

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

EDIVALDO RODRIGUES MARTINS JUNIOR

**SINALIZAÇÃO FLORAL, POLINIZAÇÃO POR FORMIGAS E GEITONOGAMIA
EM *PAEPALANTHUS* (ERIOCAULACEAE - POALES)**

Recife

2020

EDIVALDO RODRIGUES MARTINS JUNIOR

**SINALIZAÇÃO FLORAL, POLINIZAÇÃO POR FORMIGAS E GEITONOGAMIA
EM *PAEPALANTHUS* (ERIOCAULACEAE - POALES)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal

Área de Concentração: Ecologia e Conservação

Orientadora: Profa. Dra. Isabel Cristina Sobreira Machado

Coorientadora: Dra. Ana Carolina Galindo da Costa

Recife

2020

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Martins Junior, Edivaldo Rodrigues Martins Junior

Sinalização floral, polinização por formigas e geitonogamia em
Paepalanthus (Eriocaulaceae - Poales) / Edivaldo Rodrigues Martins
Junior - 2020.

53 folhas: il., fig., tab.

Orientadora: Isabel Cristina Sobreira Machado

Coorientadora: Ana Carolina Galindo da Costa

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de
Biotecnologias. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. Recife, 2020.

Inclui referências e anexo.

1. Entomofilia 2. Geitonogamia 3. Paepalanthus

I. Machado, Isabel Cristina Sobreira (Orientadora) II. Costa, Ana Carolina
Galindo da (Coorientadora) III. Título

581

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2020-110

EDIVALDO RODRIGUES MARTINS JUNIOR

**SINALIZAÇÃO FLORAL, POLINIZAÇÃO POR FORMIGAS E GEITONOGAMIA
EM *PAEPALANTHUS* (ERIOCAULACEAE - POALES)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal

Aprovada em 19/02/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina Sobreira Machado (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Mauricio Takashi Coutinho Watanabe (Examinador Externo)
Instituto Tecnológico Vale

Dr. Arthur Domingos de Melo (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a minha orientadora, Profa. Isabel por abrir as portas do seu laboratório para mim dando a oportunidade de ingressar, conhecer e aprender sobre biologia floral e polinização. E por toda a ajuda e paciência por todos os incômodos causados.

A minha coorientadora Carol que desde o primeiro momento que ingressei no laboratório sempre muita animada me ajudou em tudo que fosse possível. Me ensinou protocolos de biologia floral, foi a campo comigo, leu as inúmeras versões desta dissertação além de todas as minhas dúvidas. Poderia escrever outra dissertação só de agradecimentos a você.

A todos os companheiros do Polinizar por me acolherem tão bem no laboratório sempre proporcionando momentos de muita diversão.

A coordenação e secretaria do PPGBV por toda a ajuda com os problemas ocorridos ao longo deste período.

Ao ICMBIO pela autorização da pesquisa e a todos os funcionários da Reserva Biológica de Guaribas por toda a companhia e colaboração.

Aos meus pais, Edivaldo e Marli que apesar de todas as dificuldades nunca deixaram de me apoiar. Sem vocês nada teria sido possível.

RESUMO

A família Eriocaulaceae incluída na ordem Poales contém espécies que apresentam atributos florais relacionados tanto à polinização biótica, como a presença de estruturas nectaríferas, quanto à polinização pelo vento, como flores pequenas, unissexuais com órgãos sexuais expostos. Tendo isto em vista, este estudo teve como objetivo determinar o sistema de polinização e esclarecer aspectos relacionados à sinalização floral envolvida na interação planta-polinizador em três espécies de *Paepalanthus* (*P. bifidus*, *P. subtilis* e *P. tortilis*). A biologia floral das três espécies foi descrita, sendo feitas observações de visitantes e comportamento de polinizadores, mensurações da reflectância dos capítulos e discriminação em espaço de cores, análise de voláteis florais e experimentos de exclusão de vetores para averiguar a formação de frutos oriunda de polinização por vento, insetos e/ou geitonogamia. As formigas *Solenopsis tridens* e *Camponotus crassus* são os visitantes mais abundantes e polinizadores efetivos em *P. bifidus* e *P. tortilis*, respectivamente. De acordo com o modelo de visão para formigas, os capítulos destas espécies são melhores discriminados em relação ao plano de fundo. Por sua vez, *P. subtilis*, espécie menos conspícua, não recebe visitantes e tem taxa de aproximadamente 90% de frutos formados unicamente por geitonogamia entre flores próximas do mesmo capítulo. Não foi verificada a emissão de voláteis florais. O vento não demonstrou ter participação na formação de frutos nas três espécies. Nossos resultados colaboram para o entendimento da biologia floral, polinização e sinalização visual em espécies de Eriocaulaceae, corroborando a entomofilia na família e o papel de formigas como polinizadores efetivos.

Palavras-chave: Entomofilia. Espectros de refletância. Geitonogamia. *Paepalanthus*. Mirmecofilia.

ABSTRACT

The Family Eriocaulaceae belongs to the order Poales exhibits traits associated with both insect pollination, such as presence of nectar and wind pollination, such as small flowers, exposed sexual organs and small pollen grains. This study aimed to elucidate issues related to floral signaling, observations of insect visits and pollination behavior, floral volatiles, and the contribution of the insects, wind and self-pollination to fruit set in three species of *Paepalanthus* (*P. bifidus*, *P. subtilis* e *P. tortilis*). The ants *Solenopsis tridens* and *Camponotus crassus* were the most abundant floral visitors and the effective pollinators in *P. bifidus* and *P. tortilis*, respectively. According to colour space by ants the inflorescences of *P. bifidus* and *P. tortilis*, are better discriminated against background (leaves/scape). While *P. subtilis* is less conspicuous producing about 90% fruit only by geitonogamy. Inflorescences did not contain any floral volatile compounds. There was no evidence of wind pollination in all of the three species. Our results contribute to understanding of the floral biology, pollination and visual signaling in Eriocaulaceae, corroborating the entomophily in the family and the role of ants as effective pollinators.

Keywords: Entomophily. Geitonogamy. Myrmecophily. *Paepalanthus*. Spectral reflection.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	FUNDAMENTAÇÃO TÉORICA	9
2.1	Polinização biótica, anemofilia e ambofilia.....	9
2.1.1	<i>Atributos florais na polinização biótica (entomofilia): Cor e Odor</i>	<i>9</i>
2.1.2	<i>Polinização por formigas: mirmecofilia</i>	<i>10</i>
2.1.3	<i>Polinização pelo vento: anemofilia.....</i>	<i>11</i>
2.1.4	<i>Polinização por diversos pequenos insetos e pelo vento: ambofilia.....</i>	<i>12</i>
2.2	Poales - relações filogenéticas e sistemas de polinização	13
2.3	Relações Filogenéticas e importância das Eriocaulaceae	14
2.4	Biologia floral e reprodutiva em Eriocaulaceae	14
3	SINALIZAÇÃO FLORAL, POLINIZAÇÃO POR FORMIGAS E GEITONOGAMIA EM PAEPALNTHUS (ERIOCAULACEAE -POALES)....	17
	REFERÊNCIAS	47
	ANEXO A — NORMAS DE SUBMISSÃO PARA ANNALS OF BOTANY	52

1 INTRODUÇÃO

Nesta dissertação procuramos entender aspectos da morfologia floral, dinâmica de antese, receptividade estigmática, sinalização floral, sistema de polinização e reprodutivo na família Eriocaulaceae. As plantas dependem de vetores como animais e o vento para promover a transferência de grãos de pólen das anteras até os estigmas para realizar a reprodução sexuada. Para isso as plantas desenvolveram diferentes características florais tais como tamanho, formato, cor e odor que estimulem a polinização cruzada. A família Eriocaulaceae incluída na ordem Poales, caracteriza-se por suas flores pequenas unissexuais agrupadas em capítulos. Nesta família encontra-se espécies que apresentam tanto atributos florais relacionados a polinização biótica, como a presença de estruturas nectaríferas quanto polinização pelo vento como flores pequenas, unissexuais com órgãos sexuais expostos. Os estudos realizados sugerem a entomofilia como o sistema de polinização principal para a família, contudo a possível participação do vento (anemofilia) no sucesso reprodutivo e a possibilidade de um sistema misto de polinização (ambofilia) permanece em aberto.

Este estudo está dividido em duas partes: uma fundamentação teórica abordando conceitos de sinalização floral nas interações planta-polinizadores, polinização pelo vento e as características florais relacionados a este sistema e polinização biótica e abiótica atuando simultaneamente (ambofilia). Em seguida, destacamos os sistemas de polinização ocorrentes na ordem Poales e o conhecimento atual sobre biologia floral, reprodutiva e polinização em Eriocaulaceae. A segunda parte é constituída por um capítulo abordando sinalização floral e polinização em três espécies do gênero *Paepalanthus*.

Neste capítulo demonstramos como a cor das inflorescência de *Paepalanthus bifidus* e *P. tortilis* desempenham papel na sinalização visual e na atração de formigas e moscas. Por outro lado, *P. subtilis* a espécie menos conspícua não recebe visitantes e forma frutos unicamente por autopolinização. E embora as espécies possuam característica relacionadas a polinização pelo vento, este vetor não teve participação no sucesso reprodutivo.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Polinização biótica, anemofilia e ambofilia

2.1.1 Atributos florais na polinização biótica (entomofilia): Cor e Odor

As espécies de plantas com flores apresentam diversificadas e exuberantes combinações de atributos florais. As cores, odor, forma da flor, horário de antese e localização do néctar são resultado de um longo e íntimo processo coevolutivo das flores com seus polinizadores (Willmer, 2011). Esses atributos florais, em grande parte refletem estratégias adaptativas para otimizar a reprodução sexuada através do transporte de pólen realizado pela ação de vetores bióticos (insetos, aves, mamíferos) e abióticos (vento e água) (Willmer, 2011).

A interação entre a flor e os vetores bióticos é iniciada através de estímulos atrativos visuais e olfativos que sinalizam a presença e oferta de um determinado recurso, estimulando a visitação e possivelmente o processo de polinização (Endress, 1994; Chittka e Thompson, 2004). As flores como descrita por Raguso (2004) são grandes outdoors sensoriais com amplos e complexos sinais para atrair, guiar ou repelir visitantes. Esses sinais enviados devem ser reconhecidos pelos visitantes para que a interação ocorra através dos seus aparatos cognitivos (Chittka e Raine, 2006). Assim a etapa de reconhecimento é parte fundamental podendo determinar se uma flor será ou não polinizada ou se uma espécie de planta atrai mais visitantes que outra (Rech et al., 2014).

As cores são produzidas por vários pigmentos como os flavonoides, carotenoides, betalainas e são importantes sinais relacionados a reprodução (polinização) e sobrevivência (predação) entre os organismos (Cuthill et al., 2017). A capacidade visual de detecção e discriminação dos estímulos de insetos tem sido tema de muitos estudos (Briscoe e Chittka, 2001; Chittka e Raine, 2006; Lunau 2014; Hannah et al., 2019). Os himenópteros, de forma geral, possuem visão tricromática, ou seja, possuem fotorreceptores com picos de excitação em três faixas do espectro visível, ultravioleta, azul e verde (Briscoe e Chittka, 2001). Dípteros como a *Musca domestica*, *Eristalis tenax* e *Drosophila melanogaster* utilizados como modelos para estudos de visão de cores possuem visão tetracromática com dois picos de excitação na faixa do ultravioleta, azul e verde (Lunau, 2014). A cor da estrutura floral atrativa percebida pelos animais é determinada pelos seus sistemas visuais através do comprimento de onda do estímulo refletido (estrutura floral) em combinação com fatores como o plano de fundo e a iluminação ambiente. (Kemp et al. 2015)

Os odores florais são moléculas lipofílicas, voláteis considerados sinais florais que direcionam os polinizadores à localização das flores, atuando como atrativos de curta e longa distância (Wright e Shiestl, 2009). Os insetos dependem do sistema olfativo para exercerem funções básicas como alimentação e reprodução e para tal eles contam um sistema olfativo bem desenvolvido, suas antenas e partes do aparelho bucal possuem sensores químicos que se conectam diretamente ao cérebro assim lhes permitindo detectar e distinguir diversos compostos (Wright e Shiestl, 2009)

Os odores florais são importantes em situações onde os sinais visuais são dificilmente reconhecidos, como plantas com pouco contraste com o plano de fundo, plantas que dependem de polinizadores com atividade noturna e situações nas quais as flores competem pelos polinizadores emitindo diferentes odores a fim de maximizar e manter a fidelidade dos visitantes (Chittka e Raine, 2006; Wright e Shiestl, 2009)

2.1.2 Polinização por formigas: *mirmecofilia*

Formigas são animais presentes em praticamente todos os ecossistemas terrestres (Tobin 1995). Esses animais têm um longo histórico coevoluido com as plantas em diferentes formas, sejam elas mutualística ou antagonista. A polinização é um caso controverso. Formigas são geralmente consideradas pilhadores de néctar e raramente como polinizadores efetivos (Peakall e Beattie 1991; LeVan et al., 2014). Isso deve-se principalmente ao pequeno tamanho desses animais, deslocamento restrito a áreas próximas do ninho, comportamento agressivo em relação a outros visitantes e as glândulas metapleurais. As glândulas metapleurais secretam ao longo do corpo substâncias de defesa contra fungos e bactéria que podem influenciar na viabilidade dos grãos de pólen (Beattie et al., 1984).

Em contraste, a polinização por formigas pode ser um eficiente sistema de baixo custo energético, favorecido em plantas próximas ao solo com inflorescência próxima umas a outras que permitam várias visitas em um curto espaço e que ofereçam néctar como recurso (Hickman, 1974). A hipótese de inviabilidade polínica é contestada por alguns autores (Gomez et al. 1996) que não verificaram quantidade significativa de pólen inviáveis aderido ao corpo do inseto, sugerindo que uma alta quantidade de grãos de pólen e o pouco tempo de exposição podem anular os efeitos das substâncias de defesa contra fungos e bactéria.

A revisão realizada por de Vega e Gomez (2014) descreve cerca de 46 espécies de formigas como polinizadores. Em estudo com *Cytinus hypocistis* (Cytinaceae), Vega et al. (2009) relatam que 97% dos visitantes florais são formigas que atuam como polinizadores

carregando grande quantidade grão de pólen. Ibarra-Isassi e Sendoya (2016) demonstram que formigas dos gêneros *Dorymyrmex*, *Brachymyrmex* e *Solenopsis* são os visitantes mais abundantes em *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae), contribuindo para a formação de semente principalmente quando insetos voadores são escassos. Domingos-Melo et al. (2017) comprovaram a eficiência de formiga no sucesso reprodutivo de *Ditassa capillaris* e *D. hastata* (Asclepiadoideae). Em recente estudo, Del-Claro et al. (2019) relataram *Camponotus crassus* como o visitante mais abundante e polinizador efetivo em *Paepalanthus lundii* (Eriocaulaceae).

2.1.3 Polinização pelo vento: anemofilia

Anemofilia é o processo de transferência de grãos de pólen de uma flor para o estigma da mesma ou de outra flor através do vento (Ackerman, 2000). A polinização pelo vento é a condição derivada nas angiospermas encontrada em cerca de 18% das espécies, que evoluiu ao menos 65 vezes à medida em que condições físicas e biológicas no ambiente, como a escassez de polinizadores e fragmentações do habitat tornaram a polinização biótica menos vantajosa (Ackerman, 2000; Friedman e Barret 2008, 2009).

Diferente dos atrativos e sinalizadores (cor e odor) florais encontrados nas flores polinizadas por animais, através de análises filogenéticas, Friedman e Barret (2008) verificaram que a evolução da polinização pelo vento está positivamente correlacionada com as seguintes características: habitat aberto, flores unissexuais, pequenas, inconspícuas, ausência de néctar e baixo número de óvulos. Assim de forma geral as plantas anemófilas apresentam perianto reduzido ou ausente, menor taxa de emissão de voláteis florais, flores unissexuais, estames com filetes longos e anteras expostas, grãos de pólen pequenos, numerosos, secos, estigmas expostos, bífidos e pequeno número de óvulos (Faegri e Pijl. 1979; Culley et al., 2002; Friedman e Barret 2008, 2009).

A polinização pelo vento evolui mais frequentemente em clados com flores pequenas e pouco vistosas (Friedman e Barret 2008), assim características morfológicas das flores e inflorescências das plantas anemófilas e sua relação com o habitat aberto são adaptações que refletem a aerodinâmica necessária para maximizar a liberação de grãos de pólen pelas anteras e a captura pelos estigmas, sem que estes sejam obstruídos pela vegetação (Friedman e Barret 2008, 2009). A correlação com flores unissexuais pode ser explicada pelo fato da liberação e captura de pólen serem eventos separados e diferentes estruturas são necessárias para otimizar a polinização (Friedman e Barret 2008, 2009). O baixo número de óvulos, é relacionado ao

baixo custo de produção das flores assim investindo em poucos óvulos por plantas e mais flores por plantas (Friedman e Barret 2008, 2009).

2.1.4 Polinização por diversos pequenos insetos e pelo vento: ambofilia

A combinação entre a polinização biótica e abiótica atuando simultaneamente no transporte de pólen é denominada ambofilia (Culley et al., 2002). Essa estratégia pode ser uma adaptação a ambientes que variam espacialmente e temporalmente em favor da polinização abiótica ou biótica (Culley et al., 2002). Neste contexto, a combinação e variação no serviço de polinização tornam uma estratégia mista vantajosa, podendo aumentar o sucesso reprodutivo ou garanti-lo em condições nas quais determinado vetor é menos eficiente, como por exemplo, menor velocidade de vento e diminuição da abundância de polinizadores (Culley et al., 2002).

Há controvérsia se a ambofilia é um sistema estável ou uma condição intermediária na transição para a anemofilia ou uma readaptação à polinização biótica (Culley et al., 2002). Transições para um sistema completamente anemófilo são favorecidas quando os polinizadores se tornam escassos ou ausentes. No gênero *Leucadendron* (Proteaceae), por exemplo, 89% das espécies são polinizadas por animais e para algumas espécies é sugerido uma transição para sistema anemófilo (Barker et al. 2004). Welsford et al. (2015) em estudo com esse gênero através das relações filogenéticas e análise dos atributos envolvidos na transição para sistema anemófilo demonstraram que espécies anemófilas tem grãos de pólen são menores, mais numerosos, exibem um contraste menor com o plano de fundo e redução nos voláteis emitidos.

Readaptações para a polinização biótica são consideradas difíceis, uma vez que muitos traços florais envolvidos na atração são perdidos e dificilmente são restabelecidos. (Culley et al., 2002). Porém podem ocorrer quando traços florais remanescentes tais como partes vistosas, coloridas, com refletância de luz ultravioleta e odor assumem o papel de atração. Em Cyperaceae uma família predominantemente anemófila (Judd et al., 2009) as espécies *Cyperus obtusiflorus* e *C. sphaerocephalus* possuem brácteas involucrais com coloração laranja e branca e presença de odor que atuam na atração de insetos polinizadores (Wragg e Johnson, 2011). A estabilidade é indicada quando o sucesso reprodutivo da combinação entre polinização biótica e abiótica é maior do que quando cada sistema atua isoladamente (Culley et al., 2002). Essa condição é registrada em *Rhynchospora ciliata*, uma espécie que possui tanto traços anemófilos, anteras e estigmas expostos e grande razão pólen ovulo como traços envolvidos na atração de insetos, como as brácteas e anteras que refletem luz ultravioleta; assim ambos os vetores contribuem para o sucesso reprodutivo (Costa e Machado, 2012; Costa et al., 2017).

2.2 Poales - relações filogenéticas e sistemas de polinização

Poales é uma ordem do clado das monocotiledôneas com cerca de 20000 espécies agrupadas em 14 famílias (Givnish et al. 2010; APG IV, 2016). A ordem possui grande importância econômica sendo base da alimentação humana, responsável por mais de 50% das calorias ingeridas, alimentação de gado, cobertura vegetal e ornamentação (Judd et al., 2009) e estão presentes em praticamente todos habitats terrestres e aquáticos (não marinho), sendo ecologicamente dominantes em savanas e campos (Linder e Rudall, 2005; Bouchenak-Khelladi et al., 2014).

A ordem Poales apresenta ampla variedade de morfologias florais (flores solitárias, agrupadas em inflorescências, vistosas, inconspícuas, grandes, pequenas com ou sem estruturas nectaríferas) originando diferentes formas de transporte de pólen, seja o vento, mamíferos, grandes e pequenos insetos (Wolowski e Freitas, 2015). A polinização biótica é a condição ancestral na ordem, correlacionada a flores vistosas, hermafroditas e produção de néctar e ocorre predominante nas famílias Bromeliaceae, Rapateaceae, Mayacaceae, Xyridaceae e Eriocaulaceae (Givnish et al., 2010). A polinização abiótica é a condição derivada que surgiu várias vezes de forma independente e está na correlacionada a flores inconspícuas, unissexuais, ausência de néctar e presente em Typhaceae, e nos clados cyperideas, graminideas e restiideas (Givnish et al., 2010).

Casos de ambofilia e possíveis reversões para polinização biótica são descritos na família Cyperaceae. Magalhães *et al.* (2005) verificaram presença de compostos voláteis em *Eleocharis elegans*, Wragg e Johnson (2011) mostraram que a coloração branca e laranja das brácteas de espécies de *Cyperus* junto com presença de odor desempenham papel de atração de insetos polinizadores. Costa e Machado (2012) demonstraram resultados semelhantes para *Rhyncospora ciliata* na qual as brácteas involucrais e as anteras refletem luz ultravioleta, visível para as abelhas polinizadoras. Esses mesmos autores sugerem que a contribuição de cada vetor de pólen em *R. ciliata* pode variar sob diferentes condições ambientais (Costa et al., 2017). A velocidade do vento menor em épocas secas resultou em menor taxa de frutificação enquanto os insetos polinizadores são menos suscetíveis a variação sazonal, contribuindo para o sucesso reprodutivo em ambas épocas úmida e seca (Costa et al., 2017). Assim como *R. cilata*, *R. pubera* tem alta produção de frutos tanto pela ação do vento quanto de insetos contribuindo para o sucesso reprodutivo sugerindo um sistema ambofilo estável (Costa et al., 2017)

2.3 Relações Filogenéticas e importância das Eriocaulaceae

Eriocaulaceae é uma família de distribuição subtropical e tropical com aproximadamente 1400 espécies reunidas em 10 gêneros (Giulietti et al., 2012). A família é caracterizada por caule curto, folhas em roseta, flores agrupadas em capítulos unissexuais, 3 a 2 lóculos no ovário e grãos de pólen espiraperturados (Giulietti et al., 2012). Dentro de Eriocaulaceae são reconhecidas duas subfamílias: Eriocauloideae com pétalas glandulosas e diplostêmone, composta pelos gêneros *Eriocaulon* e *Mesanthemum* e Paepalanthoideae com pétalas eglandulosas e isostêmone, com os gêneros *Lachnocaulon*, *Tonina*, *Paepalanthus*, *Rondonanthus*, *Leiothrix*, *Actinocephalus*, *Syngonanthus* e *Comanthera* (Giulietti et al., 2012).

Algumas espécies de Eriocaulaceae possuem importante valor econômico, como as “sempre-vivas”, conhecidas popularmente por possuir grande durabilidade nas flores e inflorescências, que após colhidas e secas, mantêm suas cores e formatos, características que são usadas para confecção de buques, artigos de decoração e bolsas (Giulietti et al., 1996).

2.4 Biologia floral e reprodutiva em Eriocaulaceae

As espécies de Eriocaulaceae apresentam inflorescências pequenas, brancas, cremes com brácteas involucrais e/ou florais brancas, negras, marrons, verdes e com estruturas produtoras de néctar. Estruturas nectaríferas evoluíram de forma independentemente na família, as glândulas nas pétalas (presente subfamília Eriocauloideae), pistolodios e ramos nectaríferos do estilete (presente na subfamília Paepalanthoideae) (Rosa e Scatena 2003, 2006). Estudos de biologia floral e reprodutiva em Eriocaulaceae ainda são escassos, representando apenas 2,2% dos estudos realizados em Poales neotropicais (Wolowski e Freitas, 2015). Estes apontam a entomofilia como o principal sistema de polinização (Ramos et al 2005, Oriani et al. 2009 e Del-Claro et al., 2019) e não demonstram evidências experimentais para anemofilia como sugerido como possibilidade por alguns autores (Krall 1966; Judd et al., 2009; Wolowski e Freitas, 2015).

As flores com néctar de fácil disponibilidade em Eriocaulaceae atraem uma diversificada gama de insetos das ordens Diptera, Coleoptera, Hemiptera e Hymenoptera (Ramos et al., 2005; Oriani et al., 2009). Esses insetos em busca do néctar, acabam entrando em contato com as anteras e estigmas, uma vez que estes se localizam acima ou na mesma altura dos pistilódios nectaríferos e as ramificações nectaríferas assim podendo efetuar o processo de polinização (Ramos et al., 2005; Oriani et al., 2009). Ramos et al. (2005) observaram 30 espécies de visitantes para as espécies *C. mucugensis* e *C. curralensis* dos quais 12 eram polinizadores

efetivos (besouros e moscas). No estudo de Oriani et al. (2009) observaram 29 espécies de visitantes para a espécie *C. elegans* sendo seis os polinizadores efetivos (besouros, formigas, abelhas e moscas). A polinização por formigas é incomum nas angiospermas (Domingos-Melo et al., 2017) em recente estudo com *P. lundii* foi demonstrado através de experimentos de exclusão de vetores e observações de grãos de pólen da espécie no corpo do inseto e que as formigas atuam como polinizadores efetivos contribuindo pro sucesso reprodutivo aumentando a quantidade de sementes formadas (Del-Claro et al, 2019).

Os estímulos visuais e olfativos envolvidos na atração dos polinizadores ao néctar ainda são pouco conhecidos na família. Em *C. elegans* no momento da antese as estruturas nectaríferas se destacam nos capítulos, apresentando coloração amarela/alaranjada (Oriani et al., 2009). Em *C. mucugensis* e *C. curralensis*, experimentos através da reação com hidróxido de amônio evidenciaram a presença de pigmentos com capacidade de absorvência de ultravioleta em todas as partes florais dos capítulos (Ramos et al., 2005). A presença de odor doce e suave ao olfato humano foi relatada em espécies de *Paepalanthus* e *Comanthera* nas primeiras horas da tarde e persistindo até o pôr do sol (Sano 1996, Ramos et al., 2005).

A polinização pelo vento não foi verificada em nenhum estudo realizado até o momento (Ramos et al., 2005; Oriani et al., 2009). Estudos realizados com experimentos de exclusão de vetores mostraram não haver diferença estatística na quantidade de sementes formadas entre inflorescências ensacadas que permitem apenas a passagem de grãos de pólen (polinização pelo vento) e inflorescências ensacadas que não permitem a ação de qualquer vetor (autopolinização espontânea). (Oriani et al., 2009; Del-Claro et al, 2019). Experimentos para testar a capacidade de dispersão de pólen nas espécies de Eriocaulaceae com a captura de grãos de pólen no ar deixam dúvidas em relação a capacidade de dispersão. Nos experimentos realizados por Ramos et al (2005) nenhum grão de pólen das espécies estudadas foi capturado pelas armadilhas. Enquanto Oriani et al., (2009) observaram expressiva quantidade de grãos de pólen da espécie estudada nas armadilhas.

É descrito para Eriocaulaceae a formação de sementes por autopolinização (geitonogamia) indicando que as espécies são auto compatíveis (Uphof, 1929, Ramos et al., 2005, Sawyer et al., 2005, Oriani et al., 2009). Inflorescências ensacadas de *E. parkeri* tiveram alta taxa (89%) de sementes formadas por geitonogamia (Sawyer et al. 2005). Os autores argumentam que essa alta taxa é decorrência da proximidade das flores pistiladas e estaminadas que entram em antese simultaneamente. A agamospermia também pode ocorrer nessa espécie em baixa frequência. *Comanthera Mucugensis* e *C. elegans* apresentam separação temporal das

fases pistiladas e estaminadas nos capítulos assim sendo pouco provável a geitonogamia espontânea (Ramos et al.,2005; Oriani et al., 20099). Porém os capítulos de um mesmo indivíduo apresentam fases distintas podendo ocorrer polinização entre os capítulos. Portanto, a geitonogamia pode ser uma estratégia para garantir o sucesso reprodutivo dessas espécies, uma vez que é menos suscetível a variações bióticas e abióticas que a polinização cruzada e consequente alogamia.

3 SINALIZAÇÃO FLORAL, POLINIZAÇÃO POR FORMIGAS E GEITONOGAMIA EM *PAEPALANTHUS* (ERIOCAULACEAE - POALES)

Edivaldo Rodrigues Martins Junior¹, Ana Carolina Galindo da Costa¹, Paulo Milet-Pinheiro², Daniela Navarro³, William Wayt Thomas⁴, Ana Maria Giulietti-Harley⁵ & Isabel Cristina Machado*¹

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE;

²Universidade de Pernambuco, Campus Petrolina, Pernambuco, Brazil

³Departamento de Química Fundamental, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

⁴The New York Botanical Garden, Bronx, NY, USA

⁵Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Avenida Transnordestina s/n, Novo Horizonte, Feira de Santana, 44036-900, Bahia, Brazil.

Contexto e Objetivos: A família Eriocaulaceae apresenta atributos relacionados tanto a polinização por insetos como a presença de néctar, quanto pelo vento, como por exemplo, flores pequenas unissexuadas com anteras e estigmas expostos e grãos de pólen diminutos. A entomofilia é sugerida como principal sistema de polinização, porém há possibilidade anemofilia na família. Portanto, este estudo teve como objetivo esclarecer aspectos relacionados à sinalização floral envolvida na interação planta-polinizador e determinar o sistema de polinização e reprodutivo em três espécies de *Paepalanthus* (*P. bifidus*, *P. subtilis* e *P. tortilis*).

Métodos: O estudo de campo abrangeu a descrição da biologia floral, observações de visitantes e comportamento de polinizadores e experimentos para averiguar a formação de frutos oriunda de polinização por vento, insetos e/ou autopolinização. Também realizamos mensurações da reflectância dos capítulos, discriminação em espaço de cores e análise de voláteis florais.

Resultados Chave: As flores no capítulo têm maturação centrípeta e o período de antese das flores pistiladas e estaminadas de todas as espécies ocorre simultaneamente no capítulo, sobrepondo-se. Formigas são os visitantes florais mais abundantes e polinizadores efetivos em *P. bifidus* e *P. tortilis*. Os capítulos destas espécies são melhor discriminados para formigas em relação ao plano de fundo (folhas/escapos). Em contraste, *P. subtilis*, espécie menos conspícua, não recebe visitantes e forma frutos unicamente por geitonogamia entre as flores próximas do mesmo capítulo. Não foi verificada a emissão de voláteis florais. O vento não demonstra ter participação na formação de frutos nas três espécies.

Conclusões: Nossos resultados mostram que a sinalização visual intermedia a interação entre as plantas e polinizadores. Corroboramos com a ideia de que a entomofilia é o principal sistema de polinização em Eriocaulaceae. As formigas desempenham importante papel como polinizadores podendo este ser um sistema frequente na família. Geitonogamia ocorre, assegurando o sucesso reprodutivo na ausência de polinizadores.

Palavras-Chaves: Entomofilia, Espectros de refletância, Geitonogamia, Mirmecofilia,

INTRODUÇÃO

A ordem Poales ostenta vasta diversidade floral, com relação à morfologia, aos tamanhos, formatos, cores, recursos oferecidos e sistemas sexuais, que intermediam as interações entre as plantas e os distintos vetores de pólen abióticos e bióticos (Wolowski e Freitas, 2015). Estudos filogenéticos na ordem, quando relacionados aos sistemas de polinização, apontam a polinização por insetos como condição plesiomórfica, correlacionada a flores maiores, vistosas e com produção de néctar (Linder, 2005; Givnish *et al.*, 2010). Esses atributos atuam na atração dos visitantes florais, instigando a visita a partir da sinalização da disponibilidade do recurso (Chittka e Thompson, 2001). Mudanças para a polinização pelo vento no grupo ocorreram cinco

vezes, tendo origens independentes correlacionadas ao habitat aberto e onde há ausência de vetor biótico, flores pequenas, agrupadas em inflorescências inconspícuas e ausência de néctar (Givnish *et al.*, 2010). Essas características estão relacionadas à aerodinâmica necessária para liberação dos grãos de pólen pelas anteras, livre movimento pelas correntes de ar e a captura pelos estigmas (Friedman e Barrett, 2008, 2009).

Casos de ambofilia, que envolvem polinização biótica e abiótica atuando simultaneamente, são relatados em famílias de Poales, como Cyperaceae e Poaceae, famílias predominantemente anemófilas (Judd *et al.*, 2009, Costa e Machado, 2012, Schultze-Albuquerque *et al.*, 2019). As espécies *Rhynchospora ciliata* e *R. pubera* (Cyperaceae), por exemplo, possuem tanto atributos anemófilos, como anteras e estigmas expostos e grande razão pólen óvulo, quanto atributos envolvidos na atração de insetos, como brácteas e anteras brancas, garantindo assim seu sucesso reprodutivo tanto pela ação do vento quanto pela de insetos (Costa e Machado, 2012; Costa *et al.*, 2017).

A família Eriocaulaceae, reconhecida por suas flores unissexuadas agrupadas em inflorescências capituliformes, é a quarta maior em número de espécies em Poales com aproximadamente 1.400 reunidas em 10 gêneros (Giulietti *et al.*, 2012). Estudos realizados com Eriocaulaceae estão concentrados principalmente em análises anatômicas e levantamentos taxonômicos (Giulietti *et al.*, 2000; Costa, *et al.*, 2008). Dados sobre aspectos da biologia floral e reprodutiva ainda são incipientes para a família, representando 2.2 % dos estudos já realizados nas Poales neotropicais (Wolowski e Freitas, 2015)

O sistema de polinização principal sugerido para a família é a entomofilia (Ramos *et al.*, 2005; Oriani *et al.*, 2009; Del-Claro *et al.*, 2019). Estruturas nectaríferas, raras em Poales e grande indicativo de polinização biótica evoluíram de forma independentemente em Eriocaulaceae, nas formas de glândulas nas pétalas (subfamília Eriocauloideae), pistilódios e/ou ramos nectaríferos do estilete (subfamília Paepalanthoideae) (Rosa e Scatena 2003, 2006). No

gênero *Comanthera* nos campos rupestres, as espécies *C. curralensis*, *C. mucugensis* e *C. elegans* foram polinizadas por diversos pequenos insetos das ordens Diptera, Coleoptera e Heminoptera, os quais utilizam principalmente o néctar como recurso (Ramos *et al* 2005; Oriani *et al.*, 2009). Em recente estudo, Del-Claro e colaboradores (2019) demonstraram rara interação de formigas como polinizadoras efetivas em *Paepalanthus lundii*. A anemofilia, entretanto, também é proposta por alguns autores como sendo uma possibilidade, baseando-se em características, como flores pequenas, unissexuadas com órgãos sexuais expostos e grãos de pólen pequenos (Kral, 1966; Judd *et al.*, 2009). Geitonogamia espontânea também é relatada em *Eriocaulon parkeri* (Sawyer *et al.*, 2005)

Tendo em vista a possibilidade de diferentes sistemas de polinização em representantes de Eriocaulaceae e considerando a relevância de estudos em biologia da polinização para o entendimento do sucesso reprodutivo, conservação e evolução das interações entre diferentes organismos, este estudo teve como objetivo responder as seguintes perguntas, usando três espécies de *Paepalanthus* Mart. como modelo: a) Qual o papel das cores e voláteis florais na atração dos visitantes/polinizadores? b) Quais são os visitantes florais, seus comportamentos e o papel na polinização das espécies? c) qual o sistema de polinização das espécies estudadas?

MATERIAIS E METODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado no período de julho de 2018 a agosto de 2019 na Reserva Biológica de Guaribas localizada na rodovia PB-071, km 01, zona rural do município de Mamanguape, Paraíba- PB (06°40'40" e 06°44'59" S, 41°06'46" e 41°08'00" O). A vegetação da reserva é caracterizada por fragmentos de floresta semidecídual com áreas de savana de estrato herbáceo graminóide dominadas pelas famílias Poaceae, Cyperaceae, Eriocaulaceae e Xyridaceae (Viana *et al.*, 2011) (Figura 1A, B). A temperatura média varia entre 24 e 26°C com os meses mais quentes entre dezembro a fevereiro (Viana *et al.*, 2011). A estação chuvosa inicia-se no final de

fevereiro se estendendo até julho, com meses mais chuvosos entre abril e junho apresentando média mensal de 300 a 400 milímetros, com precipitação total anual de 1.750 a 2.000 milímetros (Viana *et al.*, 2011).

Grupo vegetal estudado

Dentro de Eriocaulaceae são reconhecidas duas subfamílias: Eriocauloideae com flores diplostêmones e pétalas glandulosas e Paepalanthoideae com flores isostêmones e pétalas eglandulosas. O gênero *Paepalanthus* reúne cerca de 400 espécies, das quais 357 ocorrem no Brasil, sendo, portanto, o maior gênero brasileiro de monocotiledôneas (BFG, 2015). *Paepalanthus* possui ampla distribuição ocorrendo desde o norte ao sul do país (Giulietti *et al.*, 2012). As três espécies estudadas neste trabalho, *Paepalanthus bifidus* (Figura 1C,E), *P. subtilis* (Figura 1D,E) e *P. tortilis* (Figura 1F). são herbáceas, anuais com pétalas livres nas flores pistiladas e gineceu com 3 estiletes portando ramos estigmáticos separando-se na mesma altura (Costa *et al.*, 2018). O material testemunho das três espécies está depositado no Herbário UFP, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco. Estamos aguardando os números de registro.

Biologia Floral

O horário de início e a duração do período de antese foi determinado em observações de 20 capítulos em cada espécie. A receptividade estigmática foi testada em todas as espécies usando peróxido de hidrogênio 3% (Dafni *et al.*, 2005) em 10 flores pistiladas em antese, das 8:00 as 17:00 hrs com uma hora de intervalo. Para verificar a presença de possíveis osmóforos (glândulas de odor) 10 flores em antese de diferentes indivíduos de cada espécie foram emergidas em solução vermelho neutro (1:1000) por aproximadamente 10 minutos e posteriormente lavadas com água destilada (Vogel, 1990).

Sinalização Floral: Espectro de reflectância e espaço de cores

O espectro de reflectância dos capítulos, folhas e escapos (ambos planos de fundo) foi mensurado no intervalo de comprimento de onda entre 300 e 700nm em todas as espécies com o auxílio de espectrômetro de fibra óptica (JAZEL200, Ocean Optics, Estados Unidos). Em cada espécie foram realizadas cinco mensurações para se obter uma média do espectro de reflectância de cada estrutura analisada. Os dados obtidos foram plotados em espaços de cores que são representações gráficas para descrever como o estímulo visual é entendido por animais (Renoult *et al.*, 2017). Nesta abordagem, as cores são representadas como pontos (*locus*) onde a posição de cada *locus* no espaço de cores depende da taxa de captura de fótons de cada fotorreceptor, expressa a partir da reflectância do estímulo, sensibilidade dos fotorreceptores, irradiância luminosa e reflectância do plano de fundo (Kelber *et al.*, 2003).

Para análise visual em formigas foi elaborado um espaço de cores dicromático, duas dimensões em um segmento (Kelber *et al.*, 2003), baseado na presença de dois fotorreceptores: um fotorreceptor UV (λ_{max} =ca. 350 nm) e outro verde (λ_{max} =ca. 510 nm) (Camlitepe e Aksoy 2010; Aksoy e Camlitepe 2018). Para dípteros, foi utilizado neste estudo o espaço de cores de Troje (1993), que corresponde a um quadrante com quatro categorias de cores (UV, azul, verde e roxo), o modelo mais aceito atualmente (Ohashi *et al.*, 2015; Shrestha *et al.*, 2016). Para este grupo de insetos, a visão em cores tetracromática é definida pela excitação espectral de quatro classes de fotorreceptores R7p 330 nm, R7y 340 nm, R8p 460 nm e R8y 540nm (Lunau, 2014). Este modelo foi empregado seguindo cálculos e adaptações feitas por Shrestha *et al.* (2016) e Hannah *et al.* (2019).

O cálculo da taxa de captura de fótons dos fotorreceptores foi realizado com espectro de sensibilidade estimado a partir do pico máximo de sensibilidade UV (350 nm) e verde (510 nm) (Govardovskii *et al.*, 2000) para formigas e espectro de sensibilidade de *Eristalis tenax* obtido de Shrestha *et al.* (2016) para dípteros. Em ambos os modelos foi utilizada irradiância padrão D65, representando a luz do dia (Wyszecki e Stiles, 1982) para *P. subtilis* e *P. tortilis*. Enquanto

a irradiância *forestshade* (Maia *et al.*, 2013, 2019), representando área sombreada onde ocorre *P. bifidus*, como luz ambiente e espectro médio das folhas e escapos como plano de fundo. Em *P. bifidus*, as análises foram realizadas em dois momentos distintos, logo no início da maturação do capítulo, quando o primeiro ciclo mais externo de flores estaminadas está em antese apresentando anteras brancas e as outras flores do capítulo em direção ao centro em botões (Figura 2A). E na fase intermediária da maturação, quando as flores estaminadas do primeiro ciclo após a antese e deiscência da antera mudam de coloração passando para um amarelo/alaranjado e as outras flores do capítulo permanecem em botões (Figura 2B). Também calculamos a distância Euclidiana entre o centro e os *locus*. Baseando-se nos estudos comportamentais e eletrofisiológicos de Yilmaz *et al.* (2017), quanto maior a distância Euclidiana (0-1 und) melhor a resolução em cores em *Camponotus blandus* (Formicidae). Por sua vez, Hannah *et al.* (2019) sugerem um limiar de 0,059 para quadrante azul e 0,021 verde de discriminação para o modelo de Troje (1993). Todas as análises foram feitas no R (R Core Team 2013) utilizando o pacote ‘PAVO’ (Maia *et al.*, 2019).

Sinalização olfativa: voláteis florais

Para a amostragem de voláteis florais foi realizada a técnica de *headspace* dinâmico (Dötterl *et al.*, 2005). Neste procedimento, três amostras por espécie contendo 20 inflorescências de 20 indivíduos, e uma amostra com folhas e escapos (material controle) foram encobertas em sacos de poliéster, nos quais permaneceram por uma hora. Após esse período, o ar contido com os possíveis voláteis foi sugado e retido em chromatoprobes contendo 3 gramas de filtros adsorventes Tenax™ TA (80/100 mesh, Supelco, USA) e Carboxen™ X (20/40 mesh, Supelco, USA) com auxílio de bomba de vácuo (G12/01 EB, Rietschle Thomas, Puchheim, Germany) a uma taxa constante de fluxo de 200 mL min⁻¹. As amostras coletadas foram analisadas através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS) (GC-MS; Agilent 7890A™ gas chromatograph, Agilent 5975C Series MSD™ mass

spectrometer; Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Os compostos foram identificados a partir da comparação de seus espectros de massa e índices de retenção com os disponíveis na biblioteca de espectros de massa (MassFinder 4, NIST11 and Wiley Registry™ 9th Edition, Adams, 2007), integrada ao software Agilent MSD Productivity ChemStation (Agilent Technologies, Palo Alto, USA).

Visitantes florais

A abundância, a frequência de visitas e o comportamento dos visitantes florais foram determinados em julho de 2019. As observações foram realizadas durante cinco dias consecutivos das 0800 às 1700h em agrupamentos naturais de aproximadamente 1m², totalizando 45h de observação por espécie e 135h totais. Para todas as espécies as observações foram feitas em dois agrupamentos próximos com intervalos de uma hora de observação em cada. A abundância de visitantes florais foi contabilizada a partir do monitoramento de cada indivíduo que alcançava o capítulo, realizava uma visita e posteriormente saía da área de observação. Uma visita era contabilizada quando o inseto entrava em contato com os pistilodios nectaríferos e as ramificações nectaríferas do estilete. Os visitantes florais foram classificados em: polinizadores efetivos (quando entram em contato com anteras e estigmas carregando grãos de pólen com alta abundância e frequência de visitas); eventuais (carregam grãos de pólen entrando em contato com estigmas porém em baixa abundância e frequência de visitas) e pilhadores (não entram em contato com as anteras e estigmas, apenas coletando néctar ou pólen), seguindo indicações de Alves-dos-Santos *et al.* (2016). Os visitantes foram coletados para identificação e verificação da presença de grãos de pólen aderidos ao corpo. Foram incorporados como vouchers na coleção de insetos polinizadores do Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva.

Sistema de Polinização

Para determinar a possível ocorrência de geitonogamia espontânea entre as flores estaminadas e pistiladas ocorrentes no mesmo capítulo, polinização por insetos e pelo vento foram montados experimentos de exclusão de vetores. Foram selecionadas 35 inflorescências de diferentes indivíduos (n=35) ao acaso de cada espécie com flores em botões em pré-antese nos seguintes tratamentos: 1) Geitonogamia espontânea, na qual os capítulos em pré antese foram ensacados com tecido de poliéster (Oriani *et al.*, 2009) evitando assim a polinização por insetos e vento; 2) polinização pelo vento, na qual os capítulos em pré antese foram ensacados com tecido tule com abertura de malha de 1.25 mm que permitia a passagem de grãos de pólen mas evita o contato com insetos; 3) polinização por insetos, os capítulos foram marcados e permaneceram em condições naturais, ficando expostos para quaisquer vetores. Assim comparando-se (1) com (2) pode-se inferir a participação do vento, e (3) com (2) e (1) a participação dos insetos no sucesso reprodutivo. Para *P. bifidus* devido à impossibilidade de se ensacar apenas uma inflorescência quando em pré antese, todos os escapos adjacentes foram retirados permanecendo no indivíduo apenas o escapo com a inflorescência ensacada. Após aproximadamente oito semanas da montagem dos experimentos os capítulos foram recolhidos e com auxílio de estereomicroscópio foram contadas a quantidade de flores pistiladas e de frutos formados. O sucesso reprodutivo foi calculado pela razão entre número de frutos formados e número de flores pistiladas. Uma vez que os dados não apresentaram requisitos para realização de teste estatístico paramétrico, os três tratamentos foram comparados através do teste estatístico Kruskal-Wallis e posteriormente foi realizado o teste post-hoc Dunn ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Biologia floral

Todas as espécies possuem flores unissexuadas trímeras com estames alternos às pétalas, anteras bitecas e três pistilódios nectaríferos, *Paepalanthus bifidus* apresenta 5-10 cm de altura, com 2 a 20 escapos por indivíduo, sendo facilmente reconhecida pelos capítulos com brácteas

involucrais lanceoladas, verdes, e que ultrapassam a altura das flores. Os capítulos possuem cerca de 38 flores sendo em média 29 estaminadas e 9 pistiladas. A espécie ocorre exclusivamente em áreas sombreadas de solo arenoso, nas bordas ao longo de trilhas.

Paepalanthus subtilis possui 5-8 cm de altura, com 1 a 10 escapos por indivíduo, com capítulos portando brácteas involucrais negras, de mesmo diâmetro do capítulo, sépalas esverdeadas (Figura 2C). Os capítulos possuem cerca de 42 flores sendo em média 32 estaminadas e 10 pistiladas. É a espécie de maior abundância na área, ocorrendo desde as bordas das trilhas juntamente com *P. bifidus* e se expandindo na área aberta entre a vegetação graminoide.

Paepalanthus tortilis tem 8-15 cm de altura, escapos robustos majoritariamente solitários em cada planta, os capítulos portam brácteas involucrais negras não ultrapassando o diâmetro do capítulo, sépalas negras/esverdeadas (Figura 2D). Os capítulos possuem cerca de 48 flores sendo em média 37 estaminadas e 11 pistiladas. Ocorre em pequenas populações esparsas em áreas de solo úmido entre a vegetação graminoide

A floração das três espécies tem início em meados de maio se estendendo até agosto, com pico em julho. As flores pistiladas e estaminadas de todas as espécies estão distribuídas em arranjos cilíndricos concêntricos, alternados nos capítulos e apresentam maturação centripeta. Para todas as espécies, a antese das flores pistiladas e estaminadas tem início entre as 8:00 e 8:30h ocorrendo simultaneamente no capítulo e se sobrepondo, com duração de um dia para as flores estaminadas e de um a dois dias para as flores pistiladas. A cada dia, três a quatro flores estaminadas e duas a três flores pistiladas por capítulo iniciam a antese.

Em *P. subtilis*, a antese tem início com as flores quase totalmente envolvidos pelas brácteas involucrais que vão se afastando e expondo as flores ao longo da maturação da inflorescência (Figura 2E). A deiscência das anteras ocorre por volta das 9:30h. Alguns dias após a deiscência, os filetes perdem turgescência e assim as anteras regridem em direção ao

tubo da corola e mudam de coloração, passando do branco para amarelo/alaranjado, evidente em *P. bifidus* devido às sépalas hialinas. Os estigmas de todas as espécies se tornam receptivos logo após a sua exposição, mantendo-se assim até o final da tarde. Em nenhuma das espécies foram evidenciados osmóforos, a partir da coloração de vermelho neutro.

Sinalização Floral

Os espectros de reflectância de *P. bifidus*, *P. subtilis* e *P. tortilis* demonstraram que as inflorescências refletem principalmente comprimentos de onda a partir de 450nm (Figura 3A).

No espaço de cores dicromático utilizado para análise da visão em formigas, os capítulos de *P. bifidus* (início maturação) e de *P. subtilis* foram os mais próximos da região central, representando o plano de fundo, com distância 0,17 e 0,19 und do espaço de cores. *P. tortilis* e *P. bifidus* (maturação intermediária) foram as mais distantes com 0,33 e 0,44 und dos espaços de cores de distância, respectivamente (Figura 3B).

No modelo de Troje (1993) para análise de visão em dípteros, os capítulos de *P. tortilis*, *P. subtilis* e *P. bifidus* (início maturação) foram os mais próximos do centro (plano de fundo), com 0.031, 0.037 e 0.039 und de distância do modelo respectivamente. *P. bifidus* foi a mais distante com 0.074 und de distância (Figura 3C)

As análises químicas realizadas não detectaram a presença de voláteis florais diferentes entre os capítulos e o material vegetativo nas espécies estudadas

Visitantes Florais

Os visitantes florais observados foram duas espécies de Formicidae: *Solenopsis tridens* em *P. bifidus* (Figura 4B) e *Camponotus crassus* em *P. tortilis* (Figura 4B). Além disso, um Diptera não identificado foi registrado em *P. tortilis* (Figura 4C). Nenhum visitante foi observado em *P. subtilis*.

No momento da visita, os insetos apresentam comportamento similar, se inclinam em direção às estruturas nectaríferas, aos pistilodios das flores estaminadas e às ramificações do estilete das flores pistiladas, em busca do néctar e entram em contato com as anteras e estigmas. As formigas alcançam os capítulos escalando os escapos, de onde de capítulo em capítulo vão se locomovendo entre as plantas. As formigas realizavam quantidade inconstante de visitas (no mínimo duas e mais que dez) antes de retornar ao ninho. O tempo de duração de cada visita variou de dois segundos a quatro minutos para *S. tridens* e cinco segundos a três minutos para *C. crassus*. O Diptera sobrevoava e visitava praticamente todos os capítulos de *P. tortilis* com duração variável de cinco segundos a dois minutos. A média da abundância de indivíduo/inseto e frequência de visita ao longo do período de observação está representada na figura 5

Levando-se em consideração a abundância, frequência de visitas, comportamento e presença de grãos de pólen aderidos principalmente na cabeça e ao longo do corpo, as formigas *Solenopsis tridens* e *Camponotus crassus* foram consideradas polinizadores efetivos, enquanto o Diptera foi considerado polinizador eventual.

Sistema de polinização

Verificamos formação de frutos por geitonogamia espontânea em todas as espécies estudadas (Tabela 1). A maior taxa deste tratamento foi registrada em *P. subtilis* com mais da metade dos frutos formados. Não houve diferença estatística ($p < 0.05$) em nenhuma espécie entre o tratamento de autopolinização espontânea e o tratamento de polinização pelo vento (Tabela 1). Portanto, o vento não tem participação na formação de frutos nas três espécies.

Os capítulos em condições naturais apresentaram as maiores taxas de frutos formados (> 80% de frutificação para todas as espécies) diferindo significativamente ($p < 0.05$) dos demais tratamentos (Tabela 1).

DISCUSSÃO

As três espécies estudadas, *P. bifidus*, *P. tortilis* e *P. subtilis* apresentam características relacionadas tanto à polinização por insetos (p.ex. produção de néctar) quanto à polinização pelo vento (p.ex. flores pequenas, unissexuadas e órgãos sexuais expostos). Nossos dados mostraram que a polinização por insetos é o sistema mais eficaz em *P. bifidus* e *P. tortilis*, no qual as formigas e o díptera colaboraram com a formação de frutos destas espécies, corroborando com estudos que sugerem ser este o sistema de polinização predominante na família Eriocaulaceae (Ramos *et al.*, 2005; Oriani *et al.*, 2009; Del-Claro *et al.*, 2019). Entretanto, *P. subtilis* apresenta exclusivamente geitonogamia espontânea. Embora espécies que apresentem atributos anemófilos e entomófilos combinados atuando simultaneamente possam desenvolver um sistema misto de polinização, denominado ambofilia (Culley *et al.*, 2002; Karrenberg *et al.*, 2002; Costa e Machado, 2012; Yamasaki e Sakai, 2013), e as espécies estudadas possuam características que permitiriam a polinização pelo vento, este sistema de polinização não foi verificado para as espécies estudadas.

Formigas, detectadas como sendo os polinizadores efetivos em *P. bifidus* e *P. tortilis*, são geralmente consideradas raros agentes polinizadores e restritas a poucas espécies de angiospermas (Domingos-Melo *et al.*, 2017; Kuriakose *et al.*, 2018). Uma das razões para as formigas serem consideradas ineficientes agentes polinizadores é a presença de substâncias antibacterianas e fungicidas produzidas pela glândula metapleurale sobre a superfície do corpo desses insetos, que interferem na viabilidade dos grãos de pólen (Beattie, 1985; Peakall *et al.*, 1991). Contudo experimentos realizados por Garcia (1995), Gomez *et al.* (1996), de Vega *et al.* (2009) Ibarra-Isassi e Sendoya (2016) demonstraram ausência de inibição da viabilidade polínica pelas secreções da glândula metapleurale. Mayer e Gottsberger (2002) defendem que o tempo de exposição às secreções é muito baixo, visto que as formigas se movimentam rapidamente entre as flores.

Na família Eriocaulaceae também tem sido relatados outros casos de formigas como visitantes abundantes e atuando como polinizadores efetivos, em *Comanthera elegans*, polinizada por *Solenopsis sp.* (Oriani *et al.*, 2009) e, assim como neste estudo, *Camponotus crassus*, que não possui glândulas metapleurais, é o polinizador mais eficaz em *Paepalanthus lundii* (Del-Claro *et al.*, 2019). A polinização por formigas é favorecida em muitas espécies da família Eriocaulaceae graças as características morfológicas e distribuição, sendo plantas pequenas próximas ao solo, ocorrendo em grupos, com inflorescências próximas umas às outras que permitem esses insetos realizarem várias visitas entre os capítulos em busca do néctar de fácil acesso.

As flores emitem uma complexa variedade de sinais para atrair os polinizadores. A coloração das partes florais é relatada como o principal sinal envolvido na comunicação entre as plantas e seus polinizadores (Shrestha *et al.*, 2013; Lunau *et al.*, 2017). Para que essa interação seja estabelecida a cor da estrutura floral atrativa precisa ser visualizada pelos aparatos cognitivos dos visitantes. Em formigas, embora o conhecimento atual sobre visão em cores seja escasso, os estudos comportamentais e eletrofisiológicos mostram capacidade de discriminação e aprendizado de estímulos de cores utilizando sistema de visão dicromático, baseado na presença de dois fotorreceptores: um fotorreceptor UV e outro verde (Camlitepe e Aksoy 2009; Yilmaz *et al.*, 2017; Aksoy e Camlitepe 2018). A partir das análises visuais no espaço de cores dicromático para formigas, no qual verificamos que os capítulos de *P. bifidus* (maturação intermediária) e *P. tortilis* apresentaram melhor discriminação em relação os capítulos de *P. subtilis* e *P. bifidus* (início maturação) comparados ao plano de fundo (escapos e folhas), sugerimos que a cor do capítulo é um fator chave na sinalização floral. Esta sugestão está embasada no fato de que os capítulos das espécies que recebem visitantes são melhor discriminados. Em contrapartida, os capítulos de *P. subtilis* apresentaram menor discriminação,

não recebem visitas de insetos tanto nas populações de áreas abertas quanto nos indivíduos que ocorrem juntamente a *P. bifidus* ao longo da borda trilha.

Mudanças na coloração de flores ou estruturas florais como observado nas anteras de *P. bifidus* são recorrentes nas angiospermas. Alteração na coloração dos capítulos também são observadas em *Comanthera mucugensis*, *C. curralensis* (Ramos *et al.*, 2005) e *C. elegans* (Oriani *et al.*, 2009), no momento da antese, quando as estruturas nectaríferas se modificam e se sobressaem, apresentando coloração amarela em contraste com o branco do capítulo. Essas mudanças estão frequentemente associadas à função de sinalização a partir de um novo atrativo que favorece o comportamento de forrageamento dos visitantes e o sucesso reprodutivo das plantas (Weiss e Lamont, 1997)

O modelo de Troje (1993) para Dipteros pressupõe que os capítulos de todas as espécies são discriminados em relação ao plano de fundo. Embora somente *P. tortilis* seja visitada por Diptera, isso pode ser devido a diferença de local em relação a *P. bifidus* e maior tamanho do escapo, bem como pelo fato de indivíduos próximos, formando populações agrupadas, podem influenciar o display floral se comparado a *P. subtilis*. (Grindeland *et al.*, 2005; Makino *et al.*, 2007)

Os odores florais são importantes em situações onde os sinais visuais são dificilmente reconhecidos, como plantas com pouco contraste com o plano de fundo, plantas que dependem de polinizadores com atividade noturna (Raguso *et al.*, 2003). Na ordem Poales voláteis florais importantes na atração de insetos são descritos em Cyperaceae (Magalhães *et al.*, 2005; Wragg e Johnson, 2011) e Poaceae (Schultze-Albuquerque *et al.*, 2019). Em Eriocaulaceae, nos capítulos de *Actinocephalus bongardii*, *A. polyanthus* e *A. robustus* foi verificada a presença de odor suave e adocicado ao olfato humano (Sano, 1996). A ausência de voláteis florais nas espécies estudadas neste estudo pode indicar que a sinalização visual emitida pelas inflorescências é o suficiente para a localização e aprendizado sobre o recurso oferecido, e

assim a emissão de compostos voláteis pode ser prescindível e custosa (Wright e Schiestl, 2009).

Todas as espécies formaram frutos por geitonogamia espontânea, evidenciando que essas são autocompatíveis. Segundo Vogler e Kalisz (2001) cerca de 20% das espécies de angiospermas se autopolinizam, enquanto outros 33%, assim como observado em *P. bifidus* e *P. tortilis*, apresentam um sistema misto de autopolinização e polinização cruzada. Tal como observado em *P. subtilis*, Sawyer *et al.* (2005) relataram para *Eriocaulon parkeri*, através de experimento com capítulo ensacado, uma taxa de aproximadamente 89 % de frutos formados por geitonogamia espontânea. A geitonogamia como sistema também é sugerida por Stützel (1981) a partir das suas observações em *Paepalanthus tatei*. A transferência de grãos de pólen entre flores no mesmo indivíduo nestas espécies é facilitada pela simultaneidade do período de antese das flores pistiladas e estaminadas, e a proximidade das anteras e estigmas, mesmo em flores diferentes (Stützel, 1981; Sawyer *et al.*, 2005). Como observado em *P. subtilis* devido a antese ter início com as brácteas florais envolvendo as flores, ocorre maior aproximação das anteras e estigmas favorecendo a transferência de grãos de pólen. Em *Paepalanthus subtilis* ocorreu maior quantidade de frutos formados no tratamento controle em comparação aos demais tratamentos. Apesar de não terem sido observados visitantes florais em *P. subtilis*, em condições naturais, gotas de chuvas foram observadas nos capítulos desta espécie, podendo ter auxiliado na transferência de pólen das anteras para os estigmas próximos do mesmo capítulo. *Eriocaulon parkeri* uma espécie aquática, na qual as inflorescências permanecem submersas durante um período do dia, libera os grãos de pólen na água, onde permanecem viáveis podendo sugerir a possibilidade de facilitação da água na polinização (Sawyer *et al.*, 2005). Assim geitonogamia é uma forma eficiente dessas espécies de assegurar o sucesso reprodutivo uma vez que é menos suscetível a variações abióticas e redução ou ausência de polinizadores (Lloyd e Schoen 1992; Kalisz *et al.*, 2004).

Através deste estudo nós demonstramos como as cores das inflorescências de *P. bifidus* e *P. tortilis* atuam como único sinal na atração dos visitantes florais, enquanto *P. subtilis* espécie menos conspícua não recebe visitas e garante o sucesso reprodutivo por geitonogamia. Nossos resultados colaboram para o entendimento da biologia floral e polinização em espécies da família Eriocaulaceae, comprovando importante papel de formigas como polinizadores efetivos, sugerindo que este sistema pode ser frequente em Eriocaulaceae. Embora a polinização pelo vento não tenha sido verificada nas espécies estudadas, mais estudos de campo necessitam ser realizados em espécies desta família para esclarecer questões sobre a ocorrência deste sistema de polinização. Da mesma maneira, futuros estudos devem ser realizados para investigar a possibilidade de haver espécies em Eriocaulaceae com um sistema misto de polinização, como descrito em outras famílias de Poales, bem como averiguar a possível influência de fatores abióticos como a chuva na geitonogamia de *P. subtilis*.

AGRADECIMENTOS

Ao ICMBIO e a Reserva Biológica de Guaribas pela autorização da pesquisa. Ao Dr. Thomas White pela ajuda com as análises de modelos de visão no R. A Dr. Inara Leal, Fernanda Oliveira e Isabelle Holanda pela identificação das espécies de formigas. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento deste estudo e ao PNPd/FACEPE pelo apoio financeiro.

LITERATURA CITADA

- Alves-dos-Santos I, Silva CID, Pinheiro M, Kleinert, ADMP.** 2016. Quando um visitante floral é um polinizador?. *Rodriguésia* **67**: 295-307.
- Aksoy V, Camlitepe Y.** 2018. Spectral sensitivities of ants—a review. *Animal Biology* **68**: 55-73.

- Beattie, AJ.** 1985. *The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms*. Cambridge University Press.
- BFG.** 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia*, **66**: 1085-1113. (DOI: 10.1590/2175-7860201566411)
- Chittka L, Thomson, JD.** 2001. *Cognitive ecology of pollination: animal behaviour and floral evolution*. Cambridge University Press.
- Camlitepe Y, Aksoy V.** 2010. First evidence of fine colour discrimination ability in ants (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Experimental Biology* **213**: 72-77.
- Costa FN, Andrino CO, Sano PT, Trovo M, Echternacht L.** 2018. Paepalanthus (Eriocaulaceae) in the Central Espinhaço Range in Minas Gerais, Brazil: checklist, endemism, and nomenclatural changes. *Phytotaxa*, **367**: 133-144
- Costa FN, Trovó M, Sano PT.** 2008. Eriocaulaceae na Cadeia do Espinhaço: riqueza, endemismo e ameaças. *Megadiversidade* **4**: 117-125.
- Costa ACG, Machado IC.** 2012. Flowering dynamics and pollination system of the sedge *Rhynchospora ciliata* (Vahl) Kükenth (Cyperaceae): does ambophily enhance its reproductive success?. *Plant Biology* **14**: 881-887.
- Costa ACG, Thomas WW, Machado IC.** 2017. Comparative floral biology of *Rhynchospora ciliata* (Vahl) Kükenth and *R. pubera* (Vahl) Boeckeler (Cyperaceae): the role of white involucral bracts in attracting pollinating insects. *Plant Species Biology* **32**: 403-411.
- Culley TM, Weller SG, Sakai AK.** 2002. The evolution of wind pollination in angiosperms. *Trends in Ecology & Evolution* **17**: 361-369.
- Dafni A, Kevan PG, Husband BC.** 2005. Practical pollination biology. *Practical pollination biology*.

de Vega C, Arista M, Ortiz PL, Herrera CM, Talavera S. 2009. The ant pollination system of *Cytinus hypocistis* (Cytinaceae), a Mediterranean root holoparasite. *Annals of Botany* **103**: 1065–1075.

Del-Claro K, Rodriguez-Morales D, Calixto ES., Martins AS, Torezan-Silingardi HM. 2019. Ant pollination of *Paepalanthus lundii* (Eriocaulaceae) in Brazilian savanna. *Annals of Botany* **123**: 1159-1165.

Domingos-Melo A; De Lima NT, Machado IC. 2017. Complex flowers and rare pollinators: Does ant pollination in *Ditassa* show a stable system in Asclepiadoideae (Apocynaceae)?. *Arthropod-Plant Interactions* **11**: 339-349.

Dötterl S, Wolfe LM, Jürgens A. 2005. Qualitative and quantitative analyses of flower scent in *Silene latifolia*. *Phytochemistry* **66**: 203-213.

Friedman J, Barrett SCH. 2008. A phylogenetic analysis of the evolution of wind pollination in the angiosperms. *International Journal of Plant Sciences* **169**: 49-58.

Friedman J, Barrett SCH. 2009. The consequences of monoecy and protogyny for mating in wind-pollinated *Carex*. *New Phytologist* **181**: 489-497.

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

Giulietti AM, Scatena VL, Sano PT, et al. 2000. Multidisciplinary studies on neotropical Eriocaulaceae. *Monocots: systematics and evolution*.

Giulietti AM, Andrade MJG, Scatena VL et al. 2012. Molecular phylogeny, morphology and their implications for the taxonomy of Eriocaulaceae. *Rodriguésia* **63**: 001-019.

Givnish TJ, Ames M, McNeal JR. et al. 2010. Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **97**: 584-616.

GÓMEZ, José M., et al. Experimental study of pollination by ants in Mediterranean high mountain and arid habitats. *Oecologia*, 1996, 105.2: 236-242.

Govardovskii VI, Fyhrquist N, Reuter TOM. Et al. 2000. In search of the visual pigment template. *Visual neuroscience* **17**: 509-528.

Grindeland JM, Sletvold N, Ims RA. 2005. Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology* **19**: 383-390.

Hannah L, Dyer AG, Garcia J E, Dorin A, Burd M. 2019. Psychophysics of the hoverfly: categorical or continuous color discrimination?. *Current Zoology*, **65**: 483-492.

Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. 2009. *Sistemática Vegetal-: Um Enfoque Filogenético*. Artmed Editora.

Kalisz S, Vogler DW, Hanley KM. 2004. Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. *Nature* **430**: 884.

Karrenberg S, Kollmann J, Edwards PJ. 2002. Pollen vectors and inflorescence morphology in four species of *Salix*. *Plant Systematics and Evolution* **235**: 181-188.

Kelber A, Vorobyev M, Osorio D. 2003. Animal colour vision—behavioural tests and physiological concepts. *Biological Reviews* **28**: 81-118.

Kral R. 1966. Eriocaulaceae of continental North America north of Mexico. *SIDA, Contributions to Botany* **2**: 285-332.

- Kuriakose G, Sinu PA, Shivanna KR.** 2018. Ant pollination of *Syzygium occidentale*, an endemic tree species of tropical rain forests of the Western Ghats, India. *Arthropod-Plant Interactions* **12**: 647-655.
- Linder HP, Rudall, P. J.** 2005. Evolutionary history of Poales. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **36**: 107-124.
- Lloyd DG, Schoen DJ.** 1992. Self-and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *International journal of plant sciences* **153**: 358-369.
- Lunau K.** 2014. Visual ecology of flies with particular reference to colour vision and colour preferences. *Journal of Comparative Physiology* **200**: 497-512.
- Lunau K, Konzmann S, Winter L, Kamphausen V, Ren ZX.** 2017. Pollen and stamen mimicry: the alpine flora as a case study. *Arthropod-Plant Interactions* **11**: 427-447.
- Magalhães AF, Ruiz ALTG, Flach A, Faria AD, Magalhães EG, Amaral MCE.** 2005. Floral scent of *Eleocharis elegans* (Kunth) Roem. & Schult. (Cyperaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* **33**: 675–679.
- Maia R, Gruson H, Endler JA, White TE.** 2019. pavo 2: new tools for the spectral and spatial analysis of colour in R. *Methods in Ecology and Evolution* **10**: 1097-1107.
- Maia R, Eliason CM, Bitton PP, Doucet SM, Shawkey MD.** 2013. pavo: an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods in Ecology and Evolution* **4**: 906-913.
- Makino TT, Ohashi K; Sakai S.** 2007. How do floral display size and the density of surrounding flowers influence the likelihood of bumble bee revisitation to a plant?. *Functional Ecology* **21**: 87-95.

Mayer E, Gottsberger G. 2002. Die auswirkung von ameisen auf den reproduktionserfolg des quendelblättrigen sandkrautes (*Arenaria serpyllifolia*, Caryophyllaceae). *Botanische Jahrbücher* **124**: 31-47.

Peakall R, Handel SN, Beattie AJ. 1991. The evidence for, and importance of ant pollination. In: Huxley CR, Cutler DF, eds. *Ant-plant interactions*. Oxford: Oxford University Press, 421–429.

Ohashi K, Makino TT, Arikawa K. 2015. Floral colour change in the eyes of pollinators: testing possible constraints and correlated evolution. *Functional Ecology* **29**: 1144–1155.

Oriani A, Sano PT, Scatena VL. 2009. Pollination biology of *Syngonanthus elegans* (Eriocaulaceae–Poales). *Australian Journal of botany* **57**: 94-105.

Raguso RA, Levin RA, Foose SE, Holmberg MW, Mcdade LA. 2003 Fragrance chemistry, nocturnal rhythms and pollination “syndromes” in *Nicotiana*. *Phytochemistry* **63**: 265–284.

Ramos COC, Borba EL, Funch LS. 2005. Pollination in Brazilian *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) species: evidence for entomophily instead of anemophily. *Annals of Botany* **96**: 387-397.

Renoult JP, Kelber A, Schaefer HM. 2017. Colour spaces in ecology and evolutionary biology. *Biological Reviews* **92**: 292-315.

Rosa MM, Scatena VL. 2003. Floral anatomy of *Eriocaulon elichrysoides* and *Syngonanthus caulescens* (Eriocaulaceae). *Flora Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* **198**: 188-199.

Rosa MM, Scatena VL. 2006. Floral anatomy of Paepalanthoideae (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures. *Annals of Botany* **99**: 131-139.

- Sano PT. 1996.** Fenologia de *Paepalanthus hilairei* Koern., *P. polyanthus* (Bong.) Kunth e *P. robustus* Silveira: *Paepalanthus* sect. *Actinocephalus* Koern.-Eriocaulaceae. *Acta Botanica Brasilica* **10**: 317-328.
- Sawyer NW, Mertins DS, Schuster LA. 2005.** Pollination biology of *Eriocaulon parkeri* in Connecticut. *Aquatic Botany* **82**: 113-120.
- Schultze-Albuquerque I, Costa ACGD, Milet-Pinheiro P, Navarro DMDA F, Thomas WW, Machado IC. 2020.** Visual and olfactory floral cues related to ambophilous pollination systems in Poaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* **192**: 242-257.
- Stützel T. 1981.** Zur Funktion und Evolution köpfchenförmiger Blütenstände, insbesondere der Eriocaulaceen. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* **56**: 439–468.
- Shrestha M, Dyer AG, Boyd-Gerny S, Wong BB, Burd M. 2013.** Shades of red: bird-pollinated flowers target the specific colour discrimination abilities of avian vision. *New Phytologist*, **198**: 301-310.
- Shrestha M, Lunau K, Dorin A. et al. 2016.** Floral colours in a world without birds and bees: the plants of M acquarie I sland. *Plant Biology* **18**: 842-850.
- Troje N. 1993.** Spectral categories in the learning behaviour of blowflies. *Zeitschrift für Naturforschung C* **48**: 96-104.
- Viana JL, Neto PDCG, Araújo CM. et al. 2011.** Checklist of the vascular plants of the Guaribas Biological Reserve, Paraíba, Brazil. *Revista Nordestina de Biologia* **20**: 79-106.
- Vogel S. 1990.** *The role of scent glands in pollination*. Washington, Smithsonian InstitutionLibraries.
- Vogler DW, Kalisz S. 2001.** Sex among the flowers: the distribution of plant mating systems. *Evolution* **55**: 202-204.

- Weiss MR, Lamont BB.** 1997. Floral color change and insect pollination: a dynamic relationship. *Israel Journal of Plant Sciences* **45**: 185-199.
- Wolowski M, Freitas L.** 2015. An overview on pollination of the Neotropical Poales. *Rodriguésia* **66**: 329-336.
- Wragg PD, Johnson SD.** 2011. Transition from wind pollination to insect pollination in sedges: experimental evidence and functional traits. *New Phytologist* **191**: 1128-1140.
- Wright GA, Schiestl FP.** 2009. The evolution of floral scent: the influence of olfactory learning by insect pollinators on the honest signalling of floral rewards. *Functional Ecology* **23**: 841-851.
- Yamasaki E, Sakai S.** 2013. Wind and insect pollination (ambophily) of *Mallotus* spp.(Euphorbiaceae) in tropical and temperate forests. *Australian Journal of Botany* **61**: 60-66.
- Yilmaz A, Dyer AG, Rössler W, Spaethe, J.** 2017.. Innate colour preference, individual learning and memory retention in the ant *Camponotus blandus* *Journal of Experimental Biology* **220**: 3315-3326.

Tabela

Tabela 1. Total de flores pistiladas, frutos formados, sucesso reprodutivo e desvio padrão em cada tratamento (C = controle; PV = polinização pelo vento; AU = autopolinização espontânea) (n=35). Kruskal-Wallis (1.H=70.6625, GL=2; 2.H= 70.2160, GL=2; 3. H=72.5786 GL=2) $p < 0.0001$. Letras diferentes representam diferença estatística de acordo com teste de Dunn ($p < 0.05$).

Espécie	Tratamento	Flores pistiladas	Frutos	sucesso reprodutivo (% de frutos)
¹ <i>P. bifidus</i>	C	320 ± 1.16	276 ± 1.02 ^a	86.36 ± 5.16
	PV	337 ± 1.49	135 ± 0.64 ^b	41.70 ± 4.92
	AU	324 ± 1.19	144 ± 0.71 ^b	42.80 ± 4.67
² <i>P. tortilis</i>	C	392 ± 0.75	323 ± 0.77 ^a	82.34 ± 2.70
	PV	388 ± 0.85	132 ± 0.54 ^b	33.91 ± 3.31
	AU	384 ± 0.82	137 ± 0.56 ^b	35.61 ± 3.85
³ <i>P. subtilis</i>	C	381 ± 1.20	344 ± 1.20 ^a	90.31 ± 5.08
	PV	375 ± 0.98	244 ± 0.98 ^b	65.03 ± 6.57
	AU	371 ± 0.97	250 ± 0.69 ^b	67.54 ± 5.12

FIGURAS

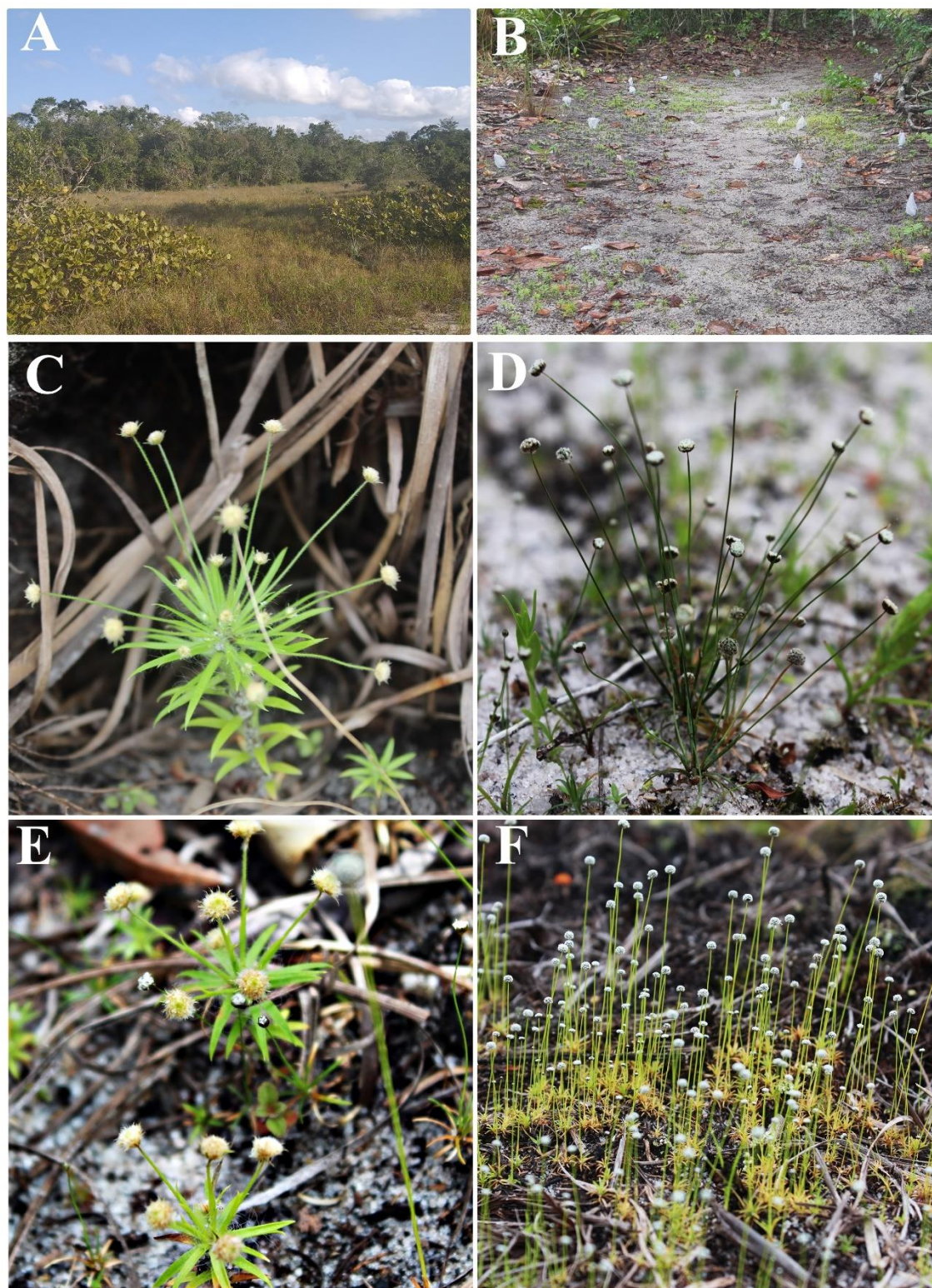


Figura 1. A) Área aberta de vegetação graminoide na Reserva Biológica de Guaribas -PB- Brasil B) Borda das trilhas com indivíduos de *P. subtilis* com capítulos ensacados C) Indivíduo de *P. bifidus* D) Indivíduos de *P. subtilis*. E) Indivíduos de *P. bifidus* e *P. subtilis* ocorrendo próximos F) População de *P. tortilis*

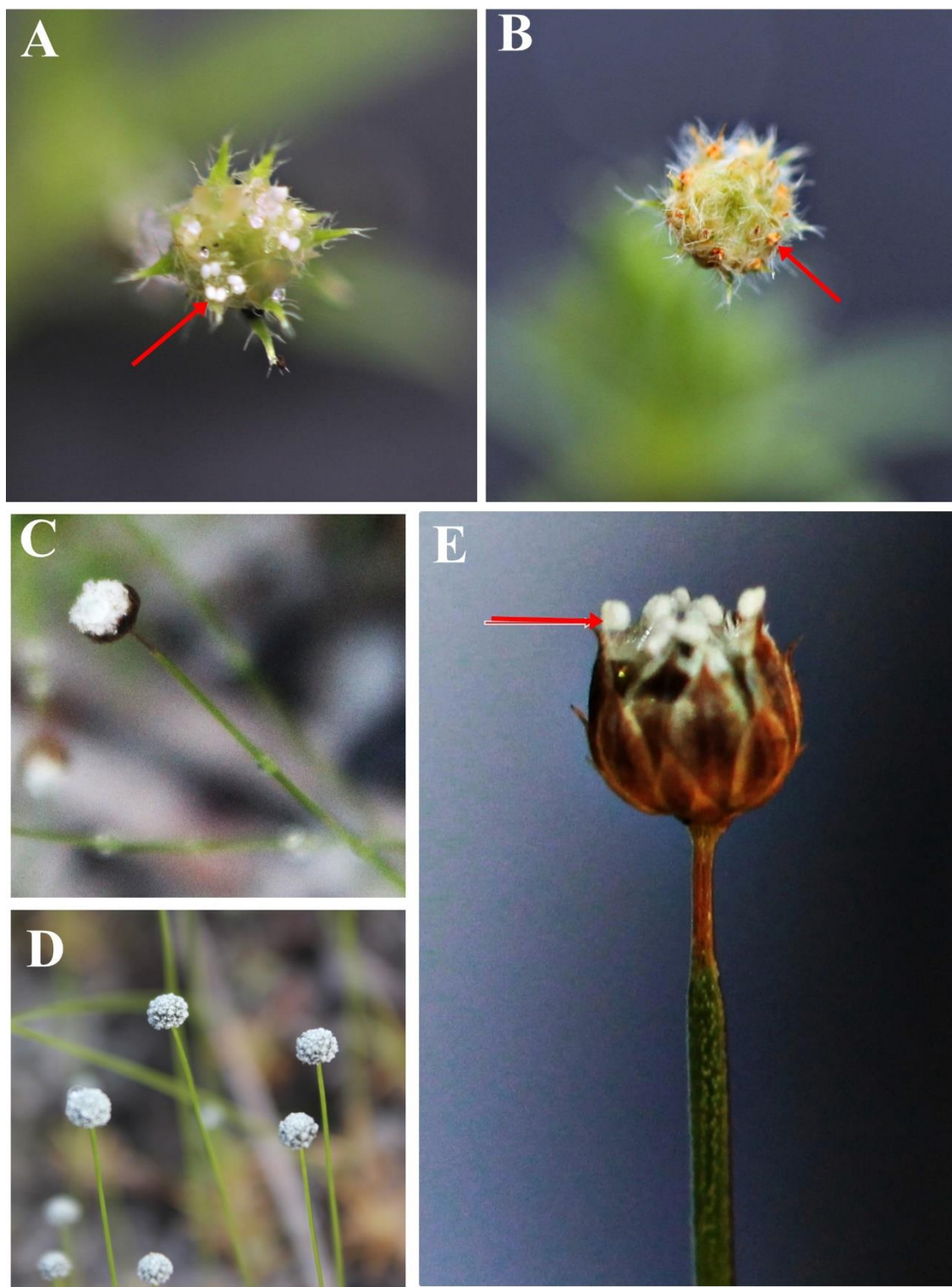


Figura 2. A) Início maturação do capítulo de *P. bifidus* com anteras brancas (seta); B) Primeiro ciclo externo de anteras pós deiscência alaranjadas (seta) de *P. bifidus*; C) Capítulo de *P. subtilis*; D) Capítulo de *P. tortilis*; E) Antese das flores de *P. subtilis* iniciando-se envolvidas pelas brácteas involucreais (seta).

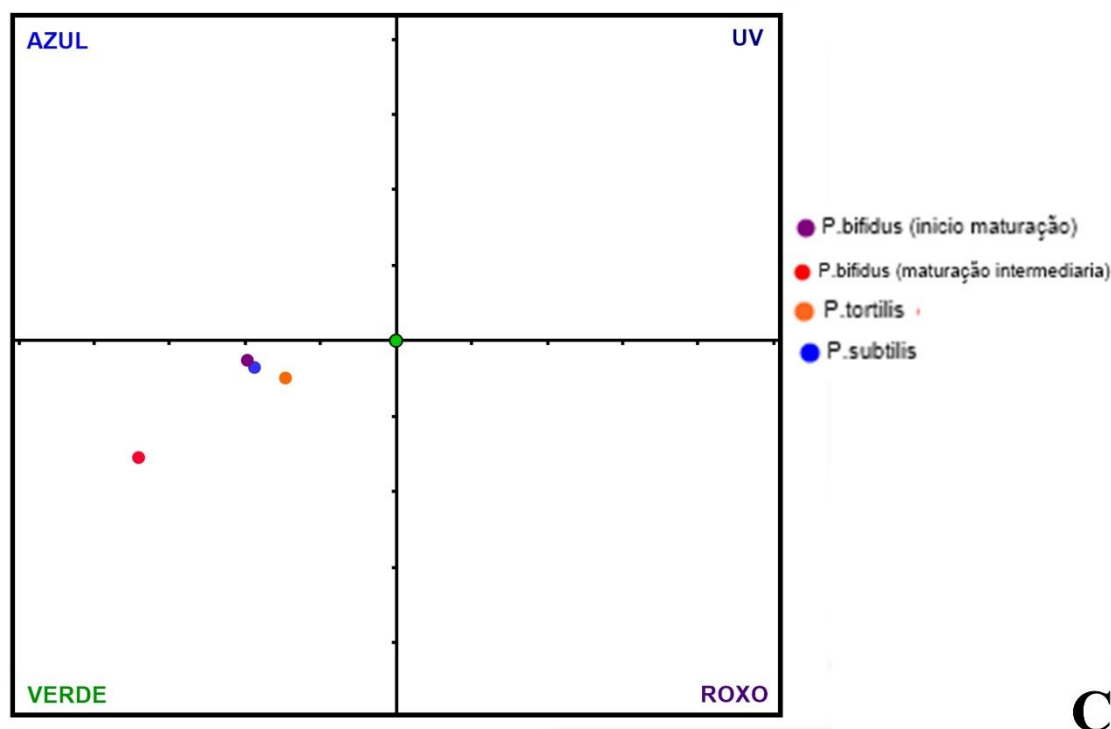
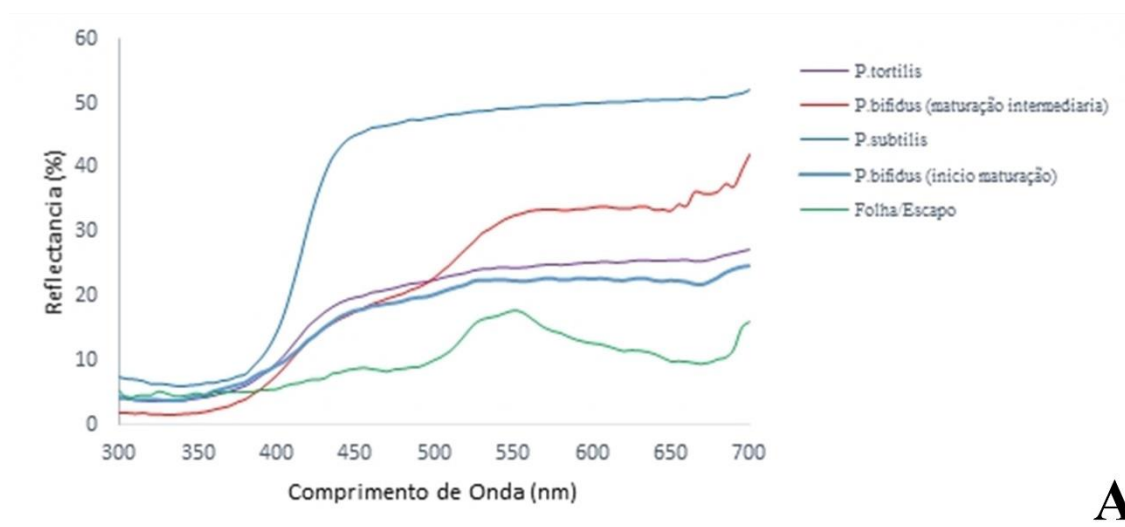


Figura 3. A) Espectro de reflectância média das inflorescências, folhas/escapos *P. bifidus*, *P. subtilis* e *P. tortilis*; B) Espaço de cores dicromático UV-Verde. Círculos (*locus*) cromáticos representam as inflorescências de *P. bifidus*, *P. subtilis*, *P. tortilis* e o plano de fundo; C) Espaço de cores de dípteros (Troje, 1993). Círculos (*locus*) cromáticos representam as inflorescências de *P. bifidus*, *P. subtilis* e *P. tortilis* e o centro do quadrante o plano de fundo.



Figura 4. A) Indivíduo de *Camponotus crassus* visitando capítulo de *P. tortilis*; B) *Solenopsis tridens* visitando inflorescência de *P. bifidus*; C) Diptera visitando capítulo de *P. tortilis*.

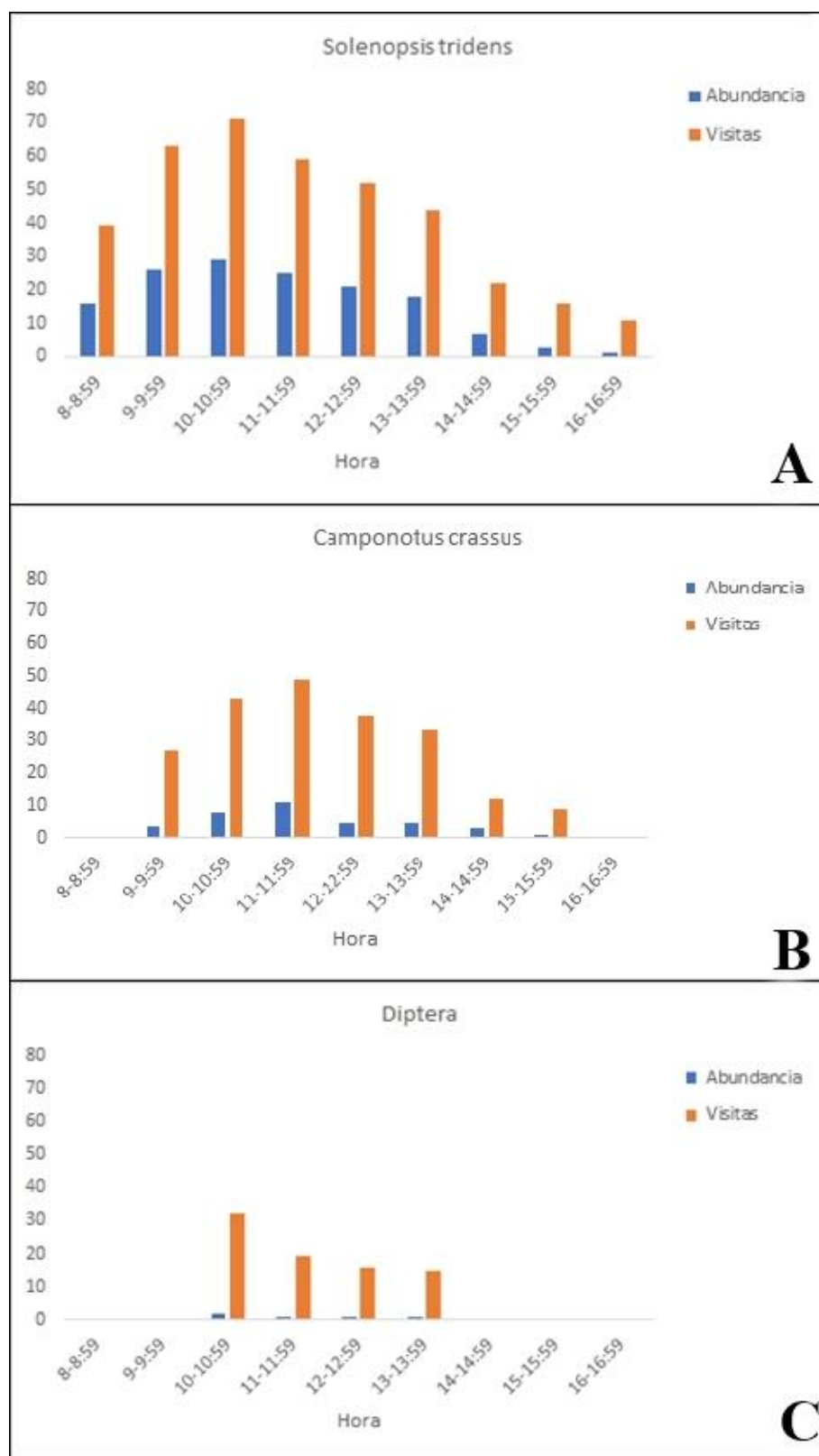


Figura 5. Média da abundância de indivíduos e frequência de visitas ao longo de cinco dias consecutivos (45h observação focal por espécie) na Reserva Biológica de Guaribas, Paraíba, Brasil. A) *S. tridens*, em *P. bifidus* B) *C. crassus* e C) *Diptera* em *P. tortilis*, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, Josef Daniel. **Abiotic pollen and pollination: ecological, functional, and evolutionary perspectives**. In: Pollen and Pollination. Springer, Vienna, 2000. p. 167-185.
- BARKER, Nigel P. et al. **Phylogeny, biogeography, and the evolution of life-history traits in *Leucadendron* (Proteaceae)**. Molecular Phylogenetics and Evolution, v. 33, n. 3, p. 845-860, 2004.
- BEATTIE, Andrew J., et al. **Ant inhibition of pollen function: a possible reason why ant pollination is rare**. American Journal of Botany, 1984, 71.3: 421-426.
- BOUCHENAK-KHELLADI, Yanis; MUASYA, A. Muthama; LINDER, H. Peter. **A revised evolutionary history of Poales: origins and diversification**. Botanical Journal of the Linnean Society, v. 175, n. 1, p. 4-16, 2014.
- BRISCOE, Adriana D.; CHITTKA, Lars. **The evolution of color vision in insects. Annual review of entomology**, , v. 46, n.1, p. 471-510, 2001.
- CHASE, Mark W. et al. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV**. Botanical Journal of the Linnean Society, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.
- CHITTKA, Lars. **The colour hexagon: a chromaticity diagram based on photoreceptor excitations as a generalized representation of colour opponency**. Journal of Comparative Physiology A, v. 170, n. 5, p. 533-543, 1992.
- CHITTKA, Lars; RAINE, Nigel E. **Recognition of flowers by pollinators. Current opinion in plant biology**, v. 9, n. 4, p. 428-435, 2006.
- COSTA, A. C. G.; MACHADO, I. C. **Flowering dynamics and pollination system of the sedge *Rhynchospora ciliata* (Vahl) Kükenth (Cyperaceae): does ambophily enhance its reproductive success?**. Plant Biology, v. 14, n. 6, p. 881-887, 2012.
- COSTA, Ana CG; THOMAS, William W.; MACHADO, Isabel C. **Comparative floral biology of *Rhynchospora ciliata* (Vahl) Kükenth and *R. pubera* (Vahl) Boeckeler (Cyperaceae): the role of white involucre bracts in attracting pollinating insects**. Plant species biology, v. 32, n. 4, p. 403-411, 2017.
- CRESSWELL, James E. et al. **The aerodynamics and efficiency of wind pollination in grasses**. Functional Ecology, v. 24, n. 4, p. 706-713, 2010.

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

CUTHILL, Innes C. et al. **The biology of color**. Science, v. 357, n. 6350, p. eaan0221, 2017.

de VEGA, Clara; GÓMEZ, José María. **Polinización por hormigas: conceptos, evidencias y futuras direcciones**. *Revista Ecosistemas*, 2014, 23.3: 48-57.

de VEGA, Clara, et al. **The ant-pollination system of *Cytinus hypocistis* (Cytinaceae), a Mediterranean root holoparasite**. Annals of Botany, 2009, 103.7: 1065-1075.

DEL-CLARO, K. et al. **Ant pollination of *Paepalanthus lundii* (Eriocaulaceae) in Brazilian savanna**. Annals of botany, 2019.

DOMINGOS-MELO, Arthur; DE LIMA NADIA, Tarcila; MACHADO, Isabel Cristina. **Complex flowers and rare pollinators: Does ant pollination in *Ditassa* show a stable system in *Asclepiadoideae* (Apocynaceae)?**. Arthropod-Plant Interactions, v. 11, n. 3, p. 339-349, 2017.

ENDRESS, Peter K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge University Press, 1996.

FAEGRI, K. & Pijl, L. **The principles of pollination ecology**. 3 ed. Oxford, Pergamon Press.1979

FRIEDMAN, Jannice; BARRETT, Spencer CH. **A phylogenetic analysis of the evolution of wind pollination in the angiosperms**. International Journal of Plant Sciences, v. 169, n. 1, p. 49-58, 2008.

FRIEDMAN, Jannice; BARRETT, Spencer CH. **The consequences of monoecy and protogyny for mating in wind-pollinated *Carex***. New Phytologist, v. 181, n. 2, p. 489-497, 2009.

GIULIETTI, Ana Maria et al. **Studies in "sempre-vivas"(everlasting plants): taxonomy foccusing the species from Minas Gerais, Brazil**. Acta Botanica Brasilica, v. 10, n. 2, p. 329-377, 1996.

GIULIETTI, Ana M. et al. **Molecular phylogeny, morphology and their implications for the taxonomy of Eriocaulaceae**. Rodriguésia, v. 63, n. 1, p. 001-019, 2012.

GIVNISH, Thomas J. et al. **Assembling the tree of the monocotyledons: plastome sequence phylogeny and evolution of Poales**. Annals of the Missouri Botanical Garden, v. 97, n. 4, p. 584-616, 2010.

GÓMEZ, José M., et al. **Experimental study of pollination by ants in Mediterranean high mountain and arid habitats**. Oecologia, v. 105 n.2, p. 236-242, 1996.

HANNAH, Lea et al. **Psychophysics of the hoverfly: categorical or continuous color discrimination?**. Current Zoology, 2019.

HICKMAN, James C. **Pollination by ants: a low-energy system**. Science, v. 184, n.4143: p. 1290-1292. 1974.

HOCHBACH, Anne; LINDER, H. Peter; RÖSER, Martin. **Nuclear genes, matK and the phylogeny of the Poales**. Taxon, v. 67, n. 3, p. 521-536, 2018.

IBARRA-ISASSI, Javier; SENDOYA, Sebastián Felipe. **Ants as floral visitors of *Blutaparon portulacoides* (A. St-Hil.) Mears (Amaranthaceae): an ant pollination system in the Atlantic Rainforest**. Arthropod-Plant Interactions, v.10, n.3 p.221-227, 2016.

JUDD, Walter S. et al. **Sistemática Vegetal:- Um Enfoque Filogenético**. Artmed Editora, 2009.

KEMP, Darrell J., et al. **An integrative framework for the appraisal of coloration in nature**. The American Naturalist, 2015, 185.6: 705-724.

KRAL, Robert. **Eriocaulaceae of continental North America north of Mexico**. SIDA, Contributions to Botany, v. 2, n. 4, p. 285-332, 1966.

LEVAN, Katherine E., et al. **Floral visitation by the Argentine ant reduces pollinator visitation and seed set in the coast barrel cactus, *Ferocactus viridescens***. Oecologia, 2014, 174.1: 163-171.

LUNAU, Klaus. **Visual ecology of flies with particular reference to colour vision and colour preferences**. Journal of Comparative Physiology A, v. 200, n. 6, p. 497-512, 2014.

LINDER, H. Peter; RUDALL, Paula J. **Evolutionary history of Poales**. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst., v. 36, p. 107-124, 2005.

MAGALHÃES, Aderbal F. et al. **Floral scent of *Eleocharis elegans* (Kunth) Roem. & Schult.(Cyperaceae)**. Biochemical systematics and ecology, v. 33, n. 7, p. 675-679, 2005.

ORIANI, Aline; SANO, Paulo T.; SCATENA, Vera L. **Pollination biology of *Syngonanthus elegans* (Eriocaulaceae–Poales)**. Australian Journal of botany, v. 57, n. 2, p. 94-105, 2009.

PEAKALL, Rod; BEATTIE, Andrew J. **The genetic consequences of worker ant pollination in a self-compatible, clonal orchid**. Evolution, 1991, 45.8: 1837-1848.

PRUSINKIEWICZ, Przemyslaw et al. **Evolution and development of inflorescence architectures**. Science, v. 316, n. 5830, p. 1452-1456, 2007.

RAGUSO, Robert A.; WILLIS, Mark A. **Synergy between visual and olfactory cues in nectar feeding by naive hawkmoths, *Manduca sexta***. Animal Behaviour, v. 64, n. 5, p. 685-695, 2002.

RAGUSO, Robert A. **Flowers as sensory billboards: progress towards an integrated understanding of floral advertisement**. Current opinion in plant biology, v. 7, n. 4, p. 434-440, 2004.

RAMOS, Carlianne OC; BORBA, Eduardo L.; FUNCH, Ligia S. **Pollination in Brazilian *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) species: evidence for entomophily instead of anemophily**. Annals of botany, v. 96, n. 3, p. 387-397, 2005.

RECH, André Rodrigo et al. (Ed.). **Biologia da polinização**. Projecto Cultural, 2014.

ROSA, Michele Marcelino; SCATENA, Vera Lucia. **Floral anatomy of *Eriocaulon elichrysoides* and *Syngonanthus caulescens* (Eriocaulaceae)**. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, v. 198, n. 3, p. 188-199, 2003.

ROSA, Michele Marcelino; SCATENA, Vera Lucia. **Floral anatomy of *Paepalanthoideae* (Eriocaulaceae, Poales) and their nectariferous structures**. Annals of botany, v. 99, n. 1, p. 131-139, 2006.

SANO, P. T. **Fenologia de *Paepalanthus hilairei* Koern., *P. polyanthus* (Bong.) Kuth e *P. robustus* Silveira: *Paepalanthus* Sect. *actinocephalus* Koern.-Eriocaulaceae**. Acta Botanica Brasilica, v. 10, 1996.

SAWYER, Neil W.; MERTINS, Daniel S.; SCHUSTER, Lela A. **Pollination biology of *Eriocaulon parkeri* in Connecticut**. Aquatic botany, v. 82, n. 2, p. 113-120, 2005.

TOBIN, John E. **Ecology and diversity of tropical forest canopy ants**. Forest canopies, 1995, 129-147.

WELSFORD, Megan R. et al. **Floral trait evolution associated with shifts between insect and wind pollination in the dioecious genus *Leucadendron* (Proteaceae)**. *Evolution*, v. 70, n. 1, p. 126-139, 2016.

WILLMER, Pat. **Pollination and floral ecology**. Princeton University Press, 2011.

WOLOWSKI, Marina; FREITAS, Leandro. **An overview on pollination of the Neotropical Poales**. *Rodriguésia*, v. 66, n. 2, p. 329-336, 2015.

WRAGG, Peter D.; JOHNSON, Steven D. **Transition from wind pollination to insect pollination in sedges: experimental evidence and functional traits**. *New Phytologist*, v. 191, n. 4, p. 1128-1140, 2011.

WRIGHT, Geraldine A.; SCHIESTL, Florian P. **The evolution of floral scent: the influence of olfactory learning by insect pollinators on the honest signalling of floral rewards**. *Functional Ecology*, v. 23, n. 5, p. 841-851, 2009

ANEXO A — NORMAS DE SUBMISSÃO PARA ANNALS OF BOTANY

Text should be typed using size 12 Times New Roman or Courier, double-spaced throughout and with an approx. 25 mm margin. All pages should be numbered sequentially. Each line of the text should also be numbered, with the top line of each page being line 1. The article file should be in PC-compatible Microsoft Word - file type DOC [please make sure the "Language" is "English (U.K)" via Tools → Language → Set Language]. RTF files are also acceptable. Please do not use the Windows Vista DOCX format: if you have created the text in this format, please save the files as RTF before submitting them. Please do *not* submit PDFs, desktop publishing files or LaTeX files. The article file should *include* a list of any figure legends but *exclude* any figures themselves – these should be submitted separately, with each figure in a separate file. Tables should be included at the end of the article file, in a Word format and *not* embedded as an image/picture. For more details see below under PREPARING TABLE and FIGURE FILES, SUPPLEMENTARY INFORMATION FILES AND VIDEO FILES.

It is NOT journal style to have footnotes within articles. Any such notes must be incorporated into the main text, for example within brackets or as a separate paragraph.

The first page should state the type of article (e.g. Original Article, Technical Article) and provide a concise and informative full title followed by the names of all authors. Where necessary, each name should be followed by an identifying superscript number (¹, ², ³ etc.) associated with the appropriate institutional address to be entered further down the page. For papers with more than one author, the corresponding author's name should be followed by a superscript asterisk*. The institutional address(es) of each author should be listed next, each address being preceded by the relevant superscript number where appropriate. A running title of not more than 75 characters, including spaces, should also be provided, followed by the e-mail address of the corresponding author. Please follow the layout used for the first page of papers published in *Annals of Botany*.

The second page should contain a structured Abstract not exceeding 300 words made up of bulleted headings.:

As normas completas para publicação podem ser acessadas em:
https://academic.oup.com/aob/pages/General_Instructions

