas à polinização de flores com quilha invertida em Fabaceae.
3. Detalhar a associação entre o funcionamento e morfologia de uma flor com quilha invertida com a morfologia e comportamento do polinizador.
4. Comparar o funcionamento de flores com quilha e flores com quilha invertida para entender as diferenças em seu funcionamento e quais os aspectos evolutivos envolvidos na mudança morfológica.
5. Construir uma hipótese de cenário evolutivo que tenha levado ao aparecimento de flores com quilha invertida a partir das flores com quilha.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 LOCAIS DE ESTUDO

Para o estudo dos visitantes e do funcionamento das flores com quilha invertida foram observadas quatro espécies de plantas com esta característica: *Canavalia brasiliensis* Mart. ex Benth. (Phaseoleae - Diocleinae), *Clitoria fairchildiana* R.A. Howard, *Centrosema virginianum* (L.) Benth. e *Centrosema pascuorum* Mart. ex Benth (Phaseoleae - Clitoriinae). Além disso, foram estudadas três flores com quilha para comparar sua morfologia e funcionamento com aquelas de quilha invertida: *Crotalaria* sp. (Crotalarieae), *Dioclea violacea* (Phaseoleae - Diocleinae) e *Lathyrus* sp. (Vicieae).

O estudo de *Canavalia brasiliensis* foi realizado nos anos de 2005 e 2007 em uma área urbana no Campus do Pici da Universidade Federal do Ceará em Fortaleza (3°44'43" S, 38°34'32" W, 28m) e em uma área de caatinga na RPPN Serra das Almas, Crateús, Ceará (5°06'963" S, 40°05'295" W, 270m). A RPPN Serra das Almas caracteriza-se por uma vegetação típica de caatinga e a população de *C. brasiliensis* crescia sobre outras árvores e arbustos às margens de um açude intermitente. Em ambas as populações estudadas o efeito antrópico era grande, pois mesmo na área de reserva as plantas estavam localizadas à margem da trilha que é frequentemente cortada.

*Clitoria fairchildiana* foi estudada na Reserva Estadual do Palmito, Paranaguá, Paraná (25°35'34"S, 48°33'43" W, 10m). A vegetação local se caracteriza como uma área de transição entre a Floresta Atlântica e áreas de mangue e restinga. Foram estudados indivíduos que foram plantados na entrada da reserva.

*Centrosema pascuorum* foi estudada na Estação Experimental de Morretes do Instituto Agrônomo do Paraná, Morretes, Paraná (25°30'24"S, 48°48'21", 21m). A área sofre bastante influência antrópica com várias plantações de árvores frutíferas. A

própria espécie estudada é exótica e foi plantada com intuito de servir de alimento ao gado.

Das flores com quilha *Lathyrus* sp. (Vicieae) foi observada em área urbana, em um terreno abandonado próximo ao Jardim botânico, Curitiba, Paraná (25°26'28"S, 49°14'31"W, 914m). *Crotalaria* sp. e *Dioclea violacea* foram estudadas apenas em laboratório e coletadas respectivamente no Campus do Pici, Fortaleza, Ceará e na BR-277 a caminho de Paranaguá, Paraná (23°33'54"S, 48°36'00"W, 20m).

Por existirem alguns trabalhos de biologia floral com os gêneros de plantas com flores com quilha estudados, alguns destes foram utilizados como informação complementar, a fim de melhor compreender a estrutura e funcionamento dessas flores. Dessa forma os resultados apresentados sobre comportamento dos visitantes nas flores com quilha trazem informação destes trabalhos bem como as observações feitas durante o presente estudo. Os trabalhos utilizados e as espécies estudadas foram: Brito et al. (2010) e Etcheverry et al. (2003), com *Crotalaria vitellina* e *Crotalaria micans*; Westerkamp (1993), onde foi observada *Lathyrus latifolius* e; Franco (1995), onde duas espécies de *Dioclea*, *D. violaceae* e *D. rufescens* foram estudadas.

## 3.2. CARACTERIZAÇÃO DAS ESPÉCIES

### 3.2.1. *Canavalia brasiliensis*

É uma liana pertencente à subtribo Diocleinae com distribuição Neotropical que vai desde o norte do Trópico de Câncer em Sinaloa, México e sul da Flórida até 27° S no nordeste da Argentina (Sauer, 1964, Schloen *et al.*, 2010). Esta espécie ocorre em três principais centros de distribuição: (a) América Central, México e Caribe, (b) Paraguai, nordeste da Argentina e sul do Brasil e (c) nordeste do Brasil (Sauer, 1964, Schloen *et al.*, 2010). A inflorescência é pendente e a quantidade de flores que abrem

por dia varia entre uma e oito (Franco, 1995). A flor de *C. brasiliensis* é zigomórfica de cor viva rósea com um guia de néctar branco-esverdeado na parte mediana do estandarte. As flores são pendentes na inflorescência de modo que o estandarte fica em posição vertical (mais ou menos paralelo com o eixo da inflorescência) e a quilha na posição perpendicular em relação ao eixo. As flores duram apenas um dia e abrem por volta das 5 horas, permanecendo abertas o dia todo, com produção contínua de néctar. Para mais detalhes sobre as características da espécie ver Guedes e colaboradores (2009).

### 3.2.2. *Clitoria fairchildiana*

*Clitoria fairchildiana* é uma árvore pertencente à subtribo Clitoriinae. É popularmente conhecida como “Sombreiro” e largamente utilizada na arborização urbana em várias cidades do Brasil, principalmente nas regiões norte, nordeste e sudeste (Portela et al., 2001, Junior et al., 2005). Sua distribuição concentra-se principalmente em formações secundárias da floresta pluvial amazônica e apresenta preferência por solos férteis e úmidos (Lorenzi, 2002). A inflorescência é pendida em forma de racemos e o número de flores médio que se abrem por dia é duas a três, a abertura das flores ocorrendo da base da inflorescência para o ápice. As flores e botões ficam perpendiculares ao eixo principal da inflorescência, apenas pendendo um pouco quando a flor se abre devido ao próprio peso. As flores duram apenas um dia e a antese inicia por volta das 05h30min, com as primeiras visitas ocorrendo entre 06h15min e 6h30min e o pico de visitação entre 08h e 11 horas. As flores com dois dias, apesar de continuarem nas inflorescências, não possuem néctar, ficam parcialmente fechadas e com a cor desbotada em relação às flores do dia, caindo da no final do segundo dia.

As flores produzem néctar apenas pela manhã, mas permanecem abertas durante todo o dia, sendo que apenas a borda do vexilo começa a murchar por volta

das 14h. Desde o início da antese, a flor possui um cheiro forte que aumenta à medida que a temperatura e quantidade de luz aumentam, coincidindo o período com mais cheiro com o pico de visitação. Até cerca de 13h, o cheiro ainda é forte e, embora comece a enfraquecer a partir daí, permanece por todo o dia.

### 3.2.3. *Centrosema pascuorum*

*C. pascuorum* pertence à subtribo Clitoriinae e é uma erva anual, prostrada que pode crescer sobre outras plantas. É uma espécie tropical de terras baixas, encontrada naturalmente em altitudes entre 20 m e 1000 m e sua distribuição se estende de 17°N, no México até aproximadamente 20°S no Brasil (Schultze-Kraft *et al.*, 1990). Existem seis principais pontos de distribuição: o nordeste do Brasil, Pantanal, costa do Equador, parte norte da Venezuela e Guiana e mesoamérica, do México ao Panamá (Schultze-Kraft *et al.*, 1990, Peters & Schultze-Kraft, 2010). As inflorescências são na forma de racemo e as flores podem abrir aos pares ou sozinhas no ápice do curto pedúnculo. Uma vez que o caule cresce envolvendo-se sobre outras plantas ou mesmo prostrado, o eixo da inflorescência cresce lateralmente, inclinando-se no mesmo sentido de crescimento do caule. Como o eixo da inflorescência cresce para frente, os botões no racemo podem ficar voltados para cima ou para baixo. Quando os botões estão voltados para cima, o pedúnculo cresce e a flor abre normalmente. Quando o botão está voltado para baixo, o pedúnculo cresce e dá uma volta de modo que os botões ficam virados para cima, só então a flor abre, mantendo a posição da quilha-invertida. A antese ocorre volta das 7h, mas pode variar dependendo da disponibilidade de sol e temperatura e o estigma já é receptivo. No botão o estandarte envolve as demais pétalas tocando-se pela margem acima da quilha. Nas flores do dia inicial da antese o estandarte vai abrindo entre 7h e 8h. As flores duram até dois dias e a produção de néctar é contínua (embora muito pouca) apenas na flor do primeiro dia de antese. A partir das 15h30min as bordas do estandarte da flor do dia começam a murchar, porém a flor permanece aberta e inclusive recebe visitas durante o segundo dia de antese. As

flores com mais de um dia possuem uma coloração mais fraca e esbranquiçada que as flores do dia. As flores são autocompatíveis assim como muitas outras espécies de *Centrosema*, no entanto, algumas espécies a necessidade por polinizadores é variável dentro do gênero (Miles et al., 1990, Peters & Schultze-Kraft, 2010). Embora sejam descritas algumas evidências pra autopolinização espontânea em *C. pascuorum* (Miles et al., 1990) e em outras espécies próximas como *C. pubescens* (Borges, 2006), outras espécies autocompatíveis necessitam da visita dos polinizadores ou alguma ativação mecânica da flor para que ocorra a deposição de pólen no estigma (Spears, 1987, Miles et al., 1990), portanto a necessidade ou não de polinizadores nas flores de *Centrosema* ainda é questionável. Apesar da autocompatibilidade, o gênero não apresenta agamospermia (Spears, 1987, Miles et al., 1990, Borges, 2006).

#### 3.2.4. Flores com quilha

Os gêneros de flores com quilha estudados pertencem a diferentes tribos de Faboideae: *Crotalaria* pertence à tribo Crotalarieae; *Dioclea* à tribo Phaseoleae, subtribo Diocleinae e *Lathyrus* pertence à tribo Vicieae.

O gênero *Crotalaria* é um dos maiores de Fabaceae, com 600 espécies nos trópicos e subtropicais do mundo, e possui uma grande diversidade de espécies na região Neotropical, onde aproximadamente 70 espécies ocorrem desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina subtropical e Uruguai, e na África, ocorrendo também no sul da Ásia, na Índia, sul da China, Coréias e no norte da Austrália (Flores & Miotto, 2005, TROPICOS, 2010). O gênero é composto por plantas herbáceas e arbustos de 50 cm até 3m de altura, as flores são predominantemente amarelas e possuem considerável plasticidade, adaptando-se a diferentes condições ambientais, o que permitem ocorrer em variados tipos de habitats, como áreas próximas de rios, morros litorâneos, restingas, orla de matas, campos e cerrados (Flores & M Miotto, 2005). As

espécies são oportunistas, muito comuns em locais alterados como margem de estradas e como invasoras de culturas.

Alguns estudos de polinização mostram que o gênero não é apomítico e é autocompatível, podendo ou não ser ter polinização espontânea (Etcheverry et al., 2003, Brito et al., 2010).

O gênero *Dioclea* possui cerca de 50 espécies distribuídas em zonas tropicais, sendo a maioria encontrada na América Central e do Sul, especialmente na Amazônia, e duas espécies na África (*D. reflexa* e *D. wilsonii*), em Camarões e Madagascar (Barreiros, 2005, TROPICOS, 2010). O gênero é composto principalmente por plantas trepadeiras lenhosas que ficam sobre a copa das árvores. Um estudo de polinização com *D. violaceae* e *D. rufescens* demonstrou que estas são autocompatíveis (Franco, 1995).

O gênero *Lathyrus* consiste em cerca de 160 espécies espalhadas predominantemente nas regiões temperadas do hemisfério Norte (principalmente na Ásia menor e região mediterrânea) e na América do sul e na parte tropical leste da África (Jackson & Yunus, 1984, Belaïde et al., 2006, TROPICOS, 2010). As espécies possuem diferentes estratégias reprodutivas podendo a polinização ser estritamente cruzada em algumas espécies perenes, algumas espécies apresentam apomixia e na maioria das espécies ocorre a autopolinização espontânea (Brahim et al., 2001).

Todas as espécies apresentam néctar como principal atrativo, e a antese ocorre pela manhã, com as flores podendo durar entre um (*Dioclea*) até três (*Crotalaria*) dias.

### 3.3. ESTUDO DAS FLORES

#### 3.3.1. Observações de Campo



Observações foram feitas em cada espécie de planta durante o período mínimo de sete dias até ser observada uma constância nos comportamentos e espécies dos visitantes. As plantas foram observadas desde a antese até a hora que cessavam as visitas por pelo menos três dias consecutivos. Os botões que abriam no dia subsequente eram marcados e contados. As flores mais antigas das inflorescências que continham os botões marcados eram retiradas e as inflorescências também eram marcadas para facilitar sua identificação. Durante o dia, a cada hora eram registrados dados de umidade, temperatura e condição climática (chuva, sol ou nublado). A cada hora de observação vinte minutos foram reservados para acompanhar o número de flores marcadas que eram visitadas. Dessa maneira estimou-se o horário com maior número de visitas às flores e a proporção de flores existentes que foram visitadas. Durante os quarenta minutos restantes foram observadas quantas flores eram visitadas por uma única abelha, como as flores interagem com o visitante, detalhes de seu funcionamento e se o visitante observado acionava o mecanismo da flor (expondo anteras e/ou estigma). Durante os momentos de maior visitação, logo após uma flor receber uma visita, esta era marcada no estandarte com caneta marca texto e o horário anotado. Esta flor era então acompanhada até receber uma nova visita. A cada hora algumas flores não marcadas eram coletadas e dissecadas para observar se estas continham néctar. Também foram feitos testes com peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) para testar a receptividade do estigma segundo a técnica de Zeisler (1938).

A partir das observações da interação entre as flores e as abelhas, o mecanismo da flor foi testado acionando esta artificialmente, de modo a simular partes do visitante e os locais tocados por estes. Quando uma parte específica era considerada importante para o funcionamento da flor (cálice, estandarte), esta era removida da mesma e de outras flores que depois eram submetidas à ativação pelo meio artificial para ver como se comportariam.

### 3.3.2. Observações de Laboratório

A partir das observações das interações da flor com o visitante, foram identificadas aquelas estruturas que participavam da funcionalidade da flor. Estas estruturas foram então medidas com auxílio de um paquímetro.

Os aspectos morfológicos das flores bem como os locais e marcas do dano causado pelos visitantes foram estudados e documentados na íntegra e peça por peça por meio de fotografia e desenhos utilizando-se estereomicroscópio com câmara clara acoplada. Para detalhar os encaixes entre as pétalas, foram feitos cortes transversais seriados a cada 2 mm da flor e estes também foram documentados na forma de desenho. Os desenhos foram então coloridos para uma melhor visualização dos componentes florais.

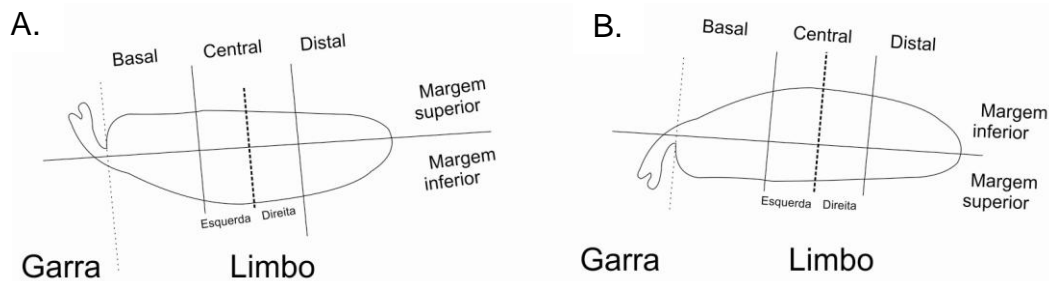
### 3.3.3 Terminologia utilizada

Por convenção, sempre que forem citadas no trabalho “flores com quilha” está-se referindo às flores com quilha típicas, com estandarte como chamariz e quilha como área de pouso, que é a morfologia mais comum em Faboideae. Em oposição, será utilizado o termo “flores com quilha invertida” para as flores ressupinadas, com estandarte funcionando como área de pouso e quilha em posição dorsal.

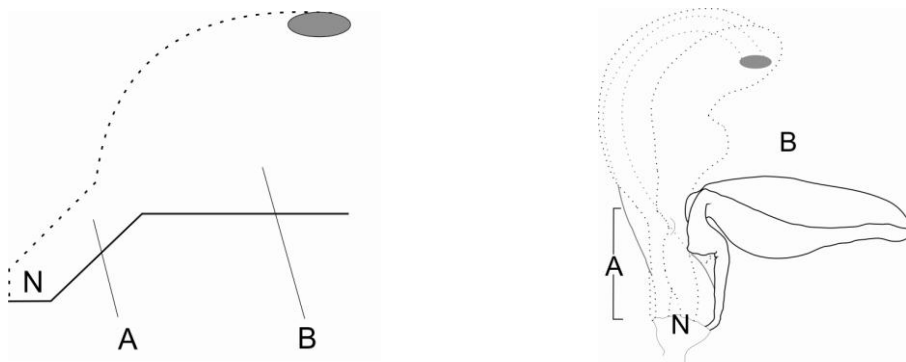
A terminologia usada para descrever a posição no espaço floral (esquerda, direita, acima e abaixo) refere-se à perspectiva do visitante floral. Assim, quando se fala em pétala esquerda (da ala ou da quilha) esta corresponde a pétala que se posiciona a esquerda da abelha durante a visita. Para o estandarte serão utilizadas as nomenclaturas: adaxial, para a superfície de pouso e abaxial, para superfície inferior. Para a descrição das posições e estruturas das demais pétalas (alas e quilha), utilizar-se-á a nomenclatura segundo Stirton (1981) a qual está ilustrada na figura 1A. Vale ressaltar que este autor apresentou uma nomenclatura apenas para descrição das alas e apenas de flores com quilha. Em flores com quilha invertida, que são os alvos do presente trabalho, essas pétalas invertem em aproximadamente 180° sua posição,

porém, para seguir um padrão na nomenclatura, serão utilizados os mesmos termos e mesmo referencial de posicionamento, tanto para alas quanto para a quilha (fig. 1B). Como a posição das alas e quilha é perpendicular em relação ao estandarte, a superfície adaxial nestas pétalas refere-se à face interna das pétalas e a abaxial corresponde à face externa. Na figura 1A, as regiões indicadas referem-se apenas ao limbo foliar, excluindo a parte basal mais afilada, a qual é referida como “garra”.

Também serão utilizados os termos para flores labiadas de acordo com Westerkamp e Claßen-Bockoff (2007): “lábio inferior”, para a parte ventral da flor, utilizada como área de pouso e “lábio superior”, para a parte dorsal da flor, onde os órgãos reprodutivos (anteras e estigma) se posicionam; “Canal de alinhamento”, para o elemento estreito e proximal da flor, normalmente acessível apenas pelas partes bucais do visitante em cujo fundo geralmente encontra-se o nectário e; “câmara de polinização”, para o elemento distal e largo da flor que normalmente permite a entrada da cabeça e outras partes do visitante. A área de transição entre a área larga da câmara de polinização e a parte estreita do canal de alinhamento será chamada de “entrada do canal de alinhamento”.



**Fig. 1.** Esquema de uma ala mostrando a posição das estruturas na pétala (baseada em Stirton, 1981) da forma como será descrita: (A) Flor com quilha e (B) flor com quilha invertida.



**Fig 2.** Esquema de corte longitudinal de flor bilabiada (esquerda, Westerkamp e Claßen-Bockoff, 2007) e de quilha invertida *Canavalia brasiliensis* (direita) mostrando a posição do lábio superior (linha pontilhada), lábio inferior (linha contínua), estruturas de reprodução (cinza), canal de alinhamento (A), câmara de polinização (B) e posição do nectário (N).

### 3.4. ESTUDO DOS VISITANTES

#### 3.4.1. Observações de Campo

O comportamento dos visitantes foi analisado enquanto visitavam as flores. Foram coletadas informações sobre horário, duração da visita, tipo de comportamento durante a visita e após esta, padrão de vôo entre as visitas, tempo entre visitas consecutivas na mesma flor, número de flores visitadas e local de deposição dos grãos de pólen nos visitantes.

Baseando-se no comportamento de visita, os visitantes foram caracterizados em quatro classes: (1) Pilhador rouba-néctar (Inouye, 1980), quando o visitante se comporta de maneira adversa à morfologia da flor (corta a corola para coletar néctar); (2) Pilhador furta-néctar (Inouye, 1980), quando o visitante faz uma visita seguindo o grupo funcional e morfologia da flor, no entanto não toca as anteras ou estigma; (3) Polinizador secundário ou ocasional, quando, em pelo menos parte das suas visitas à mesma espécie de flor, o visitante toca as anteras e estigma e carrega pólen ou quando a frequência na flor é muito baixa e; (4) Polinizador primário, quando o visitante sempre toca as anteras e estigma das flores visitadas e carrega pólen e possui uma frequência de visitas relativamente alta à mesma flor.

O comportamento dos visitantes foi interpretado a partir de observação visual direta, análise de fotografias e análise de filmagens feitas durante as visitas. Sempre que um novo visitante era avistado, este era capturado e fixado a seco para posterior identificação. Quando a identificação do indivíduo em vôo era possível, este não era capturado. As abelhas capturadas foram utilizadas nos estudos de laboratório, fixadas, identificadas e posteriormente depositadas na Coleção Entomológica Pe. Jesus Santiago Moure (DZUP).

### 3.4.2. Observações de laboratório

Baseado nas observações de campo, aquelas partes dos visitantes que interagem com a flor foram medidas utilizando um paquímetro. Logo depois de mortos com acetato de etila, algumas das abelhas foram montadas de modo que suas partes bucais ficassem esticadas para frente. As abelhas montadas desta forma foram fotografadas e o ângulo das partes bucais e da cabeça em relação ao corpo foi medido. Para isso as imagens foram analisadas no Corel Draw X5 onde uma linha longitudinal foi traçada na altura da tégula da abelha (linha preta), representando a posição do corpo. Uma segunda linha foi traçada, paralela à borda do olho da abelha (linha vermelha) e uma terceira seguindo o sentido da porção proximal das partes bucais (linha amarela, figs. 7C e 7F). O ângulo entre a primeira linha e as demais representa o ângulo de movimentação da cabeça em relação ao corpo e das partes bucais em relação ao corpo da abelha, respectivamente. A altura e tamanho de partes do corpo dos visitantes foram relacionados com o tamanho das partes florais que entraram em contato durante a visitação.

### 3.4.3. Classificação e definição dos grupos funcionais

Foram identificadas várias características morfológicas dos visitantes que influenciaram a maneira como estes interagem com a flor. Baseado nestas características os visitantes foram classificados em diferentes grupos funcionais. As características e suas categorias são explicadas a seguir:

A primeira característica refere-se ao tamanho das abelhas cujas categorias são: pequenas, médias (fig. 7A) e grandes (fig. 7B), seguindo o padrão de Gottsberger e Silberbauer-Gottsberger (2006). Esses autores comparam o tamanho das demais abelhas com o comprimento médio da operária de *Apis mellifera* (cerca de 12 mm).

Dessa forma, abelhas com tamanho menor que 12 mm são consideradas abelhas pequenas e as maiores ou iguais a 12 mm são consideradas abelhas grandes ou médias. Além do comprimento, no presente estudo foi considerada também, para definir tais grupos, a comparação entre as demais medidas tridimensionais das abelhas (altura e largura) com as partes florais com as quais interagem e a classificação de Gottsberger e Silberbauer-Gottsberger (2006) mostrou-se funcional. Apenas o grupo de abelhas médias, que não foi bem definido por aqueles autores, é aqui redefinido como aquelas abelhas cujo tamanho seja maior em apenas algumas dimensões que *A. mellifera*. Assim apenas três espécies foram incluídas na categoria “abelha pequena”: *Euglossa anodorhynchi*, *Euglossa stellfeldi*, *Euglossa* sp. As espécies *Thygater armandoi*, *Centris fuscata*, *C. bicolor* e as operárias de *Bombus morio* e *B. brasiliensis* foram incluídas na categoria de abelhas médias e as rainhas de *B. morio*, *B. brasiliensis* e as abelhas das demais espécies constituem o grupo das abelhas grandes.

A segunda característica refere-se ao comprimento das partes bucais as quais foram caracterizadas como longa ou curta (figs. 7C e 7D). A classificação comum para abelhas de língua curta e língua longa refere-se a uma série de caracteres das partes bucais utilizados para dividir os dois grupos. Dessa forma, as abelhas de língua longa são aquelas que possuem os dois primeiros artículos dos palpos labiais achatados e alongados e a glossa quase sempre alongada, enquanto as abelhas de língua curta possuem pelo menos os três últimos palpômeros cilíndricos e semelhantes ao palpo maxilar e glossa geralmente mais curta, podendo em alguns grupos até ser bífida (Michener, 2007, Silveira et al., 2002).

Para o presente trabalho, onde a funcionalidade da morfologia dos visitantes é levada em consideração e relacionada com o comportamento destes durante as visitas às flores, a distinção comumente usada para diferenciar abelhas de língua curta e longa não reflete a função e encaixe entre a flor e o visitante. Portanto, a classificação adotada no presente para abelhas de língua curta e longa leva em consideração a profundidade média onde o néctar está localizado, comparada com o comprimento das partes bucais que entram na flor. Além disso, para não criar uma distinção da nomenclatura adotada de abelhas de língua curta e longa, os termos utilizado no

trabalho foram abelhas com **partes bucais longas** e abelhas com **partes bucais curtas**. Dessa forma foi adotada que abelhas de partes bucais longas são aquelas cujas partes bucais são maiores que 1,10 cm e medidas menores ou iguais a esta classificam as abelhas de partes bucais curtas.

A última característica observada foi a capacidade das abelhas de voltarem as partes bucais para frente. Apesar da posição de repouso das partes bucais de todos os visitantes ser hipognata, durante as visitas nas flores, as abelhas que conseguiam erguer as partes bucais para frente assumiam uma posição prognata. Dessa forma foram estabelecidas duas categorias dentro desta característica: Abelhas **funcionalmente prognatas** e abelhas **funcionalmente hipognatas** (figs. 7E e 7F).

Baseado no ângulo entre a área de pouso (estandarte) em *C. fairchildiana* e a posição do nectarostégio (cerca de  $150^\circ$ ) foi definido o valor em que abelhas capazes de voltar as partes bucais além de  $130^\circ$  foram incluídas na categoria das abelhas funcionalmente prognatas, abelhas com capacidade menor foram incluídas na categoria das abelhas funcionalmente hipognatas. Apesar de o ângulo adotado ser menor que o necessário para alcançar o néctar em *C. fairchildiana*, as observações mostraram que este seria o ângulo mínimo (apresentado por *C. decipiens*,  $127,57^\circ$ ) para que as abelhas consigam visitar a flor de maneira correta.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS:

A maioria das características gerais das espécies está descrita na tabela 1.

Todas as espécies estudadas apresentam flores pentâmeras com cálice sinsépalo (sépalas fundidas) composto por cinco sépalas. Em todas as espécies o cálice possui lobos formados pelos ápices das sépalas, os quais não estão fundidos e com funções diferentes entre as espécies.

As flores possuem guias de néctar entre a entrada do canal de alinhamento e o centro da superfície adaxial do estandarte. Esse guia varia de cor entre as espécies estudadas. Além desse guia visual, *C. brasiliensis*, *C. virginianum*, *Crotalaria* spp. e *D. violacea* possuem um guia mecânico na entrada do canal de alinhamento. Com exceção de *C. fairchildiana*, a garra do estandarte fica na posição dorsal e é rígida cobrindo a entrada para a câmara de néctar na base do tubo de filetes. O limbo de estandarte fica quase perpendicular à garra. Em algumas espécies, antes do limbo assumir a posição perpendicular à garra, esta se dobra (figuras 5A, 6G e 6K) de forma que, em corte longitudinal a transição entre a garra e o limbo assume a forma de “U”. Nas flores com quilha, esta dobra em “U” fecha ainda mais a abertura para a entrada da câmara de néctar e este só pode ser alcançado se as partes bucais do visitante passarem por baixo dessa estrutura e entre as aurículas inflectidas das alas.

Todas as espécies (excetuando-se *C. fairchildiana*) apresentaram dobras nas alas e quilhas com diferentes funções (ver tabela 1). Essas, quando estas dobras se aprofundam na superfície da pétala formando uma espécie de “vale” esta dobra é chamada de “**bolso**”. Nas pétalas da quilha esse bolso se forma na superfície adaxial sobre a margem superior (criando assim uma elevação na superfície abaxial, figuras 5F, 5G, 5O, 5R, 6E e 6H), por outro lado, nas alas formam-se vários os bolsos menores na superfície abaxial (figuras 5A, 5B, 5E e 6D). Normalmente estes bolsos das alas e



quilhas se encaixam. Em algumas espécies os bolsos da ala prendem o bolso da quilha e estas pétalas ficam unidas permanentemente em uma ligação coesa, semelhante a um botão de pressão. Devido à similaridade, esta junção é chamada de junção tipo “**botão de pressão**” (figuras 5G, 5R, 6E e 6F).

Várias espécies apresentaram uma dobra rígida na porção basal da margem superior das alas que lembra um esporão. Essa dobra recebe o nome de “**aurícula da ala**” (figura 5B, 6D e 6L). Estas aurículas podem ser apoiadas a aurículas do estandarte cuja estrutura é semelhante, mas são mais planas e contorcidas para dentro. Estas estruturas no estandarte foram chamadas de “**aurículas inflectidas**”. A interação entre as aurículas do estandarte e as das alas lembra um dedo (aurículas inflectidas) envolvendo um gatilho de um revólver (aurícula da ala). Dessa forma essa interação recebeu o nome de interação tipo “**gatilho**” (figuras 5A e 6O).

Todas as espécies com quilha invertida apresentaram na margem superior da região central das alas um dobramento no qual o tecido apresenta-se muito mais espessado em corte transversal que as demais partes do limbo. Apesar da semelhança estrutural dessa margem intumescida, esta possui diferentes funções entre as espécies. Para simplificar a descrição, esta estrutura será chamada daqui em diante apenas de “**margem espessada da ala**”. Esta estrutura é ausente nas flores com quilha. No entanto, todas as flores com quilha apresentaram a margem superior das pétalas da quilha unidas e elevadas formando uma “**carena**”. Esta aumenta a altura da quilha e se posiciona sob o ventre do polinizador que, ao pousar na quilha e encosta-se na carena, empurra toda sua estrutura para baixo.

O androceu possui dez estames, sendo um deles parcial ou completamente livre, situado ventralmente e nove estames fundidos pelo filete com sua parte distal livre. Essa fusão forma uma bainha cilíndrica que é mais dilatada na base, formando um espaço onde o néctar é acumulado. O único espaço livre para a entrada na câmara nectarífera é a abertura relativa ao estame livre. O gineceu é envolvido pela bainha estaminal. A espessura do tecido que forma a bainha estaminal e a fusão dos nove filetes torna esta estrutura rígida e imóvel na maioria das espécies, exceto *Centrosema pascuorum*.

**Tabela 1.** Características das peças florais nos gêneros estudados. (CA) Canal de alinhamento, (CP) Câmara de polinização. (Esp) espessada.

Peças florais\Morfologia		Flores com quilha		
		<i>Crotalaria spp.</i>	<i>Lathyrus sp.</i>	<i>Dioclea violaceae</i>
Cálice	Forma	Cilíndrico, curto, partes distais livres longas	Cilíndrico, longo, partes distais livres longas	Cilíndrico, envolve o CA. Possui estrangulamento na porção distal, partes distais livres curtas
	Espessura	Delgado	Pouco espesso	Espesso
	Estruturas que envolve diretamente	Base da garra do estandarte sobre a câmara de néctar	Envolve as unhas e base do limbo das pétalas da corola	Prende as unhas e base do limbo das pétalas, os lobos ventrais ficam sob o estandarte
	Função	Proteção da câmara de néctar	Sem função no mecanismo da flor, envolve a corola de maneira frouxa	Manter interação entre pétalas, Proteção contra pilhadores, sustentação do estandarte
	Perfis	Não possui	Não possui	Não possui
Estandarte	Posição (limbo)	Perpendicular à garra e às alas e quilha	Perpendicular à garra e às alas e quilha	Perpendicular à garra e às alas e quilha
	Transição da garra / limbo	Transição em forma de "U"	Transição sem "U"	Transição em forma de "U"
	Estruturas associadas	Tufos de pelos na entrada do CA, aurículas rígidas, garra côncava, guias de néctar	Guias de néctar	Aurículas inflectidas, calos na entrada do CA, tecido plicado entre garra e dobra em forma de "U"
	Interação com as demais pétalas	Aurículas ficam sobre dobras nas alas	Sem função importante para na funcionalidade da flor	Encaixe de "gatilho" entre aurículas inflectidas e aurículas das alas
	Função	Chamariz, guia visual e mecânico, apoio para abrir a flor, proteção da câmara de néctar	Chamariz, guia visual	Chamariz, guia visual e mecânico, apoio para abrir a flor, proteção da câmara de néctar

Tabela 1. Continuação

Peças florais\Morfologia		Flores com quilha invertida		
		<i>Canavalia brasiliensis</i>	<i>Clitoria fairchildiana</i>	<i>Centrosema pascuorum</i>
Cálice	Forma	Cilíndrico, envolve o CA. Possui estrangulamento na porção distal, partes distais livres curtas	Achatado lateralmente, envolve o CA, sem estrangulamento, partes distais livres curtas	Cilíndrico e curto. Envolve apenas a baseado CA, partes distais livres curtas
	Espessura	Espesso	Delgado	Delgado
	Estruturas que envolve diretamente	Prende as unhas e base do limbo das pétalas, os lobos ventrais ficam sob o estandarte	Garra e base do estandarte	Base da garra do estandarte sobre a câmara de néctar
	Função	Manter interação entre pétalas, proteção contra pilhadores, sustentação do estandarte	Constricção e suporte do estandarte.	Proteção da câmara de néctar
	Perfilos	Não possui	Longos e espessos. Envolvem o cálice quase completamente.	Curtos e pouco espessos. Não envolvem o cálice.
Estandarte	Posição (limbo)	Perpendicular à garra e às alas e quilha	Contínuo à garra e paralelo à alas e quilha	Perpendicular à garra e paralelo ao limbo das alas e quilha
	Transição da garra / limbo	Transição em forma de "U"	Sem transição ou dobra, garra e limbo no mesmo plano	Transição em forma de "U"
	Estruturas associadas	Aurículas inflectidas, calos na entrada do CA, tecido plicado entre garra e dobra em forma de "U"	Guias de néctar	Esporão abaxial na região proximal do limbo, Tincheiras na parte mediana
	Interação com as demais pétalas	Encaixe de "gatilho" entre aurículas inflectidas e aurículas das alas	A constricção causada pelo cálice mantém as garras das alas unidas	Sem função importante para na funcionalidade da flor
	Função	Área de pouso, auxilia a erguer o complexo alas+quilha, guia visual e mecânico, proteção da câmara de néctar	Guia visual, barreira contra entrada errada de visitantes, manter coesão das garras das alas	Guia visual e mecânico, barreira contra entrada errada do visitante, posicionamento do visitante.

Tabela 1. Continuação

Peças florais\Morfologia		Flores com quilha		
		<i>Crotalaria</i> spp.	<i>Lathyrus</i> sp.	<i>Dioclea violaceae</i>
Alas	Garras	Estreitas, médias, reta. Laterais ao androceu.	Largas, médias, retas, laterais ao androceu	Estreitas, médias, em forma de "S", Latero-posteriores ao androceu
	Limbo (estrutura)	Porção basal da margem superior com bolso e expansão sobre a garra (rudimento de aurícula). Lamelas lunadas	Aurículas (porção basal, margem superior), bolsos na porção basal, margens superior e na porção distal em ambas as margens	Aurículas (porção basal, margem superior), bolsos na porção basal, margens superior e inferior
	Interação com a quilha	Bolsos encaixam-se quando o visitante pousa, mas não são conectados	bolsos da margem superior frouxamente unidos, se encaixam quando o visitante pousa	bolsos da margem superior frouxamente unidos, se encaixam quando o visitante pousa
	Interação com o estandarte	As aurículas do estandarte ficam sobre o bolso da ala, mantendo-as juntas	Nenhum relevante para o funcionamento da flor	Mecanismo de "gatilho", bem mais fraco que em <i>Canavalia</i>
	Margem esp. da ala	-----	-----	-----
	Função Margem esp.	-----	-----	-----
	Interação com o visitante	Área de pouso, as lamelas servem para apoio do visitante	Área de pouso, os bolsos servem para apoio do visitante	Chamariz, podem ser usadas para apoio pelo visitante
Quilha	Forma	Encoberta completamente pelas alas, carena na margem superior, assimétrica	Encoberta completamente pelas alas, carena na margem superior, assimétrica	Encoberta na base pelas alas, depois alas se abrem lateralmente, carena na margem superior, assimétrica
	Tipo de abertura distal	Em tubo formado pela sobreposição e enrolamento das pétalas da quilha	Em tubo, pétalas da quilha fundidas, não sobrepostas	Forma um tubo largo, com uma curta fenda no ápice, intermediário entre tubo e fenda
	Interação com o Visitante	Área de pouso	Área de pouso	Área de pouso
	Estruturas associadas	Bolso longitudinal na face adaxial sobre a margem superior	Bolso longitudinal na face adaxial sobre a margem superior	Bolso longitudinal na face adaxial sobre a margem superior
Androceu e Gineceu	Apresentação de pólen	Secundária	Secundária	Primária
	Estrutura do estilete	Com escova que tricomas	Com escova que tricomas	Sem modificações
	Estrutura do androceu	Bainha reta, anteras ao redor do estilete e voltadas pra sua escova	Bainha reta, anteras ao redor do estilete e voltadas pra sua escova	Bainha reta, anteras ao redor do estilete
	Mobilidade	Fixa	Fixa	Fixa

Tabela 1. Continuação

Peças florais\Morfologia		Flores com quilha invertida		
		<i>Canavalia brasiliensis</i>	<i>Clitoria fairchildiana</i>	<i>Centrosema pascuorum</i>
Alas	Garras	Estreitas, médias, retas. Latero-posteriores ao androceu	Estreitas, longas. Ambas se torcem sob androceu, ala direita sob a esquerda	Estreitas, curtas, retas. Lateral ao androceu
	Limbo (estrutura)	Aurículas (porção basal, margem superior), bolsos nas nas margens superior e inferior interrompidos pela margem espessada	Parte distal expandida para cima (chamariz), tecido plicado (porção basal, margem inferior)	Aurículas (porção basal, margem superior) Toda a superfície adaxial é côncava, envolvendo apenas o bolsos da quilha
	Interação com a quilha	Bolsos das alas prendem o bolso da quilha como "botão de pressão"	Fusão entre superfícies adaxial da ala e abaxial quilha	Toda a ala forma um único bolso que recobre o bolso da quilha como "botão de pressão"
	Interação com o estandarte	Encaixe entre as aurículas formando mecanismo de "gatilho"	Constricção do estandarte mantém a posição das garras	A garra côncava do estandarte fica sobre as aurículas das alas, fechando-as
	Margem esp. da ala	Perpendicular ao estandarte, sobre a entrada do CA	Esquerda: encosta no estandarte. Direita: forma lábio superior da CP	Lateralmente à primeira dobra do lábio superior da quilha
	Função Margem esp.	Suporte para inração com visitante, por onde a estrutura é empurrada	Esquerda: bloqueia entrada "errada". Direita: lábio superior	Guia mecânico, forma a porção distal lateral do lábio superior da CP, fecha quilha
	Interação com o visitante	Margem espessada sobre os olhos é empurrada com a cabeça	Garra da ala direita sobre partes bucais, margem espessada direita sobre o dorso.	Não interagem diretamente com o visitante
Quilha	Forma	Encoberta pelas alas apenas na região do bolso, margem superior fundida e inferior livre, simétrica	Quase completamente encoberta pelas alas, margens superior e inferior fundidas, assimétrica	Encoberta pelas alas apenas na região do bolso, margem superior e inferior fundidas, simétrica, dobra da margem superior em forma de "ampulheta"
	Tipo de abertura distal	Em fenda	Em tubo, pétalas da quilha fundidas, não sobrepostas	Em fenda
	Interação com o Visitante	Sem interação direta	Forma o lábio superior por onde o visitante empurra com a cabeça para abrir a flor	Sem interação direta
	Estruturas associadas	Bolso longitudinal na face adaxial sobre a margem superior	Tubo no ápice da quilha	Bolso longitudinal, dobra "ampulheta" na margem superior
Androceu e Gineceu	Apresentação de pólen	Primária	Secundária	Secundária ou Terciária
	Estrutura do estilete	Sem modificações	Com escova que tricomas	Ápice achatado dorso-ventralmente, escova de tricomas na margem
	Estrutura do androceu	Bainha em forma de foice, filetes de tamanhos diferentes e anteras ao redor do estilete	Bainha reta, anteras ao redor do estilete e voltadas pra sua escova	Bainha em forma de foice, filetes de tamanhos semelhantes, filete livre mais curto. Anteras da bainha sobre o estilete
	Mobilidade	Fixa	Fixa	Móvel

## 4.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS - VISITANTES:

Ao todo foram observadas vinte espécies de abelhas visitando as flores estudadas. As espécies divergiram bastante quanto às medidas das partes que interagem com a flor e quanto à capacidade de inclinar frontalmente as partes bucais. As medidas das partes florais e das partes dos visitantes relacionadas com o comportamento durante a visita são mostrados nas tabelas 2 e 3, respectivamente. De acordo com essas medidas as abelhas foram classificadas e categorizadas em diferentes grupos funcionais os quais são representados nas figuras 7A-F.

Em geral, os polinizadores primários mostraram-se aqueles com as partes bucais ligeiramente mais curtas ou com tamanho semelhante à profundidade do néctar. Com as partes bucais de tamanho semelhante à profundidade do canal de alinhamento os visitantes precisavam se posicionar de maneira exata na flor e se esforçarem para alcançar o néctar, criando as condições ideais para ativar o mecanismo de polinização. Os pilhadores furta-néctar foram aqueles cujas partes bucais foram bem mais longas que o necessário para alcançar o néctar. Esses visitantes podiam alcançar o néctar mesmo sem acionar o mecanismo da flor ou fazendo-o de maneira pouco efetiva. Por fim, os polinizadores secundários normalmente apresentaram um comportamento diferenciado dos polinizadores primários devido ao tamanho mais alongado ou reduzido das partes bucais. Para que a flor fosse acionada, esses visitantes precisaram adaptar a posição em relação aos polinizadores primários ou, em certas visitas, conseguiam alcançar o néctar sem acionar o mecanismo da flor (ver comportamento de *Bombus morio* em *Centrosema pascuorum* e *Euglossa* spp. em *Clitoria fairchildiana*).

O comportamento de pilhador rouba-néctar foi observado apenas em *Xylocopa frontalis* e *X. brasilianorum* durante as visitas em *C. fairchildiana* quando estas abelhas usam as partes bucais para cortarem os perfis, cálice e androceu dessas flores em busca do néctar. Esse comportamento foi distinguido do pilhador furta-néctar, pois exige características específicas dos visitantes, nesse caso, mandíbulas e maxilas fortes o suficiente para cortarem as partes florais. O grupo dos pilhadores furta-néctar

foi normalmente formado por abelhas menores que o tamanho da flor (*C. fuscata* em *C. brasiliensis*, figura 3E, e *Euglossa* spp. em *C. fairchildiana*, figura 3O) e que possuíam as partes bucais longas. A característica de ser funcionalmente prognata de *Bombus morio* também contribuiu para que esta abelha fosse pilhador furta-néctar em *Lathyrus* sp (Figura 3K). No entanto a incompatibilidade morfológica com a flor e as partes bucais alongadas parecem ser os maiores propiciadores deste tipo de comportamento.

Os polinizadores primários e secundários variaram entre as flores por diferentes motivos. De modo geral, os polinizadores secundários possuíam alguma característica que não combinava com aquelas apresentadas pela flor, precisando adaptar seu comportamento de maneira a acionar o mecanismo da flor de maneira efetiva e obter o néctar, como no caso de *X. cearensis* em *C. brasiliensis*. Outra causa da classificação como polinizador secundário é que a morfologia do visitante se encaixa com a morfologia da flor, mas devido algumas das características do visitante, este nem sempre ativa de maneira correta o mecanismo da flor, apesar de obter o néctar. Exemplos deste comportamento foram observados entre *X. augustii* e *Lathyrus* sp. e *B. morio* e *C. pascuorum*. No primeiro caso, em algumas visitas a abelha impedia a deposição de pólen pela flor devido à maneira como pousou na flor e devido ao tamanho enquanto no segundo caso, a posição prognata de *B. morio* permitia obter néctar em certas visitas sem ativar o mecanismo de polinização. O último caso em que os visitantes foram considerados polinizadores secundários relaciona-se com a baixa frequência em que estes visitavam as flores. É o caso de *Centris descipiens* e *C. aff lateritia* em *C. fairchildiana*, apesar de estas abelhas apresentarem encaixe morfológico com a flor e carregarem pólen, foram vistas tão raramente visitando que sua importância como polinizador é bem reduzida.

**Tabela 2.** Medidas (média e desvio padrão) em centímetros das partes florais que interagem com os visitantes. Cada flor interage de maneira diferente com as abelhas, por isso foram feitas algumas medidas de estruturas diferentes em cada flor.

FLOR	Altura da câmara de polinização		Profundidade do canal de alinhamento	Largura do lábio superior, quilha + alas	Largura da dobra na margem da quilha	Comprimento da quilha	Comprimento do androceu + gineceu	Comprimento do Lábio Inferior, área de pouso
	Altura na entrada da flor	Altura da dobra na margem da quilha						
<i>Centrosema pascuorum</i> n=19	0,67 ± 0,21	0,3 ± 0,12	0,55 ± 0,05	0,88 ± 0,1	0,39 ± 0,086	2,13 ± 0,12	1,7 ± 0,11	3,21 ± 0,20
<i>Clitoria fairchildiana</i> n=15	Altura da câmara de polinização		Profundidade do canal de alinhamento	Largura do lábio superior, ala direita	--	Ângulo de inclinação da quilha (em graus)	--	Comprimento do lábio inferior, área de pouso
	Altura da ala direita							
	0,72 ± 0,067		1,60 ± 0,2	0,80 ± 0,087	--	115° ± 1,8°	--	4,0 ± 0,73
<i>Canavalia brasiliensis</i> n=10	Altura da câmara de polinização		Profundidade do canal de alinhamento	Largura do lábio superior, quilha + alas	Largura entre as Margens espessada das alas (tapa-olhos)	--	--	Comprimento do Lábio Inferior, área de pouso
	0,86 ± 0,12							



**Tabela 3.** Medidas (médias e desvio padrão) em centímetros das partes dos visitantes que se relacionam com as partes florais. O ângulo entre as partes bucais e o corpo das abelhas foi medido em apenas um espécime.

ABELHA	Altura, medido no mesossoma após o primeiro de pernas	Comprimento da "língua", medido a partir do labro	Largura, medida na altura das tégulas	Largura da cabeça, medida no meio da face	Ângulo entre a cabeça e o corpo	Ângulo entre as partes bucais e o corpo (em graus)	Comprimento, da cabeça ao ápice do metassoma
<b>Apini</b>							
<i>Apis mellifera</i>	0,3	0,6	0,3	0,35			1,2
<i>Bombus brasiliensis</i>	0,50 ± 0,01	0,83 ± 0,05	0,51 ± 0,04	0,40 ± 0,01	*	*	1,42 ± 0,07
<i>Bombus morio</i>	0,59 ± 0,096	0,95 ± 0,21	0,60 ± 0,11	0,46 ± 0,063	141,28	167,70	1,58 ± 0,22
<i>Eufrisea mussitans</i>	0,67 ± 0,05	1,55 ± 0,13	0,75 ± 0,07	0,66 ± 0,04	126,55	144,24	1,82 ± 0,09
<i>Euglossa (Euglossa) anodorhynchi</i>	0,40	1,50	0,50	0,50	*	*	1,10
<i>Euglossa (Glossura) stellfeldi</i>	0,35 ± 0,07	2,00 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,40 ± 0,01	131,07	180,00	1,10 ± 0,01
<i>Euglossa sp. (Grupo cordata)</i>	0,36 ± 0,05	1,36 ± 0,05	0,36 ± 0,05	0,40 ± 0,01	*	*	1,06 ± 0,05
<b>Xylocopini</b>							
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) augusti</i>	0,70	0,80	0,90	0,70	*	*	2,20
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) brasilianorum</i>	0,80	1,00	1,00	0,60	83,50	87,93	2,20
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) cearensis</i>	0,62 ± 0,04	0,73 ± 0,14	0,74 ± 0,095	0,63 ± 0,045	*	*	1,74 ± 0,13
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) frontalis</i>	0,98 ± 0,05	1,25 ± 0,05	1,17 ± 0,09	0,97 ± 0,05	103,97	117,59	2,92 ± 0,2

Tabela 3. Continuação

<i>Xylocopa</i> ( <i>Neoxylocopa</i> ) <i>grisescens</i>	0,87 ± 0,05	1,1 ± 0,11	1,00 ± 0,01	0,77 ± 0,05	*	*	2,63 ± 0,12
<i>Xylocopa</i> ( <i>Neoxylocopa</i> ) <i>suspecta</i>	0,70 ± 0,01	0,95 ± 0,21	0,90 ± 0,01	0,70 ± 0,01	99,12	112,96	2,35 ± 0,07
<b>Centridini</b>							
<i>Centris</i> ( <i>Melacentris</i> ) <i>aff.</i> <i>Lateritia</i>	0,90	1,30	1,10	0,80	128,65	160,75	2,50
<i>Centris</i> ( <i>Ptilotopus</i> ) <i>decipiens</i>	0,90	0,00	1,05	0,70	115,28	127,57	2,30
<i>Centris</i> ( <i>Trachina</i> ) <i>fuscata</i>	0,50	0,80	0,60	0,50			1,45
<i>Centris</i> ( <i>Xanthemisia</i> ) <i>bicolor</i>	0,60	1,00	0,60	0,60	135,10	169,74	1,10
<i>Epicharis</i> ( <i>Anepicharis</i> ) <i>dejeanii</i>	0,75 ± 0,07	1,25 ± 0,07	0,85 ± 0,01	0,65 ± 0,07	135,91	164,43	2,30 ± 0,01
<i>Epicharis</i> ( <i>Epicharana</i> ) <i>flava</i>	0,70 ± 0,01	1,55 ± 0,21	0,80 ± 0,01	0,65 ± 0,07	126,85	155,58	2,15 ± 0,21
<i>Epicharis</i> ( <i>Hoplepicharis</i> ) <i>fasciata</i>	0,60	1,50	0,70	0,50	135,10	169,74	1,70
<b>Eucerini</b>							
<i>Thygater</i> <i>armandoi</i>	0,38 ± 0,03	1,00 ± 0,1	0,46 ± 0,06	0,50 ± 0,01	*	*	1,30 ± 0,01

\* Essa medida não foi observada nestas espécies.

### 4.3 COMPORTAMENTO DOS VISITANTES NAS FLORES

#### 4.3.1 *Canavalia brasiliensis*

##### **a) Horários de visitas**

Foram observadas quatro espécies de abelhas visitando as flores de *Canavalia brasiliensis*. As espécies mais freqüentes foram *Xylocopa grisescens* (figuras 3A e 3B) e *Xylocopa cearensis* (figura 3D) (Xylocopini). Também foram observadas *Xylocopa frontalis* (figura 3C) e *Centris fuscata* (figura 3E) (Centridini). As visitas foram constantes durante todo o dia, com as primeiras ocorrendo por cerca da 05h30min - 6h. *X. grisescens* e *X. frontalis* são as primeiras espécies. As visitas são mais numerosas durante a manhã (7h às 10h) e final da tarde (16h às 18h).

##### **b) Padrão de forrageamento**

Todas as espécies de *Xylocopa* apresentaram padrão de forrageamento semelhante. Normalmente as abelhas voavam horizontalmente e paravam em uma flor da inflorescência. Quando havia mais de uma flor na inflorescência, a abelha caminhava até a flor vizinha, caminhando sobre os estandartes ou sobre alas e quilha. As abelhas nunca caminhavam sobre o eixo da inflorescência e apenas caminhavam para flores que estavam acima ou ao lado da primeira, voando para flores abaixo. Depois de visitar algumas flores das inflorescências mais próximas as *Xylocopas* continuam o vôo horizontalmente no sentido inicial. Depois de percorrer toda a extensão da planta, a abelha volta forrageando no sentido oposto e repetem esse

comportamento algumas vezes. *Centris fuscata* caracterizou-se por vôos rápidos em várias direções e visitas curtas às flores de *Canavalia brasiliensis*. *Centris fuscata* sempre voou entre flores diferentes, nunca caminhando entre elas.

Logo que uma flor era visitada, esta não era revisitada por cerca de 10-8 min. Quando uma abelha encontrava uma flor anteriormente visitada continuava voando em frente ao estandarte e não pousava, partindo para outra flor. Esse comportamento repetia-se mesmo quando a flor era visitada por espécies diferentes ou abelhas. *C. fuscata* repetia a visita em uma flor anteriormente visitada por *Xylocopa* com menos tempo, cerca de 5-6 minutos.

### **c) Comportamento dos visitantes na flor**

*Xylocopa spp.*

Ainda em vôo, seguindo o guia de néctar, os visitantes alinham-se frente à flor e usam as pernas anteriores e medianas para se segurar ao estandarte. No caso de *Xylocopa cearensis* que é a menor espécie visitante, apenas as pernas anteriores são usadas. As garras tarsais prendem-se no estandarte, ao lado das alas de forma que, ao fazer força, a abelha se impulsiona para frente, em direção às alas. Depois de pousarem sobre o estandarte, o abdome curva-se para baixo impulsionando o estandarte e mesmo dobrando-o em direção ao cálice (figuras 3B-3D). *X. cearensis* apresenta comportamento semelhante, curvando para baixo o abdome, no entanto, devido seu tamanho reduzido, o ápice do metassoma impulsiona o centro do estandarte (enquanto nas outras espécies o abdômen ultrapassa o comprimento do estandarte), erguendo a abelha, enquanto apenas as pernas dianteiras prendem-se ao estandarte (figura 3D). Desta forma a abelha forma um arco sobre a área de pouso da flor e as pernas medianas e traseiras ficam erguidas. Assim a abelha empurra o estandarte para

baixo, mas não o dobra como as abelhas maiores. As partes bucais são inseridas entre os calos na base da área de pouso durante o alinhamento na flor. Quando a abelha se impulsiona para frente e segue aprofundando as partes bucais no canal de alinhamento da flor, a cabeça entra em contato com as alas. Na tentativa de alcançar o néctar profundo da flor, o visitante empurra com a cabeça enquanto as margens espessadas da alas, os “tapa-olhos”, deslizam sobre a superfície lisa do olho (figuras 3B-D).

Esse movimento, junto com as partes bucais, ativa um complicado sistema de alavancas, expondo o pólen, que é depositado no dorso do visitante (figuras 3A, 3C e 3D) (ver “mecanismo de polinização”, abaixo). O local de deposição do pólen é o mesoscuto e escutelo, porém a posição exata varia de acordo com o tamanho da abelha, sendo depositado mais próximo ao pronoto em *X. frontalis*, parte central do mesoscuto e próximo ao escutelo em *X. grisescens* e sobre o escutelo em *X. cearensis*. A polinização ocorre quando, em outra visita, o polinizador toca o estigma de outra flor.

### *Centris fuscata*

As visitas de *C. fuscata* são bem mais curtas e a abelha possui um tamanho bem menor que *Xylocopa*. Quando pousa na flor também segue o guia de néctar até inserir as partes bucais pelo canal de alinhamento. Para conseguir a força necessária para abrir a flor, as pernas traseiras empurram o estandarte para baixo e se impulsionam para frente, fazendo o movimento que as espécies de *Xylocopa* fazem com o abdômen. As pernas dianteiras e medianas prendem-se na base da área de pouso, e a abelha se impulsiona para frente. Mais uma vez o visitante empurra com a cabeça e os tapa-olhos deslizam sobre a superfície do olho. Devido ao tamanho reduzido, a abelha não possui força para abrir a flor completamente e, embora as partes reprodutivas fiquem expostas, estas não tocam a superfície do visitante (figura 3E), caracterizando *C. fuscata* como um pilhador furta – néctar.

#### d) Mecanismo de polinização

Enquanto os visitantes pousam no estandarte e impulsionam este para baixo a parte basal do limbo (onde ficam as aurículas inflectidas) é impulsionada para cima e para frente. Esse movimento de gangorra do limbo do estandarte é proporcionado e apoiado pelo estrangulamento do cálice. Durante esse movimento a unha se mantém imóvel e apenas a parte distal, onde o tecido é plicado, se move. Esse movimento das aurículas inflectidas do estandarte ergue levemente as aurículas das alas, em um movimento semelhante ao dedo puxando um gatilho (nessa comparação, o “dedo” seria as aurículas inflectidas do estandarte e o “gatilho” as aurículas das alas).

Uma vez posicionadas sobre a flor, as partes bucais dos visitantes são guiadas mecanicamente pelos calos na base do estandarte, na entrada do canal de alinhamento. Como *Xylocopa* spp. é funcionalmente hipognata e possui o aparelho bucal de tamanho semelhante à profundidade do néctar este precisa se esforçar para entra mais em direção a flor. Enquanto a cabeça do visitante é empurrada contra as margens espessadas das alas, os tapa-olhos se posicionam sobre os olhos do visitante e deslizam lateralmente sobre a superfície do olho. As partes bucais são inseridas inicialmente ligeiramente inclinadas para frente, mas, à medida que o visitante as insere na flor, estas tomam uma posição perpendicular em relação à área de pouso. Para as partes bucais assumirem essa posição, o visitante deve empurrar mais para frente às alas com a cabeça, e o faz puxando-se com as pernas dianteiras e empurrando-se com o metassoma no cálice (*X. frontalis* e *X. grisescens*) ou no meio do estandarte (*X. cearensis* e *C. fuscata*). Como as alas e quilhas se conectam pelo sistema de botão de pressão, embora a quilha não seja em momento algum tocada pelo visitante, esta segue o movimento das alas. Enquanto as alas e quilhas movem-se para traz sua margem inferior move-se ao redor da bainha estaminal, fazendo que as alas abram-se lateralmente. Desta forma dois movimentos ocorrem concomitantemente nas alas: o movimento para traz e lateral, em torno da bainha estaminal. Esse movimento lateral libera a passagem para o néctar, inicialmente fechado pelas aurículas das alas e as partes bucais entram pelo canal de alinhamento entre estas estruturas. Com toda a

estrutura de quilha e alas movendo-se, a parte distal abre-se e, os órgãos reprodutivos, que são imóveis, são finalmente expostos. Neste ponto os visitantes estão ocupados com o néctar e com a força que estão fazendo enquanto o pólen é depositado na parte dorsal. Quando o visitante abandona a flor, todas as estruturas retornam a posição inicial.

#### 4.3.1 *Clitoria fairchildiana*

##### a) Horários de visitas

Foram observadas várias espécies de abelhas de diferentes tribos visitando as flores de *C. fairchildiana*: *Bombus morio* (figura 3K e 3L) e *Bombus brasiliensis* (Apini-Bombina); *Eufriesea mussitans* (figura 3H), *Euglossa stellfeldi* (figura 7C), *Euglossa sp.* (grupo cordata) (Apini-Euglossina); *Xylocopa frontalis* (figura 3J) *Xylocopa brasilianorum* (Xylocopini); *Epicharis flava* (figura 3I), *Epicharis dejeanii* (figura 3F), *Epicharis fasciata*, *Centris aff. lateritia* e *Centris decipiens* (Centridini). As espécies mais freqüentes foram *X. frontalis*, *B. morio*, *Epicharis flava* e *E. dejeanii* com as demais espécies ocorrendo esporadicamente e apenas com 1 ou 2 indivíduos. As visitas iniciam algum tempo depois do início da antese, por volta das 06h15min às 06h30min. Nesse momento, as anteras já estão abertas e os grãos de pólen colocados na escova de tricomas do estigma. As primeiras abelhas observadas foram *B. morio* seguidas de *X. frontalis* e depois as espécies de *Epicharis*. As visitas ocorrem até cerca de 15h, principalmente pelos indivíduos de *B. morio*. Nesse horário a maioria das flores já foi visitada e não possui mais néctar, sendo que apenas *B. morio*, *Epicharis flava* e *E. dejeanii* foram observadas visitando flores após o meio dia. Apesar de a visitação começar cedo, o pico de visitação (número e proporção de flores visitadas) se dá entre 08h e 11h horas, onde são visitadas mais flores tanto em termos absolutos quanto em proporção de flores marcadas.

## b) Padrão de forrageamento

De acordo com o padrão de forrageamento e o comportamento dos visitantes na flor, as abelhas foram divididas em: pilhadores, composto por *E. stellfeldi* e *Xylocopa* spp.; polinizadores primários, *Epicharis flava*, *E. dejeanii*; polinizadores secundários, *Bombus morio* e *Eufriesea mussitans*; e polinizadores ocasionais, *Bombus brasiliensis*, *E. fasciata*, *Centris aff. lateritia* e *Centris decipiens*. A seguir será descrito e comentado essa classificação quanto ao padrão de forrageamento; mais detalhes desta classificação seguem na seção “Comportamento dos visitantes na flor”.

*Euglossa stellfeldi* foi observada poucas vezes nas flores e voando entre flores próximas. Após algumas poucas visitas (1-3 flores) ela abandonava a mancha de flores. *Euglossa* sp. foi observada mais freqüentemente e em um número maior de indivíduos. Estas também visitaram apenas flores de um mesmo lado da árvore, embora visitassem várias inflorescências. Foi observado que estas visitavam preferencialmente as flores mais expostas ao sol.

As espécies de *Xylocopa* visitavam várias flores (entre seis e mais de 12, com a *X. frontalis* visitando em média mais flores que *X. brasilianorum*), preferencialmente as mais altas (mais de 3 metros) e as mais externas à copa da árvore. As espécies de *Xylocopa* sempre voaram entre as flores visitadas e normalmente iniciavam as visitas pelas flores mais altas, circundando a árvore à medida que iniciavam as visitas às flores mais baixas, raramente descendo às flores abaixo de 3m de altura do chão. Normalmente, durante um período de forrageio a uma árvore, as abelhas não a circundavam, visitando flores do mesmo lado e inflorescências próximas. *Xylocopa frontalis* e *Euglossa* sp. foram observadas frequentemente nas flores de *C. fairchildiana*, porém as duas outras espécies de pilhadores foram visitantes raros, sendo observadas apenas em uma (*X. brasilianorum*) ou duas (*E. stellfeldi*) ocasiões.

*Epicharis flava* e *E. dejeanii* foram observadas frequentemente visitando as flores de *C. fairchildiana*, principalmente no período de maior floração. No período com



menos flores, apenas um indivíduo do gênero foi observado. O número de flores visitadas variou muito, entre uma e cinco quando as abelhas eram observadas visitando flores depois das 12h e entre mais de oito até mais de 25 flores em uma única jornada em uma planta. Essa diferença coincide com a disponibilidade de néctar, ou seja, durante o período entre 8h e 11h30min, em que há mais néctar disponível, as abelhas visitam mais flores.

As abelhas visitavam principalmente as flores de inflorescências mais altas, mas desciam eventualmente àquelas mais baixas enquanto forrageavam ao redor de uma árvore. Apesar do grande número de flores visitadas, o tempo gasto na mesma planta foi pequeno e as visitas nas flores duraram entre 2 e 4 segundos. As abelhas sempre voavam entre as flores visitadas, mesmo entre aquelas da mesma inflorescência.

O comportamento de forrageamento dos polinizadores ocasionais não pode ser observado com acurácia devido à raridade com que visitam as flores de *C. fairchildiana*. Apenas as espécies de *Centris* foram observadas visitando flores mais altas enquanto as demais foram capturadas em flores mais baixas. Dentre os polinizadores ocasionais apenas para *Centris* aff. *lateritia* foi observado mais de um indivíduo e em dias diferentes de coleta.

O comportamento de forrageamento dos polinizadores secundários difere bastante. *Eufriesea mussitans* apresenta um comportamento de forrageamento semelhante ao das espécies de *Epicharis*, porém sempre visitava um número pequeno de flores, entre 2 e 5, e demorava-se mais nas visitas, em média oito segundos em cada flor. O número pequeno de flores visitadas pode indicar que estas abelhas conseguem obter recurso suficiente mesmo com poucas visitas e, portanto sua eficiência como polinizador é reduzida. Em todos os outros aspectos, *E. mussitans* apresenta o comportamento semelhante ao de um polinizador primário.

*Bombus morio* foi o visitante mais freqüente em flores de *C. fairchildiana*, e apesar de ser considerado aqui como polinizador secundário, em certas circunstâncias este passa a ser o principal polinizador destas plantas. *B. morio* foi a única espécie

observada em todos os horários em que havia abelhas nas flores. Estas abelhas sempre voavam ao redor da planta visitando flores em inflorescências mais baixas. Frequentemente as abelhas andavam sobre o estandarte e quilha entre flores vizinhas e algumas vezes foram observadas pousando nos galhos da planta entre dois períodos de visita para se limparem. Estas foram sempre observadas como primeiros visitantes, nos horários entre 06h15min e 09h, quando visitavam um variado número de flores, entre duas e onze, porém com uma média de cerca de quatro flores.

Mesmo nos dias chuvosos e durante a chuva estas abelhas foram observadas visitando flores. Nessas ocasiões, paravam mais constantemente nos galhos para se limparem. Quando observadas após as 11h, a média de flores visitadas aumenta para 15 flores por abelha. Esse comportamento é o oposto do observado para os outros visitantes que diminuem o número de visitas quando a quantidade de néctar disponível é mais baixa. A única exceção a este aumento no número de visitas em um horário tardio foi em um dia com chuva em que o número de visita às flores foi baixo, desta forma o néctar continuou disponível até mais tarde. O tempo médio em cada visita foi de 12 segundos, o maior tempo gasto entre as espécies observadas. Como esta foi a espécie com mais indivíduos simultâneos na planta, foi observado o tempo que uma flor anteriormente visitada recebia nova visita e em média o tempo entre visitas na mesma flor foi de 17 minutos. *B. morio* foi a única espécie observada visitando flores com mais de um dia, e este comportamento só foi observado durante o forrageio mais tardio e apenas raramente. Foi observado que as abelhas não visitaram flores logo após estas terem recebido uma visita de outra abelha, da mesma espécie ou não.

### **c) Comportamento dos visitantes na flor**

*Xylocopa spp.*

As espécies de *Xylocopa* pousam sobre a margem esquerda do estandarte e, apoiada neste e na quilha, caminham até o cálice e perfis da flor (figura 3J). A abelha então se prende com as garras tarsais no perfilo e margem do estandarte e dobra o metassoma para baixo enquanto insere o ápice da maxila na parte superior do perfilo esquerdo. As garras tarsais servem de apoio e para que a abelha consiga se impulsionar na direção do corte. O curvamento do metassoma provavelmente serve ao mesmo propósito, estabilizando a abelha e proporcionando um maior impulso para ajudar esta a cortar o espesso perfilo que protege o cálice bem mais fino. Posicionada desta forma, a abelha corta o perfilo, cálice e a parte basal do androceu (figura 4H), próximo à câmara de néctar, de onde pode finalmente remover o líquido. Além do corte feito pelas partes bucais, a força com que a abelha se segura ao estandarte faz com que esta o danifique (figura 4G). Esse dano, no entanto, não prejudica o funcionamento da flor, uma vez que a margem esquerda do estandarte não tem muita função no mecanismo de polinização da flor. Apesar de a abelha possuir um tamanho compatível com a flor, exceto pela largura ser um pouco maior que a do lábio superior, o fato da câmara de néctar estar voltada para frente (paralela ao estandarte) e a abelha incluir-se no grupo funcionalmente hipognata impede que estas visitem de forma legítima a flor e consigam obter néctar desta maneira. Este comportamento caracteriza as espécies de *Xylocopa* como pilhadores rouba-néctar na flor de *C. fairchildiana*.

#### *Euglossa* spp.

Apenas o comportamento de *Euglossa* sp. foi observado mais detalhadamente visto a raridade com que *E. stellfeldi* ocorreu visitando flores de *C. fairchildiana*. Quando as abelhas pousam na flor, esticam as partes bucais para frente e caminham seguindo o guia de néctar. Enquanto as partes bucais entram no pequeno espaço entre as garras das alas e quilha até a câmara de néctar, as abelhas ficam na mesma posição lateral que os polinizadores, sob a margem espessada da ala direita, no entanto estas não a levantam. Por conseguirem direcionar as partes bucais e a cabeça muito para frente,

nesta posição as abelhas conseguem obter o néctar, mas não ativam o mecanismo da flor de modo a expor o estilete e a escova com pólen. Apesar do comportamento diferente e de entrarem na flor de maneira semelhante aos polinizadores, as espécies de *Euglossa* também foram incluídos na categoria de pilhadores de néctar de *C. fairchildiana*. Como, diferente das espécies de *Xylocopa*, estas abelhas conseguem obter o néctar sem destruírem ou causarem dano a nenhuma parte da flor, estas foram incluídas no grupo dos pilhadores furta-néctar.

*Epicharis* spp., *Centris* spp. e *Eufriesea mussitans*

Logo que pousam na flor, estas colocam a cabeça e partes bucais para frente, abaixam o mesossoma e arrastam-se, com a parte ventral do corpo próximo ao lábio inferior, seguindo o guia de néctar em direção ao fundo da flor. Devido ao estreitamento do estandarte, as pernas anteriores ficam dobradas e as anteriores ficam esticadas e são usadas como alavancas para impulsionar o corpo da abelha para cima, de modo que o dorso da abelha erga a ala direita (3F e 3I). Esse movimento de alavanca ocorre depois de inserirem as partes bucais no canal de alinhamento e serve para impulsionar a abelha tanto para frente como para cima. A força com que a abelha se impulsiona para frente e se arrasta para dentro da flor, com as garras tarsais cria marcas no estandarte que coincidem com a posição das pernas. Do lado esquerdo do visitante, a perna dianteira posiciona-se após a parte distal da quilha enquanto as outras ficam antes desta. Desta maneira, a quilha fica posicionada lateralmente ao visitante, entre o primeiro e segundo par de pernas. Para sair da flor, as abelhas novamente se abaixam e saem caminhando para trás.

*Bombus morio*

Quando visitam a flor de maneira legítima, *B. morio* apresenta um comportamento semelhante ao de *Epicharis* spp., *Centris* spp. e *Eufriesea mussitans*. A diferença é que, após sair da flor, frequentemente *B. morio* limpa com as pernas medianas o dorso do mesossoma, um movimento com cada perna, e as antenas e olhos com as pernas dianteiras. Antes de voarem para a outra flor, as abelhas caminham sobre as alas e algumas vezes caminham deste modo até a flor vizinha da inflorescência. As abelhas operárias, de tamanho reduzido, entram na flor de maneira um pouco inclinada de forma que todas as pernas ultrapassam a quilha e esta se posiciona ventralmente no corpo da abelha (figura 7A). Nesse caso a abelha usa apenas a perna direita como alavanca e não possui força suficiente para ativar de forma efetiva o mecanismo da flor e apenas o topo da escova é exposto. As abelhas menores voavam para outra flor sem subirem pelas alas. Principalmente as abelhas maiores foram observadas algumas vezes tentando rotas alternativas para obter o néctar. As abelhas pousaram sobre as alas ou lateralmente sobre a margem direita do estandarte e tentavam inserir as partes bucais entre a ala e a quilha. Algumas vezes tentavam afastar a ala direita e inserir as partes bucais por baixo desta, sem sucesso. Pelo grande número de visitas às flores e por esta abelha forragear mesmo em períodos onde não são observados outros visitantes (dias e períodos chuvosos e período com menos flores) esta abelha possui importante papel como polinizador de *C. fairchildiana*. No entanto como nem todas as visitas são legítimas (abelhas menores não funcionariam como polinizadores) e devido à grande demora nas flores e em uma mesma planta, a eficiência como polinizador é reduzida.

#### **d) Mecanismo de polinização**

Quando os visitantes pousam no estandarte se deparam com um guia de néctar simétrico. No entanto, a flor é assimétrica e apenas a ala direita permite passagem para a câmara de néctar enquanto a margem espessada da ala esquerda impede qualquer passagem por aquele lado. Como o espaço no interior da câmara de polinização é curto

as abelhas já entram com a cabeça e partes bucais para frente e entram até o início do canal de alinhamento, na região onde há o estreitamento do estandarte. Nessa posição a margem espessada da ala direita fica sobre o dorso do visitante, a quilha à esquerda, entre a primeira perna e a perna mediana e, dentro do canal de alinhamento, as partes bucais da abelha posicionam-se sob a torção da garra da ala direita. Quando a abelha impulsiona com as pernas traseiras o corpo para cima, a fim de entrar na flor e vencer a barreira à câmara de néctar constituída pelas garras das alas, ela empurra simultaneamente a margem espessada da ala direita com o dorso do mesossoma e a região torcida da garra da ala direita para cima. Como a torção de garra da ala direita passa sob a torção da garra da ala esquerda, essa também é empurrada pra cima, liberando a passagem das partes bucais do visitante para a câmara de néctar. Como a ala e a quilha são fundidas, o soerguimento da ala direita faz com que a pétala direita da quilha também seja erguida. Como esta está presa a outra quilha, ao invés deste movimento ser ascendente, como em *Canavalia*, a quilha torce lateralmente. A ala esquerda movimenta-se pouco em relação à ala direita, mas também é impulsionada na região da torção da garra da ala. O movimento da ala direita somado à pequena torção da ala esquerda move a quilha para trás, o que resulta na exposição da escova de estilete e eventualmente algumas das anteras maiores. O pólen é então depositado na pleura, entre a perna dianteira esquerda e a perna mediana. O movimento da quilha é acompanhado pelo dobramento das garras das pétalas da quilha. Quando o visitante abandona a flor, todas as estruturas retornam a posição inicial.

#### 4.3.1 *Centrosema pascuorum*:

##### a) Horários de visitas

Foram observadas as seguintes espécies de abelha visitando as flores de *C. pascuorum*: *Bombus morio* (figuras 3K e 3L (Apini-Bombina); *Euglossa anodorhynchi*

(figura 3O) (Apini-Euglossina); *Xylocopa frontalis* (figura 3M) e *Xylocopa suspecta* (Xylocopini); *Epicharis fasciata* (figura 3N) (Centridini) e *Thygater armandoi* (Eucerini). As espécies mais frequentes foram *X. frontalis* e *B. morio*, com as demais espécies ocorrendo esporadicamente. As primeiras visitas iniciavam depois que o estandarte estava bem aberto, entre 8h e 8h30min e as primeiras abelhas observadas foram *B. morio* seguidas de *X. frontalis*. As visitas permanecem até cerca de 16h30min quando são observados apenas indivíduos de *B. morio* e as flores do dia aparecem com as bordas do estandarte um pouco murchas.

Foram observados dois picos de visitação com características distintas, o primeiro foi entre 9h30min e 11h onde foram observadas as espécies de *Xylocopa*, *B. morio* e *E. fasciata* e o segundo foi entre 14h30 e 16h30min, quando apenas indivíduos de *B. morio* e *E. fasciata* visitaram as flores. *Euglossa anodorhynchi* foi vista apenas duas vezes em dois dias diferentes nas flores, no período compreendido entre estes horários.

## **b) Padrão de forrageamento**

Todas as abelhas observadas visitaram prioritariamente as flores do dia, com exceção de *B. morio*. Visualmente as flores de dois dias se diferenciam das flores do dia pelas bordas murchas e a cor levemente mais clara. Apesar das diferenças sutis, as abelhas parecem distinguir entre estas. Mesmo *B. morio* que visitou grande parte das flores com mais de um dia, durante os primeiros horários de visitas mostraram constância nas flores que abriram no dia.

O padrão de forrageamento e a constância com que os visitantes foram observados foram mais determinantes na categorização dos visitantes quanto à função para a flor que o comportamento destes durante as visitas. Por ser a flor menor, quando comparada às outras, mesmo abelhas menores podem atuar como polinizadores em *C. pascuorum*, diferente do que é observado em *C. brasiliensis* e *C. fairchildiana*. No

entanto, de acordo com a baixa frequência e o longo período na flor durante uma visita, as abelhas foram classificadas da seguinte maneira: *Xylocopa frontalis*, polinizador primário; *Epicharis fasciata*, *Xylocopa suspecta*, *Bombus morio*, *Thygater armandoi* e *Euglossa anodorhynchi* como polinizadores secundários.

*Epicharis fasciata* e *Thygater armandoi* foram observadas poucas vezes nas flores. Ambas foram observadas principalmente pela manhã e apenas *E. fasciata* foi observada à tarde e apenas em um dia que chovera pela manhã. As duas espécies visitaram poucas flores durante os períodos de forrageio. Enquanto *E. fasciata* foi observada em flores mais altas, *T. armandoi* apresentou preferência por flores mais próximas ao chão. *E. fasciata* visitava um número pequeno de flores mais próximas, duas ou três, com visitas prolongadas entre 13 e 15 segundos e logo abandonava a mancha. *T. armandoi* foi observado várias vezes voando entre as flores mais próximas do chão, mas poucas vezes foi observada pousando nas flores.

*Euglossa anodorhynchi* foi observada apenas duas vezes nas flores e apenas em períodos bem ensolarados. Estas foram observadas visitando apenas uma flor e as visitas demoraram mais de 1 minuto.

*Xylocopa suspecta* foi observada apenas uma vez e seu comportamento de forrageio não pode ser observado de maneira efetiva. *Xylocopa frontalis* foi a segunda espécie mais frequente em *C. pascuorum*, apenas atrás de *B. morio*, e seguiu o padrão semelhante que nas outras espécies de planta. Os indivíduos sempre voaram entre as flores e faziam visitas rápidas entre quatro e seis segundos. O voo na mancha seguia normalmente um único sentido e depois de visitar algumas flores a flor abandonava a mancha. Sempre apresentou preferências por flores mais altas e foi a única espécie possível de se observar em flores de *Centrosema pascuorum* quando a planta crescia sobre árvores maiores. As espécies de *Xylocopa* foram observadas apenas em dias mais quentes, com mais incidência de luz solar.

Apesar da produção de néctar aparentemente ser contínua, a maioria das visitas ocorreram durante a manhã. A quantidade de néctar nas flores é bem pequena e as flores de dois dias não apresentam néctar. É possível que essa condição de



disponibilidade de néctar e as sutis diferenças na forma das flores sejam o suficiente para que as abelhas aprendam quais flores deveriam visitar para obter mais recurso.

*Bombus morio*, foi o visitante mais freqüente em flores de *C. pascuorum*, permanecendo nas flores ao longo de todo o período de visitação. Esta foi a espécie que passava mais tempo na mancha e que sempre foi observada como primeiro visitante, voando em diferentes sentidos e visitando uma grande quantidade de flores. Também foi a única espécie que caminhou entre duas visitas consecutivas e visitou flores em diferentes alturas, porém nunca aquelas que cresciam por cima das árvores, as quais eram visitadas exclusivamente por *Xylocopa* spp. *B. morio* observada forrageando inclusive em dias mais frios e nublados, assumindo importante papel como polinizador na ausência de visitas de *Xylocopa*. Devido ao grande número de visitas, esta foi a única espécie cuja classificação em polinizador secundário deve-se principalmente ao comportamento na flor, em detrimento do comportamento de forrageio. *B. morio* também foi o principal visitante nas flores com mais de um dia, apesar da preferência inicial nas primeiras horas da manhã por flores do dia. O tempo de uma visita variou bastante entre quatro e 26 segundos, as abelhas menores geralmente demoraram menos durante a visita.

### **c) Comportamento dos visitantes na flor**

*Xylocopa* spp.

O comportamento de visita na flor está representado na figura 3M. As espécies de *Xylocopa* pousam sobre o estandarte e caminham posicionando-se com a cabeça em frente à quilha. Durante esse posicionamento as pernas posteriores ficam esticadas lateralmente e voltadas para frente enquanto os dois pares de pernas posteriores ficam dobrados, próximo ao corpo. Utilizando-se das pernas posteriores e das partes bucais a

abelha ergue a entrada da quilha para entrar na flor. As pernas dianteiras seguem dobradas junto ao corpo e são movidas ao longo das trincheiras formadas pela dobra do estandarte na parte mediana do limbo. As partes bucais são inclinadas ligeiramente pra frente de modo a se colocarem sob a quilha, na entrada da flor. O metassoma fica inclinado para baixo, do mesmo modo que durante as visitas em *C. brasiliensis* e dobra a parte distal do limbo do estandarte para baixo. Depois desse alinhamento inicial a abelha começa o processo de entrada na flor.

Enquanto as pernas dianteiras galgam o caminho ao longo da trincheira do estandarte, a abelha usa as garras para se fixar e inserir as partes bucais cada vez mais fundo, até alcançar a entrada do canal de alinhamento. À medida que entram na flor, as pernas posteriores, que estão abertas, fixam-se e movem-se como remos, auxiliando o movimento para frente. Ao mesmo tempo, a abelha faz movimentos estendendo e encolhendo os segmentos do abdômen enquanto este se desloca para cima do estandarte e para frente, sempre na posição arqueada. Quando a abelha consegue fixação e estabilidade suficiente com as pernas anteriores e o abdômen, as pernas posteriores são movidas mais para frente, mais uma vez como remos e os movimentos de entrada na flor continuam.

Quando finalmente as partes bucais adentram o canal de alinhamento, a abelha volta as partes bucais para baixo e se empurra para frente usando as pernas posteriores e, principalmente, o abdômen arqueado, que é totalmente distendido durante a retirada do néctar. As pernas posteriores ficam distendidas e localizadas lateralmente, apenas dando estabilidade para a posição. Assim a abelha permanece numa posição semelhante aquela observada em *C. brasiliensis*. Durante a saída na flor os primeiros movimentos consistem em encolhimento do abdômen, com os segmentos destes sendo telescopados, e dobra das pernas posteriores. A posição arqueada do abdômen é mantida e as pernas posteriores seguem o encolhimento do abdômen empurrando a abelha pra trás, de modo que o metassoma se dobra ainda mais sobre si. Dessa forma a abelha é empurrada para trás e finalmente pode abandonar a flor. Todo o processo dura cerca de 4 segundos sendo o alinhamento e entrada na flor a operação mais demorada.

Em todas as visitas o mecanismo da flor foi ativado, principalmente pelo posicionamento das partes bucais, funcionalmente hipognatas, o que força uma necessidade maior de que a abelha entre mais fundo na flor, para obter o néctar. O pólen é depositado espalhado no dorso do visitante, no vértice da cabeça, pronoto, mesoscuto e escutelo e a principal forma de deposição de pólen pela flor é o mecanismo de explosão (explicado na secção “mecanismo de polinização”), uma vez que apenas o estigma toca o dorso do visitante. Devido ao encaixe com a flor e todas as visitas resultarem na ativação do mecanismo, da grande quantidade de pólen observado sobre as abelhas e da grande quantidade de flores visitadas as espécies de *Xylocopa* foram consideradas polinizadores. No entanto devido à baixa frequência com que *X. suspecta* foi encontrada durante as observações, optou-se por segregar as espécies de *Xylocopa* nos dois grupos de polinizadores: *X. frontalis* como polinizador primário e *X. suspecta* como polinizador secundário. É possível que o tamanho reduzido de *X. suspecta* em relação ao de *X. frontalis* exija da primeira um esforço muito maior para obter o recurso da flor de maneira efetiva, tornando a flor menos chamativa para esta espécie, o que se reflete nas poucas visitas à *C. pascuorum* realizadas por *X. suspecta*.

#### *Euglossa anodorhynchi*

O comportamento desta abelha difere bastante daquele observado nas espécies de *Xylocopa* e essas diferenças têm grande relação com as categorias funcionais em que foram incluídas (Ver figura 3O). Depois de pousar na flor a abelha coloca as partes bucais em posição prognata e entra sob a quilha. As pernas movem-se dentro da trincheira do estandarte enquanto a abelha se move abaixada sob a quilha. Como as partes bucais são bem mais longas que o necessário para alcançar o néctar, a abelha precisa se adaptar ao espaço existente para alongar esta em posição perpendicular. Para tanto a abelha alonga as pernas de modo que a cabeça fica erguida e bem mais elevada que o restante do corpo. Dessa forma a abelha empurra

com a cabeça a segunda dobra da margem superior da quilha e a cabeça fica ladeada pelas margens espessadas das alas. Nesta posição as margens espessadas das alas posicionam-se sob as genas, por traz da cabeça, prendendo a abelha.

Devido à grande força necessária para chegar ao néctar por uma abelha tão pequena, esta faz repetidos movimentos abaixando-se e voltando a erguer, provavelmente devido ao peso da quilha e alas. Durante a saída da flor, estas se abaixam novamente, enquanto caminham simultaneamente para trás. Durante esse movimento elas usam as pernas medianas para empurrar a quilha e soltarem mais facilmente a cabeça das alas. Logo que saem da flor as abelhas se limpam, enquanto pousadas no estandarte, usando as duas pernas medianas simultaneamente em um movimento em direção a cabeça e em seguida usam as pernas dianteiras para limparem olhos e antenas.

As visitas de *E. anodorhynchi* duravam mais de um minuto e resultavam na ativação parcial do mecanismo da flor e deposição de pólen no dorso, escutelo, mesoscuto e mesmo sobre as asas fechadas. O pólen era depositado durante os curtos movimentos de saída e retorno da posição erguida, quando a abelha voltava um pouco para trás e as anteras permaneciam um pouco expostas fora da quilha. Durante a posição erguida as anteras e estigma se posicionavam sobre as asas. Como estas ativam o mecanismo e, como pólen é depositado sobre a abelha, estas podem atuar como polinizadores, principalmente se as flores são autocompatíveis. Vale, no entanto, ressaltar que as abelhas demoram-se muito em uma única visita e que não visitam muitas flores, sempre observadas abandonando a mancha depois de uma única visita. Além disso, o pólen depositado na asa provavelmente se perde durante o vôo e outra grande parte é perdida durante a autolimpeza.

Por ativar o mecanismo da flor durante a visita às flores e como espécies de *Euglossa* já foram descritas como polinizadores importantes em outras espécies de *Centrosema* (Borges, 2006, Franco, 1995), aqui se optou, também, por incluir a espécie como polinizador. No entanto as poucas visitas e demais características do comportamento restringem muito sua efetividade, e por isso foi considerado um polinizador secundário. A inclusão desta espécie como pilhador furta-néctar

superestimaria a importância destas visitas, pois como as abelhas visitam apenas uma flor e a produção de néctar é contínua, esse comportamento não interferiria no funcionamento da flor.

### *Epicharis fasciata*

*E. fasciata* apresenta o comportamento semelhante ao de *E. anodorhynchi* com algumas modificações devido ao tamanho maior (figura 3N). Essa abelha também entra na flor com as partes bucais voltadas para frente e com as pernas anteriores na trincheira do estandarte. Diferente de *E. anodorhynchi*, as pernas posteriores ficam abertas lateralmente e servem inicialmente para empurrarem a abelha para frente, sob a quilha. Depois de entrarem com as partes bucais e os dois pares de pernas anteriores sob a quilha, as pernas posteriores sobem mais no estandarte, impulsionando a abelha para frente enquanto as pernas posteriores são levadas mais próximas ao canal de alinhamento. *E. fasciata* também mantém uma posição erguida com a cabeça mais alta como *E. anodorhynchi*, porém consegue muito mais estabilidade e a cabeça não é prendida pelas margens espessadas das alas. Durante a visita, as anteras e estigma ficam sobre o primeiro segmento do metassoma, bem próximos às asas. Quando a abelha sai da flor, primeiro ela se abaixa e ergue o metassoma, em uma posição invertida àquela enquanto toma o néctar, e então caminha para trás. A principal deposição de pólen ocorre enquanto a abelha sai da flor e o mecanismo ainda está ativado parcialmente, como em *E. anodorhynchi*. Apesar do encaixe com o mecanismo da flor e sempre ativar o mecanismo durante as visitas, sua baixa frequência de visitas à *C. pascuorum* levou esta a ser classificada como polinizador secundário.

### *Thygater armandoi*

Apesar de terem sido vistos alguns indivíduos de *T. armandoi* voando entre as flores, estes foram observados poucas vezes pousados e visitando-as. Apenas uma vez foi observada sob a quilha, com as partes bucais voltadas para frente, mas sem erguer o corpo, como fazem *E. anodorhynchi* e *E. fasciata* e dessa forma não ativaram o mecanismo da flor. Foi a única abelha observada tentando inserir as partes bucais lateralmente entre o estandarte e a quilha. Apesar de não ter sido vista ativando o mecanismo da flor, as abelhas capturadas possuíam pólen no propódeo e escutelo, semelhante ao de *C. pascuorum*. Além disso, o tamanho destas abelhas é muito semelhante ao de *E. anodorhynchi*, por tanto se optou por classificá-la também como polinizador secundário.

### *Bombus morio*

Quando visitam a flor de maneira legítima, *B. morio* apresenta um comportamento semelhante ao de *E. fasciata* (figura 3L). A diferença é que a abelha ergue o corpo sem que haja uma inclinação muito grande entre a cabeça e o metassoma, algumas vezes nem chegam a se erguer durante a visita. Esta característica de não se erguer e a morfologia da abelha, cuja cabeça é bem mais baixa que o mesoscuto, criam um desencaixe com a morfologia da flor em algumas visitas. Por causa das partes bucais prognatas e a própria cabeça ser voltada para frente, esta abelha consegue alcançar o néctar sem erguer-se para a posição perpendicular, como fazem *E. fasciata* e *E. anodorhynchi*. Dessa forma o mesossoma fica sob a abertura da quilha e a cabeça sob a segunda dobra da margem superior da quilha enquanto a língua entra pelo canal de alinhamento e alcança o néctar, principalmente em flores logo após a antese ou aquelas que não foram visitadas, ou seja, com mais néctar acumulado. Por vezes as abelhas foram observadas na mesma posição para entrar sob a quilha e depois girando o corpo lateralmente, de modo a todas as pernas ficarem apenas de um lado do estandarte. Das duas maneiras, a cabeça interage pouco com a segunda dobra da margem superior da quilha e o mecanismo da flor não é ativado. O

mecanismo só é ativado quando essas abelhas entram de frente sob a quilha e empurram a quilha até deixarem a cabeça e partes bucais mais perpendiculares em relação ao estandarte. Durante essas visitas legítimas o estigma com pólen e algumas anteras tocam o escutelo e mesoscuto do visitante, podendo o estigma depositar pólen até no pronoto, durante a saída da abelha.

O tempo de visita variou bastante, quanto mais tempo mais movimentos e posições diferentes as abelhas faziam na flor. Tal comportamento então pode ser associado à presença de diferentes quantidades de néctar, mas também a um período de aprendizado por parte das abelhas da maneira mais eficiente de obter o recurso. Normalmente as abelhas menores de *B. morio* levaram menos tempo durante as visitas quando comparadas aos machos e fêmeas maiores.

*B. morio* foi a única abelha observada que caminhava entre flores vizinhas, mesmo de inflorescências diferentes e foi observada limpando-se após a visita. Mesmo antes de voar até outra flor a abelha, após sair de baixo da quilha caminhava em uma das margens do estandarte antes de levantar vôo.

#### **d) Mecanismo de polinização**

Enquanto os visitantes pousam no estandarte e começam a entrar na flor, o corpo das abelhas é inicialmente alinhado pelas margens espessadas das alas que ficam posicionadas sobre o mesossoma. À medida que os visitantes entram na flor, o dorso do visitante move-se encostado com as dobras da margem superior da quilha e as pernas dianteiras ficam presas às trincheiras do estandarte. Mesmo com as pernas nas trincheiras, o corpo das abelhas menores fica em uma posição mais elevada devido à dobra no centro do estandarte, entre as trincheiras, deixando o dorso mais próximo da quilha. Enquanto entram na flor, a altura da câmara de polinização diminui devido à segunda dobra da margem superior da quilha, a qual baixa até a entrada do canal de alinhamento, fechando a passagem para o néctar. Os visitantes então podem entrar na

flor apenas empurrando esta estrutura, e de fato o fazem com a cabeça. Após se posicionarem e estarem com as partes bucais na entrada do canal de alinhamento eles precisam inserir as partes bucais perpendicularmente, mesmo aqueles com partes bucais funcionalmente prognatas. Para tanto as abelhas devem empurrar ainda mais a segunda dobra da quilha para frente. Nesse momento a quilha é levada para trás, porém, diferente das outras flores em que o movimento inteiro da quilha e alas acontecia de uma maneira conjunta, em *C. pascuorum* a quilha dobra sobre si mesma para cima, entre a primeira e segunda dobra da margem superior. Dessa forma o comprimento da quilha é reduzido e as anteras e estigmas alcançam a abertura na parte distal destas pétalas.

Dentro da quilha, quando os visitantes iniciam a entrada da flor e começam a erguer a quilha, o estigma achatado toca a margem superior desta, onde alguns grãos de pólen estão espalhados. Enquanto a quilha dobra, a escova do estigma vai escovando o pólen em direção a abertura da quilha. Algumas anteras também tocam a margem dobrada da quilha, derrubando mais pólen antes da passagem do estigma, que se posiciona abaixo das anteras e fica dobrado para baixo. Todo o tubo estaminal é levemente erguido pra cima, criando uma força potencial elástica, diferente das demais flores onde esta estrutura permanecia imóvel. Quando o visitante chega ao néctar, e dobra a quilha sem encostar-se à abertura, o estigma sai liberando a força elástica acumulada e espirrando o pólen escovado para fora, esse é o caso das visitas de *Xylocopa*.

Durante as visitas das outras abelhas, o processo de dobra da quilha ocorre de forma paulatina, a força elástica é liberada aos poucos e as anteras e estigma não são expostas de uma vez. Nas visitas de *B. morio*, por exemplo, as estruturas reprodutivas da flor escorregam sobre o dorso do visitante e o estigma segue o movimento de escovação que iniciara no interior da quilha, mas agora sobre o dorso do visitante. Seguindo o mesmo movimento, as anteras à frente do estigma também podem chegar a tocar o dorso do visitante. Enquanto os visitantes se abaixam e deixam de empurrar a quilha, simultaneamente caminhando para trás, as alas posicionadas auxiliam o retorno da quilha a posição inicial. Enquanto isso, o estilete que até agora



permanecia com o dorso da parte achatada sobre o visitante, muda a posição e volta raspando no corpo da abelha, agora com a superfície ventral. Quando finalmente o visitante abandona a flor, todas as estruturas voltam a posição inicial.

#### 4.3.4 Flores com quilha

##### **a) Horários de visitas**

As flores nos diversos trabalhos foram visitadas em diversos horários ao longo do dia, mas sempre com o maior número de visitas pela manhã. Tal como nas flores com quilha invertida. Em *Lathyrus* sp. foi observada a influência do clima e pluviosidade na quantidade e horários de visitação. Quando o clima era mais frio ou chuvoso as visitas cessavam ou apenas *B. morio* foi observada nas flores. Apenas em dias mais quentes foi observado *Xylocopa augustii* nas flores de *Lathyrus* sp.

Westerkamp (1993) também observou que a chuva interfere na coleta de pólen por espécies de *Megachile* em flores de *Lathyrus latifolius*. A coleta de pólen nesses casos é menos efetiva e demorada visto que as abelhas não estão acostumadas com o pólen mais viscoso (Westerkamp, 1993).

##### **b) Comportamento dos visitantes na flor**

As abelhas observadas nos diversos trabalhos podem ser encaixadas dentro dos grupos funcionais observados nas flores com quilha invertidas e seu relacionamento com a flor está diretamente ligado a estas características funcionais. Diferente das flores com quilha invertidas em que os polinizadores primários são

normalmente abelhas grandes, as flores com quilha invertida apresentam como polinizadores primários as abelhas médias e pequenas.

Os comportamentos aqui descritos serão baseados nas descrições feitas nos trabalhos, nas figuras apresentadas e relacionando com a estrutura morfológica das flores.

### *Xylocopa* spp.

Foram observadas as espécies *X. brasilianorum* em *Crotalaria vitellina* (Brito et al., 2010); *X. macrops*, *X. ordinaria* e *X. eximia* em *Crotalaria micans* (Etcheverry et al., 2003); *X. violacea* (Westerkamp, 1993) e *X. augustii* nas flores de *Lathyrus* spp e; *X. frontalis*, *X. brasilianorum* e *X. suspecta* em flores de *Dioclea violaceae* e *D. rufescens* (Franco, 1995).

O comportamento das espécies de *Xylocopa* nas diferentes flores com quilha é semelhante (figura 6B e 6C). Durante as visitas as abelhas pousam sobre as alas e peças da quilha e em seguida inserem a cabeça na base do estandarte, deslocando-o e tornando acessível a entrada pela qual é inserida a língua para alcançar o néctar. Durante o pouso o abdômen é dobrado para baixo como em todas as outras visitas de *Xylocopa* spp. como geralmente as flores com quilha são menores que as flores com quilha invertidas e *Xylocopa* spp. possuem as partes bucais funcionalmente hipognatas a abelha precisa puxar-se em direção a entrada do canal de alinhamento e baixar o corpo em relação à entrada para o néctar e o abdômen dobrado não possui função de estabilização da abelha ou como alavanca para baixar as pétalas, pois em algumas flores nem mesmo toca nas alas ou quilha, ficando além da parte distal destas estruturas.

Enquanto pousam as abelhas agarram-se lateralmente nas alas com as garras, onde podem se prender às estruturas existentes como as dobras destas pétalas em

*Lathyrus* spp. ou nas lamelas lunadas em *Crotalaria* spp. Com as partes bucais sob o estandarte e as garras presas às alas a abelha se puxa em direção à câmara de néctar. A força aplicada por estas abelhas durante a visita geralmente causa uma série de arranhões na ala, os quais inicialmente não prejudicam o funcionamento da flor.

A região de deposição do pólen no corpo das abelhas difere em cada flor. Em *Crotalaria vitellina* ocorre na região ventral do tórax; em *Crotalaria micans* na lateral do primeiro segmento abdominal, no lado direito ou esquerdo; em *Lathyrus* spp. na parte dorsal do tórax, mesoscuto, pronoto e vértice da cabeça e; região ventral da cabeça, próximo a mandíbula nas espécies de *Dioclea*.

Apesar das visitas onde *Xylocopa* atua como polinizador das flores com quilha estudadas, muitas outras características observadas diminuem sua efetividade. Durante as visitas em *Dioclea* spp. as espécies de *Xylocopa* podem causar a perda das alas das flores e deixarem os órgãos reprodutivos destas expostos, situação em que esta flor perde a função (Franco, 1995). Em *Crotalaria* a escova do estigma pode passar por qualquer um dos lados do abdômen do visitante e apenas toca a região de deposição do pólen *en passant*, por poucos segundos, reduzindo a efetividade da transferência deste para o estigma (Etcheverry et al., 2003) e nas visitas em *Lathyrus* spp. muitas vezes as abelhas pousam de maneira centralizada nas alas, de forma que o estigma não consegue passar por entre as pernas do visitante. Assim, este toca apenas com a parte distal a parte ventral do visitante (figura 6B), o que não resulta na transferência de pólen (Westerkamp, 1993, Amaral-Neto, observação pessoal). Além disso, as fêmeas de *X. violacea* também foram observadas por Westerkamp (1993) abrindo botões em avançado estágio de desenvolvimento e coletando pólen, comportamento classificado como pilhador rouba-pólen [*Pólen robber* (Inouye, 1980b)]. Em todos os casos, o deslocamento de deposição de pólen é um efeito do tamanho e força da abelha.

Estes efeitos antagonistas do comportamento das espécies de *Xylocopa* nas flores com quilha levaram estas a serem classificadas no presente trabalho como polinizadores secundários. Classificação também adotada por Etcheverry e colaboradores (1993) para as espécies de *Xylocopa* em *Crotalaria micans* e por Franco (1995) para as espécies de *Xylocopa* em *Dioclea*. O último autor, no entanto, classifica

*X. frontalis* como polinizador primário em *D. rufescens*, perante o exposto anteriormente, a classificação como polinizador secundário parece mais condizente.

*Centris spp.*

Foram observadas espécies de *Centris labrosa* em *Crotalaria vitellina* e *C. mocsary*, *C. bicolor*, *C. discolor*, *C. fuscata*, *C. labrata*, *C. scopipes* e *C. collaris* em *Dioclea* spp. De acordo com Franco (1995) as espécies de *Centris* visitam as espécies de *Dioclea* de maneira semelhante. As abelhas, ao se aproximarem das flores, pousam sobre as alas, utilizando as pernas medianas e posteriores para se fixar às pétalas. Ao mesmo tempo as abelhas introduzem a mandíbula na região calosa do estandarte deslocando-o para trás. Finalmente a abelha empurra as alas para baixo e em seguida introduzem a língua no canal de alinhamento para alcançar o néctar (Franco, 1995). A deposição do pólen ocorre na tíbia da perna posterior direita (Franco, 1995). Um fato interessante no comportamento de visita de *C. mocsary*, considerado polinizador primário de *Dioclea*, que não foi atentado pela autora é que durante a visita a abelha fica perpendicular ao cálice da flor (e ao canal de alinhamento) e paralelo ao estandarte e à parte distal da quilha.

É possível que nessa posição apenas as alas sejam manipuladas, pois a abelha não se apóia na quilha e esta estrutura apenas baixe por causa dos encaixes de botões de pressão na base das alas e na quilha. É também por causa dessa posição que o estilete com a escova de pêlos passa não pelo corpo do visitante, mas sim pela perna posterior pela qual a abelha se segura mais próximo da entrada do canal de alinhamento e fica em posição perpendicular ao estilete, enquanto todo o resto do corpo está paralelo. Outro comportamento que valeria ser observado é se as abelhas se limpam após estas visitas, visto que o pólen é depositado em uma área tão acessível e que é freqüentemente manipulada pelas abelhas.

Devido ao grande número de visitas à flor e por ativar o mecanismo, *C. mocsary* e *C. collaris* foram considerados polinizadores primários por Franco (1995) nas espécies de *Dioclea*. As outras espécies de *Centris*, apesar de se comportarem de maneira semelhante foram classificadas como polinizadores secundários devido à frequência mais baixa. Para o presente trabalho a classificação adotada será a mesma que utilizada por Franco (1995), porém mais observações são necessárias para definir a real função das espécies de *Centris* nas flores de *Dioclea*, pois é provável que a flor funcione de maneira mais apropriada com abelhas de tamanho menor, mesmo entre os *Centris* do que com abelhas de tamanho avantajado, como é o caso de *C. mocsary* e as espécies de *Xylocopa*.

#### *Megachile spp.*

Foram observadas algumas espécies de *M. ericetorum*, *M. willughbiella* e *M. circumcincta* em *Lathyrus latifolius*, e mais quatro espécies não identificadas em *Crotalaria*.

No caso de *Megachile* (*Pseudocentron*) sp. em *Crotalaria micans*, a abelha se aproxima da flor em direção à base do estandarte e usa as mandíbulas para se prender, enquanto se pressiona contra o estandarte e usa as pernas para se prender à margem superior das alas (Etcheverry et al., 2003). Dessa maneira alinhada sobre as alas, a abelha empurra as alas e quilha para baixo com as pernas posteriores. Quando o escova do estigma emerge da quilha, a abelha posiciona-se com o abdômen voltado para cima, expondo a escopa ventral e utiliza esta e as pernas posteriores para coletar pólen. Esse movimento das pernas para retirada de pólen se repete várias vezes enquanto o estigma toca a escopa ventral, quando a transferência de pólen é feita (Etcheverry et al., 2003).

Em *Lathyrus latifolius* o principal visitante observado foi *M. ericetorum* com um comportamento semelhante ao descrito para *Megachile* (*Pseudocentron*) sp. em

*Crotalaria micans*. Da mesma maneira, a abelha se prende entre as alas, ou na ala direita e insere as partes bucais abaixo do estandarte, com o movimento sendo ajudado muitas vezes com a dobra do abdômen para cima (Westerkamp, 1993). Enquanto as partes bucais entram sob o estandarte, a cabeça é voltada para frente, tornando estas abelhas incluídas no grupo de abelhas com partes bucais funcionalmente prognatas. Durante a tomada de néctar, que pode durar em média 10-15 segundos, a escova do estilete passa pelo lado direito do visitante e encosta no primeiro momento da visita e durante a saída da abelha da flor (Westerkamp, 1993). Raramente as abelhas foram vistas tentando retirar néctar de outra maneira que evitasse a transferência de pólen pelo estilete, porém foi observada limpando-se entre as visitas, mas de maneira não eficaz, deixando ainda uma grande quantidade de pólen no flanco direito (Westerkamp, 1993).

Apesar de *Lathyrus* ser uma flor de néctar, e o pólen estar escondido, *M. ericetorum* desenvolveu uma maneira de coletar o pólen nessas flores. O processo de coleta de pólen inicia próximo ao fim da tomada de néctar com a abelha dobrando o abdômen. Durante esse processo, se a abelha não for rápida o suficiente o estilete volta a se esconder no interior da quilha (Westerkamp, 1993). A abelha retida o pólen do estilete diretamente com a escopa ventral ou usando as pernas posteriores e medianas enquanto a estilete está emerso da quilha. Algumas visitas destas abelhas são apenas de coleta de pólen, sem tentativa de obter o néctar. Nestas ocasiões a abelha não insere as partes bucais sob o estandarte, apenas posiciona a cabeça sobre esta pétala para acionar o mecanismo da flor, expondo o pólen (Westerkamp, 1993).

As outras espécies de *Megachile* em *Lathyrus latifolius* foram observadas mais raramente e apenas retiravam o néctar. No caso de *M. willughbiella*, que era maior que *M. ericetorum*, algumas visitas resultavam no impedimento da emersão do estilete, de maneira semelhante às visitas de *Xylocopa* spp. (Westerkamp, 1993), sendo estas outras espécies, portanto consideradas polinizadores secundários.

Tanto em *Lathyrus latifolius* quanto em *Crotalaria micans* os *Megachile* foram considerados os polinizadores mais efetivos (primários) devido ao grande número de

visitas, a grande quantidade de pólen carregado e por sempre ativarem o mecanismo da flor.

*Apis mellifera* e *Trigona* spp.

Estas espécies foram observadas raras vezes nas flores de *Lathyrus* spp. e *Crotalaria vitellina*. As espécies de trigona sempre se constituíram em pilhadores rouba-néctar (*nectar robbers*) perfurando a base do cálice em flores de *C. vitellina* (Brito et al., 2010) e pilhadores rouba-pólen (*pollen robbers*) em *Lathyrus* sp. cortando as alas e quilhas, tanto na flor aberta quanto no botão. Foram observadas *Apis mellifera* visitando flores de Asteraceae ao lado das flores de *Lathyrus* sp., mas estas nunca visitavam a última. Westerkamp (1993) observou que apenas como pilhadores rouba-pólen secundários (*secondary pollen robbers*) estas abelha podem visitar as flores de *Lathyrus latifolius*, de outra maneira *Apis mellifera* se comporta de maneira aleatória, aparentemente tentando obter algum recurso da flor, mas sem sucesso.

*Bombus* spp.

Indivíduos de *B. morio* foram observados em *Lathyrus* sp. e *Crotalaria vitellina* e *B. pascuorum*, *B. terrestris* e mais uma espécie não identificada foram observadas em *Lathyrus latifolius*.

Apenas em *C. vitellina* foi descrito como polinizador com a deposição de pólen na região ventral do tórax (Brito et al., 2010). Em *Lathyrus* spp. as visitas de *Bombus* spp. eram geralmente ilegítimas. As abelhas pousavam na ala esquerda, na qual se seguravam com as pernas anteriores e medianas enquanto inseriam as partes bucais funcionalmente prognatas entre o estandarte e cálice. A perna posterior segurava pela

ala direita e a força feita pela abelha, a fim de se prender com as garras, deixava uma série de marcas na epiderme da pétala. A abelha utiliza-se de um pequeno espaço lateral deixado pela morfologia assimétrica da flor e, por visitar várias flores, parece de fato alcançar o néctar. Esse comportamento foi sempre observado quando abelhas maiores visitavam as flores de *Lathyrus* spp. Nas duas espécies de *Lathyrus* observadas, os indivíduos de *Bombus* que mais realizaram visitas legítimas às flores foram as abelhas menores. Apesar de ocorrerem raras vezes, indivíduos de *B. morio* e *B. pascuorum* com tamanho reduzido visitavam de maneira legítima a flor, podendo ser tocados lateralmente pelo estilete e se sujando com pólen. Como estas visitas são raras e o mais freqüente são visitas ilegítimas. As espécies de *Bombus* foram consideradas pilhadores furta-néctar das flores de *Lathyrus* spp. Como o comportamento desta espécie em *C. vitellina* não foi descrito e esta não foi observada em *Dioclea* spp., estas abelhas não foram classificadas quanto sua função nestas espécies.

### **c) Mecanismo de polinização**

O mecanismo de polinização das flores com quilha já foi descrito por Westerkamp (1997) e estas aqui estudadas seguem o mesmo funcionamento. Apenas em alguns pontos o funcionamento descrito é questionado. Enquanto os visitantes pousam nas alas já começam o alinhamento das partes bucais concomitantemente ao apresamento das pernas nas margens superiores das alas. As partes bucais são guiadas pela garra do estandarte e lateralmente pelas aurículas das alas. Logo que a abelha pousa nas alas, o peso das abelhas já causa um deslizamento lateral das alas sobre a coluna de filetes, o que separa um pouco as aurículas das alas, liberando em parte o caminho à câmara de néctar. A rígida garra e base do estandarte forçam que a abelha baixe ainda mais o corpo a fim de chegar ao néctar e tem uma função indispensável em todo o funcionamento da flor, formando o apoio pelo qual todo o corpo do visitante funciona como alavanca, baixando o complexo alas-quilha. Diferente do proposto por Westerkamp (1997) o estandarte não é de todo imóvel. A forma como



este se dobra sobre a câmara de néctar em *Dioclea violaceae* e em *Crotalaria* sp. criam uma barreira para alcançar o néctar, além das barreiras formadas pelas bases do limbo das alas e quilha. Dessa forma o néctar não pode ser alcançado se este não for ligeiramente erguido, o que força ainda mais o corpo da abelha para baixo, o que, por sua vez, faz com que alas e quilha sejam movidos também mais para baixo. Em *Lathyrus*, onde a garra do estandarte não cobre a câmara de néctar, os visitantes conseguem acessar o néctar sem erguerem o estandarte, como no caso de *B. morio*.

A quilha é empurrada para baixo principalmente pelo corpo da abelha, mas o movimento também é auxiliado pelo movimento das alas, nas regiões de botão de pressão onde as duas pétalas se unem. Com a abelha posicionada dessa maneira e com alas e quilha empurradas para baixo, as estruturas reprodutivas, que são imóveis, são emersas e tocam o visitante em diferentes posições que já foram descritas, dependendo da espécie de abelha e da flor.

Em termos gerais, as flores com quilha e as flores com quilha invertida exigem das abelhas visitantes o mesmo comportamento. Enquanto as abelhas empurram as alas e quilha para baixo com as pernas medianas e posteriores e insere as partes bucais sob o estandarte nas flores com quilha, nas flores com quilha invertida as abelhas usam os mesmos movimentos para empurrarem o estandarte para baixo, dando início à ativação do mecanismo da flor. A principal diferença é que nas flores com quilha as abelhas usam, além das pernas e das partes bucais, o próprio peso para contribuir a ativação do mecanismo da flor, mesmo que este tenha pouca influência (Westerkamp, 1993, Etcheverry et al., 2003). Nas flores com quilha invertidas outras estruturas estão envolvidas, principalmente a cabeça (*C. brasiliensis* e *C. pascuorum*) e dorso (*C. fairchildiana*).

Dessa forma, o principal limitante do funcionamento das flores ao tamanho da abelha é o próprio tamanho da flor, uma vez que as abelhas exibem os mesmos comportamentos nas visitas às flores dos dois tipos, mas as flores com quilha invertidas são geralmente maiores que as flores com quilha normais.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1 FLORES COM QUILHA

Muitas plantas em diferentes famílias apresentam o padrão de flores com quilha, característica que provavelmente surgiu independentemente em cada uma delas (Westerkamp, 1997). No entanto esta característica é ainda mais evidente na família Fabaceae onde esse formato floral define toda a subfamília Faboideae (Simpson, 2006).

O surgimento convergente das flores com quilha em vários momentos diferentes nas leguminosas quebra a idéia de que a evolução floral em Fabaceae apresenta uma tendência gradual da seleção de atributos no sentido de maximizar a economia de pólen e néctar e eliminar a utilização de vetores não especialistas em detrimento de polinizadores mais especialistas (Arroyo, 1981). Uma vez que Mimosoideae, que é um grupo mais derivado em Fabaceae, caracteriza-se por apresentar flores pouco especializadas com simetria radial e grande quantidade de anteras (Simpson, 2006, Sulaiman et al., 2003, Arroyo, 1981, Tucker, 2003) e Swartziae e Sophoreae, tribos basais em Faboideae, não apresentarem flores com quilha, pelo contrário, apresentam simetria radial, perda de algumas pétalas e grande número de estames (Tucker, 2003, Pennington et al., 2001), fica claro a tendência à reversão das flores de Fabaceae para um estado mais generalista em alguns casos. Uma característica semelhante é observada no gênero *Miconia* (Melastomataceae) onde alguns grupos dentro do gênero são mais generalistas quanto aos possíveis polinizadores graças a reversão das características das anteras de um estado mais especializado, de anteras poricidas, para um estado menos especializado, de anteras maiores e com poros maiores, permitindo a extração de pólen por visitantes incapazes de vibrar as anteras (Goldemberg et al., 2008). Estas convergências evolutivas no surgimento da morfologia floral podem ser explicadas por mudanças no modo de polinização destas flores.

No presente trabalho foram analisadas flores com quilha de três diferentes tribos de Faboideae: *Crotalaria* pertence à tribo Crotalarieae; *Dioclea* à tribo Phaseoleae, subtribo Diocleinae e; *Lathyrus* pertence à tribo Vicieae. Estas tribos possuem diferentes relações filogenéticas entre si e entre aqueles ao qual pertencem as flores com quilha. Análises filogenéticas baseadas em dados moleculares e morfologia demonstram que Crotalarieae pertence a um clado distinto (grupo Genistoids) ao grupo formado por Phaseoleae e Vicieae e outras tribos (Doyle et al., 2000, Kajita et al., 2000, Käss & Wink, 1996, 1997). Dentro do clado ao qual pertencem Phaseoleae e Vicieae três grupos podem ser distintos, um deles, o grupo Hologalegina é o grupo irmão dos demais e contém Vicieae (Kajita et al., 2001). O gênero *Dioclea*, apesar de aparentemente ser um gênero polifilético, é o mais próximo filogeneticamente das flores com quilha invertida pertencendo à mesma tribo que estas e mesma subtribo de *Canavalia* (de Queiroz, 2003, Kajita et al., 2001).

Os três gêneros de flores com quilha analisados possuem uma série de características comuns relacionadas à sua função como: cálice fundido prendendo as garras das pétalas, sobretudo a unha do estandarte sobre a câmara de néctar; tubo de filetes fundidos perpendicular ao limbo do estandarte, com o ápice livre e anteras e estigma voltados para cima; a garra do estandarte rígida, sobre a câmara de néctar e; as dobras em forma de botão de pressão que unem as alas à quilha. Todos estes aspectos foram descritos por Westerkamp (1997) para as flores com quilha, porém no presente trabalho dois novos aspectos são levantados. Aquele autor sugere que o cálice, na maioria dos casos não possui um fator decisivo na funcionalidade da flor. De fato o cálice em *Crotalaria* e *Lathyrus* parece ter pouca ou nenhuma função, pois é muito curto e apenas envolve a base das garras das pétalas. No entanto sua principal função é a fixação da garra do estandarte sobre a câmara de néctar, uma vez que durante a inserção das partes bucais sob o estandarte esse é erguido. Em *Lathyrus* essa função é ainda mais necessária visto que a garra do estandarte é reta, diferente daquelas de *Crotalaria* e *Dioclea* que possuem a dobra na transição entre a garra e o limbo. Além da função já descrita, em *Dioclea* o cálice possui ainda a função de manter a coesão entre as garras das pétalas, sobretudo a interação das aurículas inflectidas do

estandarte com as aurículas das alas. Essa função do cálice é também atribuída por Etcheverry et al. (2008) ao cálice de *Vigna caracalla*.

O segundo ponto é que Westerkamp (1997) descreve o estandarte como imóvel. De fato a garra espessa e as dobras na base da pétala tornam a estrutura rígida e fazem com que este seja um dos pontos de maior resistência da flor. No entanto a dobra em forma de “U” na transição da garra para o limbo em *Dioclea* e *Crotalaria* cria uma “tampa” sobre a câmara de néctar que apenas pode ser ultrapassada com um pequeno soerguimento dessa estrutura. A rigidez da pétala faz com que, durante esse movimento de erguer o estandarte naquelas espécies, o corpo da abelha seja forçado ainda mais para baixo, aumentando a eficiência do mecanismo de exposição do estilete.

Outras características destas flores são compartilhadas entre diferentes pares de espécies como as alas cobrindo a quilha em *Lathyrus* e *Crotalaria*, aurículas das alas em *Lathyrus* e *Dioclea*, transição em forma de “U” entre a garra e limbo do estandarte em *Dioclea* e *Crotalaria*. Há ainda aquelas características exclusivas de cada gênero como as dobras das alas em *Lathyrus*, lamelas lunadas em *Crotalaria* e aurículas inflectidas do estandarte em *Dioclea*. Cada uma dessas modificações aprimora funções pré – existentes em todas as flores, como descrito nos mecanismos de polinização, mas apesar dessas diferenças todas as flores funcionam da mesma maneira e mostram adaptações ao comportamento e morfologia das abelhas. Essas características corroboram a idéia do surgimento independente da morfologia de flores com quilha.

Grant (1950) sugere que a mudança da morfologia para flores com quilha em Fabaceae seria uma adaptação para proteção do rudimento seminal dessas plantas contra os bicos de pássaros. Essa característica, portanto seria herdada de flores inicialmente polinizadas por pássaros. Faegri & Pijl (1979) já sugerem que esta morfologia está estritamente associada à melitofilia e Westerkamp (1997) discute importâncias das adaptações destas flores às visitas por abelhas. O presente trabalho corrobora a hipótese do relacionamento das flores com quilha com as abelhas. Como demonstrado, a interação entre as pétalas, principalmente o estandarte e as alas criam

barreiras as quais não podem ser vencidas pelos bicos dos pássaros. Além disso, estas barreiras só são vencidas quando comportamentos específicos das abelhas são realizados como baixar o corpo em relação às alas e quilha. A própria morfologia da flor atua em conjunto com o comportamento exclusivo das abelhas: o movimento de baixar as alas e quilha com as pernas enquanto fixadas pelas garras às alas e apoiada pelas partes bucais no canal de alinhamento é fundamental para o funcionamento da flor e é auxiliado pela existência dos encaixes entre alas e quilha e aurículas das alas, necessitando força, tamanho e habilidades específicas das abelhas.

De fato algumas flores com quilha em Faboideae são polinizadas por pássaros, grande parte delas pertence à tribo Diocleinae como os gêneros *Collaea* e *Camptosema* (Buzato et al, 2000, de Queiroz, 2008). Estas flores polinizadas por pássaros possuem características distintas que mostram a adaptação destas aos novos polinizadores e mostram a importância de aspectos morfológicos das flores melitófilas. A primeira diferença é quanto à cor das flores, em *Camptosema* spp. e *Collaea speciosa*, a corola é vermelha em detrimento das outras cores nas flores melitófilas (Sede et al., 2008, Ceolin & Miotto, 2009). Essa coloração está associada à síndrome de ornitofilia (Faegri & Pijl, 1979). Outras espécies de *Collaea* possuem corolas azuladas, violáceas e brancas e são polinizadas por abelhas (Ceolin & Miotto, 2009).

Quanto à estrutura floral, as espécies polinizadas por pássaros são maiores do que aquelas polinizadas por abelhas, não possuem aurículas das alas, não possuem bolsos e encaixe tipo botão de pressão entre a quilha e alas e possuem a garra do estandarte mais longa (Ceolin & Miotto, 2009, Amaral-Neto, observações pessoais em *Camptosema* sp.). Com estas características percebe-se uma extrema simplificação nas flores polinizadas por pássaros e a falta da necessidade da força das abelhas para que o mecanismo da flor seja ativado ao mesmo tempo em que fica claro a relação da morfologia e estruturação das pétalas das flores com quilha como estruturas que evoluíram em relação às interações destas flores com as abelhas. Por outro lado algumas características associadas à melitofilia nestas flores como a proteção dos órgãos reprodutivos pelas pétalas, o tubo rígido formado pela fusão dos filetes e a zigomorfia (Neal et al., 1998) das flores são passos necessários para a função das

flores ornitófilas. Castellanos et al. (2004) estudaram adaptações a favor da ornitofilia e contra a melitofilia em flores de *Penstemon* (Scrophulariaceae) e evidenciaram que os traços das flores contra as abelhas são importantes no processo da especialização para a polinização por pássaros e propõem que a mudança de uma síndrome para a outra envolve vários passos simultâneos. Thomson & Wilson (2008) também propõem a direcionalidade evolutiva no sentido de flores melitófilas para ornitófilas, também mediante a perda de estruturas nas flores polinizadas por pássaros. A modificação das flores com quilha para pássaros e para abelhas apontam essas tendências (surgimento de várias características simultâneas e características morfológicas prévias que caracterizam adaptações contra as abelhas em flores melitófilas), mas um estudo mais aprofundado da morfologia e comportamento dos visitantes das flores com quilha ornitófilas se faz necessário. Por enquanto a conclusão é que as flores com quilha possuem estruturas especializadas para a polinização por abelhas, com a polinização por aves surgindo secundariamente mediante a supressão de uma série de caracteres morfológicos da flor (Thomson & Wilson, 2008)

Apesar de todos os aspectos relacionados à polinização por abelhas apresentados pelas flores com quilha esta morfologia ainda apresenta alguns aspectos que inibem um maior aproveitamento do pólen para fim de reprodução das plantas. A deposição estenotribica de pólen, comum à maioria das flores com quilha permite a remoção relativamente simples e efetiva deste por parte das abelhas durante o comportamento de autolimpeza (ver o tópico abaixo sobre o comportamento das abelhas associado a visitas a estas flores), além disso, muitos dos visitantes aprendem a lidar com as flores de modo a evitar o toque das partes reprodutivas em alguns casos (Westerkamp, 1993) ou mesmo aprendem como retirar o pólen utilizando estruturas especializadas como as escovas ventrais em *Megachile* (Westerkamp, 1993, Etcheverry et al., 2003) ou mesmo sem estruturas especializadas, culminando muitas vezes com desestruturação da flor (Westerkamp, 1993, Franco, 1995). Em algumas flores com quilha o problema da deposição estenotribica é resolvido em parte com o desenvolvimento da apresentação secundária de pólen e deposição do pólen em “partes seguras” do corpo do visitante pela escova no ápice de um longo estilete como

observados em *Dioclea* spp., *Lathyrus* spp. e em outras flores com quilha (Westerkamp, 1993, 1997, Arroyo, 1981).

Baseando-se no comportamento de remoção de pólen das flores com quilha pelas abelhas, seja utilizando as pernas ou a escova ventral por espécies do gênero *Megachile*, e comparando as áreas menos manipuladas durante o comportamento de autolimpeza, o local mais seguro para deposição de pólen seria o dorso das abelhas e as regiões da pleura, sobre as coxas. Esse deve ter sido o primeiro ponto para o surgimento e seleção das características das flores com quilha invertida. Westerkamp e Cassen-Bokhoff (2007) discutem também que a organização dorsiventral das flores é resultado da organização dorsiventral dos visitantes, e que o ponto de deposição de pólen no corpo da abelha mais seguro que em partes moldaria a evolução das flores deve levar em consideração essa organização do corpo das abelhas. Muitas das hipóteses do surgimento da simetria bilateral nas flores levam em consideração o comportamento e percepção dos visitantes (Neal et al., 1998), para o surgimento das flores dorsiventrais, como as flores com quilha invertidas, portanto não seria diferente. Em uma visão centrada nas plantas, a proporção de pólen removido que chega ao estigma de outra flor diminui com o aumento do número de grãos de pólen removidos do corpo pelo próprio polinizador (Harder & Thomson, 1989). Assim as plantas poderiam maximizar a dispersão de pólen limitando a quantidade deste que é removido. Esta opção é alcançada com o surgimento das flores com quilha invertida.

## 5.2 FLORES COM QUILHA INVERTIDA

As flores com quilha invertida surgiram independentemente em pelo menos nove tribos de Faboideae em cerca de 15 gêneros sendo sete destes gêneros pertencentes da tribo Phaseoleae (Lewis et al., 2005). Apenas quatro destes gêneros se relacionam à síndrome de melitofilia, todos os outros estão relacionados à ornitofilia. A melitofilia teria surgido então pelo menos em dois momentos distintos nas flores com quilha invertida, uma na subtribo Diocleinae em *Canavalia* e uma na subtribo *Clitoriinae*, ambas as morfologias teriam surgido a partir de espécies de plantas ancestrais com

flores com quilha normal, com as flores com quilha invertida ornitófilas surgindo independentemente destas.

Os resultados do presente trabalho mostram que todas as estruturas necessárias para a função das flores com quilha invertida já estavam presentes nas flores com quilha normais. As duas principais modificações foram uma maior estruturação das junções tipo botão de pressão entre alas e quilha e o espessamento da margem superior das alas. Como demonstrado, os bolsos que formam a união de botão de pressão entre alas e quilha nas flores ressupinadas também são encontrados nos três gêneros de flores com quilha, porém nestas estas estruturas se unem próximo à base do limbo das alas. Em *Dioclea* as alas nem mesmo envolvem a quilha e se abrem lateralmente, enquanto em *Crotalaria* e *Lathyrus* as alas encerram a quilha, mas sem o contato tão apertado quanto o encontrado entre estas estruturas nas flores com quilha invertida. Em *Lathyrus* ainda verifica-se a formação de bolsos ao longo da ala, bem como o bolso da quilha estende-se quase até o ápice distal do limbo, no entanto estas estruturas não ficam conectadas e as dobras das alas servem de pontos onde a abelha pode se agarrar à pétala. Em *Canavalia* e *Centrosema* os encaixes de botão de pressão ocorrem em praticamente toda a extensão do limbo destas pétalas enquanto em *Clitoria* esse encaixe ocorre apenas na base do limbo, enquanto na parte mais distal as pétalas são fundidas. Apesar das estruturas estarem presentes em ambas as morfologias, há uma modificação na função dos bolsos que funcionam como pontos de apoio (*grapple points*) nas flores com quilha e como unificadores de alas e quilhas nas flores com quilha invertida. Tucker (2003) estudou o desenvolvimento ontogenético das flores de leguminosas de diversas famílias e concluiu que todas estas estruturações das partes florais, aurículas, bolsos e fusões ocorrem mais tarde no desenvolvimento da flor e o padrão inicial de crescimento é o mesmo em praticamente todas as subfamílias e tribos de Fabaceae.

A segunda inovação na função das flores com quilha invertidas é a presença do espessamento da margem superior das alas. Com a modificação da função da ala esta não mais serve de área de pouso, no entanto sofre intensa fricção contra a cabeça (*Canavalia*) e dorso (*Centrosema* e *Clitoria*) dos visitantes durante os



movimentos de entrada e saída das abelhas na flor. Além disso, o mecanismo de abertura da flor sofre uma inversão. Enquanto nas flores com quilha é necessário baixar alas e quilha usando o peso da abelha e as pernas, enquanto esta se fixa com as mandíbulas e demais partes bucais, nas flores com quilha invertida é necessário que os visitantes levantem ou empurrem aquelas estruturas, agora utilizando a cabeça e dorso. As margens espessadas, portanto, além de manterem a integridade das alas frente ao atrito constante com as partes do corpo do visitante, devido à sua rigidez, proveem ainda o ponto de apoio pelo qual o visitante pode interagir para ativar o mecanismo da flor.

Apesar de não haverem muitos passos, inicialmente, para o surgimento das flores com quilha invertidas a partir das flores com quilha normais, todas as características deveriam surgir ao mesmo tempo para que as flores ressupinadas funcionem. Outros autores, por meio de experimentos com manipulação das características florais concluíram que algumas partes da flor devem funcionar de uma maneira integrada e são selecionadas como um grupo (Castellanos et al., 2004, Herrera, 2001). Do mesmo modo deve ocorrer nas flores com quilha invertida quanto às características: margem espessada das alas, maior estruturação da junção de botão de pressão entre alas e quilha e fortalecimento da estrutura do estandarte para servir de área de pouso.

Apesar desta visão simples da modificação entre as flores com quilha e flores com quilha invertida e desses passos básicos, as três flores ressupinadas estudadas possuem funcionamento diferente, com funções diferentes para cada estrutura floral. Essas diferenças indicam que mesmo entre *Clitoria* e *Centrosema*, ambas da tribo Clitoriinae, a flor resupinada tenha surgido independentemente de duas maneiras. Desta forma, as flores com quilha invertida melitófilas teriam surgido pelo menos três vezes de maneira independente em Fabaceae.

Para uma melhor compreensão da morfologia das flores e como estas devem ter surgido uma maior compreensão entre as relações dentro dos grupos é necessária a fim de reconstruir os passos que levaram ao surgimento destas flores, principalmente

em Clitoriinae onde estudos do gênero *Clitoriopsis* podem ajudar a elucidar a questão do surgimento desta característica dentro do grupo.

### 5.3 COMPORTAMENTOS DOS VISITANTES NAS FLORES:

#### 5.3.1 Comportamento dos visitantes nas flores com quilha invertida Versus flores com quilha normal

Apesar das diferenças entre as duas morfologias florais e mesmo a diferença entre a morfologia e função entre as flores com quilha invertidas os comportamentos dos polinizadores nas flores é o mesmo em todos os casos, não sendo necessário, portanto o desenvolvimento de novos comportamentos para as visitas a estas flores. Apenas a morfologia da flor e o mecanismo por qual elas funcionam sofreram modificações e por isso a hipótese de que as flores ressupinadas de Faboideae surgiram independentemente.

A única diferença comportamental exigida pelos visitantes nas flores com quilha invertida, mais especificamente em *Clitoria* e *Centrosema* é que a entrada na flor é dificultada pela pequena altura da câmara de polinização, entre o estandarte e as alas e quilha, que é menor que a altura do polinizador. Nestes casos o visitante tem a entrada na flor dificultada e a entrada na flor só é conseguida forçosamente pelo visitante. Este tipo de comportamento dos visitantes imposto pela morfologia da flor é semelhante ao encontrado nas flores labiadas, e esse design floral aumenta a eficiência em esconder o pólen, desviando a atenção do visitante (Westerkamp & Claßen-Bockhoff, 2007). Algumas flores labiadas possuem estruturas que erguem o corpo do visitante pressionando o dorso deste contra as superfícies reprodutivas e aumentando a eficiência na transferência de pólen, esta função sendo exercida em *Jacaranda oxyphylla* pelo estaminódio (Guimarães et al., 2008) e em outras flores por dobras no

lábio inferior (Westerkamp & Claßen-Bockhoff, 2007). Dobras no estandarte com função semelhante foram encontradas em *C. pascuorum*.

Diferente das flores labiadas, onde o visitante é pressionado passivamente contra o lábio superior da flor, devido à altura da câmara de polinização ser menor que a altura dos polinizadores, nas flores com quilha invertida pode (*C. pascuorum*, *C. fairchildiana*) ou não (*C. brasiliensis*) haver esta pressão passiva, mas independente disso o visitante precisa erguer as estruturas florais ativamente, usando o mesmo movimento e posição pelo qual ativa as flores com quilha normais, com as partes bucais inseridas no canal de alinhamento e esticando as pernas posteriores.

Como não é necessário um comportamento diferente por parte dos visitantes em cada morfologia floral, a mudança de visitação entre as duas morfologias é facilitada.

Uma série de fatores tem sido sugerida para explicar a constância floral das abelhas (Darwin, 1876, Pleasants, 1981, Chittka et al., 1999, Goulson, 1999, 2000, Gegear & Laverty, 2001). As duas principais hipóteses são a hipótese de interferência proposta por Darwin (*Darwin's interference hypothesis*) e a hipótese de busca por imagem (*Search image hypothesis*) proposta por Tinbergen (1960). A explicação de Darwin implica que os visitantes florais mantêm uma constância em uma única ou poucas espécies de plantas por ser mais rápido repetir a mesma tarefa (habilidades para manipular a flor) do que aprender novas técnicas a cada visita (Darwin, 1976, Goulson, 2000, Gegear & Laverty, 2001). Isto é influenciado também pela pequena capacidade de aprendizado dos visitantes de como manipular flores com morfologias diferentes. Na hipótese de Tinbergen, os visitantes se concentrariam em apenas um tipo de flor, o que aumentaria sua capacidade visual de reconhecê-la e encontrá-la, aumentando a eficiência do forrageio, mesmo quando outras espécies estão disponíveis (Tinbergen, 1960, Goulson, 2000, Gegear & Laverty, 2001). As duas hipóteses, no entanto, não são excludentes e ambas partem do pressuposto que o padrão de forrageio dos visitantes florais sempre resulta no aumento da eficiência no sentido de menor gasto de energia e maior obtenção de recursos.

Muitas das espécies de plantas possuem os recursos florais escondidos em flores complexas de forma que apenas insetos com morfologias específicas podem obtê-lo. Casos como estes são observados em várias flores como em espécies cuja obtenção de néctar exige partes bucais longas para passar o tubo formado pela corola das flores (Inouye, 1978, 1980a, Pyke, 1982); nas flores com quilha e quilha invertida (Westerkamp, 1997, Westerkamp & Claßen -Bockhoff, 2007) e nas flores de pólen com anteras porcidas (Buchmann, 1983, Endress, 1997, Marazzi et al., 2007). No presente trabalho foi observado que além de morfologias específicas a obtenção de recurso requer de um comportamento específico.

Mesmo quando as abelhas possuem uma morfologia compatível, aprender a manipular flores com estruturas complexas leva tempo e aparentemente as abelhas não são capazes de reter habilidades de manipulação das flores quando forrageiam entre plantas com diferentes estruturas florais (Goulson, 1999, Chittka et al., 1999, Menzel, 2001, Cakmak et al., 2009). Dessa forma os insetos precisam fazer escolhas quando frente a um grande número de flores com grande diversidade de formas, cores e recursos. Gegear e Laverty (2001) demonstraram, utilizando flores artificiais com diferentes características que, quanto maior as variações entre as morfologias das flores mais as abelhas exibiam preferências por uma das morfologias e maior era a constância de visitas a uma forma específica de flor por indivíduos de *Bombus impatiens*. Cakmak et al. (2009) demonstraram ainda que as escolhas de morfologias específicas por *Apis mellifera* levam em consideração a obtenção de maiores quantidades de energia e menor tempo de manipulação da flor. Estes resultados demonstram que as escolhas dos visitantes não levam em consideração apenas a quantidade e qualidade de recurso disponível, mas sim a relação entre a quantidade de energia obtida frente à energia gasta no processo de obtenção desse recurso, a qual se apresenta vantajosa para o visitante enquanto a primeira é maior que a segunda (Heinrich & Raven, 1972, Heinrich, 1975, Abrol, 2005).

Juntos, a baixa capacidade de aprendizado de manipulação de morfologias diferentes, a busca por recursos e a morfologia das abelhas em relação às mesmas exigências funcionais de comportamento e habilidades de manipulação requeridas dos

polinizadores teriam colaborado para que, com o surgimento simpátrico das flores com quilha invertida em uma população de flores com quilha, aquelas pudessem ser visitadas sem a necessidade prévia de tempo de aprendizado de novas formas de manipulação das flores. As morfologias dos visitantes também são, em parte, as mesmas necessárias para a ativação das flores com quilha.

### 5.3.2 Morfologia dos visitantes nas flores com quilha invertida e flores com quilha normal e como esta afeta o comportamento durante a visita.

Como discutido anteriormente, apesar da morfologia diferente das flores o comportamento necessário para sua ativação pelos polinizadores é o mesmo. A fauna de visitantes variou entre as áreas estudadas, mas a morfologia e comportamentos dos visitantes foram os mesmos. Apenas um aspecto da morfologia das flores com quilha invertida imprimiu um comportamento diferenciado nos visitantes, que foi observado nas interações entre *Xylocopa* spp. e *Clitoria fairchildiana*.

De modo geral as flores com quilha invertida são prioritariamente visitadas e polinizadas por abelhas grandes. Isso já foi observado em vários trabalhos (Faegri & Pijl, 1979, Westerkamp & Claßen-Bochoff, 2007, Franco, 1995, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 2006, Guedes et al., 2009, Guimarães, 2009, Borges, 2006). A utilização de apenas essa característica, no entanto, não é o suficiente para explicar alguns casos como, por exemplo, o fato da mudança de comportamento de *Xylocopa* que nas maiorias das flores tem função de polinizador primário, mas é um pilhador rouba-néctar de *Clitoria fairchildiana*. Esta mudança pode ser compreendida quando é adicionada mais uma característica aos visitantes: a capacidade funcional das partes bucais de atuarem como prognatas ou hipognatas. Apesar de terem o tamanho compatível com a flor, as espécies de *Xylocopa* não visitam a flor de *Clitoria fairchildiana* de maneira legítima devido à necessidade do posicionamento das partes

buciais para frente durante a visita à flor. Essas duas características ainda assim não são suficientes para explicar todas as ocorrências das espécies de abelhas nas flores.

Se as flores com quilha invertida apresentam barreiras contra a obtenção de néctar e aparentemente estarem mais adaptadas às abelhas grandes, como explicar a constante ocorrência de espécies de *Euglossa* nas flores de *C. fairchildiana* e *C. pascuorum*, uma abelha considerada pequena e a única desta categoria a visitar estas flores? A explicação para isto é a mesma explicação para o comportamento desta como pilhador furta-néctar, o longo comprimento das partes bucais. Graças a esta característica e ao fato de conseguir utilizar as partes bucais como prognatas as espécies de *Euglossa* conseguem chegar ao néctar e obter algum recurso das flores, mesmo sem possuírem o tamanho necessário para sua ativação.

As características morfológicas dos visitantes vistas de modo isolado, uma característica por vez, não podem explicar todas as funções de todos os visitantes nas flores (se polinizadores ou pilhadores), mas a utilização de pelo menos duas destas características é o suficiente para explicar quase todos os comportamentos e podem ser utilizados para prever a função dos visitantes na flor. O mesmo funciona para as flores com quilha normal. Por exemplo, as características “partes bucais longas” e “partes bucais funcionalmente prognatas” são exploradas por *B. morio* durante as visitas em *Lathyrus* para furtar o néctar dessas flores, apesar de ser uma “abelha grande” e ser capaz de ativar o mecanismo da flor. Uma *Xylocopa*, por exemplo, apesar de possuir “partes bucais longas” o suficiente para visitar a flor de maneira semelhante, não pode fazê-lo por ter as partes bucais “funcionalmente hipognatas”.

Estas observações sugerem que o agrupamento dos visitantes em grupos funcionais é relevante, mas que mais de uma característica é necessária para explicar a função dos visitantes na flor. Diferente da abordagem tradicional de grupos funcionais em que a divisão dos grupos era baseada quase que apenas no grupo taxonômico ao qual o visitante pertence (Robertson, 1928), a idéia da utilização de várias características para dividir os grupos já tem sido utilizada (Fenster, 2004, Pillar & Sosinski, 2003).

Muitos autores discutem a idéia de que combinações das características florais podem ser usadas para se inferir seus polinizadores, sendo o conjunto dessas características chamado de "síndromes de polinização" (Darwin, 1877, Vogel, 1954, Faegri & Pijl, 1979, Stebbins, 1970, Johnson & Steiner, 2000). Os visitantes, por sua vez podem ser agrupados em grupos funcionais que se comportam e impõem similar pressão de seleção às características das flores (Fenster et al., 2004). Na visão tradicional, tanto os grupos funcionais quanto as síndromes de polinização seriam resultado de uma evolução conjunta e estariam relacionadas com a atração e utilização de um grupo específico de visitantes, os quais visitariam grupos de plantas específicos, ou seja, insetos e plantas exibem especializações em seus parceiros mutualísticos (Fenster et al., 2004).

A idéia de síndrome tem sido questionada por pesquisadores com base em evidências de uma ampla generalização dos sistemas de polinização, pois espécies vegetais com flores morfologicamente complexas são visitadas por um amplo espectro de visitantes (Waser et al, 1996, Ollerton, 1996, Johnson & Steiner, 2000, Obermuller et al., 2008). Essas críticas ganham força com o advento do estudo de comunidades de polinizadores e plantas por meio das redes de interações, as quais mostram a tendência de espécies especialistas de flores interagirem com uma grande gama de espécies de visitantes (Jordano et al., 2003, Bascompte & Jordano, 2007). Nestes estudos, no entanto o termo "polinizador" é usado como um termo genérico para todos os tipos de visitantes florais (Elberling & Olesen 1999, Olesen et al, 2008). Dessa forma, muitos dos *links* formados nessas redes não constituem verdadeiras interações entre plantas e seus polinizadores. Quando os pilhadores são retirados da rede a topologia desta pode sofrer várias consequências (Genini et al., 2010), mostrando que este grupo de visitantes possui um forte impacto nos estudos de redes de planta-polinizadores.

As abelhas apresentaram funções distintas nas espécies de plantas estudadas em função de sua morfologia e comportamento e nem todas se caracterizaram como polinizadores. O mesmo é observado em outros trabalhos de biologia floral (Motten et al., 1981, Antonini et al., 2005, Nadia & Machado, 2005, Westerkamp et al. 2006,

Nascimento & Del-Claro, 2007, Muchhala et al., 2008). Dessa forma, mesmo que as plantas sejam visitadas por diferentes espécies de abelhas, estas têm podem ter funções diferentes nas flores. Esta função esta associada à morfologia da flor, à morfologia da abelha.

Outro fator ainda que influencia estas funções das abelhas nas flores é que, por mais que as flores possuam características que restringiriam a visita a certos grupos funcionais de visitantes, as abelhas podem aprender métodos alternativos para manipular flores, beneficiando-se diferentemente de acordo com suas características morfológicas. Esse método alternativo de obter o recurso pode caracterizar o visitante como polinizador secundário ou pilhador.

Frente às discussões sobre síndromes de polinização e grupos funcionais, alguns trabalhos têm revisado o tema tentando encontrar uma resposta entre o aparente paradoxo de que: (a) as plantas apresentam uma grande diversidade de morfologias, aromas e recursos os quais podem ser classificados de maneira clássica como “síndromes”; e (b) as flores são visitadas por um grande número de potenciais polinizadores, o que não se encaixa com o conceito clássico de “síndromes” (Armbruster et al., 2000, Fenster et al., 2004, Ollerton et al., 2009, Vázquez et al., 2009).

O presente trabalho mostra que, apesar da diversidade de visitantes florais, o agrupamento em grupos funcionais das abelhas é importante e estes grupos exerceriam uma mesma pressão de seleção às características destas flores. Quanto as plantas, apesar da diversidade morfológica nas flores com quilha e quilha invertida, estas funcionam de maneira semelhante durante a interação com um grupo funcional específico de polinizadores, indicando que mesmo com mecanismos diferentes, a seleção de suas características sofreram pressão de seleção de um mesmo grupo funcional de polinizadores.

Baseando-se nas características funcionais das flores e grupos funcionais dos visitantes estabelecidos no presente trabalho, é possível prever a função que a abelha ocupa enquanto visitante floral, pelo menos distingui-lo entre possível polinizador ou



pilhador. Nesse sentido as síndromes não apenas indicariam quais os polinizadores de uma flor, mas também a provável função dos outros visitantes, quando estes são observados. O conceito atual de síndromes apenas indica quem ou quais características são necessárias no polinizador primário. Sem a compreensão do comportamento dos insetos visitantes e sua morfologia, apenas a morfologia das plantas não é o suficiente para a compreensão do sistema de polinização de uma espécie.

Fenster et al. (2004) discutem, porém a dificuldade no estabelecimento destes grupos funcionais. É possível que esta dificuldade esteja associada à utilização tradicional de apenas uma característica do visitante, normalmente morfológica como língua longa ou curta ou abelhas grandes ou pequenas (Robertson, 1928, Faegri & Pijl, 1979, Fenster et al., 2004). O presente trabalho propõe a utilização de mais de uma característica para a definição dos grupos funcionais e a utilização de características tanto morfológicas quanto comportamentais. Estes grupos funcionais não serviriam apenas para definir grupos de polinizadores, mas também a função de polinizadores secundários e pilhadores. Entre as características mais importantes encontradas no presente trabalho em abelhas que visitam flores com quilha e flores com quilha invertida estão:

(1) O **tamanho corporal**, desde que medido nas três dimensões para a definição do terceiro grupo das abelhas médias. Aqueles indivíduos considerados polinizadores (primários ou secundários) das flores com quilha invertida foram aqueles que se encaixaram na categoria de abelhas grandes. Dependendo da espécie de flor, as abelhas médias que funcionaram como polinizadores secundários precisavam mudar o comportamento em relação ao polinizador primário para adaptar-se ao tamanho da flor e as abelhas incluídas na categoria “abelha pequena” foram sempre considerados pilhadores furta-néctar;

(2) **Comprimento das partes bucais**, o qual deve ser relacionado com a profundidade em que o néctar se acumula em cada flor. Vale ressaltar que ainda sim essa medida apresenta um problema, pois quando levada em consideração a medida da profundidade do néctar em cada flor, 1,10 cm é muito maior que a medida

necessária para sobrepujar os 0,6 cm de profundidade das espécies de *Centrosema* e ainda é muito curto para os 1,60 cm de *C. fairchildiana*. Essa medida, no entanto foi utilizada pelas observações mostrarem que esta diferencia bem os grupos funcionais de visitantes. Assim, mesmo com categorização do comprimento das partes bucais, se devem observar as flores, não apenas comparar entre as abelhas;

(3) **A habilidade da abelha de voltar as partes bucais para frente durante a visita**, estando característica principalmente associada às flores labiadas e flores com quilha. Essa característica foi a principal diferença entre a funcionalidade e comportamento dos visitantes em *C. fairchildiana* e as demais espécies de quilha invertida. Algumas das abelhas estudadas mostraram durante as visitas as flores e durante medições em laboratório a capacidade de, voltando a cabeça para trás, deixarem as partes bucais voltadas para frente. Essa característica permite o acesso ao néctar das flores de *C. fairchildiana*, onde as abelhas precisavam entrar abaixadas sob a ala direita e com as partes bucais já direcionadas ao canal de alinhamento. Essa característica também foi determinante da função de pilhador furta-néctar de *Bombus morio* em *Lathyrus* sp. e na função de pilhador rouba-néctar de *Xylocopa* spp. em *C. fairchildiana*;

Outros aspectos que deveriam ser utilizados para definir os grupos funcionais de abelhas são:

(4) **Tipo de recurso coletado**, pois algumas abelhas necessitam de recursos específicos os quais são usados como únicos chamarizes nas flores como óleos (Pauw, 2006), resinas (Melander, 1902) e perfumes (Dressler, 1982);

(5) **Comportamento social**, pois abelhas sociais permanecem mais tempo ativas durante o ano, entram em contato com muitas morfologias de flores diferentes e geralmente possuem um grande número de indivíduos em relação a outros visitantes (Gonçalves et al., 2009) o que favorece o hábito generalista destas em detrimento das abelhas solitárias;

(6) **Presença de partes bucais fortes** (mandíbula, maxila), o que pode contribuir com o hábito de pilhadores roubadores de néctar ou pólen, o que foi encontrado na relação entre *Xylocopa* e *C. fairchildiana* e também é frequente nas visitas de *Oxaea* em flores (Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 2006); e finalmente

(7) **Capacidade de vibrar as anteras**, característica imprescindível para os polinizadores primários de flores com anteras poricidas (Buchmann, 1983, Endress, 1987).

Cada uma destas características possui mais ou menos importância em cada sistema específico e a utilização de aspectos simultâneos podem aumentar a acurácia de qualquer hipótese de polinizador baseado na síndrome apresentada pelas flores. No entanto estes grupos de características devem ser revisados para uma melhor definição de sua localização entre os grupos de abelhas, a fim de contribuir com o levantamento das hipóteses.

Mesmo com o agrupamento das abelhas em grupos funcionais, a definição de que certo grupo é um polinizador de uma flor que apresenta determinada síndrome é sempre uma hipótese que deve ser testada e comprovada por meio de observações.

Como observado até agora, a morfologia dos visitantes de flores com quilha e flores com quilha invertida são semelhantes, no entanto as diferentes morfologias dos visitantes resultam em comportamentos diferentes das abelhas na flor, aumentando ou diminuindo sua capacidade como polinizador. Apesar disso, se tanto flores com quilha quanto quilha invertida recebem visitas de todos os potenciais polinizadores não haveria pressão seletiva em direção a nenhum deles, logo, não haveria razão para as adaptações em relação às abelhas grandes observadas nas flores ressupinadas. Algum outro fator deve ter influenciado na seleção de características relacionadas à polinização por abelhas grandes nas flores com quilha invertida. A próxima seção tratará de outro fator que pode ter contribuído para o surgimento das flores com quilha invertida bem como apresentará a hipótese para surgimento das flores com quilha.

## 5.4 CENÁRIO EVOLUTIVO PARA O SURGIMENTO DAS FLORES COM QUILHA INVERTIDAS:

### 5.4.1 Efeito da competição em comunidades de plantas e polinizadores

Entre outros fatores que podem influenciar a evolução dos grupos e estruturar as comunidades de polinizadores e plantas estão as disputas por recursos florais e competição pelos polinizadores (Heitatus, 1974, Pyke, 1982, Inouye, 1978, Goulson, 1999, Kodric-Brown & Brown, 1979, Blüthgen, 2010, Potts et al., 2003) e a composição e disponibilidade de polinizadores no habitat (Cooley et al., 2008, Herrera, 2005).

Se uma espécie de planta possui muitos visitantes diferentes que provêm serviços similares de polinização, e se os custos dessas interações são comparáveis, há pouco incentivo para que uma planta se especialize em atrair apenas um grupo particular de polinizadores (Waser et al., 1996, Mitchell et al., 2009). Por outro lado, se alguns dos visitantes florais são mais efetivos na quantidade ou qualidade do pólen transferido, a seleção favoreceria caracteres que promovessem esses polinizadores mais efetivos (Waser et al., 1996, Johnson et al., 1998, Medel et al., 2007, Muchhala et al., 2008). Os visitantes, sobretudo os insetos, tendem a ser generalistas, pois visitam as flores por recursos variados, sendo necessário visitar espécies diferentes para cada tipo de recurso, ainda assim, quando apenas um recurso é levado em consideração, os insetos parecem exibir uma tendência a maior especialização (Bezerra et al., 2009, Pauw 2006).

Além disso, as flores são diferentemente distribuídas no tempo e espaço e seus recursos são diminuídos pela ação dos forrageadores. Durante o forrageio, as abelhas demandam quantidades variáveis de energia dependendo entre outros fatores do hábito social ou solitário (Schaffer et al., 1979) e do tamanho corporal (Greenleaf et al., 2007). As abelhas desenvolveram uma série de estratégias de forrageamento que agem aumentando sua eficiência, o que por sua vez determina o sucesso reprodutivo das

plantas as quais elas visitam (Goulson, 1999). A natureza das fontes florais e do recurso oferecido necessita de um comportamento de forrageio baseado em uma flexibilidade de aprendizagem por parte do visitante, a qual leva em consideração suas percepções sensoriais e tende a uma maior quantidade de recurso obtida com menor gasto de energia (Cakmak et al., 2009, Heirinch & Raven, 1972, Niv et al., 2002). Mesmo indivíduos mais generalistas tendem a restringir suas visitas a poucas espécies de flores por vez, aumentando sua eficiência (Heinrich, 1976, Ginsberg, 1983). Dessa forma as plantas tendem a evoluir em direção a especialização para atrair polinizadores específicos, e os polinizadores exibem certa fidelidade, ou seja, são especializados em visitar apenas uma ou poucas espécies de plantas; ou, se não exibem especialização, ao menos apresentam constância em visitas na mesma espécie de flor. Isso significa que um polinizador exibe fidelidade ao menos em um curto espaço de tempo, seja um período de forrageamento, um único dia ou vários dias (Waser, 2001).

Outro fator que interfere nas escolhas pelas plantas visitadas que não se relaciona diretamente com o encaixe morfológico entre a abelha e a flor é a competição. Embora a limitação de recursos possa gerar uma competição por interferência direta entre as espécies de visitantes florais, com aumento de sua agressividade (Kodric-Brown & Brown, 1979) ou entre as espécies de planta através da deposição interespecífica de pólen nos estigmas com consequente diminuição da receptividade estigmática ao pólen intraespecífico (Carpenter, 1978), a principal forma de competição em uma comunidade de plantas e polinizadores é por exploração dos recursos.

Quando os visitantes florais visitam muitas espécies diferentes de flores, a taxa de visitação em cada uma destas é menor que se o polinizador obtivesse recurso à mesma proporção, mas em apenas uma única espécie de planta (Kodric-Brown & Brown, 1979). Entre os visitantes florais, a fidelidade ou constância exibida por estes durante as visitas às flores também pode ser efeito da competição com outras espécies. Quando o recurso é abundante as espécies de visitantes podem sobrepor seus nichos de polinização sem maiores efeitos (Carpenter, 1978). Quando por outro lado os recursos são limitantes, os visitantes florais diminuem o efeito da competição aumentando a especialização (diminuindo a amplitude de nicho) (Heithaus, 1974,

Inouye, 1983, Levin & Anderson, 1970). Esse deslocamento de nicho (quando uma espécie restringe seu nicho realizado à parte do seu nicho fundamental) ocorre quando, na presença de visitantes mais efetivos, os mais generalistas tendem a ser excluídos, pois como são menos eficientes na obtenção do recurso (com longo tempo de manipulação na flor ou não conseguindo obter o máximo de recurso disponível) a quantidade de energia obtida frente à competição é desvantajosa (Schaffer et al, 1979, Pyke, 1982, Corbet et al., 1995). Em outras palavras, os generalistas possuem uma maior amplitude de nicho que os especialistas e visitam uma grande quantidade de flores proporcional à sua disponibilidade na comunidade, podendo ser considerados mais oportunistas. Contudo na presença de visitantes especialistas que conseguem obter um recurso de maneira mais efetiva em determinadas flores os estes generalistas restringem suas visitas a outras flores.

Tal dinâmica na comunidade é prevista pelas teorias de amplitude de nicho, segundo as quais são mais prováveis que as espécies mais atípicas dentro de um grupo de visitantes (sem complementaridade de traços entre o visitante e a flor visitada ou, seja, de grupos funcionais que não se encaixam) ou sujeitas à competição com grupos mais efetivos (hipóteses do limite de nicho e da sobreposição de nicho, respectivamente) sejam os primeiros membros a abandonarem uma interação (Popielarz & McPherson, 1995). Esse deslocamento de nicho em resposta à limitação de recursos e efeitos da competição tem sido evocado como explicação para a manutenção da diversidade e equilíbrio de uma comunidade (Huston, 1979). Esse deslocamento é visto em plantas de deserto que competem por água e germinam em períodos diferentes (Schwinning & Sala, 2004), em estudos de fenologia onde espécies de flores com as mesmas síndromes florais florescem em períodos diferentes (Heitau, 1974) e entre abelhas e beija-flores nectarívoros de uma mesma comunidade os quais restringem suas atividades a menos espécies de flores quando em competição com outras espécies (Carpenter, 1978, Inouye, 1983).

Nas comunidades de polinizadores e plantas, no entanto, quando flores com mesmas síndromes florescem em um mesmo período é esperado que: ou elas possuem diferentes espécies de abelhas como polinizadores ou uma delas seja mais

eficiente em atrair polinizadores que a outra (Levin & Anderson, 1970). De maneira semelhante podemos imaginar que quando diferentes espécies de abelhas estão presentes na comunidade e são capazes de visitar as mesmas espécies de flores espera-se que: ou estas diminuíssem seus nichos de polinização, restringindo temporariamente a visita a poucas espécies (equilíbrio competitivo), ou; se uma espécie for muito mais efetiva na obtenção de recurso, acaba levando à exclusão da outra (Hardin, 1960). Note que estas hipóteses não são necessariamente exclusivas, pois a restrição de nicho de uma das abelhas competidoras pode ser resultado da exclusão dessa espécie provocada pela grande efetividade da outra espécie em obter recurso de uma determinada espécie de flor.

### 5.3.2. Reconstruindo o cenário do surgimento das flores com quilha invertida.

O objetivo desta seção não é estabelecer um modelo de especiação para as espécies de plantas que apresentam flores com quilha invertida, mas sim estabelecer um cenário evolutivo onde um modelo deva ser aplicado. Além disso, não serão discutidos os aspectos genéticos envolvidos no processo de especiação e a hipótese apresentada será baseada exclusivamente na morfologia das flores e comportamentos dos polinizadores.

#### a) Onde teriam surgido as flores com quilha invertida?

Apesar da ampla distribuição pantropical do gênero *Canavalia* a origem do gênero tem sido atribuída à região neotropical e a sua distribuição sendo atribuída ao modo de dispersão das sementes pelo mar ou, em alguns casos à introdução artificial por causa do potencial forrageiro e alimentício de algumas espécies (Sauer & Kaplan, 1969, Sauer, 1964). Recentes estudos comprovam a monofilia da subtribo Diocleinae,

ao qual pertencem além de *Canavalia*, os gêneros *Cratylia*, *Cleobulia* e *Camptosema*, todas proximamente relacionadas à *Canavalia* e com distribuição Neotropical (Sauer, 1964, de Queiroz, 2008). Em *Centrosema* as espécies se distribuem principalmente no continente americano, sendo a maior diversidade de espécies do gênero encontrada na América do Sul. O gênero *Clitoria* também possui distribuição pantropical e apresenta três principais pontos de distribuição no sudeste da Ásia, África central e região neotropical onde possui uma maior diversidade (TROPICOS, 2010).

Apesar destes dados se basearem na distribuição atual da diversidade de espécies e em estudos de fósseis e serem necessários mais estudos biogeográficos que confirmem o local de origem destes grupos, frente às informações disponíveis, a hipótese da dispersão boreotropical dos legumes (Doyle & Luckow, 2003) e a hipótese que o surgimento de Faboidea deve ter-se dado a cerca de 45 a 50 milhões de anos (Wojciechowski, 2003) é razoável inferir uma origem das flores com quilha invertida entre o Sul da América do norte e a Região Neotropical.

A origem das flores com quilha em regiões temperadas da região Neártica recebe mais um ponto positivo quando observada também a biogeografia das abelhas. Além da grande diversidade de abelhas com distribuição ampla que se encaixam na morfologia e funcionamento destas flores, essa região conta ainda com a ocorrência de um grupo restrito às Américas que compõe o quadro dos principais visitantes das flores com quilha normal e invertida: os Centridini (Silveira et al., 2002, Michener, 2007).

#### b) Inversão das flores com quilha normais

As primeiras Faboideae teriam o hábito arborescente e posteriormente surgiriam os clados com hábito herbáceo e arbustivo (Käss & Wink, 1997, Kajita et al., 2001). Dentre as flores com quilha invertida, todas possuem o caule prostrado e o hábito escandente. Observações nas inflorescências estudadas mostram que este hábito pode estar relacionado ao surgimento das flores com quilha invertida. Em



*Crotalaria*, *Desmodium* e outros gêneros de plantas arbustivas e herbáceas com flores com quilha normal, o eixo de crescimento da inflorescência é para cima e as flores pendem lateralmente. Nos botões destas plantas, o estandarte é voltado adaxialmente, mais próximo ao eixo de crescimento da inflorescência e o pedicelo dos botões é voltado na mesma direção de crescimento do eixo da inflorescência. Quando o botão abre, por mais que a flor fique pendida, o estandarte permanece na parte superior da flor. Em *Lathyrus* e *Dioclea* observa-se o hábito escandente, mas as inflorescências crescem perpendicular ao eixo de crescimento do caule e novamente o eixo de crescimento da inflorescência é para cima. Em *Canavalia* a inflorescência é semelhante à de *Dioclea* com a diferença que é pendente. Dessa forma, o botão permanece com o estandarte em posição mais próxima ao eixo de crescimento da inflorescência, mas este é voltado para baixo. Quando o botão abre, o estandarte está na posição ventral da flor. O mesmo padrão de inflorescência pendente é observado em *Clitoria*. Nestes dois casos a causa da quilha invertida é a posição pendente da inflorescência, o que também foi observado por Franco (1995). Em *Centrosema* as inflorescências não são pendentes e crescem com a parte distal paralela ao caule, o qual se enrola em outras plantas. Nesse caso a inversão da flor é apenas necessária quando os botões estão voltados para baixo, mesmo nesse caso a inversão é do pedicelo, culminando com a torção da flor.

Em termos genéticos, a simetria dorsoventral em *Anthirrhinum* é regulada por pelo menos um conjunto de três genes, dois deles são relacionados com o desenvolvimento do lábio superior, o *Cycloidea* (*CYC*) e o *Dichotoma* (*DICH*), e um com o desenvolvimento do lábio inferior, o *Divaricata* (*DIV*) (Fulton et al., 2006). Além disso, a própria organogênese da flor é determinada por um conjunto de vários genes que envolvem desde o número de órgãos à sua organização espacial (Fulton et al., 2006). Por outro lado, a realocação do fluxo de auxina, responsável pelo crescimento assimétrico do eixo caulinar em resposta à gravidade, é controlado por um gene em *Arabidops*, o *Pin3* (Friml et al., 2002). Dessa forma é mais razoável a hipótese de uma inversão do eixo da inflorescência como uma mudança na forma de expressão de um gene para o surgimento das flores com quilha invertida que a modificação de um complexo de genes e uma possível inversão da flor.

Uma vez que quase todas as características necessárias para o funcionamento das flores com quilha invertida já existiam entre as espécies de flores com quilha normal, o fenótipo de flores ressupinadas seria relativamente simples. Uma vez que as características morfológicas das flores com quilha invertida funcionam de maneira integrada, todos os passos restantes para o surgimento das flores ressupinadas devem ter surgido de uma vez (fortificação do estandarte como área de pouso, surgimento das margens espessadas das alas e encaixe de botão de pressão ao longo de todo complexo das alas + quilha). Essa observação é mais clara entre os gêneros *Diocleia* e *Canavalia*, que formam grupos próximos, mas que diferem quanto à posição da quilha nas flores. Para as outras flores muitos outros passos deveriam ter sido dados para o surgimento de sua atual morfologia, porém estudos de espécies de flores com quilha normais mais próximas destes podem revelar um padrão semelhante ao encontrado em *Canavalia* e *Dioclea*.

c) O cenário

O cenário envolve uma população de plantas com dois fenótipos: Um com inflorescências pendentes e, portanto flores com quilha invertida, e um fenótipo com inflorescências normais e flores com quilha normal. A comunidade é composta, para simplificação do cenário, apenas por esta espécie de planta que oferece néctar aos visitantes. A presença de outras espécies que ofertam o mesmo recurso levaria a outras possibilidades de interpretação da evolução das interações, mas que continuaria seguindo o raciocínio básico que será exposto. Alguns modelos de coevolução em comunidades de plantas e polinizadores de fato levam em consideração a presença de várias espécies simultaneamente, mas as interações são limitadas pelos aspectos morfológicos das populações de animais e plantas ou sua distribuição na comunidade e a coevolução ocorrendo em pares ou grupos funcionais (Fenster et al., 2004) onde os traços das espécies se encaixam (Thompson, 1997, 1999, Guimarães et al., 2007). Outros modelos levam em consideração comunidades compostas apenas por uma

espécie de polinizador e uma de planta (Kiester et al., 1984). O cenário aqui proposto é intermediário entre as duas possibilidades. A presença de apenas uma espécie de planta, mas com estas duas morfologias florais específicas cria uma limitação aos grupos funcionais de abelhas que podem visitá-las.

O cenário ainda é composto por diferentes espécies de abelhas que se encaixam no grupo funcional de polinizadores das flores com quilha invertida e normal. Mais uma vez, para simplificação e eliminação de outros efeitos que influenciam na evolução das interações serão considerados apenas os polinizadores embora sejam considerados tanto os primários quanto secundários. O efeito real dos pilhadores é discutível, pois apesar de alguns trabalhos confirmarem os efeitos negativos desse comportamento diminuindo o número de visitas por polinizadores efetivos devido à redução dos recursos disponíveis (Irwin & Brody, 1999, Dedej & Delaplane, 2004), outros mostram um efeito neutro (Maloof, 2001) ou mesmo positivo (Navarro, 2000) na quantidade de frutos formados nessas plantas. Devido a estas discussões optou-se por retirá-los do cenário evolutivo. Logo todos os visitantes florais são polinizadores das duas morfologias florais, mesmo que com efetividades diferentes.

Será abordado inicialmente um panorama onde a população de plantas é grande o suficiente para não causar uma competição entre os visitantes e não sofrer muitos efeitos de eventos estocásticos de deriva genética e composição diferencial da fauna de polinizadores em diferentes populações locais da metapopulação.

As preferências dos visitantes e constância floral se relacionam apenas com a quantidade de recurso obtida, dessa forma as flores possuem mesmo perfume, oferecem mesma quantidade de néctar. A única diferença que afetaria o número de visitas em cada fenótipo seria a abundância de cada um deles na população. Alguns trabalhos mostram que a abundância pode estar relacionada à taxa de visitação e constância floral dos polinizadores, e mesmo se uma espécie é ou não visitada (Tinbergen, 1960, Vázquez & Aizen, 2004, Vázquez et al., 2007). No cenário proposto, a abundância do fenótipo quilha invertida é mais baixa que o fenótipo quilha normal, mas uma explicação para que estas sejam visitadas será dada mais a frente.

d) O processo

Inicialmente os dois fenótipos eram visitados pelos mesmos polinizadores, assim como ocorre atualmente. Se uma espécie de planta possui muitos visitantes diferentes que provêem serviços similares de polinização, e se os custos dessas interações são comparáveis, há pouco incentivo para que uma planta se especialize em atrair apenas um grupo particular de polinizadores (Mitchell et al., 2009). Essa então seria a condição inicial do cenário proposto, sem que nenhum dos fenótipos tivesse algum incentivo para especialização em apenas um grupo mais restrito de visitantes.

Muito mais importante nestas interações, no entanto é o comportamento dos visitantes com o surgimento desta nova morfologia de flores em uma comunidade. Como visto anteriormente as abelhas possuem um limitado poder de retenção de habilidades para manusear morfologias diferentes de flores. Além disso, as abelhas possuem uma tendência a não se arriscarem em novas morfologias enquanto aquela a qual elas estão visitando apresenta recursos suficientes, esse comportamento é chamado de “comportamento de aversão a riscos (*risk averse behavior*)” (Niv et al., 2002). Considerando que nas duas formas da flor o recurso disponível é o mesmo e que as abelhas utilizam-se dos mesmos comportamentos nas duas morfologias, as abelhas obteriam os mesmos recursos em ambas as morfologias sem a necessidade de aprenderem nova forma de manipular as flores com quilha invertida. Tal característica manteria as visitas pelas abelhas nas duas morfologias e não representaria um risco às visitas à nova morfologia.

Mesmo assim, as abelhas não teriam a capacidade de prever que a nova morfologia possui tanto néctar quanto àquela a qual já estão habituadas. Então por que as abelhas que possuem o comportamento de aversão a riscos se aventurariam em visitas às novas flores? No cenário hipotético de surgimento das flores com quilha invertida esta morfologia é bem menos abundante que as flores com quilha normal. Considerando que o surgimento desta morfologia seja o principal resultado da posição da inflorescência, não é estranho imaginar que ambas as morfologias de flores

possuiriam mesmas cores e aromas, os quais serviriam como primeiro atrativo para as abelhas. Estes dois sentidos, visão e olfato são aqueles principalmente utilizados pelas abelhas durante o forrageio para escolher as flores a serem visitadas. Horridge (2009) demonstrou, no entanto que as abelhas apresentam um padrão generalista de reconhecimento visual, isso é, estas conseguem detectar semelhanças entre formas para as quais são previamente treinadas, mas são incapazes de detectar padrões mais específicos destas formas, visitando formas semelhantes, mas não aquelas iguais às que foram treinadas. Neal et al. (1998) revisam também uma série de hipóteses sobre o reconhecimento de simetrias diferentes pelas abelhas. Aparentemente as abelhas conseguem distinguir entre simetria actinomorfa e zigomorfa, mas sobre a capacidade de distinção entre formas florais diferentes com simetria bilateral não há informação. Gegear & Laverty (2001) testaram a constância floral e preferências das abelhas por flores artificiais com diferentes traços. Um de seus experimentos consistia em ependorffs (as “flores”) em diferentes posições (inclinados e eretos) e com diferentes graus de complexidade de obtenção de recursos (com tampa e sem tampa). As abelhas não mostraram preferência nem constância em nenhuma das morfologias, permitindo entre as interpretações aquela que estas não diferenciam entre as posições diferentes (a ponto de manter constância) ou que a troca de morfologias não representa gasto de energia. Por fim em algumas comunidades de plantas que florescem ao mesmo tempo e compartilham os mesmos polinizadores estas exibem flores com cores semelhantes, mesmo que com morfologias diferentes e compartilham os mesmos visitantes (Heinrich, 1974, Endress, 1996). Trabalhos com constância floral de polinizadores e busca por imagem mostram que mesmo quando os visitantes demonstram uma preferência por determinada morfologia, eles visitam outras durante o forrageio por engano na interpretação dos sinais ou pela não distinção quando as flores variam em apenas um aspecto como mesmas cores e morfologias diferentes (Chittka, 1999).

Frente ao exposto, é possível que as abelhas visitem as flores com as duas morfologias inicialmente por não conseguirem distinguir entre elas. No entanto seriam necessários mais experimentos manipulando formas dentro da simetria bilateral para testar as preferências por partes dos visitantes.

Quando as abelhas menores visitam as flores com quilha invertida elas possivelmente gastam mais energia tentando abrir a flor, quando comparada à tentativa de ativar o mecanismo de uma flor com quilha normal. Quando não forçavam a abertura da flor não obteriam a mesma quantidade de néctar que nas flores com quilha normal. Logo, para as abelhas pequenas, a relação energia obtida / energia gasta é menor durante as visitas nas flores com quilha invertida, e estas mostrariam preferência e maior constância em flores com quilha normal.

Para as abelhas maiores, no entanto, seria indiferente as visitas em qualquer uma das morfologias. No entanto, com o aumento da preferência das abelhas pequenas pelas flores com quilha normal, a competição por exploração entre abelhas grandes e pequenas aumenta, e as abelhas grandes começam a apresentar preferência e constância nas flores com quilha invertida. Este padrão de preferências seria mais pronunciado se em algum momento os recursos forem limitantes. Se a população de flores com quilha normal for grande o suficiente para fornecer recursos para todos os visitantes florais, essa preferência não é observada.

Um processo semelhante foi descrito por Inouye (1978). Em seu trabalho, quando houve competição por recursos limitantes (néctar em duas espécies de flores) entre duas espécies de abelhas do gênero *Bombus* com partes bucais de tamanhos diferentes, cada uma das espécies de abelhas limitou-se a visitar apenas uma espécie de flor, reduzindo a amplitude de nicho realizado, apesar de ambas incluírem as duas espécies de flores em seu nicho fundamental (Inouye, 1978). O mesmo é possível de ocorrer para as visitas de grupos funcionais específicos de abelhas em cada uma dos fenótipos de flores com quilha.

Quando os visitantes florais visitam muitas espécies diferentes de flores (ou, no presente caso, diferentes morfologias da mesma espécie) a taxa de visitação em cada uma destas é menor que se o polinizador obtivesse recurso à mesma proporção mas em apenas uma única espécie de planta (Kodric-Brown & Brown, 1979). Entre os visitantes florais, a fidelidade ou constância exibidos por estes durante as visitas às flores também podem ser efeito da competição com outras espécies. Quando o recurso é abundante as espécies de visitantes podem sobrepor seus nichos de polinização sem

maiores efeitos (Carpenter, 1978). Quando por outro lado os recursos são limitantes, os visitantes florais diminuem o efeito da competição aumentando a especialização (diminuindo a amplitude de nicho) (Levin & Anderson, 1970, Heithaus, 1974, Inouye, 1983). Esse deslocamento de nicho (quando uma espécie restringe seu nicho realizado à parte do seu nicho fundamental) ocorre quando, na presença de visitantes mais efetivos na obtenção de recursos, os mais generalistas tendem a ser excluídos, pois como são menos eficientes na obtenção do recurso (com longo tempo de manipulação na flor ou não conseguindo obter o máximo de recurso disponível) a quantidade de energia obtida frente à competição é desvantajosa (Schaffer et al, 1979, Pyke, 1982, Corbet et al., 1995).

Durante os períodos de recursos limitantes provavelmente se estabeleceram as características das flores com quilha invertida e estas, utilizando um grupo mais restrito de polinizadores, diferente das flores com quilha, teriam se estabilizado como linhagens evolutivas diferentes. Assim, apenas quando ocorre essa redução de nicho realizado devido à competição interespecífica é que a seleção favoreceria caracteres que promovessem os polinizadores mais efetivos em cada morfologia, os quais são mais efetivos na quantidade ou qualidade do pólen transferido (Jonhson et al., 1998, Medel et al., 2007, Muchhala et al., 2009). Estas características seriam aquelas encontradas em uma morfologia e não em outra como o desenvolvimento dos encaixes de botão de pressão, o espessamento da margem superior das alas para o funcionamento das flores com quilha invertida e o desenvolvimento das lamelas lunadas para apoio dos visitantes nas flores com quilha normal.

A constância floral tem sido mencionada como um fator que contribuiria para a especiação simpátrica (Jones, 1978, Gegear & Burns, 2007), embora a opinião corrente é que apenas esta característica não seria o suficiente para criar uma situação em que a especiação ocorra (Grant, 1993, 1994, Chittka et al., 1999). No entanto, no presente cenário foi adicionado o efeito da competição interespecífica e duas das formas de isolamento mecânico mencionadas por Grant (1994); (1) isolamento por especialização em grupos de polinizadores com tamanhos corporais diferentes e (2) isolamento devido à utilização de diferentes partes do corpo do polinizador para a deposição de pólen,

mesmo que os mesmos visitantes sejam utilizados. Este segundo aspecto é ainda mais importante e também é mencionado por Pauw (2006) para uma comunidade onde uma guilda de orquídeas é polinizada pela mesma espécie de polinizador, porém cada orquídea usa uma parte diferente do corpo do visitante. Nesse caso, mesmo que estas plantas continuem competindo pelo polinizador (competição por exploração) estas não competem por interferência direta através da deposição interespecífica de pólen nos estigmas com conseqüente diminuição da receptividade estigmática ao pólen intraespecífico (Carpenter, 1978). Mesmo se as plantas fossem compatíveis entre si, no caso dos dois fenótipos de flores com quilha no cenário proposto, não haveria fluxo gênico entre os fenótipos devido à morfologia floral, contribuindo para uma seleção disruptiva.

Coyne e Orr (2004) propõem quatro critérios para a identificação de casos de especiação simpátrica, os quais foram ligeiramente modificados por Bolnick e Fitzpatrick (2007) e são aqui resumidos:

1. Espécies que hipoteticamente surgiram através da especiação simpátrica devem apresentar uma sobreposição de sua distribuição geográfica;
2. A especiação deve ser completa;
3. Clados que surgiram por especiação simpátrica devem constituir espécies irmãs.
4. A história biogeográfica e evolutiva dos grupos deve fazer com que a existência de uma fase alopátrica seja muito improvável.

A hipótese apresentada é congruente com todos estes critérios. Quanto ao primeiro critério, a ampla distribuição das flores de Faboideae permitiria um surgimento em quase qualquer região biogeográfica onde estes legumes ocorrem. Para o gênero *Canavalia* sugere-se que sua distribuição original seria congruente com os quatro gêneros mais próximos dentro da subtribo Diocleinae. Para as demais espécies de flores com quilha invertida é necessária uma melhor definição das espécies de flores que compõe o clado-irmão de Clitoriinae.



O segundo critério permite diferentes interpretações dependendo do conceito de espécie utilizado. As flores com quilha invertida compõem espécies independentes sob as diversas definições de espécie. Usando o conceito filogenético de espécie, o segundo critério mescla-se com o terceiro e também é confirmado pelos estudos recentes com bases em análises moleculares das relações filogenéticas entre os grupos de Faboideae, sobretudo entre na subtribo Diocleinae. Mais uma vez uma maior definição das relações filogenéticas de Clitoriinae é necessária para conclusões sobre este clado.

O último critério seria o mais difícil de ser demonstrado e de fato, na hipótese apresentada é utilizado o caminho inverso. Ao invés de comentar o qual difícil seria um surgimento alopátrico das morfologias distintas, foram apresentados razões que facilitariam a idéia de um surgimento simpátrico. Esta idéia, no entanto, contradiz uma das condições que facilitariam o surgimento simpátrico de espécies que é a grande variação entre traços ou alta taxa de mutação na nova espécie (Gavrilets, 2004). No entanto, quando considerada as características comportamentais dos visitantes quanto à escolha de flores durante o forrageamento, sobretudo sua pequena capacidade de aprendizado, se uma nova morfologia floral surge em uma comunidade e demanda um novo aprendizado, características morfológicas distintas por parte dos visitantes e oferece quantidades de recursos diferentes, é pouco provável que os polinizadores troquem as flores com as quais já estão acostumados em detrimento da nova. Se esta nova espécie, no entanto, apresenta uma alta taxa de mutação, criando rapidamente novas restrições aos bichos a tendência a esta ser ignorada pelos visitantes é ainda maior.

Por fim vale lembrar que uma maior compreensão das relações filogenéticas entre os grupos de flores com quilha normal e invertida, principalmente as relações dos grupos irmãos de Clitoriinae, permitiriam estudos de reconstrução da forma floral ancestral que poderia ter antecedido as flores com quilha invertida.

## 6. CONCLUSÃO

As flores melitófilas com quilha invertida em Faboideae apresentam uma série de particularidades quanto à sua morfologia, com cada um dos gêneros funcionando de uma maneira diferente apesar de todos utilizarem o mesmo grupo funcional de visitantes. As diferentes morfologias e funcionamentos indicam que esta característica surgiu independente nos diferentes gêneros, mesmo em Clitoriinae.

Quando comparadas com as flores com quilha normal, a maioria das estruturas para o funcionamento das flores com quilha invertida estão presentes e são compartilhadas pelas flores com as duas morfologias. No entanto algumas características indicam uma adaptação ao funcionamento e aos visitantes mais efetivos em cada uma das morfologias, como as margens espessadas das alas, o desenvolvimento dos encaixes de botão de pressão e a rigidez do estandarte nas flores com quilha invertida e a presença de lamelas lunadas em algumas flores com quilha.

Apesar do funcionamento diferencial das flores com quilha e quilha invertida, o comportamento e grupo funcional dos polinizadores é o mesmo. Estes visitantes apresentam o mesmo comportamento ao visitarem as diferentes formas das flores, no entanto sua eficiência é limitada principalmente pelas características morfológicas relacionadas ao tamanho, comprimento das partes bucais e capacidade de posicionar as partes bucais de forma prognata.

A definição de grupos funcionais é condizente para as flores com quilha normal e invertida, desde que mais de uma característica seja utilizada para a definição destes grupos. As flores com quilha são polinizadas principalmente por abelhas pequenas que coletam pólen, ou médias com partes bucais funcionalmente prognatas enquanto as flores com quilha invertida são polinizadas principalmente por abelhas grandes, com partes bucais longas. Para *C. brasiliensis* são mais efetivos os visitantes com partes bucais funcionalmente hipognatas, para *C. fairchildiana* é necessário partes bucais funcionalmente prognatas e *C. pascuorum* é a única espécie com quilha invertida que admite abelhas de tamanho menor, com partes bucais funcionalmente prognatas, mas

o grupo de polinizadores formado por abelhas grandes com partes bucais hipognatas são os mais efetivos na transferência de pólen. A mesma definição de grupos funcionais onde mais características dos visitantes, de comportamento e de morfologia, são consideradas é uma proposta que deve ser observada em estudos de biologia floral em outras espécies.

As características observadas para definição de grupos funcionais servem inclusive para definir outras funções dos visitantes, principalmente sua função como pilhadores.

Por último é provável que tenha ocorrido uma especiação simpátrica disruptiva em uma comunidade de plantas e polinizadores para o surgimento das flores com quilha invertida. As características morfológicas semelhantes das duas morfologias florais, as mesmas necessidades morfológicas e comportamentais dos visitantes em ambas as formas da flor e a utilização de grupos funcionais próximos corroboram com essa hipótese.

O fenótipo flor com quilha invertida parece exigir poucas mudanças morfológicas e genéticas nas flores com quilha normal e o local de deposição de pólen diferenciado em cada morfologia cria uma grande barreira contra a hibridização. Aliada a esta barreira, adaptações destas flores a grupos funcionais de visitantes um pouco diferentes e a hipótese de eventos que criariam uma limitação de recursos para os polinizadores criariam uma situação de exclusão competitiva entre os visitantes de flores com quilha normal e quilha invertida que aumentaria a segregação das duas morfologias florais em linhagens evolutivas diferentes.

O presente trabalho trás grandes contribuições na compreensão do funcionamento e evolução das flores com quilha e quilha invertida em Faboideae e em como a morfologia floral influencia o comportamento dos visitantes. Uma maior compreensão pode ser alcançada com uma maior definição das relações filogenéticas entre os grupos de plantas e com estudos com as relações de comportamento e morfologia dos visitantes associados à visitas nas flores e como estas características se relacionam ao relacionamento filogenético entre os grupos de abelhas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrol, D. P. 2005. Pollination energetics. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 8(1): 3-14.

Aguiar, C. M. L., Zanella, F. C. V., Martins, C. F., Carvalho, C. A. L. de. 2003. Plantas visitadas por *Centris* spp. (Hymenoptera: Apidae) na caatinga para obtenção de recursos florais. **Neotropical Entomology**, 32(2): 247-259.

Aizen, M. A. 2003. Influences of animal pollination and seed dispersal on winter-flowering in a temperate mistletoe. **Ecology**, 84: 2613–2627

Antonini, Y., Souza, H. G., Jacob, C. M., Mury, F. B. 2005. Diversidade e comportamento dos insetos visitantes florais de *Stachytarpheta glabra* Cham. (Verbenaceae), em uma área de campo ferruginoso, Ouro Preto, MG. **Neotropical Entomology**, 34(4): 555-564.

Armbruster, W. S., Fenster, C. B., Dudash, M. R. 2000. Pollination ‘principles’ revisited: Specialization, pollination syndromes, and the evolution of flowers. **Det Norske Videnskaps-akademi. I. Matematisk Naturvidenskapelige Klasse, Skrifter**, 39: 139-148.

Arroyo, M. T. K. 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). **Advances in legume systematic**. Kew: Royal Botanic Gardens. p. 723-769.

Ayasse, M., Schiestl, F. P., Paulus, H. F., Löfstedt, C., Hansson, B., Ibarra, F., Francke, W. 2000. Evolution of reproductive strategies in the sexually deceptive orchid *Ophrys sphegodes*: How does flower-specific variation of odor signals influence reproductive success? **Evolution**, 54(6): 1995-2006.

Barreiros, A. L. B. S. 2005. Constituintes químicos bioativos de *Dioclea violaceae*. **Tese (Doutorado em Química)**. Universidade Federal da Bahia, Salvador. 286 pp.

Barrera, E. De la., Nobel, P. S. 2004. Nectar: Properties, floral aspects and speculations on origin. *Trends in Plant Science*, 9(2): 65-69.

Bascompte, J., Jordano, P. 2007. Plant-animal mutualistic networks: the Architecture of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 38: 567 -593.

Basibuyuk, H. H., Quicke, D. L. J. 1999. Grooming behaviours in the Hymenoptera (Insecta): potential phylogenetic significance. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 125: 349-382.

Basilio, A. M., Medan, D., Torretta, J. P., Bartoloni, N. J. 2006. A year-long plant-pollinator network. *Austral Ecology*, 31: 975-983.

Bawa, K. S. 1979. Breeding systems of trees in a tropical wet forest. *New Zealand Journal of Botany*, 17: 521-524.

Belaïde, Y., Chtourou-Ghorbel, N., Marrakchi, M., Trifi-Farah, N. 2006. Genetic diversity within and between populations of *Lathyrus genus* (Fabaceae) revealed by ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 1413-1418.

Bernardello, L., Galleto, L. 2005. Nectar: La realidad del mito. *Ciencia Hoy*, 5(30): 35-40.

Bezerra, E. L. S., Machado, I. C., Mello, M. A. R. 2009. Pollination networks of oil-flowers: Tiny world within the smallest of all worlds. *Journal of Animal Ecology*, 78: 1096-1101.

Blüethgen, N. 2010. Why network analysis is often disconnected from community ecology: A critique and an ecologist's guide. *Basic and Applied Ecology*, 11: 185-195.

Bolnick, D. I., Fitzpatrick, B. M. 2007. Sympatric speciation: Models and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 38:459-487.

Borges, H. B. N. 2006. Biologia reprodutiva de *Centrosema pubescens* Benth. (Fabaceae). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, sér. Ciências Naturais**. 1(1): 31-38.

Brahim, N. B., Combes, D. Marrakchi, M. 2001. Autogamy and allogamy in genus *Lathyrus*. **Lathyrus Lathyrism Newsletter**, 2: 21 – 26.

Brito, V. L. G., Pinheiro, M., Sazima, M. 2010. *Sophora tomentosa* e *Crotalaria vitellina* (Fabaceae): biologia reprodutiva e interações com abelhas na restinga de Ubatuba, São Paulo. **Biota Neotropica**, 10(1): 185-192.

Bruneau, A., Forest, F., Herendeen, P. S., Klitgaard, B. B., Lewis, G. P. 2001. Phylogenetic relationships in the Caesalpinioideae (Leguminosae) as inferred from chloroplast *trnL* intron sequences. **Systematic Botany**, 26(3): 487-514.

Buchmann, S. L., Cane, J. H. 1989. Bees assess pollen returns while sonicating *Solanum* flowers. **Oecologia**, 81: 289-294.

Buchmann, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperm. *In*: Jones, C.E., Little, R. J.(eds). **Handbook of experimental pollination biology**. Van Nostrand Reinhold, New York. p.294-309.

Buzato, S., Sazima, M., Sazima, I. 2000. Hummingbird-pollinated Floras at three Atlantic Forest sites. **Biotropica**, 32(4b): 824-841.

Cakmak, I., Sanderson, C., Blocker, T. D., Pham, L. L., Checotah, S., Norman, A. A., Harader-Pate, B. K., Reindenbaugh, R. T., Nenchev, P., Barthell, J. F., Wells, H. 2009. Different solutions by bees to a foraging problem. **Animal Behavior**. 77: 1273–1280.

Carpenter, F. L. 1978. A spectrum of nectar-eater communities. **American Zoologist**. 18:809-819.

Castellanos, M. C., Wilson, P., Thomson, J. D. 2004. 'Anti-bee' and 'pro-bird' changes during the evolution of hummingbird pollination in *Pestemon* flowers. **Journal of Evolutionary Biology**, 17: 876-885.

Ceolin, G. B., Miotto, S. T. S. 2009. O gênero *Collaea* DC. (leguminosae, Papilionoideae) na região Sul do Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, 23(4): 991-998.

Chittka, L. Gumbert, A., Kunze, J. 1997. Foraging dynamics of bumble bees: Correlates of movements within and between plant species. **Behavioral Ecology**, 8(3): 239-249.

Chittka, L., Thomson, J. D., Waser, N. M. 1999. Flower constancy, insect psychology, and plant evolution. **Naturwissenschaften**, 86: 361-377.

Cooley, A. M., Carvallo, G., Willis, J. H. 2008. Is Floral Diversification associated with pollinator divergence? Flower shape Colour and Pollinator preference in Chilean *Mimulus*. **Annals of Botany**, 101: 641-650.

Corbet, S. A., Saville, N. M., Fussell, M., Prys-Jones, O. E., Unwin, D. M. 1995. The competition box: A graphical aid to forecasting pollinator performance. **The Journal of Applied Ecology**, 32(4): 707-719.

Coyne, J. A., Orr, H. A. 2004. **Speciation**. Sunderland, MA: Sinauer. 545 pp.

Daehler, C. C. 1998. Variation in self-fertility and the reproductive advantage of self-fertility and the reproductive advantage of self-fertility for an invading plant (*Spartina alterniflora*). **Evolutionary Ecology**. 12(5): 553-568.

Darwin, C. 1876. On the effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom. John Murray, London.

Darwin, C. 1877. On the various contrivances by which british and foreign orchids are fertilized. **London, Murray. 2nd Ed.** 365 pp.

de Queiroz, L. P. 2008. Re-establishment, synopsis and new combinations in the genus *Bionia* Mart. Ex Benth. (Leguminosae: Papilionoideae). **Neodiversity**, 3:13-18.

de Queiroz, L. P., Fortunato, R. H., Giulietti, A. M. (2003). Phylogeny of the Diocleinae (Papilionoideae: Phaseoleae) based on morphological characters. In: Klitgaard, B. B., Bruneau, A. (Eds). **Advances in Legume Systematics, part 10, Higher Level Systematics**. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 303-324.

Dedej, S., Delaplane, K. S. 2004. Nectar-robbing carpenter bees reduce seed-setting capability of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in rabbiteye blueberry, *Vaccinium ashei*, 'climax'. **Environmental Entomology**, 33(1): 100-106.

Doyle, J. J., Chappill, J. A., Bailey, D. C., Kajita, T. 2000. Towards a comprehensive phylogeny of legumes: evidence from rbcL sequences and non-molecular data. In: Herendeen, P. S., Bruneau, A. (Eds). **Advances in Legume Systematics**. Royal Botanic Gardens, Kew. pp 1–20.

Doyle, J. J., Luckow, M. A. 2003. The rest of the iceberg. Legume Diversity and evolution in phylogenetic context. **Plant Physiology**, 131: 900-910.

Dressler, R. L. 1982. Biology of the Orchid Bees (Euglossini). **Annual Review of Ecology and Systematics**, 13: 373-394.

Ehrlich, P. R., Raven, P. H. 1964. Butterflies and plants: A study in coevolution. **Evolution**, 18: 586-608.

Elberling, H., Olensen, J. M. 1999. The structure of a high latitude plant-pollinator system: the dominance of flies. **Ecography**, 22: 314–323.

Endress, P. K. 1996. **Diversity and Evolutionary Biology of Tropical Flowers**. Cambridge University Press. Great Britain. 511 p.

Endress, P. K. 2001a. Origins of flower morphology. **Journal of Experimental Zoology (Mol. Dev. Evol.)**, 291: 105 – 115.



Endress, P. K. 2001b. The flowers in extant basal angiosperms and inference on ancestral flowers. **International Journal of Plant Sciences**, 162(5): 1111-1140.

Endress, P. K., Doyle, J. A. 2009. Reconstructing the ancestral angiosperm flower and its initial specializations. **American Journal of Botany**, 96(1): 22-66.

Etcheverry, A. V., Protomastro, J. J., Westerkamp, c. 2003. Delayed autonomous self-pollination in the colonizer *Crotalaria micans* (Fabaceae: Papilionoideae): structural and functional aspects. **Plant Systematics and Evolution**. 239: 15-28.

Faegri, K., Pijl, L. van der. 1979. **The principles of pollination ecology**. Pergamon Press. Oxford. 2° ed. 291p.

Fenster, C. B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., Thomson, J. D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. **Annual Review of ecology and evolution systematics**, 35:375-403.

Fleming, T. H., Holland, J. N. 1998. The evolution of obligate pollination mutualisms: senita cactus and senita moth. **Oecologia**, 114: 368-375.

Flores, A. S., Miotto, S. T. S. 2005. Aspectos fitogeográficos das espécies de *Crotalaria* L. (Leguminosae, Faboideae) na Região Sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 19(2): 245-249.

Franco, A. L. M. 1995. Ecologia de polinização e biologia reprodutiva de sete espécies de *Phaseoleae*. **Tese (Doutorado em Biologia Vegetal)**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 100 p.

Friml, J., Wisniewska, J., Benková, E., Mendgen, K., Palme, K. 2002. Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidops*. **Nature**, 415: 806-809.

Fulton, L., Batoux, M., Yadav, R. K., Schneitz, K. 2006. The genetic control of flower size and shape. *In*: Ainsworth, C. C. (Ed). **Flowering and its manipulation**. Blackwell Publishing Ltd., Ashford, Kent. 304 pp.

Gavrilets S. 2004. **Fitness Landscapes and the Origin of Species**. Princeton: Princeton Univ. Press. 476 pp.

Gegear, R. J., Burns, J. G. 2007. The birds, the bees, and the virtual flowers: can pollinator behavior drive ecological speciation in flowering plants? **The American Naturalist**, 170(4): 551-556.

Gegear, R. J., Lavery, T. M. 2001. The effect of variation among floral traits on the flower constancy of pollinators. *In*: Chittka, L., Thomson, J. D. (Eds). **Cognitive Ecology of Pollination: Animal Behaviour and Floral Evolution**. Cambridge University Press, Cambridge. 344 pp.

Giménez-Benavides, L., García-Camacho, R., Iriondo, J. M., Escudero, A. 2010. Selection on flowering time in Mediterranean high-mountain plants under global warming. **Evolutionary Ecology**, on line, sem pp.

Ginsberg, H. S. Foraging ecology of bees in an old field. **Ecology**, 64(1): 165-175.

Goldenberg, R., Penneys, D. S., Almeda, F., Judd, W. S., Michelangeli, F. A. 2008. Phylogeny of *Miconia* (Melastomataceae): Patterns of stamen diversification in a megadiverse neotropical genus. **International Journal of Plant Sciences**, 169(7): 963-979.

Gonçalves, R. B., Melo, G. A. R., Aguiar, A. J. C. 2009. A assembléia de abelhas (Hymenoptera, Apidae) de uma área restrita de campos naturais do Parque Estadual de Vila Velha, Paraná e comparações com áreas de campos e cerrado. **Papéis Avulsos de Zoologia**, 49(14): 163-181.

Goodwillie, C. 1999. Wind pollination and reproductive assurance in *Linanthus parviflorus* (Polemoniaceae), a self-incompatible annual. **American Journal of Botany** 86(7): 948–954.

Gorelick, R. 2001. Did insect pollination cause increased seed plant diversity? **Biological Journal of the Linnean Society**, 74: 407–427.

Gottsberger, G., Silberbauer-Gottsberger, I. 1988 Evolution of flower structures and pollination in neotropical Cassiinae (Caesalpiniaceae) species. **Phyton**, 28(2): 293-320.

Gottsberger, G., Silberbauer-Gottsberger, I. 2006. **Life in the cerrado: A South American tropical seasonal vegetation. Vol. 2. Pollination and Seed Dispersal.** Ulm, Reta Verlag, 383p.

Goulson, D. 1999. Foraging strategies of insects for gathering nectar and pollen, and implications for plant ecology and evolution. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, 2(2): 185-209.

Goulson, D. 2000. Are insects flower constant because they use search images to find flowers? **Oikos**, 88: 547-552.

Grant, V. 1950. The protection of the ovules in flowering plants. **Evolution**, 4(3): 179-201.

Grant, V. 1993. Origin of floral isolation between ornithophilous and sphingophilous plant species. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, 90: 7729–7733.

Grant, V. 1994. Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, 91: 3–10.

Greenleaf, S. S., Willians, N. M., Winfree, R., Kremen, C. 2007. Bee foraging ranges and their relationship to body size. **Oecologia**, 153: 589-596.

Grimaldi, D. 1999. The co-radiation of pollinating insects and angiosperms in the Cretaceous. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 86: 373–406.

Grimaldi, D., Engel, M. S. 2005. **Evolution of the Insects**. Cambridge University Press: Cambridge, 755 p.

Guimarães, D. M. 2009. Ecologia reprodutiva de *Clitoria laurifolia* Poir. (Fabaceae: Faboideae): da floração à dispersão de sementes. **Dissertação de mestrado (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente)**. Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo. 62 pp.

Guimarães, E., Stasi, L. C., Maimoni-Rodella, R. C. S. 2008. Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. **Annals of Botany**, 102: 699-711.

Guimarães, P. R. G. Jr., Rico-Gray, V., Oliveira, P. S., Izzo, T. J. 2007. Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. **Current Biology**, 17: 1797-1803.

Harder, L. D. 1990. Pollen removal by bumble bees and its implications for pollen dispersal. **Ecology** 71(3): 1110-1125.

Harder, L. D., Barrett, S. C. H. 1996. Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. *In*: Lloyd, D. G., Barrett, S. C. H. **Floral Biology: Studies on floral evolution in animal-pollinated Plants**. Chapman & Hall, Nova Iorque, pp. 140-190.

Harder, L. D., Thomson, J. D. 1989. Evolutionary options for maximizing pollen dispersal of animal-pollinated plants. **The American Naturalist**, 133: 323-344.

Hardin, G. 1960. The competitive exclusion principle. **Science**, 131: 1292-1297.

Heinrich, B. 1974. Bee flowers: A hypothesis on flower variety and blooming times. **Evolution**, 29: 325-334.

Heinrich, B. 1975. Energetics of pollination. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 6: 139-170.

Heinrich, B. 1976. Resource partitioning among some eusocial insects: bumblebees. **Ecology**, 57:874-889.

Heinrich, B., Raven, P. H. 1972. Energetics and Pollination Ecology. **Science**, 176: 597 – 602.

Heithaus, E., R. 1974. The role of plant-pollinator interactions in determining community structure. **Annual Missouri Botanical Garden**, 61: 675-691.

Herrera CM. 1995. Floral biology, microclimate, and pollination by ectothermic bees in an early-blooming herb. **Ecology**, 76: 218–228.

Herrera, C. M. 2005. Plant generalization on pollinators: Species property or local phenomenon? **American Journal of Botany**, 92(1): 13-20.

Herrera, C.M. 2001. Deconstructing floral phenotype: do pollinators select for corolla integration in *Lavandula latifolia*? **Journal of Evolutionary Biology**, 14: 574–584.

Huston, M. 1979. A general hypothesis of species diversity. **The American Naturalist**. 113(1): 81-101.

Inouye, D.W. 1983. The ecology of nectar robbing. in Bentley, B., Elias, T. (Eds.). **The biology of nectaries**. Columbia University Press, New York, New York, USA. Pags. 153-173.

Inouye, D. W. 1978. Resource partitioning in bumblebees: Experimental studies of foraging behavior. **Ecology**, 59(4) 672-678.

Inouye, D. W. 1980. The terminology of floral larceny. **Ecology**, 67:133-138.

Inouye, D. W. 1980a. The Effect of proboscis and corolla tube lengths on patterns and rates of flower visitation by bumblebees. **Oecologia**, 45: 197-201.

Irwin, R. E., Brody, A. K. 1999. Nectar-robbing bumblebees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). **Ecology**, 80: 1703-1712.

Jakson, M. T., Yunus, A. G. 1984. Variation in the grass pea (*Lathyrus sativus* L.) and wild species. **Euphytica**, 33: 549-559.

Jander, R. 1976. Grooming and pollen manipulation in bees (Apoidea): the nature and evolution of movements involving foreleg. **Physiological Entomology**, 1: 179–194.

Johnson, D. J., Steiner, k. E. 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. **Trends in Ecology Evolution**, 15(4): 140-143.

Johson, S. D., Linder, H. P., Steiner, K. E. 1998. Phylogeny and radiation of pollination systems in *Disa* (Orchidaceae). **American Journal of Botany**, 85(3): 402-411.

Jones, C. E. 1978. Pollinator constancy as a pre-pollination isolating mechanism between sympatric species of *Cercidium*. **Evolution**, 32(1): 189-198.

Jordano, P., Bascompte, J., Olensen, J. M. 2003. Invariant properties in coevolutionary networks of plant–animal interactions. **Ecology Letters**, 6: 69-81.

Junior, M. G. C. G., Barros, R., Silva, F. R., Vasconcelos, G. J. N. 2005. Occurrence and biological aspects of the *Clitoria* tree psyllid in Brazil. **Scientia Agricola**, 62(3): 281-285.

Kajita, T., Ohashi, H., Tateishi, Y., Bailey, C. D., Doyle, J. J. 2001. *rbcL* and legume phylogeny, with particular reference to Phaseolae, Milletteae, and allies. **Systematic Botany**, 26(3): 515-536.

Käss, E., Wink, M. 1996. Molecular evolution of the Leguminosae: Phylogeny of three subfamilies based on *rbcL*-sequences. **Biochemical Systematics**, 24(5): 365-378.

Käss, E., Wink, M. 1997. Phylogenetic relationships in the Papilionoideae (family Leguminosae) based on nucleotide sequences of cpDNA (*rbcL*) and ncDNA (ITS 1 and 2). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 8(1):65-88.

Kiester, A. R., Lande, R., Schemske, D. W. 1984. Models of coevolution and speciation in plants and their pollinators. **The American Naturalist**, 124(2): 220-243.

Knight, T. M., Steets, J. A., Vamosi, J. C., Mazer, S. J., Burd, M., Campbell, D. R., Dudash, M. R., Johnston, M. O., Mitchell, R. J., Ashman, T. 2005. Pollen limitation of plant reproduction: Pattern and process. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, 36: 467-497.

Kodric-Brown, A., Brown, J. H. 1979. Competition between distantly related taxa in the coevolution of plants and pollinators. **American Zoology**, 19: 1115-1127

Krenn, W. H., John, D. P., Szucsich, N. U. 2005. Mouthparts of flower-visiting insects. **Arthropod Structure & Development**, 34: 1-40.

Labandeira, C. C. 1997. Insect mouthparts: Ascertaining the paleobiology of insect feeding strategies. **Annual Reviews of Ecology Systematics** 28: 153-193.

Larson, B. M. H., Barrett, S. C. H. 1999. The pollination ecology of buzz-pollinated *Rhexia virginica* (Melastomataceae). **American Journal of Botany**, 86(4): 502-511.

Levin, D. A., Anderson, W. W. 1970. Competition for pollinators between simultaneously flowering species. **The American Naturalist**, 104: 455-467.

Lewis, D. 1979. Genetic versatility of incompatibility in plants. **New Zealand Journal of Botany**, 17:637-644.

Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., Lock, M. 2005. **Legumes of the world**. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

Lorenzi, H. 1992. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo da plantas nativas do Brasil**. Nova Odessa, SP : Ed. Plantarum, 4º Ed. 384 pp.

Machado, I. C., Lopes, A. V. 2004. Floral traits and pollination systems in the caatinga, a brazilian tropical dry forest. **Annals of Botany**. 94: 365-376.

Maloo, J. E. 2001. The effects of a bumble bee nectar robber on plant reproductive success and pollinator behavior. **American Journal of Botany**, 88(11): 1960-1965.

Mansano, V.F., Tucker, S. C., Tozzi A, M, G, A. 2002. Floral ontogeny of *Lecointea*, *Zollernia*, *Exostyles*, and *Harleyodendron* (Leguminosae: Papilionoideae: Swartzieae s. l.). **American Journal of Botany**, 89(10): 1553–1569

Marazzi, B., Conti, E., Endress P. K. 2007. Diversity in anthers and stigmas in the buzz-pollinated genus *Senna* (Leguminosae, Cassiinae). **International Journal of Plant Sciences**, 168: 371–391.

Medel, R., Valiente, A., Botto-Mahan, C., Carvallo, G., Pérez, F., Pohl, N., Navarro, L. 2007. The influence of insects and hummingbirds on the geographical variation of the flower phenotype in *Mimulus luteus*. **Ecography**, 30: 812-818.

Melander, A. L. 1902. The nesting habits of *anthidium*. **Biological Bulletin**, 3:23-34.

Menzel, R. 2001. Behavioral and neural mechanisms of learning and memory as determinants of flower. *In*: Chittka, L., Thomson, J. D. (Eds). **Cognitive Ecology of Pollination: Animal Behaviour and Floral Evolution**. Cambridge University Press, Cambridge. 344 pp.

Michener, C. D. 2007. **The bees of the world**. Baltimore, Johns Hopkins University Press, 2º ed, 953 p.



Milles, J. W., Clements, R. J., Grof, B., Serpa, A. 1990. Genetics and breeding of *Centrosema*. In: CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). **Centrosema: biology, agronomy, and utilization**. Cali: CIAT publication, 668 p.

Mitchell, R. J., Flanagan, R. J., Brown, B. J., Waser, N. M., Karron, J. D. 2009. New frontiers in competition for pollination. **Annals of Botany**, 103: 1403-1413

Morgan, M. T. 2000. Evolution of interactions between plants and their pollinators. **Plant Species Biology** 15: 249-259

Motten, A. F., Campbell, D. R., Alexander, D. E., Miller, H. L. 1981. Pollination effectiveness of specialist and generalist visitors to a North Carolina population of *Claytonia virginica*. **Ecology**, 62(5): 1278-1287.

Muchhala, N., Caiza, A., Vizquete, J. C., Thomson, J. D. 2008. A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*. **Annals of Botany**. 103: 1481–1487

Müller, A. 1996. Convergent evolution of morphological specializations in Central European bee and honey wasp species as an adaptation to the uptake of pollen from nototribic flowers (Hymenoptera, Apoidea and Massaridae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 57: 235 – 252

Müller, A., Diener, S., Schnyder, S., Stutz, K., Sedivy, C., Dorn, S. 2006. Quantitative pollen requirements of solitary bees: Implications for bee conservation and the evolution of bee-flower relationships. **Biological Conservation**. 130(4): 604-615.

Nadia, T. de L., Machado, I. C. 2005. Polinização por vibração e sistema reprodutivo de duas espécies de *Sauvagesia* L. (Ochnaceae). **Revista Brasil. Bot.**, 28(2): 255-265.

Nascimento, E., Del-Claro, K. 2007. Floral visitors of *Chamaecrista debilis* (Vogel) Irwin & Barneby (Fabaceae – Caesalpinoidea) at Cerrado of Estação Ecológica de Jataí, São Paulo. State, Brasil. **Neotropical Entomology**, 36(4): 619- 624.

Navarro, L. 2000. Pollination ecology of *Anthyllis vulneraria* sbsp. *Vulgaris* (Fabaceae): Nectar robbers as pollinators. **American Journal of Botany**, 87(7): 980-985.

Neal, P. R., Dafni, A., Giurfa, M. 1998. Floral symmetry and its role in plant-pollinator systems: terminology, distribution, and hypotheses. **Annual Reviews of Ecological Systematics**, 29: 345–373.

Niv, Y., Joel, D., Meilijson, I., Ruppin, E. 2002. Evolution of reinforcement learning in foraging bees: a simple explanation for risk averse behavior. **Neurocomputing**, 44–46: 951 – 956.

Obermuller, E. A., Nascimento, G. B., Gava, H. Z., Ribeiro, L. F., Silva, A. G. O. contraste entre síndromes de polinização e sistemas efetivos de polinização e suas perspectivas para ecossistemas associados à Mata Atlântica. **Natureza on-line**, 6(1): 42-47. [on-line] <http://www.naturezaonline.com.br>.

Ollerton J. 1996. Reconciling ecological processes with phylogenetic patterns: the apparent paradox of plant–pollinator systems. **Journal of Ecology**, 84: 767–769.

Ollerton, J., Alarcón, R., Waser, N. M. 2009. A global test of the pollination syndrome hypothesis. **Annals of Botany**, 103: 1471–1480.

Pacini, E., Nepi, M. Vesprini, J. L. 2003. Nectar biodiversity: a short review. **Plant Systematics and Evolution**, 238: 7-21.

Pandey. 1979. Overcoming incompatibility and promoting genetic recombination in flowering plants. **New Zealand Journal of Botany**, 17:645-663.

Pauw, A. 2006. Floral syndromes accurately predict pollination by a specialized oil-collecting bee (*Rediviva peringueyi*, Melittidae) in a guild of South African orchids (Coryciinae). **American Journal of Botany**. 93(6): 917–926.

Pellmyr, O., Krenn, H. W. 2002. Origin of a complex key innovation in a obligate insect-plant mutualism. **PNAS**, 99(8): 5498-5512

Pennington, R. T., Lavin, M., Ireland, H., Klitgaard, B. B., Preston, J., Hu, M. 2001. Phylogenetic relationships of basal papilionoid legumes based upon sequences of the chloroplast intron trnL. **Systematic Botany**, 26:537–556.

Pennisi, E. 2009. On the origin of flowering plants. **Science**, 324: 28-31.

Peters, M., Shultze-Kraft, R. 2010. *Centrosema pascuorum* Mart. Ex Benth. In: Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). **Grassland Species Profile**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Gbase/Default.htm>>. Acesso em: 27/10/2010.

Pleasants, J. M. 1981. Bumblebee Response to variation in nectar availability. **Ecology**, 62(6): 1648-1661.

Popielarz, P. A., Mcpherson, J. M. 1995. On the edge or in between: Niche position, niche overlap and duration of voluntary association memberships. **The American Journal of Sociology**, 101(3): 698-720.

Portela, R. C. Q., Silva I. L., Piña-Rodrigues, F. C. M. 2001. Crescimento inicial de mudas de *Clitoria fairchildiana* Howard e *Peltophorum dubium* (Spreng) Taub em diferentes condições de sombreamento. **Ciência Florestal**, 11(2): 163-170.

Potts, S. G., Vulliamy, B., Dafni, A., Ne'eman, G., Willmer, P. 2003. Linking bees and flowers: How do floral communities structure pollinator Communities? **Ecology**, 84(10): 2628-2642.

Pyke, G. H. 1982. Local geographic distributions of bumblebees near Crested Butte, Colorado: Competition and community structure. **Ecology**, 63(2): 555-573.

Ricklefs, R. E. 2003. **A economia da natureza**. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S. A., 5ª Ed.

Robertson C. 1928. **Flowers and Insects. Lists of Visitors of Four Hundred and Fifty-Three Flowers**. Carlinville, IL: Charles Robertson. 221 pp.

Robertson, C. 1917. Flowers and insects XX: Evolution of entomophilous flowers. **Botanical Gazette**, 63(4): 307-316.

Sampson, B. J., Danka, R. G., Stringer, S. J. 2004. Nectar robbery by bees *Xylocopa virginica* and *Apis mellifera* contributes to the pollination of rabbiteye blueberry. **Apiculture and Social Insects**, 97(3): 735-740.

Sánchez-Lafuente, A. M., Guitián, J., Medrano, M., Herrera, C. M., Rey, P. J., Cerdá, X. 2005. Plant traits, environmental factors, and pollinator visitation in winter-flowering *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae). **Annals of Botany**, 96: 845-852.

Sauer, J. 1964. Revision of *Canavalia*. **Brittonia**, 16: 106-181.

Sauer, J., Kaplan, L. 1969. *Canavalia* beans in American prehistory. **American Antiquity**, 34(4): 417-424.

Schaffer, W. M., Jendsen, D. B., Hobbs, D. E., Gurevitch, J., Todd, J. R., Schaffer, M. V. 1979. Competition, foraging energetics and the cost of sociality in three species of bees. **Ecology**, 60(5): 976-987.

Schloen, M., Peters, M., Schultze-Kraft, R. 2010. *Canavalia brasiliensis* Mart. ex Benth. In: Food and Agriculture Organization of The United Nations (FAO). **Grassland Species Profile**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Gbase/Default.htm>>. Acesso em: 27 Out 2010.

Schultze-Kraft, R.; Williams, R. J., Coradin, L. 1990. Biogeography of *Centrosema*. In: CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). **Centrosema: biology, agronomy, and utilization**. Cali, Colombia: CIAT publication, 668 pgs.

Schwinning, S., Sala, O. E. 2004. Hierarchy of Responses to Resource Pulses in Arid and Semi-arid Ecosystems. **Oecologia** 141: 211-220

Sede, S. M., Tosto, D. S., Gottlieb, A. M., Poggio, L., Fortunato, R. H. 2008. Genetic relationships in the *Galactia-Camptosema-Collaea* complex (Leguminosae) inferred from AFLP markers. **Plant Systematics Evolution**, 276:261-270.

Silveira, F. A., Melo, G. A. R., Almeida, E. A. B. **Abelhas brasileiras: Sistemática e classificação**. Belo Horizonte, Edição do autor, 253 pgs.

Simpson, M. G. 2006. **Plant Systematics**. Elsevier-Academic Press, 590 pp.

Soltis, P. S., Brockington, S. F., Yoo, M., Piedrahita, A., Latvis, M., Moore, M. J., Chanderbali, A. S., Soltis, D. E. Floral variation and floral genetics in basal angiosperms. **American Journal of Botany**, 96(1): 110-128.

Spears, E. E. Jr. 1987. Island and mainland pollination ecology of *Centrosema virginianum* and *Opuntia stricta*. **Journal of Ecology**. 75(2): 351-362.

Sprengel, C. K. 1793. Das entdeckte Geheimnis der Natur im Bau und in der Befruchtung der Blumen. Berlin, Belin F. Vieweg, 72p.

Stebbins, G. L. 1970. Radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: Pollination mechanisms. **Annual Reviews**, 1: 307-326.

Stirton, C. H. 1981. Petal sculpturing in papilionoid legumes. *In*: Polhill, R. M., Raven, P. H. (Eds). **Advances in Legume Systematics (Part II)**, Royal Botanic Garden, Kew. 1050 pp.

Sulaiman, S. F., Culham, A, Harborne, J. B. 2003. Molecular phylogeny of Fabaceae based on *rbcL* sequence data: With special emphasis on the tribe Mimoseae (Mimosoideae). **Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology**, 11(1): 9-35.

Takebayashi, N., Morrell, P. L. 2001. Is self-fertilization an evolutionary dead end? Revisiting an old hypothesis with genetic theories and a macroevolutionary approach. **American Journal of Botany**. 88(7): 1143-1150.

Taura, H. M., Laroca, S. 2004. Biologia da polinização: interações entre as abelhas (Hym., Apoidea) e as flores de *Vassobia breviflora* (Solanaceae). **Acta Biologica**, 33 (1, 2, 3, 4): 143-162.

Thiem, L. B., Bernhardt, P., Devall, M. S., Chen, Z., Luo, Y., Fan, J., Yuan, L., Williams, J. H. Pollination biology of basal angiosperms (ANITA grade). **American Journal of Botany**, 96(1): 166-182.

Thompson, J. N. 1994. **The coevolutionary process**. University of Chicago press, Chigago. 376 pgs.

Thompson, J. N. 1997. Evaluating the dynamics of coevolution among geographically structured populations. **Ecology**, 78(6): 1619 – 1623.

Thompson, J. N. 1999. Specific hypotheses on the geographic mosaic of coevolution. **The American Naturalist**, 153: Suplemento (S1 – S14).

Thomson, J. D., Wilson, P. 2008. Explaining evolutionary shifts between bee and hummingbird pollination: Convergence, divergence, and directionality. **International Journal of Plant Sciences**, 169 (1): 23-38.

Tinbergen, L. 1960. The natural control of insects in pine woods. 1. Factors influencing the intensity of predation by songbirds. **Archives Néerlandaises de Zoologie**, 13: 265–343.

TROPICOS.org. © 2010. **Missouri Botanical Garden**. Disponível em: <<http://www.tropicos.org>>. Acesso em 18 Dez 2010.

Tucker, S. C. 2003. Floral Development in legumes. **Plant Physiology**, 131: 911-926.

Vázquez, D. P., Aizen, M. A. 2004. Assymmetric specialization: A pervasive feature of plant-pollinator interactions. **Ecology**, 85(5): 1251-1257.

Vázquez, D. P., Blüthgen, N., Cagnolo, L., Chacoff, N. P. 2009. Uniting pattern and process in plant-animal mutualistic networks: a review. **Annals of Botany**, 103: 1445–1457.

Vázquez, D. P., Melián, C. J., Williams, N. M., Blüthgen, N., Krasnov, B. R., Poulin, R. 2007. Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks. **Oikos**, 116: 1120-1127.

Vogel, S. 1954. **Blütenbiologische stiltypen als elemente der sippengliederung, dargestellt anhand der flora Südafrikas**. Jena: Fischer. 338 pp.

Vogel, S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In: Richards, A. J. (ed). The pollination of flowers by insects. **Linnean Society Symposium Series** No. 6. London. Academic Press.

Waser, N. M. 2001. Pollinator behavior and plant speciation: looking beyond the “ethological isolation” paradigm. In: Chittka, L., Thomson, J. D. (Eds). **Cognitive ecology of Pollination: Animal behavior and floral evolution**. Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra, 344 pgs.

Waser, N. M., Chittka, L., Price, M. V., Williams, N. M., Ollerton J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. **Ecology**, 77(4): 1043-1060.

Waser, N. M., Chittka, L., Price, M. V., Williams, N. M., Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination Systems and why it matters. **Ecology**, 77(4): 1043-1060.

Westerkamp, C. 1993. The co-operation between the asymmetric flower of *Lathyrus latifolius* (Fabaceae – Viciaeae) and its visitors. **Phyton**, 33(1): 121-137.

Westerkamp, C. 1996. Pollen in bee-flower relations: Some considerations on melittophily. **Botanica Acta**, 109: 325-332.

Westerkamp, C. 1997a. Flowers and bees are competitors - not partners. Towards a new understanding of complexity in specialized bee oves. **Acta Horticulturae**, 437: 71 – 74.

Westerkamp, C. 1997b. Keel blossoms: Bee flowers with adaptations against bees. **Flora**, 192: 125 -132

Westerkamp, C. 2004. Flores e abelhas na disputa. **Ciência Hoje**, 34(10): 66-68.

Westerkamp, C., Classen-Bockhoff, R. 2007 Bilabiate flowers: The ultimate response to bees? **Annals of Botany**, 1-14

Westerkamp, C., Soares, A. A., Amaral-Neto, L. P. 2006. Male and female booths with separate entrances in the tiny flowers of *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae-Byttnerioideae). I. Structural integration. **Flora**, 201: 389-395.

Willis , K.J.; McElwain, J.C. 2002. **The evolution of plants**. Oxford University Press: Oxford,378 p.

Wojciechowski, M. F. 2003. Reconstructing the phylogeny of legumes (Leguminosae): An early 21<sup>st</sup> century perspective. In: Klitgaard, B. B., Bruneau, A. (Eds). **Advances in Legume Systematics, part 10, higher level systematic**, Royal Botanic Gardens, Kew, 5-35 pp.

Woodell, S. R. J. 1979. The role of unspecialized pollinators in the reproductive success of Aldabran plants. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, 286(1011): 99-108.

Zeisler, M. 1938. Über die abgrenzung der eigentlichen narbenfläche mit reaktionen. **Beihefte zum Botanischen Centralblatt, Sect. A** 58: 308-318.



## **CAPÍTULO II**

**Comportamento de autolimpeza e agregamento de pólen em abelhas**

## RESUMO

### Comportamento de autolimpeza e agregamento de pólen em abelhas

Entre os recursos florais usados pelas abelhas está o pólen que quando coletado ou ingerido é perdido para efeitos de reprodução da flor. A dispersão do pólen aumenta quando sua remoção é restringida, como nos casos de deposição do pólen em regiões de difícil acesso no corpo do visitante. Mesmo nesses casos, é esperado que o pólen seja removido dessas áreas durante a autolimpeza. Para entender como a autolimpeza interfere na transferência de pólen, abelhas foram observadas e filmadas durante visitas em flores de *Clitoria fairchildiana* (pólen na mesopleura), *Canavalia brasiliensis*, *Campis* sp. (no dorso do metassoma) e *Dillenia indica* (ventralmente no mesossoma e metassoma) e enquanto se limpavam quando pulverizadas com amido de milho. Para remoção do pólen de *D. indica* da parte ventral do corpo, *Bombus morio* fricciona as seguintes partes do corpo em sentido único nessa ordem: (1) tibia e basitarso das pernas medianas contra a parte ventral do metassoma e lateral da pleura; (2) pernas medianas entre as pernas posteriores; (3) pernas posteriores friccionando-se mutuamente e também contra as laterais e ápice do metassoma. As pernas medianas são usadas para moldar o pólen na corbícula. Quando pulverizadas com amido de milho, a limpeza procede com fricção entre: (1) pernas anteriores contra olhos e antenas; (2) metassoma e perna colateral posterior contra asas, com estas posicionando-se entre os primeiros; (3) pernas posteriores contra o metassoma, enquanto este se movimenta de um lado para outro; (4) abdômen contra as asas fechadas. O terceiro e quarto tergos permanecem sujos dorsalmente. Sempre as duas pernas medianas são usadas de apoio. Para limpeza do dorso e parte mais ventral da pleura apenas uma perna mediana é usada, enquanto as outras servem de apoio. A limpeza do mesonoto é repetida poucas vezes enquanto os outros movimentos se repetem continuamente. *Xylocopa frontalis* não alcança o centro do mesonoto e, sem apoio, não consegue se limpar na parte ventral. Apenas *B. morio* limpou-se (olho, antenas e a parte dorsal do mesossoma) entre visitas às flores, apenas em *C. fairchildiana*. Embora algumas abelhas possam retirar o pólen depositado em partes do corpo de difícil acesso durante a autolimpeza, a deposição do pólen nestas regiões pode ser uma alternativa à remoção excessiva deste, uma vez que o comportamento de autolimpeza ocorre raramente entre as visitas e tais regiões do corpo são manipuladas poucas vezes.

Palavras-chave: Comportamento de limpeza em abelhas, manipulação de pólen, polinização.

## ABSTRACT

### Grooming and pollen grooming in bees

Entre os recursos florais usados pelas abelhas está o pólen que quando coletado ou ingerido é perdido para efeitos de reprodução da flor. A dispersão do pólen aumenta quando sua remoção é restringida, como nos casos de deposição do pólen em regiões de difícil acesso no corpo do visitante. Mesmo nesses casos, é esperado que o pólen seja removido dessas áreas durante a autolimpeza. Para entender como a autolimpeza interfere na transferência de pólen, abelhas foram observadas e filmadas durante visitas em flores de *Clitoria fairchildiana* (pólen na mesopleura), *Canavalia brasiliensis*, *Campis* sp. (no dorso do metassoma) e *Dillenia indica* (ventralmente no mesossoma e metassoma) e enquanto se limpavam quando pulverizadas com amido de milho. Para remoção do pólen de *D. indica* da parte ventral do corpo, *Bombus morio* fricciona as seguintes partes do corpo em sentido único nessa ordem: (1) tíbia e basitarso das pernas medianas contra a parte ventral do metassoma e lateral da pleura; (2) pernas medianas entre as pernas posteriores; (3) pernas posteriores friccionando-se mutuamente e também contra as laterais e ápice do metassoma. As pernas medianas são usadas para moldar o pólen na corbícula. Quando pulverizadas com amido de milho, a limpeza procede com fricção entre: (1) pernas anteriores contra olhos e antenas; (2) metassoma e perna colateral posterior contra asas, com estas posicionando-se entre os primeiros; (3) pernas posteriores contra o metassoma, enquanto este se movimenta de um lado para outro; (4) abdômen contra as asas fechadas. O terceiro e quarto tergos permanecem sujos dorsalmente. Sempre as duas pernas medianas são usadas de apoio. Para limpeza do dorso e parte mais ventral da pleura apenas uma perna mediana é usada, enquanto as outras servem de apoio. A limpeza do mesonoto é repetida poucas vezes enquanto os outros movimentos se repetem continuamente. *Xylocopa frontalis* não alcança o centro do mesonoto e, sem apoio, não consegue se limpar na parte ventral. Apenas *B. morio* limpou-se (olho, antenas e a parte dorsal do mesossoma) entre visitas às flores, apenas em *C. fairchildiana*. Embora algumas abelhas possam retirar o pólen depositado em partes do corpo de difícil acesso durante a autolimpeza, a deposição do pólen nestas regiões pode ser uma alternativa à remoção excessiva deste, uma vez que o comportamento de autolimpeza ocorre raramente entre as visitas e tais regiões do corpo são manipuladas poucas vezes.

Keywords: Bee grooming, pollen manipulation, pollination.

## 1. INTRODUÇÃO

As abelhas visitam flores buscando diferentes recursos entre eles: perfumes, abrigo, resina (Morgan, 2000, Aguiar et al., 2003, Machado & Lopes, 2004, Krenn et al., 2005) mas o principal objetivo é a busca por fontes de nutrientes : pólen e néctar (Westerkamp, 2007).

Apesar do néctar ser o principal chamariz utilizado pelas angiospermas para atrair os visitantes florais (Bernadello, 2007), várias espécies apresentam o pólen como único atrativo e são polinizadas por abelhas que dependem deste recurso para alimentação de suas larvas (Buchmann, 1983, Michener, 2007).

Uma vez que o pólen contém os gametas masculinos necessários para a polinização cruzada, o pólen coletado ou ingerido pelas abelhas pode ser considerado perdido para efeitos de reprodução das plantas, uma vez que este nunca entrará em contato com o estigma de outra flor (Westerkamp, 1996, 2004). Portanto, a retirada excessiva de grãos de pólen pelas abelhas ou a transferência insuficiente de pólen para os estigmas receptivos cria uma condição de limitação de pólen na população das plantas (Motten et al., 1981). Essa condição ocorre quando a produção de frutos e sementes é menor do que o esperado se a quantidade de pólen fosse adequada (Knight, et al., 2005).

A dispersão do pólen aumenta quando a capacidade de remoção deste pelos visitantes florais é restringida, e a flor é capaz de se utilizar de todos os polinizadores disponíveis para transferir o pólen das anteras até o estigma receptivo de outra planta (Harder & Thompson, 1989, Harder, 1990).

Várias características das flores podem ser interpretadas como adaptações contra uma excessiva retirada de pólen pelas abelhas. Anteras poricidas restringem o acesso ao pólen a abelhas capazes de vibrar estas estruturas e estão presentes em várias famílias de angiospermas (Buchmann, 1983, Taura & Laroca, 2004, Nadia & Machado, 2005), flores labiadas depositam o pólen no dorso do visitante, o que dificultaria sua remoção por parte dos visitantes (Müller, 1996, Westerkamp & Classen-Bockhoff, 2007) e flores com quilha possuem uma os esporofilos cerrados

no interior das pétalas da quilha, impedindo o livre acesso ao pólen (Westerkamp, 1997).

Além das anteras porcidas e das flores com quilha, algumas das espécies com estas morfologias apresentam uma deposição diferencial de pólen em partes alternativas do corpo dos visitantes. Em algumas flores com anteras porcidas existe uma divisão de trabalho entre anteras e o pólen depositado em diferentes partes do corpo dos visitantes possui diferentes destinos, seja coleta para alimentação das larvas das abelhas ou a deposição no estigma de outra flor (Buchmann, 1983, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988, Marazzi et al., 2007, Luo et al., 2008). Entre as flores com quilha, algumas apresentam uma apresentação secundária de pólen e este tem uma apresentação pleurotrípica ou nototrípica, substituindo a deposição esternotrípica (Westerkamp, 1993, 1997, Etchevery et al., 2003). Algumas dessas flores com quilha são ressupinadas, ou seja, possuem uma inversão na morfologia das flores, de modo que a quilha assume uma posição dorsal e o estandarte uma posição ventral. Dessa forma, ao invés da deposição do pólen ser esternotrípica, estas flores com quilha ressupinadas (invertidas) depositam o pólen no dorso do visitante, onde não pode ser alcançado (Westerkamp & Classen-Bockhoff, 2007).

Observa-se nessas flores, além da restrição ao acesso ao pólen das anteras, uma tendência evolutiva à deposição deste em partes de difícil acesso no corpo dos visitantes. Alguns trabalhos mostram que apenas uma pequena parte do pólen removido das anteras chega de fato ao estigma de outra flor (Thomson, 1986, Hader & Thomson, 1989, Rademaker et al., 1997, Harder et al., 2001).

Harder & Barret (1996) sugerem que estas perdas acontecem durante o vôo entre as flores, sobretudo devido aos movimentos de autolimpeza das abelhas. Apesar de existirem trabalhos com descrições dos movimentos de limpeza em abelhas (Jander, 1976, Michener et al., 1978, Thorp, 1979, Kimsey, 1984) pouco é discutido sobre como esse comportamento de fato interfere na transferências de pólen entre flores.

Uma vez que a alocação de pólen em certas partes do corpo dos polinizadores pode reduzir as perdas durante seu transporte (Harder & Thomson, 1989, Harder & Barret, 1996) e que algumas plantas evoluíram de modo a depositar o pólen em diferentes partes do corpo dos visitantes (Marazzi et al., 2007, Luo et al., 2008, Westerkamp, 1993,

1997, Etchevery et al., 2003, Westerkamp & Classen-Bockhoff, 2007) o presente trabalho tem como objetivo relacionar os locais de deposição de pólen pelas flores com os comportamentos de limpeza e coleta de pólen das abelhas.

Dessa forma, pretende-se estabelecer quais os locais do corpo das abelhas são realmente de difícil acesso durante a autolimpeza, determinar quais as diferenças entre os movimentos de agregamento de pólen e autolimpeza e se existe alguma diferença nesses movimentos quando os polinizadores visitam flores com diferentes locais de deposição de pólen.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 METODOLOGIA

Para compreender melhor o comportamento de limpeza das abelhas este foi analisado enquanto estas visitavam as flores de *Clitoria falchirdiana* (pólen na pleura), *Centrosema pascuorum* (pólen no dorso) e *Dillenia indica* (pólen espalhado ventralmente, pernas e metassoma, Fig. 7H). Estas espécies foram escolhidas por apresentarem diferentes locais de deposição do pólen para comparar o comportamento das abelhas em relação a cada um deles. O comportamento pode ser comparado entre uma flor visitada para coleta de pólen e flores que não são visitadas com este objetivo. Além do comportamento durante as visitas, quatro fêmeas de *Bombus morio*, duas de *Xylocopa frontalis* e duas de *X. grisescens* foram capturadas em um recipiente plástico transparente e pulverizadas com amido de milho (Fig. 7I) e seu comportamento de limpeza também foi filmado e analisado em câmera lenta com os programas VLC Media Player e Real Player.

O comportamento de limpeza foi analisado quanto à frequência, quantidade de movimentos e forma dos movimentos utilizados. Estes dados foram inferidos por meio de observações diretas e filmagens enquanto as abelhas visitavam as flores. Detalhes dos movimentos foram capturados do vídeo e desenhados para maior detalhamento usando o programa Corel Draw X5.

### 2.2 LOCAIS DE ESTUDO

*Clitoria fairchildiana* e *Dillenia indica* foram estudadas na Reserva Estadual do Palmito, Paranaguá, Paraná (25°35'34"S, 48°33'43" W, 10m). A vegetação local se caracteriza como uma área de transição entre a Floresta Atlântica e áreas de mangue e restinga. Para as duas espécies foram estudados indivíduos que foram plantados na entrada da reserva.

*Centrosema pascuorum* foi estudada na Estação Experimental de Morretes do Instituto Agronômico do Paraná, Morretes, Paraná (25°30'24"S, 48°48'21", 21m). A área sofre bastante influencia antrópica com várias plantações de árvores frutíferas. A própria espécie estudada é exótica e foi plantada com intuito de servir de alimento ao gado.

### 2.3 TERMINOLOGIA

A terminologia usada para descrever os movimentos de limpeza das abelhas e manipulação do pólen serão os mesmos usados por Jander (1976). Segundo este autor existe três modos básicos de limpeza: Fricção (rubbing), raspagem (scraping) e mordiscagem (nibbling).

Na fricção, duas partes do corpo mutuamente se esfregam uma contra a outra, em ambas as direções, sem perderem o contato durante a ação. Mesmo que durante a fricção os movimentos sejam bidirecionais, a sujeira é gradualmente arrastada em apenas uma direção, graças ao direcionamento dos pêlos. A fricção é um movimento terminal de limpeza uma vez que elimina a sujeira de uma parte do corpo ao invés de transferi-la de uma parte para outra.

Durante a raspagem, a ação é unilateral com uma clara distinção entre a parte que executa a limpeza e a parte que é limpa. A estrutura que executa a limpeza toca uma área da parte a ser limpa e esfrega-se em uma única direção ao longo desta. No fim do movimento a estrutura que executa a limpeza retorna à posição inicial, percorrendo um sentido inverso, mas sem contato com a estrutura a ser limpa. Este movimento pode se repetir várias vezes. O movimento de raspagem transfere a sujeira da estrutura que foi limpa para aquela que executou a limpeza. Para Michener et al. (1978) termos mais específicos para a raspagem seriam "pentear" (combing), quando a estrutura que realiza a limpeza possui uma fileira de pelos e "escovar" (brushing) quando a estrutura possui uma escova de pelos. Os próprios autores argumentam, no entanto, que tal terminologia não seria suficiente



para distinguir entre movimentos de fricção e de raspagem por isso optam por manter estes termos à parte das descrições dos movimentos.

O último movimento de limpeza consiste em passar as antenas ou pernas entre as partes bucais abertas enquanto a maxila faz pequenos movimentos mordiscando estas estruturas.

Para a orientação dos movimentos, foi utilizado o termo “para frente (forward)” quando o movimento era realizado no sentido do metassoma para a cabeça da abelha e “para trás (backward)” para o sentido oposto. “Para baixo (downward)” refere-se a movimentos no sentido do dorso para o ventre e “para cima (upward)” o sentido inverso. Para os movimentos nas asas e pernas serão utilizados os termos segundo Michener et al. (1978): “apicalmente (apicad)”, quando o movimento é no sentido da parte proximal até a parte distal da superfície a ser limpa (da tégula à extremidade da asa ou das articulações mais próximas da coxa em direção aos tarsos) e “basalmente (basad)” quando o movimento ocorre no sentido oposto. Os termos ipsolateral e contralateral serão usados para descrever respectivamente “o mesmo lado” e “de lados opostos” em relação ao corpo da abelha.

A própria terminologia dos movimentos relacionados ao pólen e à limpeza das abelhas de modo geral pode gerar certa confusão. Aqui será chamado de **autolimpeza** (*grooming*) os movimentos relacionados à limpeza das abelhas e retirada e eliminação de partículas da superfície do corpo. Quando estes movimentos de limpeza têm por objetivo retirar o pólen de outras partes do corpo e movê-lo para estruturas onde o pólen é transportado será utilizado o termo **agregamento de pólen**, relativo ao termo em inglês “*pollen grooming*”.

No caso específico da limpeza no presente trabalho existem duas maneiras como as abelhas manipulam o pólen no corpo: (1) O pólen adquirido passivamente é removido do corpo como resultado da autolimpeza, preservando o sentido deste termo como “limpeza” ou seja, remoção de partículas do corpo. Desta forma esta ação seria traduzida como “autolimpeza de pólen”; (2) Quando o pólen é coletado de maneira ativa, o objetivo final da autolimpeza é a deposição do pólen removido do corpo nas estruturas de transporte, e não remoção e eliminação deste do corpo. Por

isso a utilização do termo “limpeza”, mesmo que “autolimpeza de pólen” (o que seria uma opção para o termo em inglês *pollen grooming*) é impróprio, pois passa a idéia que a abelha vai eliminar o pólen que foi juntado, criando confusão com o que ocorre quando a coleta de pólen é passiva. Por tanto, uma vez que o termo “coleta” está associado com a remoção de pólen das flores, a remoção de pólen do corpo para estruturas de transporte precisa de um termo diferente. Por isso se optou pela utilização do termo **agregamento de pólen**.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 COMPORTAMENTO DE LIMPEZA NAS FLORES

##### 3.1.1 *Bombus morio* em *Dillenia indica*

Em *D. indica* foi observada apenas *B. morio* (fig. 7H). Durante a coleta de pólen a abelha vibra as anteras, recebendo pólen na parte ventral, pernas e eventualmente no dorso do metassoma, mesossoma e cabeça. Em seguida apóia-se com as pernas posteriores e mandíbula nas anteras ou pétalas da flor e inclina o metassoma para cima. As pernas anteriores não participam dos movimentos de agregamento de pólen, no entanto, quando este é depositado sobre a cabeça, a abelha raspa a parte interior da perna posterior sobre os olhos e antenas, em um movimento para baixo uma ou duas vezes consecutivas. Esse movimento relaciona-se com limpeza da abelha, uma vez que após estes movimentos as abelhas são vistas caminhando ou voando, sem executar transferência do pólen da perna anterior para as demais.

A tíbia e primeiro tarsômero das pernas medianas dobradas raspam para trás e lateralmente para baixo, contra na parte ventral do tórax e lateral da pleura para a remoção de pólen dessa área. As pernas posteriores raspam a parte ventral do metassoma com as duas pernas movendo-se na mesma direção, para trás e ao mesmo tempo. Depois de uma ou duas raspagens, as pernas posteriores se juntam e friccionam-se uma contra a outra.

Em seguida, as tíbias das pernas medianas são raspadas basalmente entre as pernas posteriores. Esse movimento provavelmente consiste numa transferência do pólen retirado do metassoma, para as pernas medianas. Isso porque após estes movimentos, as pernas medianas são usadas para moldar o pólen na corbícula. Durante esse movimento, as pernas medianas abrem e fecham sobre a massa de pólen depositado na corbícula. Apesar de pólen ser depositado também sobre o metassoma e dorso do visitante, a abelha não foi observada limpando estas partes do corpo durante as visitas à flor de *D. indica*.

### 3.1.2 *Bombus morio* em *Clitoria fairchildiana* e *Centrosema pascuorum*

Após algumas visitas em *C. fairchildiana*, *B. morio* se limpa pousada no estandarte da flor com as pernas medianas raspando para frente o dorso do tórax. Cada perna executa um movimento. Em seguida, a abelha executa um movimento de raspagem com as pernas dianteiras na cabeça e antenas, de cima para baixo, o qual também se repete no máximo duas vezes com cada perna. Em períodos com chuva, quando as flores estavam úmidas, as abelhas foram observadas algumas vezes pousando nos galhos da árvore para executar movimentos de autolimpeza onde, além da cabeça e tórax, as asas também eram limpas. Interessante notar que em *C. fairchildiana* a deposição de pólen é pleurotróbica, no entanto os movimentos de limpeza das abelhas ocorrem no dorso e cabeça. Tal comportamento, portanto, deve ser um reflexo ao toque e atrito das partes das abelhas com as partes florais, e não um comportamento de agregamento de pólen.

Em *C. pascuorum*, *B. morio* limpou-se entre algumas visitas de maneira semelhante à autolimpeza em *C. fairchildiana*. A diferença é que alguns indivíduos limpavam o dorso do mesossoma raspando as duas pernas medianas concomitantemente. Esse movimento é menos eficiente na retirada do pólen, pois as pernas nesta posição não retiram o pólen da parte mediana do dorso. Foi observado que os movimentos de limpeza das pernas medianas removem parte do pólen depositado no dorso das abelhas e também foi observada a limpeza da perna posterior sendo raspada entre a tíbia e fêmur da perna mediana dobrada. A limpeza da perna anterior ocorreu após a limpeza das antenas e cabeça por aquela perna. Apesar de estes movimentos gerarem um acúmulo de partículas na perna mediana (o pólen principalmente depositado na tíbia), não foi observada transferência de pólen para a corbícula entre as visitas às flores, porém também não foram observados movimentos com a finalidade de livrar a perna mediana dos grãos de pólen.

### 3.1.3 Demais abelhas nas flores

Em geral, as demais espécies de abelhas não foram observadas executando movimentos de limpeza ou agregamento de pólen entre as visitas nas flores estudadas. Apenas *X. suspecta* foi observada limpando a face, enquanto pousada no estandarte de *C. pascuorum*, após uma visita. Contudo, esta espécie foi observada poucas vezes e não foi

possível estabelecer um padrão em seu comportamento. Talvez o fato de *Xylocopa* não se limpar entre as visitas esteja relacionado com sua necessidade de apoio para os movimentos do metassoma, que serão descritos a seguir.

*Euglossa anodorhynchi* também se limpou após visitas em *C. pascuorum* de maneira semelhante àquela empregada por *B. morio*, com as duas pernas medianas raspando simultaneamente o dorso do mesossoma para frente.

### 3.2 CÂMARA DE LIMPEZA

Durante a autolimpeza de *B. morio* no recipiente plástico, a limpeza dos olhos e antenas se repete várias vezes, mas em cada ciclo de limpeza destas áreas são feitos poucos movimentos. Logo em seguida ou mesmo simultaneamente, a limpeza da parte mediana e distal da asa e partes laterais e distal do metassoma é executada com a abelha posicionando a asa entre o metassoma e a perna posterior ipsolateral e movendo ambos apicalmente, de cima para baixo, repetidas vezes (fig. 7J-7L). Para a limpeza do metassoma, as duas pernas posteriores raspam para trás, enquanto este é movimentado de um lado para outro, em um movimento semelhante ao de agregamento de pólen em *D. indica*. Algumas vezes, as asas são fechadas e o metassoma move-se de um lado para outro, friccionando-se contra elas, enquanto simultaneamente uma das pernas raspa para trás de um lado do metassoma. Durante esses movimentos, a sujeira é transferida do metassoma para as asas e para as pernas posteriores.

Esses movimentos juntos limpam a parte proximal dorsal do metassoma (fricção contra as asas fechadas), as laterais (fricção durante a limpeza das asas e raspagem contra as pernas posteriores) e a parte distal (raspagem contra as pernas posteriores). A região dorsal do terceiro e quarto tergos permanecem sujos. A parte mais distal do dorso do metassoma, apesar de não ser tocada provavelmente é limpa enquanto os segmentos abdominais são telescopados repetidas vezes. Durante todo o processo, sempre três ou quatro pernas são usadas de apoio. As duas pernas medianas servem de apoio para todos os outros movimentos.

Para limpeza da parte dorsal do mesossoma são usadas cinco pernas como apoio enquanto uma das pernas medianas dobra-se para cima, sobre o mesonoto e faz apenas um movimento para frente. Esse movimento inicia-se junto à tégula e contribui na limpeza

da parte mais basal da asa (fig. 7M-7N). Durante esse movimento, a parte interna do fêmur raspa contra a pleura e os tarsos e parte da tíbia contra o mesonoto. Algumas vezes as pernas medianas dobram-se e limpam a parte mais ventral da pleura. A limpeza da pleura é, portanto, o resultado desse movimento de limpeza ventrolateral e o movimento de limpeza dorsal. A limpeza do mesossoma se repete poucas vezes em relação aos outros movimentos e em grandes espaços de tempo.

Para a limpeza das pernas posteriores, as pernas ipsolaterais medianas são dobradas e então a perna dianteira esfregada repetidas vezes na superfície interna do fêmur, tíbia e basitarso, bem como entre elas. Durante esse movimento, a sujeira acumulada nas pernas posteriores é transferida para as pernas medianas. Após essa transferência, a perna mediana raspa basalmente a superfície externa da tíbia e basitarsos das pernas posteriores. O fêmur, portanto, não é limpo pela raspagem com outra perna, talvez em parte este seja limpo enquanto esta estrutura raspa com a pleura durante a limpeza da parte dorsal da abelha. Em seguida, a posição das pernas é invertida e a perna mediana raspa-se contra a superfície interna da perna posterior, dessa forma limpando os dois lados da tíbia e basitarso da perna média. O último movimento é o que realmente livra a abelha da sujeira. Depois de raspar as asas, metassoma e serem raspadas pelas pernas medianas, as pernas posteriores friccionam entre si em movimentos rápidos, fazendo finalmente a sujeira ser jogada fora das partes do corpo da abelha.

*Xylocopa frontalis* apresenta comportamento de limpeza semelhante ao de *B. morio*, mas para a limpeza da parte dorsal do mesossoma apenas alguns tarsos mais distais tocam o corpo da abelha, dessa forma o centro do mesonoto nunca é tocado. Curiosamente esta é a única parte glabra do dorso da abelha, exatamente a região que não é alcançada durante a autolimpeza, tanto em *X. frontalis* quanto em *X. grisescens*. Outra diferença é que não foi observada a limpeza do olho com a perna posterior. Essa limpeza foi realizada durante o mesmo movimento de limpeza do dorso com a perna mediana (fig. 7O). Enquanto os tarsos da perna mediana raspavam contra o dorso para frente, ao chegar próximo à cabeça, a abelha virava a cabeça e erguia as pernas contralaterais, inclinando o corpo em direção à perna, e assim limpando em partes o olho ipsolateral.

A limpeza das asas é executada da mesma forma, mas a asa é colocada sob o metassoma, e não de lado como em *B. morio*.

Para limpeza ventral, *X. frontalis* dobra o metassoma para baixo, formando um arco, como durante as visitas às flores. Desta forma, porém, a abelha não tem apoio e acabava caindo para trás. Quando tentava se limpar ventralmente, *X. frontalis* se apoiou em

um fragmento de planta que por acaso caíra no recipiente e dobrou o metassoma para baixo, mas como este estava solto, a abelha se desequilibrava e caía com as pernas para cima, o que indica que *X. frontalis* precisa de um apoio para seus movimentos de limpeza. No experimento com *X. grisescens* foi adicionado um suporte de madeira no qual a abelha poderia se apoiar. De fato a abelha dobra o metassoma para baixo enquanto se apóia com as pernas medianas e posteriores e procede com a limpeza das asas e parte ventral do metassoma. Além disso, *X. grisescens* apresentou o movimento de limpeza das antenas e cabeça com a perna posterior, raspando estas estruturas de cima para baixo. Os demais movimentos de limpeza e transferência de partículas são semelhantes ao já descrito em *B. morio*.

Em ambas as espécies o propódeo, base do primeiro tergo metassomal, tíbias e pleuras acima das coxas nunca são limpas. Em *Xylocopa*, o vértice e região dos ocelos também são raramente tocados pelas pernas.

### 3.3 AGREGAMENTO DE PÓLEN VERSUS AUTOLIMPEZA

A comparação entre os dois comportamentos permite concluir que ambos apresentam praticamente os mesmos movimentos. No entanto, a limpeza do dorso apenas ocorre durante a autolimpeza, estando ausente durante o agregamento de pólen. Durante as visitas às flores, os movimentos de limpeza do dorso e da cabeça se repetem algumas vezes, principalmente em *B. morio*, mas esse comportamento é um reflexo ao toque com as partes florais, e, portanto característico da autolimpeza uma vez que as abelhas realizam estes movimentos mesmo quando grãos de pólen não são depositados durante a visita ou quando o pólen é depositado na pleura, e não no dorso. O movimento de moldar o pólen na corbícula usa a mesma posição das pernas que durante a autolimpeza entre a perna mediana e a posterior, no entanto ao invés das pernas rasparem uma contra a outra, a perna mediana toca a superfície da corbícula. Também foi observada a transferência de pólen das pernas posteriores para as anteriores por *B. morio* em *D. indica*, enquanto todos os movimentos de transferência de partículas entre as pernas durante a autolimpeza ocorriam das pernas anteriores para as posteriores. Portanto a limpeza do dorso e asas são movimentos exclusivos e característicos da autolimpeza enquanto a transferência de pólen para a corbícula e a transferência de partículas inversa, ou seja, das pernas posteriores para as anteriores são característicos do agregamento de pólen.

#### 4. DISCUSSÃO

Como já comentado o comportamento de autolimpeza e agregamento de pólen podem ter sido um dos fatores que selecionaram a deposição de pólen em partes do corpo de difícil acesso nas abelhas, tanto nas flores com quilha como nas flores ressupinadas. De fato, a manipulação do comportamento dos polinizadores a fim de promover a polinização cruzada é um tema recorrente na evolução da morfologia das flores (Harder et al., 2001). As partes que demonstraram mais promissoras contra a remoção de pólen foram o propódeo, base do primeiro tergo metassomal, tíbias e pleuras acima das coxas. Em *Xylocopa* ainda adiciona-se o vértice e região dos ocelos na cabeça. Estas partes constituem as mesmas regiões apontadas por Kimsey (1984) que não são tocadas durante a autolimpeza em *Euglossa*. Entre estas regiões, a tíbia e partes da cabeça, apesar de não serem limpas ativamente estão em constante movimento, estando mais sujeitas à perda passiva de pólen que as outras áreas. Estas regiões do corpo dos visitantes são as mais utilizadas pelas flores estudadas para a transferência de pólen para os polinizadores primários e secundários, com exceção de *Crotalaria* em que a deposição foi sempre estenotribica.

A deposição de pólen no dorso do visitante também parece uma boa alternativa visto que a limpeza nessa área do corpo se repete poucas vezes durante a autolimpeza na câmara de limpeza, embora seja mais frequente para *Bombus morio* entre as visitas nas flores, exija um tempo maior para ser efetuada e ainda assim se dê por poucos movimentos de raspagem. Mesmo a limpeza após as visitas às flores com quilha invertida parece mais relacionada com um comportamento natural de autolimpeza, como reflexo do contato com as partes florais que um comportamento “intencional” de remoção de pólen. Apesar do nome, as abelhas não apresentam o comportamento de autolimpeza apenas como reflexo às partículas presas ao corpo, mas também após se alimentarem, quando molhadas ou mesmo um aumento repentino na intensidade luminosa (Jander, 1976). As abelhas demonstraram também esse comportamento apenas por estarem sob o estresse do confinamento. O comportamento de limpeza do dorso também pode ser entendido como reflexo ao toque com as partes florais, pois não é observado após as visitas a *Dillenia indica*, onde a abelha é completamente pulverizada pelo pólen e é observado após as visitas em *Clitoria fairchildiana*, onde o pólen é depositado na pleura, e não no dorso.

Apenas cerca de 1-15% do pólen removido das anteras pelo visitante chega ao estigma de outra flor (Thomson, 1986, Rademaker et al., 1997, Harder et al., 2001). Um decaimento natural do número de grãos de pólen carregado no corpo da abelha acontece



durante o vôo ou mesmo enquanto as abelhas caminham entre as flores, mas a principal causa da perda dos grãos é comportamento de autolimpeza (Thomson, 1986, Rademaker et al., 1997). A quantidade de pólen transferido entre duas flores e depositado no estigma relacionado ao comportamento de autolimpeza é uma função da quantidade de pólen removido das anteras menos aquele que é perdido durante o comportamento de autolimpeza, que por sua vez relaciona-se com a razão entre o pólen depositado em locais seguros no corpo do visitante e o pólen depositado em lugares de fácil acesso durante a limpeza (Harder & Barrett, 1996). Dessa forma, quanto mais pólen depositado em partes do corpo de difícil acesso durante a autolimpeza, mais pólen é depositado no estigma, aumentando a probabilidade de reprodução da flor. Portanto a deposição nototribica e pleurotribica de pólen representam fortes pressões seletivas em direção à morfologia das flores com quilha invertida e mesmo a outros mecanismos de deposição de pólen em flores com quilha normais.

Os comportamentos de autolimpeza e agregamento de pólen mostraram diferenças entre eles. A primeira diferença refere-se às partes manipuladas. As asas e dorso do mesossoma e metassoma não são manipulados durante os movimentos de agregamento de pólen, sendo exclusivos do comportamento de autolimpeza. Os movimentos de acumulação de pólen na corbículas e a transferência de partículas de pernas posteriores para pernas anteriores são exclusivos do comportamento de agregamento de pólen.

A semelhança entre os movimentos não é em vão, vários trabalhos descrevem os aspectos do comportamento de autolimpeza e as estruturas envolvidas (Jander, 1976, Michener et al., 1978, Thorp, 1979, Kimsey, 1984) e sugerem que os movimentos de agregamento de pólen parecem uma combinação, com algumas modificações, a partir dos movimentos de autolimpeza. Os movimentos de limpeza das pernas umas contra as outras teriam uma origem mais simples ainda sendo provavelmente derivados do movimento de “caminhar” (Jander, 1976), com a diferença que as pernas são postas uma sobre a outra. Os outros movimentos de limpeza das abelhas podem ter se originado em diferentes momentos na evolução em Insecta visto que mesmo os grupos mais basais de Thysanura apresentam autolimpeza pelas partes bucais e a limpeza da asa com auxílio de movimentos do abdômen é encontrado mais primitivamente entre os Odonata (Basibuyuk & Quike, 1999).

O padrão de movimentação, para trás, das pernas mais anteriores para as posteriores de partículas de sujeira, com o descarte final sendo responsabilidade das pernas posteriores, também é observado nestes trabalhos (Jander, 1976, Thorp, 1979). O mesmo padrão também é observado para a transferência do pólen, mas nesse caso a limpeza das pernas posteriores é retardada até a chegada ao ninho, onde a abelha remove o pólen para

ser usado na alimentação da larva ou dos adultos (Jander, 1976). Thorp (1979) ressalta que a única exceção à movimentação para trás do pólen ocorre em abelhas que possuem pentes de pelos na gálea ou estipes e as utilizam para limpar a perna posterior, o que auxiliaria a ingestão do pólen para que este seja carregado no estômago das abelhas. Nos movimentos de coleta de pólen em *Dillenia indica* por *Bombus morio*, no entanto, verifica-se que para acondicionar o pólen na corbícula, a superfície interna da perna posterior é raspada pela perna mediana para transferência de pólen para esta e posterior modelagem desse pólen na corbícula por esta perna. Essa limpeza ocorre após movimentos de fricção entre as pernas posteriores que, ao invés de servirem para eliminar o pólen, provavelmente servem para acumulá-lo na parte mais distal das pernas para ser transferido para a perna mediana. Esse aspecto dos movimentos de agregamento de pólen e transferência para frente do pólen nunca fora antes observado e provavelmente é característico de abelhas que carregam pólen na corbícula.

Basibuyuk & Quike (1999) observaram e compararam o comportamento de autolimpeza em várias famílias de Hymenoptera e concluíram que para quase todos os movimentos observados apenas uma parte do corpo é limpa a cada vez e a limpeza de duas partes simultâneas ocorre em poucos casos. Entre estas exceções está a limpeza da cabeça simultaneamente à limpeza do metassoma, o que também foi observado no presente trabalho. Basibuyuk & Quike (1999) atribuíram esse comportamento de limpeza simultâneo principalmente à algumas famílias de vespas e em Apidae tal comportamento teria surgido independentemente. Outro movimento observado é a limpeza do dorso metassomal pelas duas pernas medianas simultaneamente. Nos trabalhos de autolimpeza, a limpeza desta parte pode ser feita por diferentes pernas em Hymenoptera e mesmo entre os Apidae (Basibuyuk & Quike, 1999, Jander, 1976, Thorp, 1979), mas frequentemente são representados como movimentos feitos por uma perna de cada vez. No presente trabalho, a limpeza do dorso do mesossoma por uma única perna foi mais frequente que a utilização simultânea de duas na câmara de limpeza, no entanto a movimentação simultânea das pernas ocorreu frequentemente entre as visitas às flores. O movimento simultâneo foi observado apenas em *B. morio* (na câmara de limpeza e entre visitas) e em *Euglossa anodorhynchi* (apenas entre visitas em *C. pascuorum*), ambas as espécies pertencentes à mesma tribo de Apidae e, portanto com estreito relacionamento filogenético. É possível que esse comportamento seja resultado da proximidade filogenética entre estes táxons, no entanto, como foram observadas poucas espécies a comprovação deste aspecto necessita de mais observações.

Uma vez que os movimentos simultâneos de autolimpeza em diferentes partes do corpo e a limpeza do dorso do mesossoma com as duas pernas medianas ao mesmo tempo são comportamentos raros em Hymenoptera (Basibuyuk & Quike, 1999, Jander, 1976, Thorp, 1979, Kimsey, 1984) é possível que estes comportamentos tenham se originado entre o grupo das abelhas como uma forma de agilizar o processo de autolimpeza diminuindo o tempo gasto neste processo entre períodos de forrageio.

Apesar de muitos estudos serem feitos com observações às flores com anteras poricidas e o comportamento de “buzzing” por parte dos visitantes, estes focam apenas o mecanismo de ativação das flores e do comportamento, seja pela visão da morfologia das flores ou dos visitantes (Buchmann & Cane, 1989, Buchmann, 1983, Marazzi et al., 2007, Larson & Barret, 1999, Endress, 1997, King et al, 1996). Pouco é conhecido sobre o comportamento “pós-buzzing” por parte das abelhas. Endress (1997) estudou a polinização em flores de *Dillenia*, onde encontrou *Xylocopa* como o principal visitante e polinizador. Endress (1997) não menciona em seu estudo nenhum comportamento de autolimpeza por parte das abelhas durante ou entre as visitas. No presente trabalho apenas *B. morio* foi observada em *D. indica* e esta foi observada fazendo movimentos de agregamento de pólen antes e durante a visita às flores. É possível que o comportamento de agregamento de pólen não seja observado nos estudos de polinização onde o pólen é coletado por estes movimentos serem realizados durante o vôo, tornando difícil sua observação. O aspecto de realizar agregamento de pólen ou não entre visitas em flores onde o pólen é coletado ativamente é um aspecto importante na compreensão da evolução destas flores e certamente influencia no desenvolvimento do design floral nas flores com anteras poricidas, pois estas mostram alguns aspectos evolutivos contra a deposição estenotribica de pólen como a divisão de trabalho entre as anteras e a polinização por ricochete (Westerkamp, 2004, Marazzi et al., 2007).

Outra característica dos estudos de autolimpeza que o relacionam com a transferência de pólen entre flores é que estes são feitos geralmente com abelhas sociais, principalmente *Bombus* spp. pela facilidade na criação e manipulação em experimentos controlados (Harder et al., 2001, Thomson, 1986, Harder & Thomson, 1989, Rademaker et al., 1997). A baixa porcentagem de pólen transferido também foi medida nestes trabalhos com base nestas espécies de abelhas. As observações do presente trabalho mostram que outras abelhas que se configuraram entre os visitantes mais efetivos apresentam o comportamento de autolimpeza mais raramente entre as visitas às flores e, possivelmente, um estudo detalhado revelaria que estes são capazes de transferir mais pólen que abelhas do gênero *Bombus*, onde esse comportamento é frequente.

## 5. CONCLUSÃO

Independente do local de deposição de pólen no corpo do polinizador, os movimentos de autolimpeza das abelhas é semelhante.

Tanto em *Bombus morio* quanto nas espécies estudadas de *Xylocopa* o propódeo, base do primeiro tergo metassomal, tíbias e pleuras acima das coxas nunca são limpas. Em *Xylocopa*, o vértice e região dos ocelos também são raramente tocados pelas pernas. Estas partes compõe assim os locais mais improváveis de serem manipulados durante a autolimpeza, proporcionando sítios seguros para deposição de pólen. Apesar de poder ser alcançado, o dorso das abelhas é limpo com poucos movimentos e raramente entre as visitas do polinizador.

Os movimentos de autolimpeza e agregamento de pólen são semelhantes, com pequenas diferenças: a limpeza do dorso e asas são movimentos exclusivos e característicos da autolimpeza enquanto a transferência de pólen para a corbícula e a transferência de partículas inversa, ou seja, das pernas posteriores para as anteriores são característicos do agregamento de pólen. Isso sugere uma origem comum a estes tipos de movimentos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, C. M. L., Zanella, F. C. V., Martins, C. F., Carvalho, C. A. L. de. 2003. Plantas visitadas por *Centris* spp. (Hymenoptera: Apidae) na caatinga para obtenção de recursos florais. **Neotropical Entomology**, 32(2): 247-259.

Basibuyuk, H. H., Quicke, D. L. J. 1999. Grooming behaviours in the Hymenoptera (Insecta): potential phylogenetic significance. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 125: 349-382.

Bernadello, G. 2007. A systematic survey of floral nectarines. *In*: Nicolson, S. W., Nepi, M., Pacini, E. (eds). **Nectaries and nectar**. Springer, Dordrecht. p. 19-128.

Buchmann, S. L., Cane, J. H. 1989. Bees assess pollen returns while sonicating *Solanum* flowers. **Oecologia**, 81: 289-294.

Buchmann, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperm. *In*: Jones, C.E., Little, R. J.(eds). **Handbook of experimental pollination biology**. Van Nostrand Reinhold, New York. p.294-309.

Endress, P. K. 1997. Relationships between floral organization, architecture, and pollination mode in *Dillenia* (Dilleniaceae). **Plant Systematics and Evolution**, 206: 99-118.

Gottsberger, G., Silberbauer-Gottsberger, I. 1988 Evolution of flower structures and pollination in neotropical Cassiinae (Caesalpiniaceae) species. **Phyton**, 28(2): 293-320.

Harder, L. D. & Barrett, S. C. H. 1996. Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. *In*: Lloyd, D. G., Barrett, S. C. H. **Floral Biology: Studies on floral evolution in animal-pollinated Plants**. Chapman & Hall, Nova Iorque, pp. 140-190.

Harder, L. D. 1990. Pollen removal by bumble bees and its implications for pollen dispersal. **Ecology** 71(3): 1110-1125.

Harder, L. D., Thomson, J. D. 1989. Evolutionary options for maximizing pollen dispersal of animal-pollinated plants. **The American Naturalist**, 133: 323-344.

Harder, L. D., Williams, N. M., Jordan, C. Y., Nelson, W. A. 2001. The effects of floral design and display on pollinator economics and pollen dispersal. *In*: Chittka, L., Thomson, J. D. (Eds). **Cognitive Ecology of Pollination: Animal Behaviour and Floral Evolution**. Cambridge University Press, Cambridge. 344 pp.

Jander, R. 1976. Grooming and pollen manipulation in bees (Apoidea): the nature and evolution of movements involving foreleg. **Physiological Entomology**, 1: 179–194.

Kimsey, L. S. 1984. The behavioural and structural aspects of grooming and related activities in euglossine bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Zoology**, 204(4): 541-550.

King, M. J., Buchmann, S. L., Spangler, H. 1996. Activity of asynchronous flight muscle from two bee families during sonication (buzzing). **The Journal of Experimental Biology**, 199: 2317-2321.

Knight, T. M., Steets, J. A., Vamosi, J. C., Mazer, S. J., Burd, M., Campbell, D. R., Dudash, M. R., Johnston, M. O., Mitchell, R. J., Ashman, T. 2005. Pollen limitation of plant reproduction: Pattern and process. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, 36: 467-497.

Krenn, W. H., John, D. P., Szucsich, N. U. 2005. Mouthparts of flower-visiting insects. **Arthropod Structure & Development**, 34: 1-40.

Larson, B. M. H., Barrett, S. C. H. 1999. The pollination ecology of buzz-pollinated *Rhexia virginica* (Melastomataceae). **American Journal of Botany**, 86(4): 502-511.

Luo, Z., Zhang, D., Renner, S. S. 2008. Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin's division-of-labour hypothesis. **Functional Ecology**, 22: 794–800

Machado, I. C., Lopes, A. V. 2004. Floral traits and pollination systems in the caatinga, a Brazilian tropical dry forest. **Annals of Botany**. 94: 365-376.

Marazzi, B., Conti, E., Endress P. K. 2007. Diversity in anthers and stigmas in the buzz-pollinated genus *Senna* (Leguminosae, Cassiinae). **International Journal of Plant Sciences**, 168: 371–391.

Michener, C. D. 2007. **The bees of the world**. Baltimore, Johns Hopkins University Press, 2<sup>o</sup> ed, 953 p.

Michener, C. D., Winston, M. L., Jander, R. 1978. Pollen manipulation and related activities and structures in bees of the family Apidae. **The University of Kansas Science Bulletin**, 51(19): 575-601.

Morgan, M. T. 2000. Evolution of interactions between plants and their pollinators. **Plant Species Biology** 15: 249-259

Motten, A. F., Campbell, D. R., Alexander, D. E., Miller, H. L. 1981. Pollination effectiveness of specialist and generalist visitors to a North Carolina population of *Claytonia virginica*. **Ecology**, 62(5): 1278-1287.

Müller, A. 1996. Convergent evolution of morphological specializations in Central European bee and honey wasp species as an adaptation to the uptake of pollen from nototribic flowers (Hymenoptera, Apoidea and Massaridae). **Biological Journal of the Linnean Society**, 57: 235 – 252

Müller, A., Diener, S., Schnyder, S., Stutz, K., Sedivy, C., Dorn, S. 2006. Quantitative pollen requirements of solitary bees: Implications for bee conservation and the evolution of bee-flower relationships. **Biological Conservation**. 130(4): 604-615.

Nadia, T. de L., Machado, I. C. 2005. Polinização por vibração e sistema reprodutivo de duas espécies de *Sauvagesia* L. (Ochnaceae). **Revista Brasil. Bot.**, 28(2): 255-265.

Rademaker, M. C. J., de Jong, T. J., Klinkhamer, P. G. L. 1997. Pollen dynamics of bumble-bee visitation on *Echium vulgare*. **Functional Ecology**, 11: 554-563.

Thomson, J. D. 1986. Pollen transport and deposition by bumble bees in *Erythronium*: Influences of floral nectar and bee grooming. **Journal of Ecology**, 74: 329-341.

Thorp, R. W. 1979. Structural, behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 66: 788-812.

Westerkamp, C. 1993. The co-operation between the asymmetric flower of *Lathyrus latifolius* (Fabaceae – Viciaeae) and its visitors. **Phyton**, 33(1): 121-137.

Westerkamp, C. 1996. Pollen in bee-flower relations: Some considerations on melittophily. **Botanica Acta**, 109: 325-332.

Westerkamp, C. 1997. Keel blossoms: Bee flowers with adaptations against bees. **Flora**, 192: 125 -132

Westerkamp, C. 2004. Flores e abelhas na disputa. **Ciência Hoje**, 34(10): 66-68.

Westerkamp, C., Classen-Bockhoff, R. 2007 Bilabiate flowers: The ultimate response to bees? **Annals of Botany**, 1-14



## FIGURAS



Fig. 3. Flores e visitantes. (A-F) *Canavalia brasiliensis*. (A) *Xylocopa grisescens*, mostrando local de deposição do pólen. (B) *X. grisescens*, mostrando forma como a abelha interage com a flor. (C) *Xylocopa frontalis*, macho. (D) *Xylocopa cearensis*. (E) *Centris fuscata* (F-J) *Clitoria fairchildiana*. (F) *Epicharis dejeanii*. (G) *Bombus morio*. (H) *Eufrisea mussitans*. (I) *Epicharis flava*. (J) *Xylocopa frontalis*. (K - O) *Centrosema pascuorum*. (K) *Bombus morio*, entrando na flor, primeiro inserindo as partes bucais funcionalmente prognatas. (L) *B. morio* ativando mecanismo da flor com partes bucais voltadas pra baixo e com a cabeça empurrando a quilha. (M) *Xylocopa frontalis* (N) *Epicharis fasciata*. (O) *Euglossa anodorhynchi*.



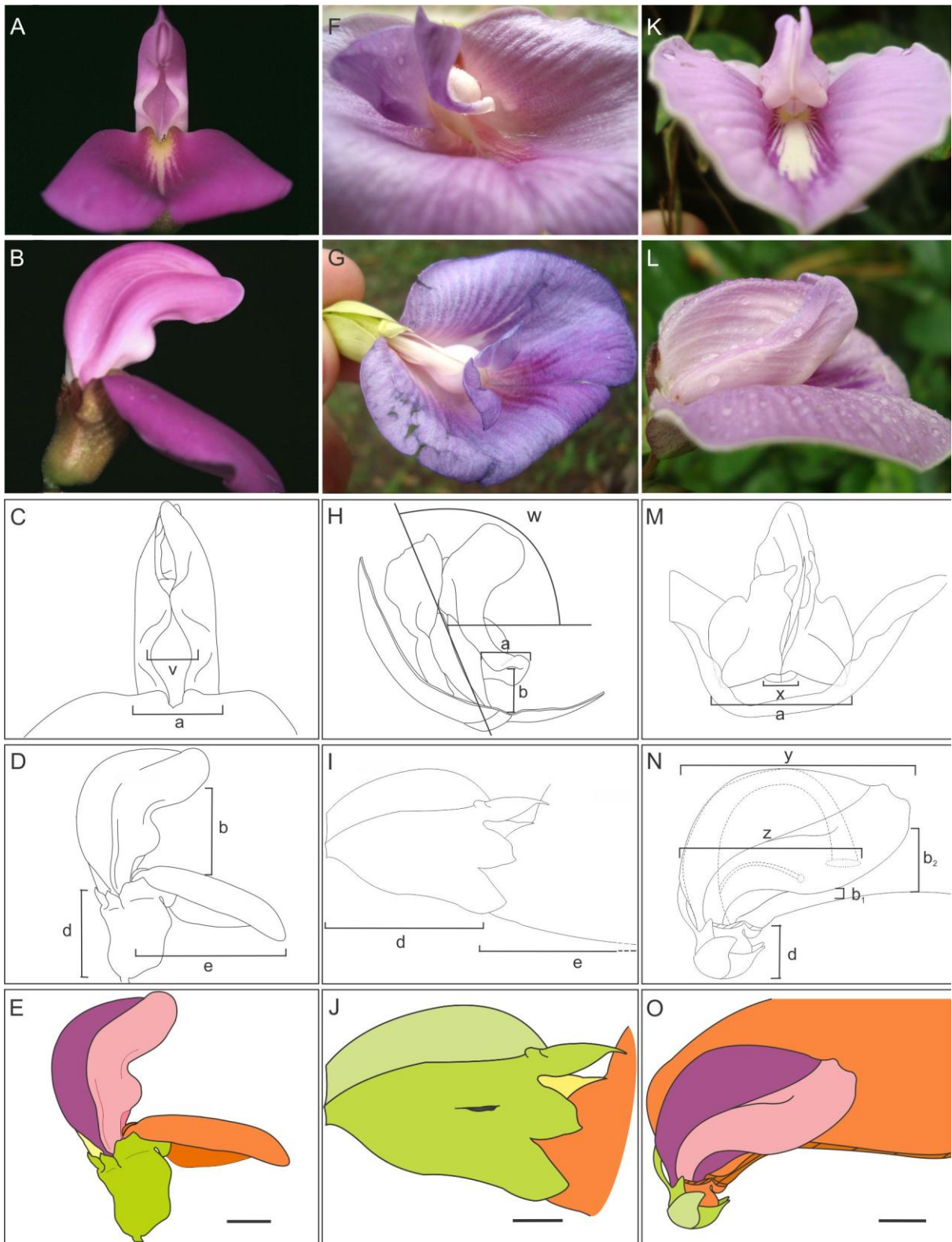


Fig. 4. Aspecto geral das flores e medidas das estruturas que interagem com os visitantes. Da coluna da esquerda para direita (A-E) *Canavalia brasiliensis*, (F-J) *Clitoria fairchildiana* e (L-O) *Centrosema pascuorum*. (A, F e L) vista frontal e (B, G e M) vista lateral (latero-superior para *C. fairchildiana*) das flores. (C e D, H e I, M e N) Locais onde foram medidas as estruturas da flor. a) largura do lábio superior; b) Altura da câmara de polinização (b<sub>1</sub>, altura na entrada da flor e b<sub>2</sub>, altura da dobra na margem da quilha) c) Profundidade do canal de alinhamento; d) Comprimento do lábio inferior; v) Largura entre as margens espessadas das alas; w) ângulo de inclinação da quilha; x) largura da dobra na margem da quilha; y) comprimento da quilha e; z) Comprimento do arco formado pelo androceu + gineceu. (E, J e O) esquemas da vista lateral das flores. Verde escuro - Cálice, Verde claro - profilo, Laranja - estandarte, Rosa -Alas Roxo - Quilha, Amarelo - Androceu. As escalas representam 0,5 cm.



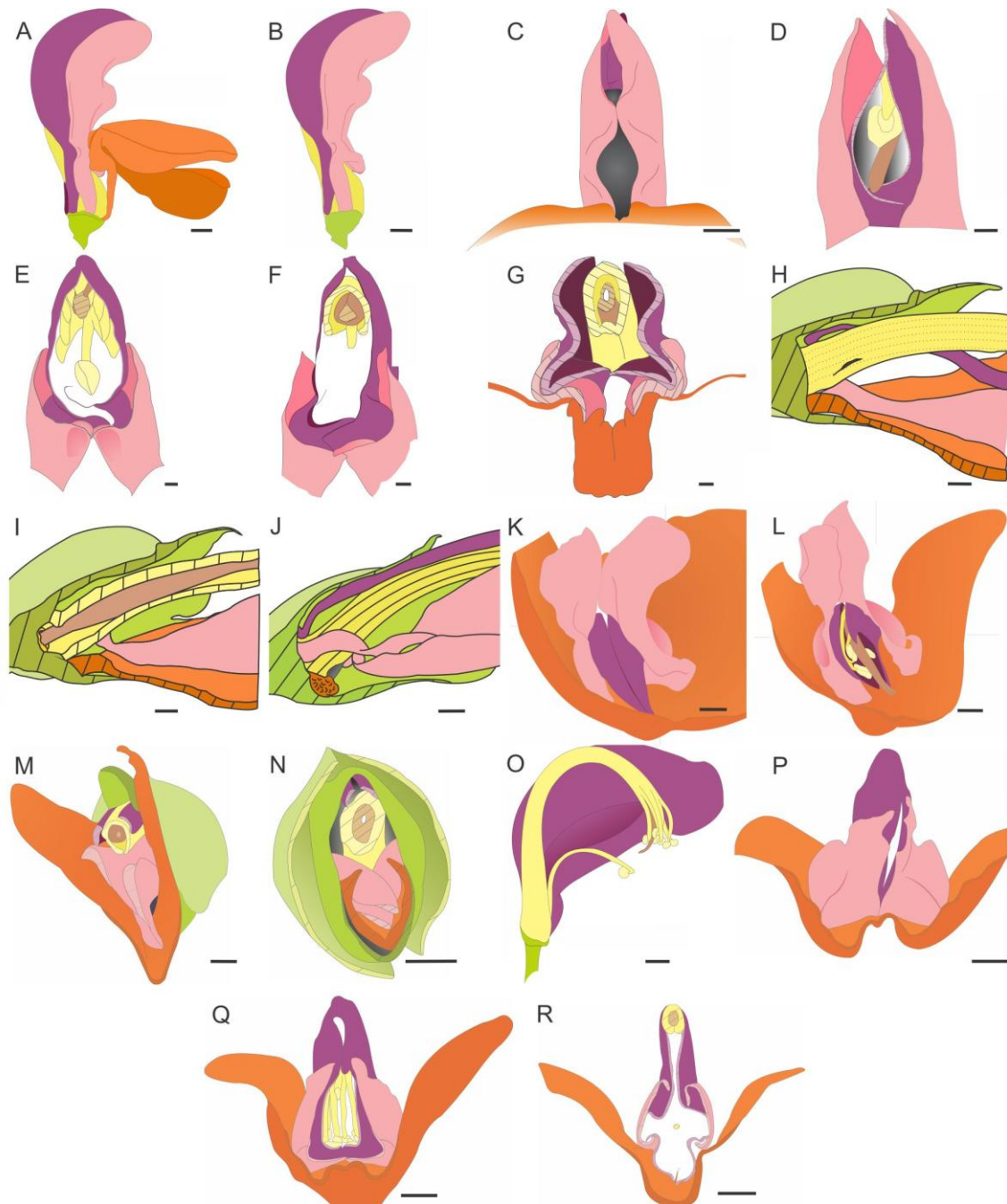


Fig. 5. Cortes com as estruturas das flores (A-G) *Canavalia brasiliensis*. (A) Flor em vista lateral com o cálice removido e; (B) Com o estandarte removido. (C) Vista frontal das margens espessadas das alas. (D) Posição das partes reprodutivas. (E) Bolso sobre a margem espessada das alas. (F) Encaixe entre alas e quilha. (G) Entrada do canal de alinhamento e união do tipo botão de pressão entre alas e quilha. (H-N) *Clitoria fairchildiana*. (H) Vista lateral sem cálice mostrando dano de *X. grisescens*. (I) Vista lateral mostrando o gineceu, nectário e a câmara de néctar. (J) Vista lateral, mostrando a posição das garras das alas. (K) Vista frontal, sem corte. (L) Posição das estruturas reprodutivas. (M) Entrada do canal de alinhamento. (N) Posição das pétalas no interior. (O-R) *Centrosema pascuorum*. (O) Vista lateral da posição dos órgãos reprodutivos dentro da quilha. (P) Vista frontal. (Q) Anteras na frente do estilete, o qual não é visto. (R) Encaixe entre alas e quilha. Verde escuro - Cálice, Verde claro - perfil, Laranja - estandarte, Rosa - Alas, Roxo - Quilha, Amarelo - Androceu, Marrom - Gineceu. As barras representam 0,25 cm.



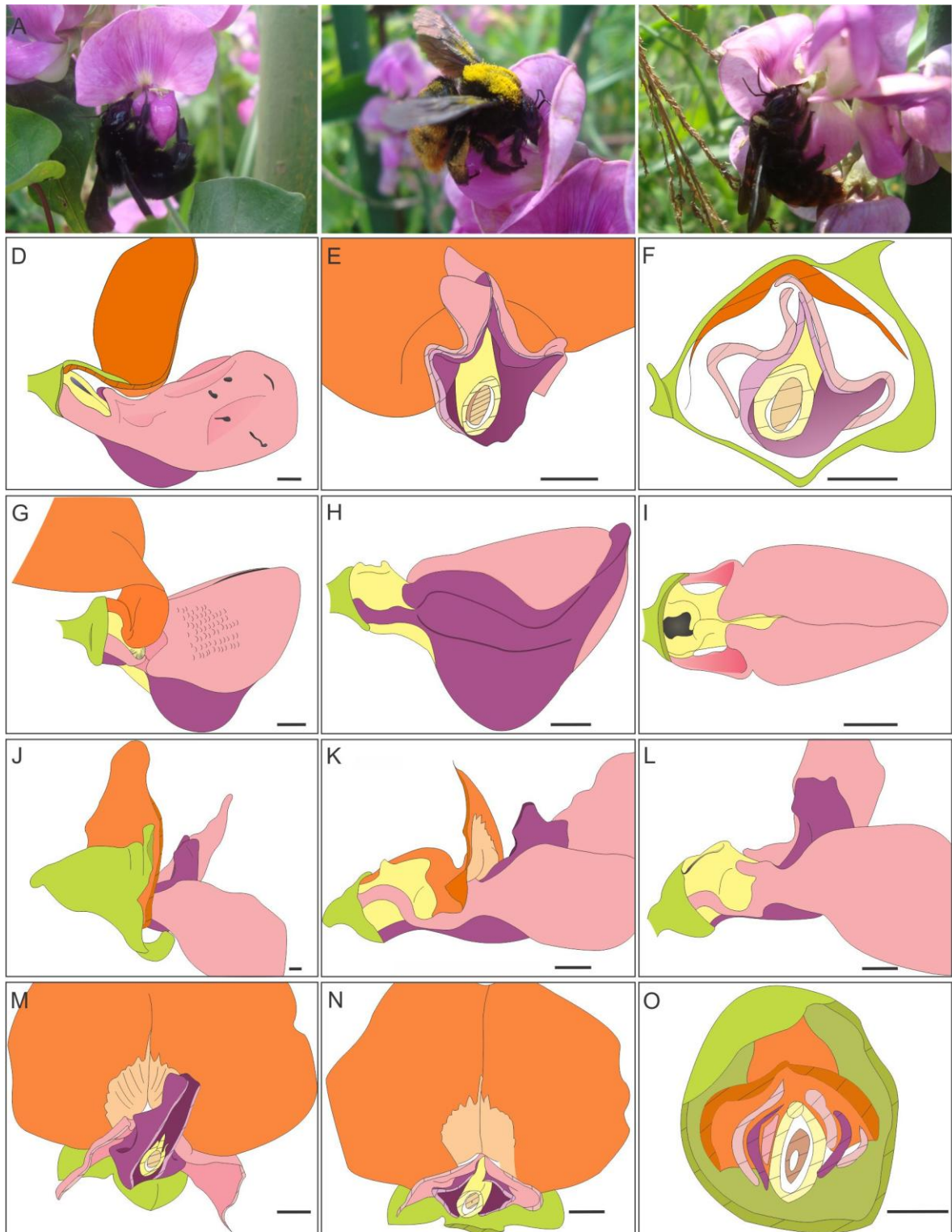


Fig. 6. Flores com quilha. (A-C) Visitantes de *Lathyrus* sp.. (A) *Bombus morio* (B) *Xylocopa augustii*, visita ilegítima. (C) *X. augustii*, visita legítima, estilete passando pelo lado direito do visitante. (D-F) Esquemas de *Lathyrus* sp. (D) Vista lateral sem cálice e estandarte cortado. (E) Encaixe de botão de pressão e carena na margem superior. (F) Partes da corola fechando a passagem para a câmara de néctar. (G-I) *Crotalaria* sp. (G) Vista lateral: Lamelas lunadas. (H) Vista lateral sem estandarte: Entrada da câmara de néctar, bolsos e carena da quilha. (I) Vista superior: entrada para câmara de néctar. (J-O) *Dioclea violacea*. (J) Vista lateral. (K) Vista lateral: garra do estandarte sobre a câmara de néctar, encaixe das aurículas inflectidas do estandarte com aurículas das alas. (L) Vista lateral sem estandarte, aurícula inflectida na base da ala. (M) Encaixe entre alas e quilha. (N) Entrada do canal de alinhamento. (O) Posição das pétalas no interior da cálice. Verde - Cálice, Laranja - estandarte, Rosa - Alas, Roxo - Quilha, Amarelo - Androceu, Marrom - Gineceu, au - Aurículas da ala. As escalas representam 0,25 cm.

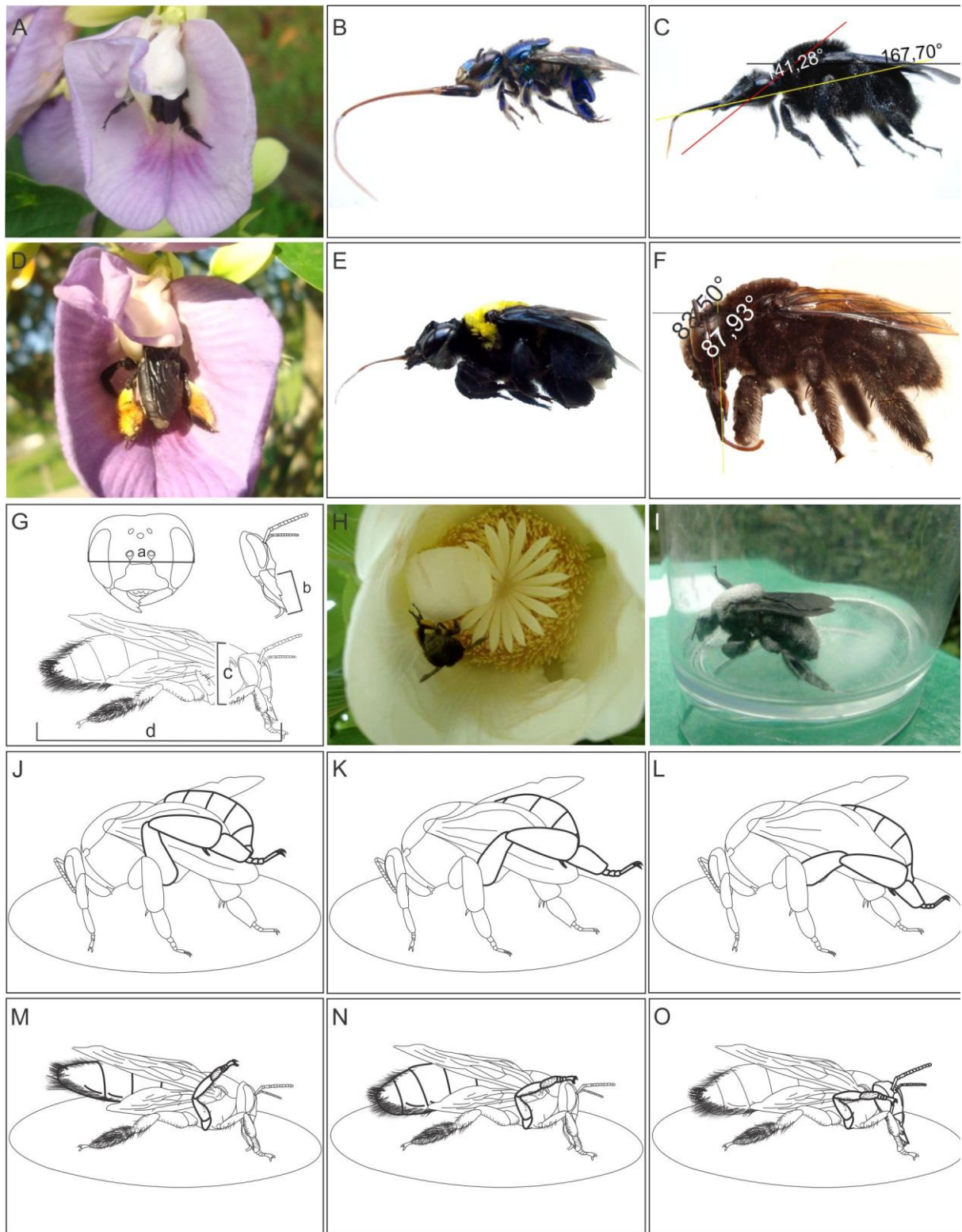


Fig. 7. Abelhas. (A-F) Grupos funcionais de abelhas. (A) Operária de *Bombus morio* em flor de *Clitoria fairchildiana*, abelha pequena. (B) *Euglossa stellfeldi*, com aparelho bucal longo. (C) *B. morio*, partes bucais funcionalmente prognatas. (D) *Epicharis dejeanii* em flor de *C. fairchildiana*, abelha grande. (E) *Centris bicolor*, aparelho bucal curto. (F) *Xylocopa brasiliatorum*, aparelho bucal funcionalmente hipognato. (G) Medidas das abelhas: a) largura da cabeça, b) comprimento do aparelho bucal c) altura e d) comprimento. (H) *B. morio* em flor de *Dillenia indica*. (I) Experimento de limpeza das abelhas: a figura mostra um indivíduo de *B. morio* pulverizado com amido de milho. (J-L) Esquema mostrando a seqüência de movimentos de limpeza da asa em *B. morio*. (M-O) Esquema mostrando a seqüência de movimentos de limpeza do dorso do metassoma e olho em *X. frontalis*. As estruturas em negrito são aquelas que participam do movimento.