

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Botânica
Mestrado em Biologia Vegetal

**POLINIZAÇÃO DE *TABEBUIA IMPETIGINOSA* E *JACARANDA RUGOSA*
(BIGNONIACEAE) E O EFEITO DE PILHADORES NO SEU SUCESSO
REPRODUTIVO NO PARQUE NACIONAL DO CATIMBAU**

PAULO MILET-PINHEIRO

RECIFE, 2006

PAULO MILET-PINHEIRO

**POLINIZAÇÃO DE *TABEBUIA IMPETIGINOSA* E *JACARANDA RUGOSA*
(BIGNONIACEAE) E O EFEITO DE PILHADORES NO SEU SUCESSO
REPRODUTIVO NO PARQUE NACIONAL DO CATIMBAU**

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

Orientador: Dr. Clemens Schlindwein
Área de Concentração: Ecologia Vegetal
Linha de pesquisa: Ecologia da polinização

RECIFE, 2006

Milet-Pinheiro, Paulo.

Polinização de *Tabebuia Impetiginosa* e *Jacaranda Rugosa* Bignoniaceae) e o efeito de Pilhadores no seu sucesso reprodutivo no Parque Nacional do Catimbau / Paulo Milet-Pinheiro. – Recife: O Autor, 2008.

79 folhas: il., fig., tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. 2008.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Abelhas. 2. Centridini Euglossini. 3. Fechamento Estigmático. 4. Parque nacional do Catimbau. 5. Pilhadores. 6. Polinização. I. Título.

**581.162.3
571.864.2**

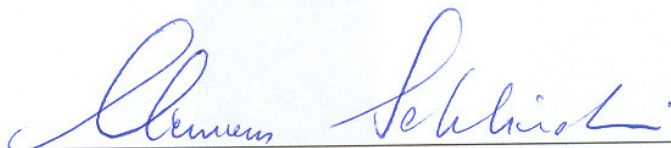
**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
CCB – 2008-186**

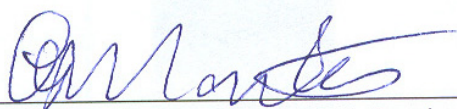
PAULO MILET PINHEIRO

“Polinização de *Tabebuia Impetignosa* e *Jacaranda Rugosa* (Bignoniaceae) e o Efeito de Pilladores no seu Sucesso Reprodutivo no Parque Nacional do Catimbau”

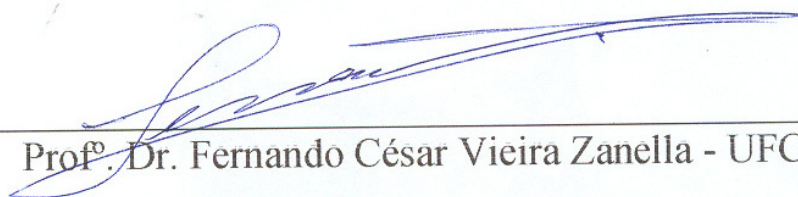
BANCA EXAMINADORA:



Prof.º Dr. Clemens Peter Schlindwein (Orientador) - UFPE



Prof.º Dr. Celso Feitosa Martins - UFPB



Prof.º Dr. Fernando César Vieira Zanella - UFCG

Recife-PE.
2006

Aprovado com distinção

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Luciano e Vera, e meus irmão pelo grande amor, carinho, atenção, apoio e dedicação que me permitiram e ajudaram a concluir mais uma etapa da vida.

A Marina Barreto pelo amor, carinho e apoio durante o desenvolvimento desse trabalho e a Ângela Carneiro da Cunha pela paciência e atenção.

Ao meu orientador Clemens que acompanhou todas minhas etapas de formação profissional desde a iniciação científica e que contribuiu, em muito, para o grande amor e fixação que tenho pela biologia. Agradeço a ele também por não ser apenas um orientador chato, mas um grande amigo.

A Airton Torres Carvalho, Reislá Oliveira, Carlos Eduardo Pinto da Silva, Carlos Eduardo Almeida e Martin Duarte de Oliveira pela amizade e contribuições inestimáveis.

A minha amiga Ana Gabriela Bieber por toda ajuda na estatística.

A Francisco Araújo e ao IBAMA pela permissão e apoio logístico para trabalhar no Parque Nacional do Catimbau

A Denise Araújo pela atenção e ajuda na busca bibliográfica.

Ao guia João da Silva, pela companhia, amizade contribuições valorosas no trabalho de campo.

A dona Maria, pelas refeições deliciosas servidas após dias cansativos no campo e pelas boas conversas

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da UFPE e a todos os seus funcionários.

À CAPES/UFPE pela bolsa concedida.

ABSTRACT

The pollination ecology of *Tabebuia impetiginosa* and *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae) was studied in the National Park of Catimbau, emphasizing the activity of nectar robbers on their reproductive success. The mechanism of stigma closure was also investigated in these and in other three species of this family, *Anemopaegma laeve*, *Arrabidaea limae* and *Jacaranda irwinii*. *T. impetiginosa* and *J. rugosa* are self-incompatible species and depends on medium- to large-sized bees, mainly from the tribes Centridini and Euglossini, to be pollinated. *Trigona spinipes* and species of *Xylocopa* were the principal nectar robbers, attacking 70% of the flowers. The effect of nectar robbers on the reproductive success of the plants was assessed in experiments where nectar amount was controlled and in experiments where flowers were protected against nectar robbers. Experimental nectar removal, simulating the activity of nectar robbers, resulted in brief flower visits, while addition of artificial nectar doubled the time of a flower visit. The reduction of nectar availability to visitors should, consequently, increase the number of flower visits and flights performed among conspecific individuals, leading to higher rate of cross-pollination. Flowers protected against nectar robbers set more fruits than unprotected flowers, mainly because of the activity of *Trigona spinipes*. The natural low fruit set observed in the studied population was a result of the destructive behavior of *T. spinipes* and of the high rate of geitonogamy, associated to the definitive stigma closure after deposition of self or cross conspecific pollen grains. Definitive stigma closure was related to deposition of conspecific viable pollen grains in four of the five species studied.

Key-words: Bees, Catimbau National Park, Centridini, Euglossini, Nectar robbers, Pollination, Stigma closure.

RESUMO

No Parque Nacional do Catimbau foi realizado um estudo sobre a ecologia da polinização de *Tabebuia impetiginosa* e *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae), destacando a ação dos pilhadores no seu sucesso reprodutivo. O mecanismo de fechamento estigmático também foi investigado nessas duas espécies e em mais outras três da mesma família, *Anemopaegma laeve*, *Arrabidaea limae* e *Jacaranda irwinii*. *T. impetiginosa* e *J. rugosa* são auto-incompatíveis e dependem de abelhas de médio a grande porte, principalmente das tribos Centridini e Euglossini, para sua polinização. *Trigona spinipes* e espécies de *Xylocopa* foram os principais pilhadores de néctar, atingindo mais que 70% das flores. O efeito dos pilhadores de néctar no sucesso reprodutivo foi avaliado a partir do experimento de depleção e adição de néctar e da proteção das flores contra pilhadores. A retirada experimental de néctar, simulando a ação de pilhadores, resultou em visitas florais curtas, enquanto a adição de néctar artificial duplicou o tempo de permanência dos polinizadores na flor. Assim, a redução da disponibilidade de néctar leva a um aumento de visitas florais e de vôos entre indivíduos pelos polinizadores, promovendo um acréscimo da polinização cruzada. Flores protegidas contra pilhadores formaram mais frutos do que flores desprotegidas e isso se deve, principalmente, à ação de *Trigona spinipes*. A baixa taxa de frutificação natural nas populações estudadas foi resultado das visitas destrutivas de *T. spinipes* e de uma alta taxa de geitonogamia, associada ao fechamento irreversível dos estigmas sensitivos após deposição de pólen co-específico. O fechamento estigmático definitivo em quatro das cinco espécies estudadas foi relacionado à deposição de pólen viável co-específico.

Palavras-chave: Abelhas, Centridini, Euglossini, Fechamento estigmático, Parque Nacional do Catimbau, Pilhadores, Polinização.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. <i>Jacaranda rugosa</i> , flor, visitantes florais e pilhadores (...)	23
Figura 2. Volume (esquerda) e concentração (direita) de néctar acumulado (...)	24
Figura 3. Número de visitas em flores de <i>Jacaranda rugosa</i> com e sem estaminódio (...)	25
Figura 4. Frequência de visitantes por categoria em flores de <i>Jacaranda rugosa</i> (...)	26
Figura 5. Posição do estigma ao longo do dia em flores de <i>Jacaranda rugosa</i> (...)	27
Figura 6. Taxa de pilhagem em flores de <i>Jacaranda rugosa</i> (...)	28
Figura 7. Tempo de visita em flores sem néctar (SN), com adição de água açucarada (...)	29

Capítulo 2

Figura 1. Lóbulos estigmáticos abertos em <i>Tabebuia impetiginosa</i> (A); flores do primeiro (...)	46
Figura 2. Volume (esquerda) e concentração (direita) de néctar acumulado ao longo do dia (...)	47
Figura 3. Frequência de visitantes por categoria em flores de <i>Tabebuia impetiginosa</i> (...)	51
Figura 4. Número de visitas por flor do primeiro, segundo e terceiro dia de abertura (...)	52
Figura 5. Posição do estigma ao longo do primeiro dia de antese e em flores do segundo (...)	52
Figura 6. Taxa de pilhagem em flores de <i>Tabebuia impetiginosa</i> e seus respectivos pilhadores (...)	53

Capítulo 3

Figura 1. Aspecto geral das flores hermafroditas de cinco espécies de Bignoniaceae (...)	67
Figura 2. Tempo médio e desvio padrão do fechamento estigmático no experimento (...)	70
Figura 3. Tempo médio e desvio padrão em minutos da reabertura do estigma (...)	71
Figura 4. Tempo de fechamento estigmático em flores do primeiro, segundo e terceiro dia (...)	72

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Resultados do experimento de polinização controlada em <i>Jacaranda rugosa</i> (...).....	24
Tabela 2. Abelhas visitantes de <i>Jacaranda rugosa</i> no Parque Nacional do Catimbau (...).....	25
Tabela 3. Número de visitantes por espécie em flores de <i>Jacaranda rugosa</i> observados (...).....	27

Capítulo 2

Tabela 1. Formação de frutos no experimento de polinização controlada em <i>T. impetiginosa</i> (...)....	48
Tabela 2. Visitantes florais de <i>Tabebuia impetiginosa</i> no Parque Nacional do Catimbau (...).....	48
Tabela 3. Frequência de visitantes por espécie em flores de <i>Tabebuia impetiginosa</i> (...).....	50

Capítulo 3

Tabela 1. Posição do estigma em flores de cinco espécies de Bignoniaceae após o estímulo (...).....	69
Tabela 2. Formação de frutos no experimento de fechamento estigmático nas cinco espécies (...).....	70

SUMÁRIO

Agradecimentos	V
Abstract	VI
Resumo	VII
Lista de figuras	VIII
Lista de tabelas	IX
Apresentação	1
Revisão de literatura	2
Bignoniaceae – diversidade, sistemática e distribuição.....	2
Bignoniaceae – ecologia da polinização.....	2
Bignoniaceae – sensibilidade estigmática.....	7
Literatura citada	8

CAPÍTULO 1. Pillhadores de néctar em *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae) aumentam o número de visitas florais dos polinizadores efetivos, abelhas Euglossini (Apidae).

Resumo	17
Introdução	18
Materiais e Métodos	
Área de Estudo.....	19
Espécie estudada.....	19
Biologia floral e reprodutiva.....	19
Polinizadores efetivos e efeito de pilhagem.....	20
Análises estatística.....	21
Resultados	
Biologia floral e reprodutiva.....	22
Polinizadores efetivos e efeito de pilhagem.....	24
Discussão	29
Agradecimentos	32
Referências	33

CAPÍTULO 2. Ecologia da polinização e ação de pilhadores em *Tabebuia impetiginosa* (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

Resumo	40
Introdução	41
Materiais e Métodos	
Área de estudo.....	42
Espécie estudada.....	42
Biologia floral e reprodutiva.....	42
Polinizadores efetivos e efeitos de pilhagem.....	44
Análises estatísticas.....	44
Resultados	
Biologia floral e reprodutiva.....	45
Polinizadores efetivos e efeito de pilhagem.....	48
Discussão	54
Agradecimentos	56
Literatura citada	58

CAPÍTULO 3. Consequências do fechamento estigmático definitivo para cinco espécies de Bignoniaceae no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

Resumo	64
Introdução	65
Material e Métodos	
Área de estudo.....	66
Espécies estudadas.....	66
Desenho experimental.....	68
Resultados	68
Discussão	72
Agradecimentos	74
Referências bibliográficas	75
Conclusões	79

Polinização de *Tabebuia impetiginosa* e *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae) e o efeito de pilhadores no seu sucesso reprodutivo no Parque Nacional do Catimbau.

APRESENTAÇÃO

O presente estudo é resultado de dois anos de trabalho de campo realizado no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, onde foram investigados aspectos específicos da ecologia da polinização de algumas espécies de Bignoniaceae, destacando a ação de pilhadores e o movimento estigmático.

A dissertação está dividida em uma revisão de literatura, que abrange o atual conhecimento científico sobre os aspectos abordados, e em três capítulos em forma de artigos a serem enviados a periódicos científicos internacionais. A formatação de cada capítulo foi padronizada de acordo com as normas das revistas às quais os artigos serão submetidos.

O primeiro capítulo, “Pilhadores de néctar em *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae) aumentam o número de visitas florais dos polinizadores efetivos, abelhas Euglossini (Apidae)”, teve por objetivo descrever a ecologia da polinização de *Jacaranda rugosa*, determinando o efeito dos pilhadores no seu sucesso reprodutivo. O manuscrito será submetido à revista *Plant Systematics and Evolution*.

O segundo capítulo, “Ecologia da polinização e ação de pilhadores em *Tabebuia impetiginosa* (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco”, descreve o mecanismo de polinização em *Tabebuia impetiginosa*, enfatizando a função de seus guias de néctar. O manuscrito do segundo capítulo será submetido à revista *Annals of Botany*.

O terceiro capítulo, “Conseqüências do fechamento estigmático definitivo em cinco espécies de Bignoniaceae”, procura entender o que determina o fechamento definitivo dos estigmas em cinco espécies de Bignoniaceae e quais os efeitos desse mecanismo para o sucesso reprodutivo das espécies. Esse último manuscrito será submetido à revista *Flora*.

REVISÃO DE LITERATURA

Bignoniaceae – diversidade, sistemática e distribuição.

As Bignoniaceae abrangem cerca de 110 gêneros e 800 espécies (Sandwith e Hunt, 1974; Gentry, 1980), sendo a segunda mais diversa família entre as plantas lenhosas atrás das leguminosas (Gentry, 1990). Cinco de suas oito tribos (Bignonieae, Crescentieae, Eccremocarpeae, Schlegelieae e Tourrettieae) são exclusivamente neotropicais e abrangem aproximadamente 600 espécies. A tribo Tecomeae, predominante nas Américas, possui representantes no novo e velho mundo (Gentry, 1980). Os gêneros *Tabebuia* Gomes ex A. DC. e *Jacaranda* Jussieu, ambos neotropicais, estão situados dentro dessa tribo tendo, respectivamente, cerca de 100 e 50 espécies (Sandwith e Hunt, 1974; Morawetz, 1982; Gentry, 1992). *Tabebuia* está distribuído do Norte do México e Antilhas ao Norte da Argentina, sendo Hispaniola e Colômbia as regiões de maior diversidade de espécies. *Jacaranda*, por sua vez, abrange regiões da Guatemala e Antilhas ao Norte da Argentina (Morawetz, 1982; Gentry, 1992).

Tabebuia impetiginosa (Mart. ex. DC.) Standl. é uma espécie de ampla distribuição geográfica, comum em florestas secas estacionais decíduas ou semidecíduas, ocorrendo desde o Noroeste mexicano ao Noroeste argentino (Gentry, 1992). No Brasil essa espécie ocorre desde a região Amazônica, alcançando o sul de São Paulo e Norte do Paraná (Sandwith e Hunt, 1974; Gentry, 1992). No Nordeste brasileiro essa árvore ou arvoreta é um componente freqüente, vegetando inclusive em regiões de Caatinga (Gentry, 1992; Silva *et al.*, 2003; Machado e Lopes, 2003). Diferentemente de *T. impetiginosa* com sua ampla distribuição, *Jacaranda rugosa* Gentry, só foi encontrada numa área de Caatinga em Buíque, interior de Pernambuco, Brasil, sendo endêmica dessa região (Gentry, 1992).

Bignoniaceae – ecologia da polinização

As flores das angiospermas, inclusive as de Bignoniaceae, possuem grandes variações de tamanho, forma, cor e cheiro (Gentry, 1980; Gentry, 1990; Dafni, 1992), que em conjunto constituem síndromes para atrações de visitantes florais, conhecidas como síndromes florais (Müller, 1873; Vogel, 1954). A ecologia da polinização trata-se justamente da interação entre as plantas e seus respectivos polinizadores (Faegri e Van der Pijl, 1971; Dafni, 1992; Kearns e Inouye, 1993; Endress, 1994).

A família Bignoniaceae é dependente de vetores animais para garantir o sucesso reprodutivo, especialmente porque a maioria das espécies é auto-incompatível (Bawa, 1974; Gentry, 1978, 1990; Stevens, 1994) e possui estratégias de polinização diversificadas

(Gentry, 1980, 1990). As Bignoniaceae possuem diferentes padrões de floração definidos por Gentry (1974a) como espécies de floração *big-bang*, *multiple-bang* e *steady-state*. Além do mais, suas flores são caracterizadas por possuírem morfologias florais distintas, associadas à polinização por abelhas, mariposas, morcegos e beija-flores (Borrero, 1972; Barrows, 1977; Stephenson e Thomas, 1977; Gentry, 1980, 1990; Bertin, 1982; Frankie *et al.*, 1983; Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger, 1988; Lopes *et al.*, 2002; Bittencourt e Semir, 2004; Machado e Vogel, 2004). Apesar dessa grande gama de polinizadores, as abelhas de médio e grande porte são os agentes mais importantes pela polinização da maioria das Bignoniaceae (Gentry 1974a, 1990).

A família Bignoniaceae é bem conhecida na América Tropical. Gentry foi um dos maiores pesquisadores desse grupo, estudando sistemática, padrões de fenologia, diversidade, distribuição, especificidade ecológica e evolução de bignoniáceas em diversos trabalhos (ver Gentry 1974a, 1974b, 1976, 1978, 1980, 1990, 1992).

Trabalhos sobre a ecologia de Bignoniaceae são abundantes a partir da década de 70. No entanto, a maioria desses trabalhos provém de estudos realizados em países da América Central, principalmente Costa Rica e Panamá.

Borrero (1972) analisou a utilização de flores de *Tabebuia chrysantha* por diversas espécies de aves e insetos. Nesse trabalho, o autor já indicou a presença de polinizadores efetivos e de pilhadores de néctar e verificou que a maioria das flores caídas no solo apresentava sinais de pilhagem. Por fim, ele sugeriu que, possivelmente, o roubo de néctar teria um efeito negativo para a reprodução, visto que este evento não promove a fecundação das flores e conseqüentemente a formação de frutos.

Gentry (1974a), estudando o padrão de fenologia floral de várias espécies de Bignoniaceae da América Central, encontrou cinco padrões dos quais quatro foram relacionados, pelo menos em parte, a polinização por abelhas. Nesse trabalho o autor sugere ainda que a competição por polinizadores causaria uma pressão seletiva para a diversidade de padrões fenológicos dentro da família.

Posteriormente, Gentry (1976) analisou a distribuição e a especificidade ecológica entre espécies de Bignoniaceae e seus respectivos polinizadores. Nesse estudo ele hipotetizou que a diversidade de espécies de Bignoniaceae em uma determinada área é, em grande parte, determinada pela disponibilidade de nichos de polinizadores.

Barrows (1977) estudou a biologia reprodutiva e os insetos visitantes de *Pachyptera hymenaea*, uma espécie de liana, observando mais uma vez o padrão de polinizadores efetivos e pilhadores de néctar e pólen.

Gentry (1978) sugeriu que pássaros insetívoros teriam um efeito positivo indireto para plantas com floração em massa, visto que os polinizadores seriam forçados a voar maiores distâncias e procurar outras árvores para evitar os predadores e, conseqüentemente, promoveriam um aumento do fluxo de pólen entre indivíduos vegetais diferentes. Em 1980 e 1992 esse mesmo autor publicou a primeira e segunda parte de um tratamento monográfico, abordando aspectos ecológicos, evolutivos e sistemáticos da família Bignoniaceae.

Bertin (1982) estudou a ecologia da polinização de *Campsis radicans*, verificando que aquela espécie era polinizada por abelhas e beija-flores, mas que a deposição de pólen no estigma e produção de frutos era maior quando as flores tinham sido visitadas pelos beija-flores.

No Brasil, Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger (1988), estudando a polinização de plantas do Cerrado, indicaram que a maioria dos representantes de Bignoniaceae dessa região dependia de abelhas para a polinização e que a ação de pilhadores devia gerar um acréscimo no número de flores visitadas pelos polinizadores, promovendo uma maior fluxo de pólen.

Gobbato-Rodrigues e Stort (1992) estudaram a biologia floral e reprodução em *Pyrostegia venusta* (Kergrawl) Miers, enquanto Dutra e Machado 2001 investigaram os visitantes florais de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem. Lopes *et al.* (2002) analisaram tricomas que secretam néctar em substituição ao disco funcional ausente no gênero *Lundia* A. DC. Nesse estudo, realizado na Reserva Ecológica de Tapacurá, foi verificado que os polinizadores da espécie em questão eram beija-flores. Machado e Vogel (2004) estudaram, no Morro do Pai Inácio, Bahia, a polinização por morcegos na espécie liana *Adenocalymna dichilum*. Bittencourt e Semir (2004) verificaram que *Zeyheria montana* era polinizada por beija-flores e que possuía um sistema de auto-incompatibilidade tardia, fenômeno comum em espécies de Bignoniaceae (Gibbs e Bianchi, 1999; Bianchi *et al.*, 2005)

Estudos da biologia floral e reprodutiva do gênero *Jacaranda* e *Tabebuia* no Brasil são escassos. Laroca e Almeida (1985) estudaram no Paraná a adaptação dos palpos labiais de *Niltonia virgilioi* (Hymenoptera, Colletidae) para coleta de néctar em *Jacaranda puberula*. Essa abelha, apesar de fazer parte de uma família com glossa curta, apresenta palpos labiais compridos que permitem a coleta de néctar em *Jacaranda puberula*, uma planta com flores de tubo longo (Laroca e Almeida, 1985; Laroca *et al.*, 1989). O autor afirma ainda que na

ausência de pilhadores como *Trigona spinipes* ocorre um acréscimo na frequência de visitas de *Niltonia virgilioi* à planta *J. puberula*. Posteriormente, essa espécie de abelha foi encontrada em flores de *Tabebuia* (Schlindwein, 2004; Souza *et al.*, 2004).

Vieira *et al.* (1992) estudaram, no Cerrado de São Paulo, a polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) DC., determinando polinizadores efetivos, pilhadores de néctar, função do estaminódio e auto-incompatibilidade tardia nessa espécie. Stevens (1994) realizou um estudo comparativo de 18 espécies de Bignoniaceae do Cerrado, sendo seis espécies pertencentes a *Tabebuia* e quatro a *Jacaranda*. Nesse trabalho ele determinou os padrões de floração, sistemas reprodutivos e visitantes florais. Além disso, quantificou as flores e o néctar produzido e mediu a retirada de néctar pelos visitantes florais.

Barros (2001) estudou a ecologia da polinização em *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. e Hook. e *T. ochracea* (Cham.) Standl. Essa autora sugeriu que o roubo de néctar por *Trigona spinipes* talvez tivesse um efeito positivo na produção de frutos porque os polinizadores potenciais seriam forçados a visitar mais flores para coletar a mesma quantidade de néctar e isso aumentaria a polinização cruzada.

Souza *et al.* (2004) investigaram a ecologia da polinização de *Tabebuia pulcherrima* Sandwith em uma área de restinga no sul de Santa Catarina e evidenciaram a dependência dessa espécie pelas abelhas para sua reprodução, bem como a sua importância como fornecedora de recursos florais para a entomofauna da região.

As flores, para atrair seus polinizadores, fornecem vários recursos como néctar, pólen, perfumes, óleos e resina (Dressler, 1982; Dafni, 1992; Kearns e Inouye, 1993; Endress, 1994). Como recompensa, o principal recurso fornecido pelas flores de bignoniáceas é o néctar (Gentry, 1980; Morawetz, 1982; Stevens, 1994).

No entanto, nem todos os visitantes florais são polinizadores. Existem vários visitantes ilegítimos que roubam néctar e/ou pólen da flor sem polinizá-la. Esses são conhecidos como pilhadores de néctar e/ou pólen (Faegri e Van der Pijl, 1979; Inouye, 1980). Trabalhos com diferentes espécies de Bignoniaceae têm evidenciado abelhas, formigas, vespas, entre outros como pilhadores de néctar (ver Borrero, 1972; Gentry, 1974a, 1980; Frankie *et al.*, 1983; Laroca e Almeida, 1985; Barros, 2001; Maués *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2004). Borboletas e outros visitantes florais podem atuar como pilhadores secundários, aproveitando aberturas no cálice feitas por, por exemplo, espécies do gênero *Xylocopa* para roubo do néctar (Inouye, 1980; Barros, 2001; Maués *et al.*, 2004).

A pilhagem é um evento comum nas flores de Bignoniaceae (Borrero, 1972; Barrows, 1977; Stephenson e Thomas, 1977; Barros, 2001; Maués *et al.*, 2004). Nessa família a fusão dos estames à corola forma uma câmara nectarífera que impede que visitantes florais de peças bucais curtas alcancem o disco nectarífero e conseqüentemente colem o néctar. Assim, eles perfuram o tubo floral na base da corola para ter acesso ao disco nectarífero, realizando visitas ilegítimas, durante as quais não entram em contato com as partes reprodutivas da flor (Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger, 1988; Barros, 2001; Maués *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2004).

Diversos trabalhos apontam espécies de *Xylocopa* e *Trigona* como pilhadores de néctar e/ou pólen (ver Borrero, 1972; Gentry, 1974a, 1980; Frankie *et al.*, 1983; Laroca e Almeida, 1985; Barros, 2001; Maués *et al.*, 2004). No entanto, estudos que comprovem experimentalmente o efeito dos pilhadores no sucesso reprodutivo das plantas ou no comportamento dos polinizadores efetivos são contraditórios. Na verdade, a literatura indica que dependendo da espécie de pilhador o efeito no sucesso reprodutivo da planta pode ser positivo (Higashi, *et al.* 1988; Navarro, 2000; Richardson, 2004a), neutro (Zimmerman e Cook, 1985; Arizmendi *et al.*, 1996) ou negativo (Roubik, 1982; Traveset *et al.*, 1998; Irwin e Brody, 1999).

É comum na família que as flores apresentem guias de néctar, que orientam as abelhas durante a visita da flor, e às vezes esses guias ou a flor inteira mudam sua coloração durante a antese (Weiss, 1991, 1995). A mudança de cor pode estar relacionada a fatores fisiológicos naturais, *e.g.* senescência, mas também pode ser relacionada a algum mecanismo de comunicação planta-polinizador (Gori, 1983; Weiss, 1991, 1995; Doorn, 1997; Weiss e Lamont 1997). As flores de *T. impetiginosa* e seus guias de néctar apresentam esse padrão de mudança de coloração, mas não é conhecido se esse tem uma função ecológica.

Alguns grupos de angiospermas apresentam estaminódios desenvolvidos que apresentam funções distintas na polinização como Loasaceae (Schlindwein e Wittmann, 1997) ou Ranunculaceae (Faegri e Van der Pijl, 1971; Proctor *et al.*, 1996). O gênero *Jacaranda*, por exemplo, possui caracteristicamente um estaminódio com pêlos glandulares maior do que os estames férteis (Gentry, 1980).

Segundo Vieira *et al.* 1992 o estaminódio desempenharia função tripla na polinização de *Jacaranda caroba*, orientação visual, guia olfativo e auxílio no contato do polinizador com as partes reprodutivas da flor. Maués *et al.* (2004) sugerem que, em *Jacaranda copaia*, o estaminódio “seleciona” os visitantes legítimos, pois reduz o espaço da corola e

conseqüentemente dificulta o acesso de abelhas maiores. Essas duas hipóteses, no entanto, não foram devidamente esclarecidas e a exata função ecológica do estaminódio precisa ser mais bem testada.

Bignoniaceae – sensibilidade estigmática

Diversos estudos na literatura têm mostrado que uma característica peculiar das Bignoniaceae é a presença de um estigma bilobado sensitivo que fecha poucos segundos após um estímulo mecânico (Newcombe, 1922, 1924; Stephenson e Thomas, 1977; Bertin, 1982; Stevens, 1994; Richardson, 2004b; Shu-xiang *et al.*, 2004). De fato, esse fenômeno está relacionado exclusivamente a mais outras três famílias da ordem Scrophulariales: Lentibulariaceae, Martyniaceae e Scrophulariaceae (Newcombe, 1922, 1924).

O significado evolutivo e funcional desse mecanismo estigmático vem despertando o interesse de cientistas desde o século XIX (Darwin, 1876; Newcombe, 1922, 1924; Stephenson e Thomas, 1977; Bertin, 1982; Fetscher e Kohn, 1999; Fetscher, 2001; Richardson, 2004b; Shu-Xiang *et al.*, 2004). Várias hipóteses foram sugeridas para explicar o significado do fechamento do estigma: prevenir a autopolinização (Newcombe, 1922, 1924; Ritland e Ritland, 1989; Fetscher e Kohn, 1999); facilitar a polinização cruzada (Fetscher e Kohn, 1999; Li *et al.*, 2001); aumentar a captura e retenção de grãos de pólen (Thieret, 1976); reduzir a interferência entre recepção e exportação de pólen dentro da flor (Webb e Lloyd, 1986; Fetscher, 2001; Fetscher *et al.*, 2002); aumentar a exportação de grãos de pólen (Fetscher, 2001; Fetscher *et al.*, 2002) e por fim, fornecer condições mais favoráveis para a germinação dos grãos (Newcombe, 1922, 1924). Todas as hipóteses propostas, porém, não são excludentes entre si, e o fechamento pode, dependendo da espécie, ter funções e/ou respostas diferentes (Newcombe, 1922, 1924).

Após um primeiro fechamento o estigma pode permanecer nesse estado ou abrir novamente. Segundo alguns autores, esse fechamento definitivo pode ocorrer após a polinização cruzada (James e Knox, 1993; Singh e Chauhan, 1996; Richardson, 2004b; Shu-Xiang *et al.*, 2004), mas ainda assim, dependendo da carga polínica depositada, ele pode tornar a abrir (Richardson, 2004b; Shu-Xiang *et al.*, 2004). Estudos experimentais adicionais são necessários para verificar os exatos fatores que determinam o fechamento estigmático definitivo em espécies de Bignoniaceae e as conseqüências desse mecanismo para o sucesso reprodutivo das plantas.

LITERATURA CITADA

- Arizmendi MC, Domingues CA, Dirzo R. 1996.** The role of an avian nectar robber and of hummingbird pollinators in the reproduction of two plants species. *Functional Ecology* **10**: 119-127.
- Barros MG. 2001.** Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. e Hook. and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. *Revista Brasileira de Botânica* **24**(3): 255-261.
- Barrows EM. 1977.** Floral maturation and insect visitors of *Pachyptera hymenaea* (Bignoniaceae). *Biotropica* **9**: 133-134.
- Bawa KS. 1974.** Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* **28**: 85-92.
- Bertin RI. 1982.** Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumpet creeper (*Campsis radicans*, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **69** (1): 122-134.
- Bianchi MB, Harris SA, Gibbs PE, Prado DE. 2005.** A study of the mating system in *Dolichandra cynanchoides* (Bignoniaceae): an argentinian chaco woodlands liane with late-acting self-incompatibility. *Plant Systematics and Evolution* **251**: 173-181.
- Bittencourt NS, Semir J. 2004.** Pollination biology and breeding system of *Zeyheria Montana* (Bignoniaceae). *Plant Systematics and Evolution* **247**: 241-254.
- Borrero JI. 1972.** Explotacion de las flores de guayacan (*Tabebuia chrysantha*) por varias especies de aves e insectos. *Biotropica* **4**(1): 28-31.
- Dafni A. 1992.** *Pollination ecology - a practical approach*. Oxford University Press. Oxford.
- Darwin C. 1876.** *The effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom*. London.

- Doorn WGV. 1997.** Effects of pollination on floral attraction and longevity. *Journal of Experimental Botany* **48** (314): 1615-1622.
- Dressler RL. 1982.** Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annual Review of Ecology and Systematics* **13**: 373-94.
- Dutra JCS, Machado VLL. 2001.** Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante ser período de floração. *Neotropical Entomology* **30**(1): 43-53.
- Endress PK. 1994.** *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Faegri K, van der Pijl L. 1971.** *The Principles of Pollination ecology*. Pergamon Press. London.
- Frankie GW, Haber WA, Bawa KS. 1983.** Characteristics and organization of the large bee pollination system in the Costa Rican dry forest. In: Jones CE, Little RJ, eds. *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold Company, Inc. New York, 411-448.
- Fetscher AE, Kohn JR. 1999.** Stigma behavior in *Mimulus aurantiacus* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* **86** (8): 1130-1135.
- Fetscher AE. 2001.** Resolution of male-female onflict in an hermaphroditic flower. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **268**: 525-529.
- Fetscher AE, Rupert SM, Kohn JR. 2002.** Hummingbird foraging position is altered by the touch sensitive stigma of bush monkeyflower. *Oecologia* **133**: 551-558.
- Gentry AH. 1974a.** Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* **6**(1): 64-68.
- Gentry AH. 1974b.** Coevolutionary patterns in central american Bignoniaceae. *Annals of Missouri Botanical Garden* **61**: 728-754.

- Gentry AH. 1976.** Bignoniaceae of southern Central America: distribution and ecological specificity. *Bitropica* **8**(2): 117-131.
- Gentry AH. 1978.** Anti-pollinators for mass-flowering plants? *Biotropica* **10**(1): 68-69.
- Gentry AH. 1980.** Bignoniaceae. *Flora Neotropica, Monograph No. 25(I)*. The New York Botanical Garden.
- Gentry AH. 1990.** Evolutionary patterns in neotropical Bignoniaceae. *Memoirs of the New York Botanical Garden* **55**: 118-129.
- Gentry AH. 1992.** Bignoniaceae. *Flora Neotropica, Monograph No. 25(II)*. The New York Botanical Garden.
- Gibbs PE, Bianchi M. 1999.** Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LSI: *Dolichandra cyananchoides* and *Tabebuia nodosa*. *Annals of Botany* **84**: 449-457.
- Gobbato-Rodrigues AA, Stort MNS. 1992.** Biologia floral e reprodução de *Pyrostegia venusta* (KerGawl) Miers. Bignoniaceae. *Revista Brasileira de Botânica* **15**: 1012-1031.
- Gori DF. 1983.** Post-pollination phenomema and adaptative floral changes. In: Jones CE, Little RJ, eds. *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold Company, Inc. New York, 31-43.
- Higashi S, Ohara M, Arai H, Matsuo K. 1988.** Robber-like pollinators: overwintered queen bumblebees foraging on *Corydalis ambigua*. *Ecological Entomology* **13**: 411-418.
- Inouye DW. 1980.** The terminoly of floral lacerny. *Ecology* **61** (5): 1251-1253.
- Irwin RE, Brody AK. 1998.** Nectar robbing in *Ipomopsis aggregata*: effects on pollinator behavior and plant fitness. *Oecologia* **116**: 519-527.

- Irwin RE, Brody AK. 1999.** Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregate* (Polemoniaceae). *Ecology* **80**(5): 1703-1712.
- Irwin RE. 2000.** Hummingbird avoidance of nectar-robbing plants: spatial location or visual cues? *Oikos* **91**: 499-506.
- Irwin RE, Brody AK. 2000.** Consequences of nectar robbing for realized male function in a hummingbird-pollinated plant. *Ecology* **81**(9): 2637-2643.
- James EA, Knox RB. 1993.** Reproductive biology of the Australian species of the genus *Pandorea* (Bignoniaceae). *Australian Journal of Botany* **41**: 611-626.
- Kearns CA, Inouye DW. 1993.** *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot.
- Lara C, Ornelas JF. 2001.** Preferential nectar robbing of flowers with long corollas: experimental studies of two hummingbird species visiting three plant species. *Oecologia* **128**: 263-273.
- Laroca S, Almeida MC. 1985.** Adaptação dos palpos labiais de *Niltonia virgilia* (Hymenoptera, Apoidea, Colletidae) para coleta de néctar em *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae), com descrição do macho. *Revista Brasileira de Entomologia* **29**(2): 289-297.
- Laroca S, Michener CD, Hofmeister RM. 1989.** Long mouthparts among “short-tongued” bees and the fine structure of the labium in *Niltonia* (Hymenoptera, Colletidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* **62**(3): 400-410.
- Li QJ, Xu ZF, Kress WJ, Xie YM, Zhang L, Deng XB, Gao JY, Bai ZL. 2001.** Flexible style that encourages outcrossing. *Nature* **410**: 432.

- Lopes AV, Vogel S, Machado IC. 2002.** Secretory trichomes, a substitutive floral nectar source in *Lundia* A. DC. (Bignoniaceae), a genus lacking a functional disc. *Annals of Botany* **90**: 169-174.
- Maloof JE. 2001.** The effects of a bumble bee nectar robber on plant reproductive success and pollinator behavior. *American Journal of Botany* **88** (11): 1960-1965.
- Maloof JE, Inouye DW. 2000.** Are nectar robbers cheaters or mutualist? *Ecology* **81**(10): 2651-2661.
- Machado IC, Lopes AV. 2003.** Recursos florais e sistemas de polinização em Caatinga. In: Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC, eds. *Ecologia e conservação da Caatinga*. Editora Universitária UFPE, Recife, 515-563.
- Machado IC, Vogel S. 2004.** The North-east-brazilian liana, *Adenocalymna dichilum* (Bignoniaceae) pollinated by bats. *Annals of Botany* **93** (5): 609-613.
- Maués MM, Souza MS, Kanashiro M. 2004.** The importance of solitary bees on the reproductive biology of timber trees at the tapajós national forest, Brazil. In: Freitas BM, Pereira JOP, eds. *Solitary Bees – Conservation, Rearing and Management for Pollination*. Imprensa Universitária. Fortaleza, 241-254.
- Morawetz W. 1982.** *Morphologisch-ökologische differenzierung, biologie, systematik und evolution der netropischen gattung Jacaranda (Bignoniaceae)*. Österreichische Akademie der Wissenschaften. Math.-nat.Klasse, Denkschriften, Bd.
- Morris WF. 1996.** Mutualism denied? Nectar-robbing bumble bees do not reduce female or male success of bluebells. *Ecology* **77** (5): 1451-1462.
- Müller H. 1873.** *Die Befruchtung der Blumen durch Insekten und die gegenseitigen Anpassungen beider*. Wilhelm Engelmann, Leipzig.

- Navarro L. 2000.** Pollination ecology of *Anthyllis vulneraria* subsp. *Vulgaris* (Fabaceae): nectar robber as pollinators. *American Journal of Botany* **87** (7): 980-985.
- Newcombe FC. 1922.** The significance of the behavior of sensitive stigmas. *American Journal of Botany* **9** (3): 99-120.
- Newcombe FC. 1924.** The significance of the behavior of sensitive stigmas II. *American Journal of Botany* **11** (2): 85-93.
- Proctor M, Yeo P, Lack A. 1996.** *The natural history of pollination*. Timber press, Portland, Oregon.
- Roubik DW. 1982.** The ecological impact of nectar-robbing bees and pollinating hummingbirds on a tropical shrub. *Ecology* **63**(2): 354-360.
- Richardson SC. 2004a.** Are nectar robbers mutualists or antagonists? *Oecologia* **139**: 246-254.
- Richardson SC. 2004b.** Benefits and costs of floral visitors to *Chilopsis linearis*: pollen deposition and stigma closure. *Oikos* **107**: 363-375.
- Ritland C, Ritland K. 1989.** Variation of sex allocation among eight taxa of the *Mimulus guttatus* species complex (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* **76** (12): 1731-1739.
- Rust RW. 1979.** Pollination of *Impatiens capensis*: Pollinators and nectar robbers. *Journal of the Kansas Entomological Society* **52** (2): 297-308.
- Sandwith NY, Hunt DR. 1974.** *Flora Ilustrada Catarinense – Bignoniáceas*. Itajaí.
- Schlindwein C. 2004.** Are oligolectic bees always the most effective pollinators?. In: Freitas BM, Pereira JOP, eds. *Solitary Bees – Conservation, Rearing and Management for Pollination*. Imprensa Universitária. Fortaleza, 231-240.

- Schlindwein C, Wittmann D. 1997.** Micro foraging routes of *Bicolletes pampeana* (Colletidae) and bee induced pollen presentation in *Cajophora arechavaletae* (Loasaceae). *Botanica Acta* **110**: 177-183.
- Shu-Xiang Y, Chun-Feng Y, Tao Z, Qing-Feng W. 2004.** A mechanism facilitates pollination due to stigma behavior in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Acta Botanica Sinica* **46**, 1071-1074.
- Silberbauer-Gottsberger I, Gottsberger G. 1988.** A polinização de plantas do Cerrado. *Revista Brasileira de Biologia* **48** (4): 651-663.
- Silva RA., Santos AMM, Tabarelli M. 2003.** Riqueza e diversidade de plantas lenhosas em cinco unidades de paisagem da Caatinga. In: Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC, eds. *Ecologia da conservação da Caatinga*. Editora Universitária UFPE, Recife, 337-365.
- Singh J, Chauhan SVS. 1996.** Morphological changes in the stigma of seasonally transient sterile *Tecoma stans* L. *Phytomorphology* **46**, 1-7.
- Souza DAS, Lenzi M, Orth AI. 2004.** Contribuição à ecologia da polinização de *Tabebuia pulcherrina* (Bignoniaceae) em área de restinga, no sul de Santa Catarina. *Biotemas* **17** (2): 47-66.
- Stephenson AG, Thomas WW. 1977.** Diurnal and nocturnal pollination of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Systematic Botany* **2** (3): 191-198.
- Stevens AD. 1994.** *Reproduktionsbiologie einiger Bignoniaceen in Cerrado brasiliens*. Biosystematics and Ecology Series 5, Österreichische Akademie der Wissenschaften.
- Thieret JW. 1976.** Floral biology of *Proboscidea lousianica* (Martyniaceae). *Rhodora* **78**: 169-179.

- Traveset A, Willson MF, Sabag C. 1998.** Effect of nectar-robbing birds on fruit set of *Fuchsia magellanica* in tierra del fuego: a disrupted mutualism. *Functional Ecology* **12**: 459-464.
- Vieira MF, Meira RMS, Queiroz LP, Meira-Neto JAA. 1992.** Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) Dc. (Bignoniaceae) em área de Cerrado do Sudeste brasileiro. *Anais do 8º Congresso da SBPC*, 13-19.
- Vogel S. 1954.** Blütenbiologische Typen als Elemente der Sippengliederung. *Botanische Studien, Heft 1*. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Zimmerman M, Cook S. 1985.** Pollinator foraging, experimental nectar-robbing and plant fitness in *Impatiens capensis*. *American Midland Naturalist* **113** (1): 84-91.
- Waser NM, Fugate ML. 1986.** Pollen precedence and stigma closure: a mechanism of competition for pollination between *Delphinium nelsonii* and *Ipomopsis aggregata*. *Oecologia* **70**: 573-577.
- Webb CJ, Lloyd DG. 1986.** The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in agiosperms. *New Zealand Journal of Botany* **24**, 163-178.
- Weiss MR. 1991.** Floral colour changes as cues for pollinators. *Nature* **35**(4): 227-229.
- Weiss MR. 1995.** Floral color change: a widespread functional convergence. *American Journal of Botany* **82**:167-185.
- Weiss MR, Lamont BB. 1997.** Floral colour change and insect pollination: a dynamic relationship. *Israel Journal of Plant Science* **45**: 185-199.

* Citações e literatura citada de acordo com as normas da revista *Annals of Botany*.

Manuscrito a ser submetido à revista *Plant Systematics and Evolution*

Pilhadores de néctar em *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae) aumentam o número de visitas florais dos polinizadores efetivos, abelhas Euglossini (Apidae)

Milet-Pinheiro e Schlindwein - Efeito de pilhadores no sucesso reprodutivo de *J. rugosa*.

Autores: Paulo Milet-Pinheiro ¹ e Clemens Schlindwein ²

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50670-901 Recife, PE. (miletpinheiro@hotmail.com).

² Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50670-901 Recife, PE, (schlindw@ufpe.br).

Resumo

Pilhadores de néctar retiram recursos florais sem efetuar polinização. Seu efeito na taxa de frutificação pode ser positivo se a retirada de néctar causar um aumento das visitas legítimas dos polinizadores efetivos. Estudamos a polinização e o efeito de pilhadores no sucesso reprodutivo de uma população de *Jacaranda rugosa*, um arbusto endêmico da região do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil. *J. rugosa* é uma espécie auto-incompatível cujas flores produzem néctar continuamente ao longo do dia. Fêmeas e machos de *Euglossa melanotricha* foram os principais polinizadores. Visitas florais realizadas no início do dia contribuem substancialmente para a produção de frutos, já que quase não foram encontrados estigmas com lóbulos abertos à tarde. A adição de néctar artificial duplicou o tempo de permanência dos polinizadores na flor, enquanto a retirada experimental de néctar, simulando a ação de pilhadores, resultou em visitas florais curtas e conseqüentemente aumentou o fluxo dos polinizadores entre plantas. Mesmo assim o sucesso reprodutivo foi baixíssimo devido aos danos causados pela presença constante de *Trigona spinipes*.

palavras-chave: abelhas, biologia floral, *Jacaranda rugosa*, Parque Nacional do Catimbau, pilhadores, ecologia da polinização e Nordeste brasileiro,

Introdução

A pilhagem de néctar é um fenômeno comum em diversas famílias vegetais, principalmente naquelas que possuem flores tubulares e câmara nectarífera (Inouye 1980, Gentry 1980, Higashi et al. 1988, Morris 1996, Traveset et al. 1998, Irwin e Brody 1999, Maloof e Inouye 2000, Lara e Ornelas 2001, Maloof 2001, Irwin e Maloof 2002, Lara e Ornelas 2002, Richardson 2004). Pilhadores são visitantes florais que retiram néctar e/ou pólen sem promover a polinização, podendo ser pássaros ou insetos como abelhas, formigas, vespas, borboletas, entre outros (Faegri e Van der Pijl 1979, Inouye 1980). Geralmente, os pilhadores realizam visitas ilegítimas sem utilizar a abertura floral. Pilhadores primários roem, furam ou cortam externamente o perianto para alcançar os recursos florais, enquanto os pilhadores secundários utilizam perfurações já existentes para coletar néctar ou pólen (Inouye 1980).

O efeito da ação de pilhadores no sucesso reprodutivo das plantas associadas tem despertado o interesse de vários pesquisadores. A literatura indica que dependendo da espécie de pilhador o efeito no sucesso reprodutivo da planta pode ser positivo (Higashi et al. 1988, Navarro 2000, Richardson 2004a), neutro (Zimmerman e Cook 1985, Arizmendi et al. 1996) ou negativo (Roubik 1982, 1989, Traveset et al. 1998, Irwin e Brody 1999).

Diversos trabalhos têm indicado a ação de pilhadores como um evento intenso em flores de Bignoniaceae (Borrero 1972, Barrows 1977, Stephenson e Thomas 1977, Gentry 1980, Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger 1988, Vieira et al. 1992, Barros 2001, Maués *et al.* 2004, Souza et al. 2004). Nessa família a fusão dos estames à corola forma uma câmara nectarífera que impede que visitantes florais de peças bucais curtas alcancem o disco nectarífero e conseqüentemente colem o néctar. Assim, eles perfuram o tubo floral na base da corola para ter acesso ao disco nectarífero, realizando visitas ilegítimas, durante as quais não entram em contato com as partes reprodutivas da flor (Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger 1988, Barros 2001, Maués et al. 2004, Souza et al. 2004).

A família Bignoniaceae possui flores associadas a diversas síndromes de polinização, sendo a melitofilia a mais frequentemente representada (Gentry 1974a, 1980). *Jacaranda* é um gênero neotropical que abrange cerca de 50 espécies (Sandwith e Hunt 1974, Morawetz 1982, Gentry 1992), exclusivamente polinizadas por abelhas de médio e grande porte (Gentry 1990). *Jacaranda rugosa* é uma espécie arbustiva endêmica da região de Buíque no interior de Pernambuco (Gentry 1992). No presente estudo apresentamos a ecologia da polinização de *Jacaranda rugosa* Gentry, destacando o efeito de pilhagem no sucesso reprodutivo dessa

planta e perguntamos: 1) quais são os polinizadores efetivos de *J. rugosa*; 2) quais as espécies pilhadoras e 3) como a pilhagem influencia o comportamento dos polinizadores efetivos e o sucesso reprodutivo da planta.

Material e métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado no Parque Nacional do Catimbau, situado nos municípios de Buíque, Tupanatinga e Ibimirim, com extensão territorial de aproximadamente 62.000 ha (Andrade et al. 2004). Entre março e dezembro de 2005 indivíduos de *Jacaranda rugosa* foram acompanhados na Serra Branca (8°23'53.8''S 37°14'51.3''O, 898m), uma área com vegetação predominantemente arbustiva, indivíduos perenifólios, poucos elementos arbóreos e estrato subarbustivo denso (Rodal et al. 1998, Andrade et al. 2004).

O posto meteorológico mais próximo da área situa-se na sede do município de Buíque e registra temperatura e precipitação médias anuais de 25°C e 1.095,9 mm com maior pluviosidade entre os meses de abril a junho (SUDENE 1990).

Espécie estudada

Jacaranda rugosa é uma espécie endêmica da região de Buíque que vegeta sobre solos rochosos e arenosos característicos daquele local. Possui porte arbustivo a arvoreta, podendo atingir 4 metros de altura. Suas folhas são pinadas e fortemente rugosas, daí o nome de seu epíteto específico. As flores, dispostas em racemos axilares, são hermafroditas, violetas, tubulares, com quatro estames didínamos, um estaminódio glandular desenvolvido e um estigma composto por dois lobos sensitivos (Gentry 1992).

Biologia floral e reprodutiva

Foram ensacados 50 botões florais para acompanhar a antese das flores, desde a abertura até a abscisão. No decorrer das observações foram registrados o horário de abertura floral, deiscência das anteras, receptividade estigmática, viabilidade polínica, disponibilidade de néctar, coloração da corola e guias de néctar e padrão de floração. A receptividade estigmática foi determinada utilizando-se peróxido de oxigênio (H₂O₂). Para a determinação da viabilidade polínica, grãos de pólen foram removidos de anteras fixadas em FAA e colocados em lâmina com carmim acético. Foram contados, em microscópio, os primeiros 300 grãos de pólen e registrados quantos deles tinham sido corados.

Para mensurar volume e concentração de néctar foram utilizados, respectivamente, microcapilares graduados de 20µl e refratômetro de bolso (Atago). Foram feitas medidas às 7:00h, 12:00 e 17:00h, utilizando-se 10 flores previamente ensacadas para cada horário.

A morfometria foi determinada em dez flores de cinco indivíduos. Foram mensurados nas flores a altura e diâmetro da entrada, comprimento e diâmetro da flor, comprimento do tubo floral e da câmara nectarífera, comprimento dos estames férteis, estaminódio e estilete.

Para verificar o sistema reprodutivo de *J. rugosa* foram realizados cinco tratamentos em 15 indivíduos: 1) autopolinização espontânea, flores sem manipulação; 2) autopolinização manual, flores polinizadas com seu próprio pólen; 3) geitonogamia manual, flores polinizadas com pólen do mesmo indivíduo, mas de flores diferentes; 4) polinização cruzada manual, flores polinizadas com pólen de outros indivíduos e 5) polinização por visitantes em condições naturais (polinização natural). Todas as flores foram previamente ensacadas e para cada tratamento utilizaram-se 45 flores, excetuando-se as 260 flores expostas à polinização natural. Após as manipulações todas as flores foram reensacadas, com a exceção novamente daquelas do tratamento de polinização natural. Os frutos formados no experimento foram coletados para contagem das sementes.

A razão pólen-óvulo (P/O) foi determinada a partir de 10 botões coletados aleatoriamente no campo. Os grãos de pólen por flor foram contados com o auxílio da câmara de Neubauer. Todas as anteras foram maceradas em Eppendorf com 0,2 ml de ácido láctico glicerinado 3/1. Depois de homogeneizadas, amostras da solução foram imediatamente aplicadas na câmara e contadas em microscópio. Para cada amostra foram feitas duas contagens. O valor aproximado de grãos por flor foi determinado a partir da fórmula $G_t = G_o \times V_t / V_c$, onde G_t é o número aproximado de grãos; G_o é o número de grãos observados na contagem; V_t é o volume total no Eppendorf (0,2ml) e V_c é o volume da câmara (0,0004ml). Os ovários de cada um dos botões foram dissecados e os óvulos contados com o auxílio de estereomicroscópio. A média e desvio padrão da razão P/O da espécie foram determinados a partir da razão P/O de cada um dos botões.

Polinizadores efetivos e efeito de pilhagem

Os visitantes florais foram capturados aleatoriamente durante a visita às flores com rede entomológica e armazenados em câmaras mortíferas. Os exemplares coletados foram montados em alfinetes entomológicos, secos em estufa a 40 ° C por dois dias, etiquetados e identificados. As informações de coleta foram incluídas no banco de dados do grupo de pesquisa “Plebeia” e os insetos foram armazenados na Coleção Entomológica da UFPE. O

material vegetal coletado em campo foi prensado e secado em estufa por cinco dias. As exsiccatas preparadas foram armazenadas no Herbário Geraldo Mariz UPE.

A frequência de visitantes foi acompanhada em três indivíduos vegetais durante três dias não consecutivos. Em cada indivíduo foram acompanhadas 20 flores (10 controles e 10 nas quais os estaminódios foram retirados) das 06:00h às 17:00h em intervalos de 30 em 30 minutos, perfazendo um total de 18h de observação. Foram registrados o tipo de visita (legítima ou ilegítima), contato dos visitantes com anteras e estigma e os recursos florais procurados. As injúrias nas flores, realizadas pelos visitantes ilegítimos, foram classificadas de acordo com sua forma e posição na flor.

Para determinar os polinizadores efetivos e pilhadores foram utilizados os critérios de comportamento de visitas, contato com as partes reprodutivas, frequência relativa de visita e vôos entre indivíduos co-específicos.

A taxa de pilhagem foi determinada em 100 flores, considerando os tipos de injúrias. O tempo de visita dos polinizadores em flores onde foi retirado todo o néctar, em flores onde foi adicionada água açucarada e em flores controle, foi medido para determinar se a ação de pilhadores tinha um efeito no comportamento natural dos polinizadores. Nas flores controle, ensacadas no dia anterior, foram registradas a duração da primeira, segunda e terceira visita do dia. A retirada de néctar e adição de água açucarada foi realizada com o auxílio de microcapilares a partir de um corte feito com seringa na base da corola. Foram adicionados às flores 10 μ l de água açucarada a uma concentração de 25%, semelhantes aos volumes e concentrações naturais das flores.

A posição do estigma (aberto ou fechado) em diferentes horários, 5:00, 7:00, 12:00 e 17:00h, foi monitorada em 30 flores.

Análises estatísticas

O volume de néctar, assim como a concentração, registrados nos diferentes horários do dia foram comparados através do teste ANOVA.

Foi realizado um teste χ^2 para verificar se existia diferença significativa na frequência de formação de frutos entre os tratamentos do sistema reprodutivo. Foram utilizados apenas os tratamentos que formaram frutos.

Para determinar se havia diferença significativa entre o número de visitantes em flores com estaminódio e flores sem estaminódio foi utilizado o teste ANOVA.

O tempo de visita dos polinizadores em flores sem néctar, com adição de água açucarada e flores controle (1ª, 2ª e 3ª visita) foi comparado através do teste Kruskal-Wallis (Zar 1999).

A normalidade de todos os dados foi verificada a partir do teste Kolmogorov-Smirnov. Quando necessário o teste de Tukey foi utilizado para fazer comparações a posteriori. Os testes acima mencionados foram realizados através do *software* Statistica versão 6.0 (Statsoft 2001).

Resultados

Biologia floral e reprodutiva

As flores de *Jacaranda rugosa* são dispostas em racemos axilares e têm (em média e desvio padrão) $44,1 \pm 6,9$ mm de comprimento e $32,9 \pm 4,4$ mm de diâmetro. As pétalas fusionadas formam um tubo floral com comprimento de $43,4 \pm 11,8$ mm e abertura com altura/largura de respectivamente $5,9 \pm 1,2$ mm e $15 \pm 1,1$ mm. Na região mediana da corola a flor possui um estrangulamento dorsiventral onde ficam situados os órgãos reprodutivos. O estilete com o estigma bilobado mede $31,9 \pm 2,7$ mm e os pares de estames didínamos $25,1 \pm 2$ mm e $28,8 \pm 2,5$ mm. As flores possuem um estaminódio bem desenvolvido e comprido ($42,2 \pm 5,5$ mm) que é densamente revestido por longos tricomas glandulares amarelos e que atravessa longitudinalmente o tubo floral, sendo visível pela abertura floral (figura 1a). Os filetes são fusionados na base com o tubo da corola, formando a câmara nectarífera com aproximadamente $10,72 \pm 0,66$ mm de comprimento. Existe uma densa pilosidade na entrada da câmara nectarífera que dificulta o acesso ao néctar por abelhas de língua curta.

Jacaranda rugosa apresentou dois picos de floração por ano, março a abril e outubro a dezembro. Suas flores abrem a noite, variando entre 23:00 e 3:00h de acordo com o indivíduo. Logo após a abertura floral o estigma está receptivo, as anteras deiscentes e o néctar começa a ser produzido. Assim, quando as abelhas iniciam sua atividade ao amanhecer, todas as flores estão no mesmo estágio, apresentando os recursos sincronicamente. A partir das 15:00h as corolas de *J. rugosa* começam a cair.

O néctar foi produzido continuamente ao longo do dia, aumentando de, em média, $5,1 \mu\text{l}$ às 7:00h para $21,5 \mu\text{l}$ às 17:00h, o significa que as flores produzem cerca de $1,6 \mu\text{l}$ por hora. A diferença do volume entre os horários foi significativa ($F = 98,09$; g.l = 2; $p < 0,0001$) e os testes a posteriori indicaram diferença significativa entre todos os pares comparados ($p < 0,0005$, figura 2). A concentração de néctar variou, em média, entre 25,6 e 28,8% ao longo

do dia e essa diferença foi significativa ($F = 4,18$; g.l = 2; $p < 0,05$), apesar do teste de Tukey ter mostrado diferença significativa apenas entre os horários 7:00 e 12:00 ($p < 0,05$; figura 2).



Figura 1. *Jacaranda rugosa*, flor, visitantes florais e pilhadores. Flor com estaminódio glandular visível na abertura (A); fêmea de *Euglossa melanotricha* pairando perante a flor antes da visita (B); flores durante (C) e após (D) pilhagem por *Trigona spinipes*, cálice e corola roídos, apresentando orifício circulares e (E) flor com estaminódio manualmente retirado e pilhada por abelha do gênero *Xylocopa*, observar fenda longitudinal na base da corola.

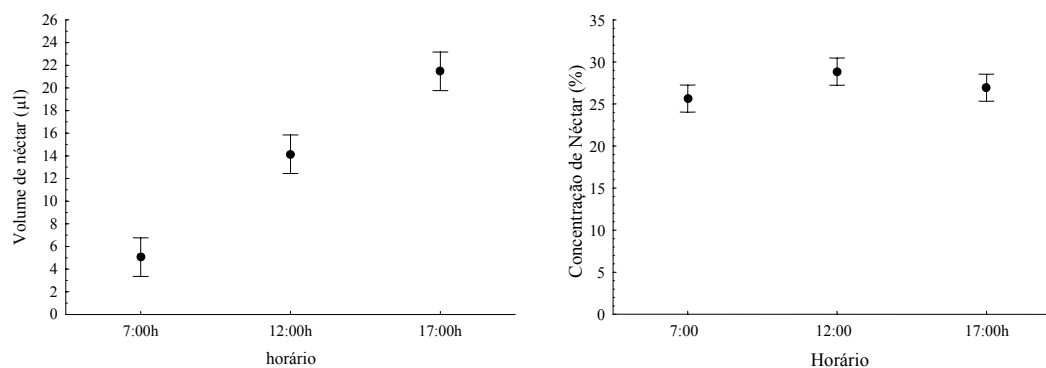


Figura 2. Volume (esquerda) e concentração (direita) de néctar acumulado ao longo do dia em flores ensacadas de *Jacaranda rugosa* no Parque Nacional do Catimbau (n=10, média e intervalo de confiança).

As flores produzem em média $21775 \pm 1733,85$ grãos de pólen e $43,6 \pm 6,27$ óvulos, o que reflete em uma razão P/O de 499,4. A taxa de viabilidade polínica é de $94,4 \pm 3 \%$ (n=10).

O estudo mostrou que *Jacaranda rugosa* é uma espécie auto-incompatível, uma vez que apenas as flores que sofreram polinização cruzada manual e polinização natural formaram frutos (tabela 1). É marcante a frutificação extremamente baixa nas flores visitadas naturalmente pelas abelhas (1,54%). A diferença entre a formação de frutos dos tratamentos é significativa ($\chi^2 = 84,20$; g.l = 1; $p < 0,00001$).

Tabela 1. Resultados do experimento de polinização controlada em *Jacaranda rugosa* no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

Tratamentos	N	Frutos desenvolvidos	sucesso (%)
Autopolinização manual	45	0	0
Autopolinização espontânea	45	0	0
Geitonogamia	45	0	0
Polinização cruzada manual	45	19	42,22
Polinização natural	260	4	1,54

Polinizadores efetivos e efeito de pilhagem

As abelhas visitantes de *Jacaranda rugosa* foram separadas em categorias de acordo com seu comportamento de forrageamento: categoria I – visitantes florais legítimos, coletores de néctar e polinizadores potenciais; categoria II – visitantes legítimos, coletores de pólen; categoria III – visitantes ilegítimos, pilhadores primários de néctar; categoria IV – visitantes ilegítimos que coletam pólen perfurando a corola do botão floral e categoria V – visitantes ilegítimos, pilhadores secundários de néctar. A tabela 2 mostra as espécies de abelhas visitantes de *Jacaranda rugosa*, bem como suas respectivas categorias e recursos procurados.

Tabela 2. Abelhas visitantes de *Jacaranda rugosa* no Parque Nacional do Catimbau, Buíque Pernambuco. Categorias: I - visitantes legítimos, polinizadores potenciais; II – visitantes legítimos, coletores de pólen; III visitantes ilegítimos, pilhadores primários de néctar; IV – visitantes ilegítimos, coletores de pólen e V visitantes ilegítimos, pilhadores secundários de néctar. Legendas: N - néctar e P - pólen.

Espécie/Família	Categoria	Sexo	Recurso
Andrenidae			
<i>Oxaea austera</i> Gerstaecker, 1867	III	♀/♂	N
Apidae			
<i>Bombus (Fervidobombus) brevivillus</i> Franklin, 1913	I	♀	N
<i>Centris (Trachina) fuscata</i> Lepeletier, 1841	I	♀/♂	N
<i>Ceratina (Crewella) maculifrons</i> Smith, 1854	I, II	♀	N/P
<i>Ceratina (Crewella)</i> sp.	I, II	♀	N/P
<i>Euglossa (Euglossa) cordata</i> (Linnaeus, 1758)	I	♀/♂	N
<i>Euglossa (Euglossa) melanotricha</i> Moure, 1967	I	♀/♂	N
<i>Eulaema (Apeulaema) nigrata</i> Lepeletier, 1841	I	♀/♂	N
<i>Paratrigona lineata</i> (Lepeletier, 1836)	II	♀	N/P
<i>Plebeia flavocincta</i> (Cockrell, 1912)	II, V	♀	N/P
<i>Plebeia</i> sp.	II, V	♀	N/P
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius, 1793)	II, III, IV	♀	N/P
<i>Xylocopa (Megaxylocopa) frontalis</i> (Olivier, 1789)	III	♀	N
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) grisescens</i> Lepeletier, 1841	III	♀	N
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) ordinaria</i> Smith, 1874	III	♀	N
Halictidae			
<i>Pseudaugochlora pandora</i> Smith, 1853	III, V	♀/♂	N

Para verificar se o estaminódio tinha alguma função no processo de polinização foi observada a frequência de visitantes em flores controle e em flores que tiveram o estaminódio retirado. Os visitantes florais de *Jacaranda rugosa* foram mais frequentes em flores com estaminódio (figura 1a) do que em flores sem estaminódios (figura 1e) e essa diferença foi significativa ($F = 7,3119$; $g.l = 1$; $p < 0,01$; figura 3).

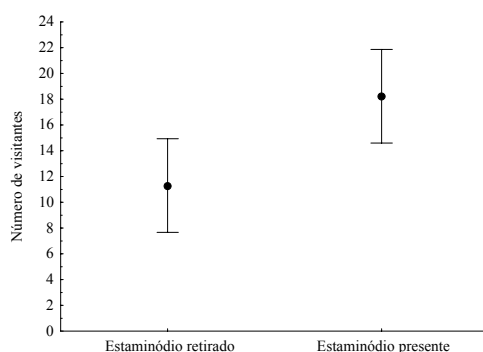


Figura 3. Número de visitas em flores de *Jacaranda rugosa* com e sem estaminódio no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco. (n=60; três dias, 18h, de observação; média e intervalo de confiança). A diferença entre os tratamentos é significativa ($p < 0,01$).

O pico de atividade das abelhas em flores de *Jacaranda rugosa* ocorreu entre 9:00 e 12:00 horas, devido principalmente aos pilhadores primários de néctar (figura 4). Os polinizadores, *Euglossa melanotricha*, *Euglossa cordata*, *Ceratina maculifrons*, *Ceratina* sp. e *Centris analis*, tiveram maior freqüência de visitas florais entre as 7:00 e 10:00 horas. O comportamento dessas abelhas, com exceção das *Ceratina*, é muito característico e antes de qualquer visita elas pairam perante a flor, pousam na abertura floral, entram na flor (contatando o estigma e posteriormente as anteras), coletam o néctar e saem da flor na mesma posição que entraram (figura 1b). Nessa categoria os machos e fêmeas de *E. melanotricha* foram os mais abundantes (tabela 3).

Os pilhadores de pólen, exclusivamente abelhas sem ferrão das espécies *Plebeia flavocincta*, *Plebeia* sp., *Paratrigona lineata* e *Trigona spinipes* (categoria II), tiveram uma maior atividade entre as 9:00 e 11:00 horas. Ao coletar grãos de pólen, diretamente das anteras, estas abelhas constantemente contataram o estigma. Os pilhadores primários de néctar *Trigona spinipes*, *Oxaea austera*, *Pseudaugochlora pandora* e abelhas do gênero *Xylocopa* apresentaram um pico de atividade entre 10:00 e 12:00 horas, sofrendo uma queda brusca a partir das 13:00 horas. Esse grupo foi responsável por 56,35% das visitas em flores de *Jacaranda rugosa*, das quais 38,65% foram realizadas por *Trigona spinipes*. Os pilhadores secundários de néctar tiveram o pico de atividade às 12 h e correspondem àquelas abelhas que aproveitaram as injúrias pré-existentes no cálice e/ou corola para retirada de néctar. Fazem parte desse grupo as mesmas abelhas da categoria II. A figura 4 e a tabela 3 mostram, respectivamente, a freqüência de visitantes por categorias e a freqüência de visitas por espécies ao longo dos três dias de observações.

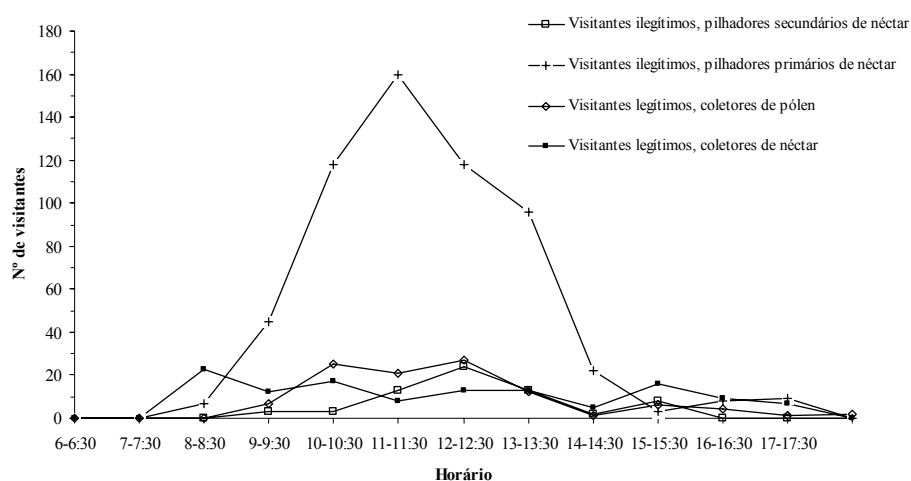


Figura 4. Freqüência de visitantes por categoria em flores de *Jacaranda rugosa* ao longo do dia no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco (n = 60; três dias, 18h, de observação).

Tabela 3. Número de visitantes por espécie em flores de *Jacaranda rugosa* observados ao longo dos três dias de observação no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco (n = 60). Grupos *Ceratina* (*Ceratina maculifrons* e *Ceratina* sp.) e grupo *Plebeia* (*Paratrigona lineata* *Plebeia flavocincta*, *Plebeia* sp.).

n° de visitas/espécie	Horário												Total
	6- 6:30h	7- 7:30h	8- 8:30h	9- 9:30h	10- 10:30h	11- 11:30h	12- 12:30h	13- 13:30h	14- 14:30h	15- 15:30h	16- 16:30h	17- 17:30h	
<i>Centris fuscata</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Euglossa cordata</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	9	0	0	10
<i>Euglossa melanotricha</i>	0	23	10	10	3	0	0	0	12	0	3	0	61
Grupo <i>ceratina</i>	0	0	2	5	5	13	13	4	4	0	4	0	50
Grupo <i>Plebeia</i>	0	0	9	27	34	51	24	3	13	0	1	2	164
<i>Pseudaugochlora pandora</i>	0	0	8	10	44	38	50	17	1	6	9	0	183
<i>Trigona spinipes</i>	0	7	38	109	116	79	47	5	3	6	0	0	410
<i>Xylocopa ordinária</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Total	0	30	67	163	202	182	134	30	33	21	17	2	881

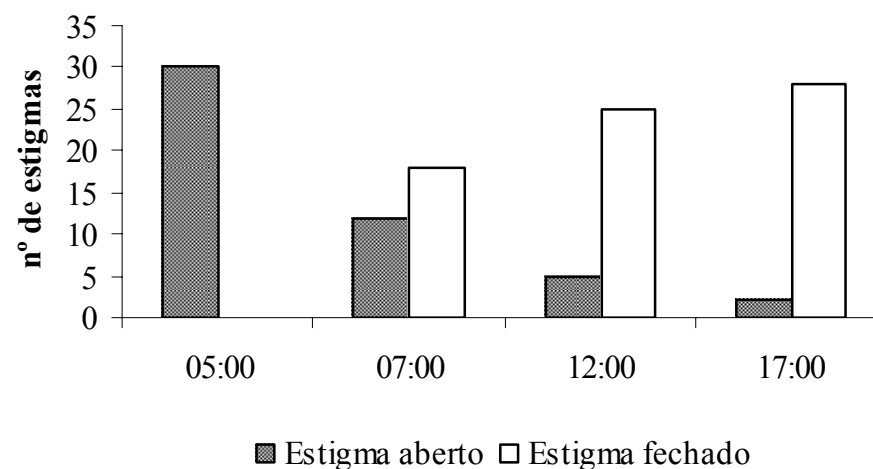


Figura 5. Posição do estigma ao longo do dia em flores de *Jacaranda rugosa* no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco (n=30).

A ação de pilhadores atingiu 99% das flores de *Jacaranda rugosa* (figura 6). *Trigona spinipes* foi o principal pilhador de néctar atacando 92% das flores. Para ter acesso à base do ovário, onde fica situado o disco nectarífero, essa espécie permaneceu muito tempo nas flores, recortando com a mandíbula o cálice e a base da corola. Essa atividade formou grandes orifícios na região mencionada (figura 1c, d). *T. spinipes* foi registrada também como pilhadora de pólen. Nesse caso, antes mesmo da abertura floral, essa abelha perfurava a região da corola onde ficavam os órgãos reprodutivos e muitas vezes arrancavam todas as anteras e danificavam os estigmas. *T. spinipes* apresentou um comportamento muito agressivo perante outros visitantes. As abelhas do gênero *Xylocopa* também foram ativas na pilhagem, atingindo 64% das flores contadas. Todas as espécies de *Xylocopa* tiveram um padrão de pilhagem muito semelhante, pousando brevemente sobre o lado superior da flor (entre 1 e 3 segundos) e fazendo uma fenda longitudinal com a gálea na base da corola, onde fica situada a câmara nectarífera (figura 1e). *Pseudaugochlora pandora* também pilhou flores de *J. rugosa*, mas sua ação não gerou injúrias consideráveis. Essa abelha inseria sua língua na região de inserção entre cálice e corola e retirava néctar durante alguns segundos sem danificar a flor.

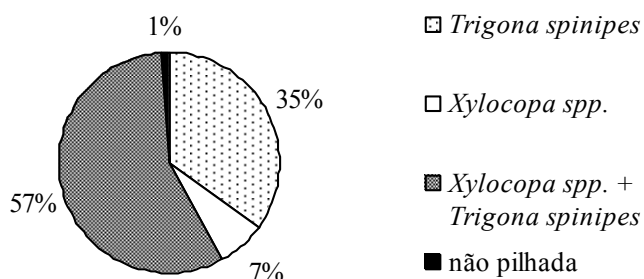


Figura 6. Taxa de pilhagem em flores de *Jacaranda rugosa* e seus respectivos pilhadores no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco (n = 100).

O tempo de visita dos polinizadores em flores com disponibilidade de néctar manipulada e em flores controle foi acompanhado para verificar se a depleção natural de néctar por pilhadores afetaria o comportamento de visita dos polinizadores. A visita dos polinizadores em flores que tiveram o néctar retirado durou $4,5 \pm 2,1$ s (média; desvio padrão), enquanto que em flores que tiveram água açucarada adicionada durou $10,9 \pm 6,6$ s. Nas flores controle, que foram

ensacadas previamente, foram acompanhadas as durações das três primeiras visitas. A primeira visita do dia em uma flor foi muito breve, apenas $2,9 \pm 1,2$ s (média, desvio padrão), e após ela o polinizador retirou o excesso de pólen que ficou aderido na região facial. Após a limpeza, esse mesmo visitante fez uma segunda visita na mesma flor e dessa vez permaneceu $9,8 \pm 2,9$ s. As duas primeiras visitas do dia em uma flor sempre foram realizadas por um mesmo visitante, enquanto que a terceira visita foi, na maioria das vezes, realizada por um outro visitante. A terceira visita na flor durou apenas $4,5 \pm 1,1$ s. A variação do tempo de visita entre os tratamentos foi significativamente diferente ($H = 202,2435$; $g.l = 4$; $p < 0,001$) e os testes a posteriori mostraram que o tempo de visita no par semelhante flores sem néctar e terceira visita em flores controle foi estatisticamente diferente do outro par semelhante flores com água açucarada e segunda visita em flores controle. A primeira visita em flores controle foi atípica e apresentou um padrão distinto dos outros (figura 7).

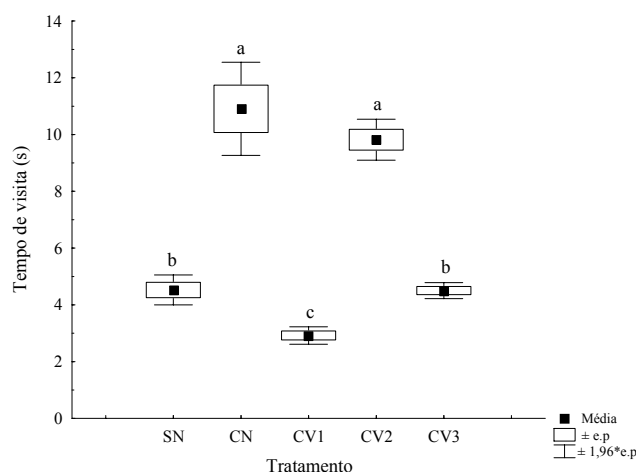


Figura 7. Tempo de visita em flores sem néctar (SN), com adição de água açucarada (CN) e 1ª visita (CV1), 2ª visita (CV2) e 3ª visita (CV3) em flores controle ($n = 62$ para cada tratamento). Os tratamentos acompanhados por letras distintas são significativamente diferentes ($p < 0,0001$) com a exceção de que a diferença entre CV1, SN e CV3 é apenas marginalmente significativa ($p = 0,07$).

Discussão

O padrão de floração de *Jacaranda rugosa* não se encaixa de forma adequada em nenhum dos padrões reconhecidos por Gentry (1974a, 1974b), apresentando floração intermediária entre *steady-state* e *cornucopian*. Essa espécie produz poucas flores durante quase todos os meses do ano, mas apresenta dois picos marcantes entre os meses de março a abril e outubro a dezembro,

diferindo inclusive das espécies congêneras *J. caroba* e *J. copaia*, com floração típica de *cornucopian* (Vieira et al. 1992, Maués et al. 2004).

Machos e fêmeas de *Euglossa*, especialmente de *E. melanotricha*, são os principais polinizadores efetivos de *Jacaranda rugosa*. Outras espécies de abelhas como de *E. cordata*, *Eulaema nigrita*, *Bombus brevivillus*, *Centris fuscata* e duas espécies de *Ceratina* também polinizam efetivamente as flores, mas devido à menor frequência são menos importantes na área de estudo. A importância das Euglossini na polinização da família Bignoniaceae tem sido frequentemente relatada na literatura (Borrero 1972, Barrows 1977, Frankie et al. 1983, Barros 2001, Dutra e Machado 2001). Segundo Gentry (1974a, 1974b), grande parte das 76 espécies de Bignoniaceae estudadas na Costa Rica e Panamá eram polinizadas principalmente por abelhas dessa tribo que apresentam grande capacidade de vôo e atuam como polinizadores de grande distância (Janzen 1971). *Jacaranda caroba* e *J. copaia* do Cerrado e Amazonas respectivamente, também são polinizadas principalmente por machos e fêmeas de Euglossini (Vieira et al. 1992, Maués et al. 2004). As abelhas generalistas sem ferrão de diversas espécies que frequentemente coletaram pólen nas flores de *J. rugosa* não voam entre diferentes indivíduos e assim não atuam como polinizadores efetivos.

Os visitantes de *Jacaranda rugosa* procuraram preferencialmente flores com estaminódio o que mostra que a presença deste é percebida pelas abelhas. Segundo Vieira et al. (1992) o estaminódio desenvolve um papel triplo na polinização de *Jacaranda caroba*: 1) orientação visual, devido a sua cor contrastante com a da entrada do tubo da corola; 2) guia olfativo, através do odor liberado pelos tricomas glandulares e 3) auxílio no contato do polinizador com as anteras e estigma da flor, pela diminuição do diâmetro útil da corola. Para Maués et al. (2004) em *Jacaranda copaia* o estaminódio “seleciona” os visitantes legítimos, pois reduz o espaço da corola e conseqüentemente dificulta o acesso de abelhas maiores.

Jacaranda rugosa possui típicas flores de néctar e seus polinizadores efetivos não coletam pólen ativamente. O comprimento da câmara nectarífera exclui abelhas com línguas menores que 11 mm que não alcançam o néctar produzido no disco nectarífero na base do tubo floral. O volume de néctar oferecido é relativamente alto, principalmente se comparado a outras espécies de Bignoniaceae polinizadas por abelhas (Frankie et al. 1983, Stevens 1994, Rivera 2000, Barros 2001, Souza et al. 2004). A produção contínua de néctar ao longo do dia mantém as flores dessa planta atrativas para os visitantes.

A atratividade das flores de *Jacaranda rugosa* como fontes de néctar também é mostrada devido à altíssima taxa de flores pilhadas. A grande abundância de pilhadores ao longo do dia mantém o nível de néctar sempre baixo no local de estudo. A redução de néctar para os polinizadores efetivos, no entanto, pode ter um efeito positivo indireto no sucesso reprodutivo da planta, já que os polinizadores seriam forçados a visitar mais flores e a voar maiores distâncias para conseguir coletar a mesma quantidade de néctar que em flores onde este não tenha sido retirado por pilhadores (Roubik 1982, Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger 1988, Vieira et al. 1992, Barros 2001, Dutra e Machado 2001). O efeito da quantidade de néctar na câmara nectarífera à duração de visita dos polinizadores foi simulado experimentalmente. Quando o néctar foi retirado manualmente, as visitas dos polinizadores foram muito curtas, semelhante às visitas em flores cujo néctar foi retirado por outras abelhas. Após adição de néctar artificial, a duração das visitas foi cerca de duas vezes mais longa e correspondeu a visitas florais com néctar acumulado, ou seja, sem ação de pilhadores. Isto mostra que a contínua retirada de néctar pelos pilhadores realmente reduz a permanência dos polinizadores na flor para cerca de 50% do tempo. Assim os machos e fêmeas de, por exemplo, *Euglossa melanotricha* devem pelo menos duplicar o número de visitas florais. Nesse contexto, a redução do tempo de visita teria um efeito positivo no fluxo de vôos entre indivíduos co-específicos de *J. rugosa* e, conseqüentemente, na taxa de polinização cruzada.

O sucesso reprodutivo na população estudada, contudo, foi extremamente baixo (menos que 2%), muito menor do que o alcançado na polinização cruzada manual (acima de 40%). Nesse caso um dos fatores que pode explicar a inexpressiva formação de frutos é a ação de visitas florais destrutivas de *Trigona spinipes*, presentes em praticamente todas as flores de *Jacaranda rugosa*. Em locais onde esta abelha não ocorre, a pilhagem de néctar por abelhas como *Xylocopa* poderia ter um efeito neutro ou positivo na taxa de frutificação como proposto em outros estudos (Roubik 1982, 1989, Laroca e Almeida 1985, Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger 1988, Vieira et al. 1992, Maloof e Inouye 2000, Barros 2001). A alta taxa de geitonogamia sofrida por esta espécie auto-incompatível, como também mencionado para outras espécies de Bignoniaceae (Bawa 1974, Gentry 1978), juntamente com o fechamento definitivo dos estigmas após deposição de pólen co-específico (Bertin 1982, Singh e Chauhan 1996, Shu-Xiang et al. 2004), é outro fator que deve estar associado à baixa frutificação natural dessa espécie.

Polinizadores são os únicos visitantes capazes de promover o fechamento do estigma em Bignoniaceae (Stephenson e Thomas 1977, Bertin 1982, Richardson 2004a, Shu-Xiang et al. 2004). Os estigmas de 28 das 30 flores monitoradas de *Jacaranda rugosa* estavam fechados ao final do dia, mostrando que as flores foram bem visitadas e que a produção de frutos não foi limitada pela baixa frequência de polinizadores como demonstrado em outras Bignoniaceae (Bertin 1982, Vieira *et al.* 1992). O grande número de estigmas fechados já no início do dia indica que as primeiras visitas florais nessa planta devem ser responsáveis pela polinização e formação de frutos. A probabilidade de que uma visita floral resulte em deposição de pólen no estigma diminui com o passar do dia. Assim, abelhas que visitaram as flores à tarde não contribuíram para polinização.

Somos muito gratos a Airton T. Carvalho, Reislá O. Darrault, Carlos Eduardo da Silva e ao guia João Silva pela contribuição no trabalho de campo; a Gabriela Bieber pela orientação nas análises estatísticas e ao IBAMA pela permissão e apoio logístico para realização do projeto no Parque Nacional do Catimbau. Esse estudo faz parte da dissertação de mestrado de Paulo Milet-Pinheiro e foi financiado pela CAPES/CNPq/UFPE.

Referências

- Andrade K. V. S. A., Rodal M. J. N., Lucena M. F. A., Gomes A. P. S. (2004) Composição florística de um trecho do Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco – Brasil. *Hoehnea* 31(3): 337-348.
- Arizmendi M. C., Domingues C. A., Dirzo R. (1996) The role of an avian nectar robber and of hummingbird pollinators in the reproduction of two plants species. *Funct. Ecol.* 10: 119-127.
- Barros M. G. (2001) Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. e Hook. and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. *Revta Bras. Bot.* 24(3): 255-261.
- Barrows E. M. (1977) Floral maturation and insect visitors of *Pachyptera hymenaea* (Bignoniaceae). *Biotropica* 9: 133-134.
- Bawa K. S. (1974) Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28: 85-92.
- Bertin R. I. (1982) Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumpet creeper (*Campsis radicans*, Bignoniaceae). *Ame. J. Bot.* 69 (1): 122-134.
- Borrero J. I. (1972) Explotacion de las flores de guayacan (*Tabebuia chrysantha*) por varias especies de aves e insectos. *Biotropica* 4(1): 28-31.
- Dutra J. C. S., Machado V. L. L. (2001) Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante ser período de floração. *Neotr. Entomol.* 30(1): 43-53.
- Faegri K, van der Pijl L. (1971) *The Principles of Pollination ecology*. Pergamon Press. London.

- Frankie G. W., Haber W. A., Bawa K. S. (1983). Characteristics and organization of the large bee pollination system in the Costa Rican dry forest. In: Jones C.E, Little R.J. (eds). Handbook of Experimental Pollination Biology. Van Nostrand Reinhold Company, Inc. New York. pp.411-448.
- Gentry A. H. (1974a) Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6(1): 64-68.
- Gentry A. H. (1974b) Coevolutionary patterns in central american Bignoniaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 61: 728-754.
- Gentry A. H. (1978) Anti-pollinators for mass-flowering plants? *Biotropica* 10(1): 68-69.
- Gentry A. H. (1980). Bignoniaceae. *Flora Neotropica*, Monograph No. 25(I). The New York Botanical Garden.
- Gentry A. H. (1992) Bignoniaceae. *Flora Neotropica*, Monograph No. 25(II). The New York Botanical Garden.
- Gentry A. H. (1990) Evolutionary patterns in neotropical Bignoniaceae. *Mem. New York Bot. Gard.* 55: 118-129.
- Higashi S., Ohara M., Arai H., Matsuo K. (1988) Robber-like pollinators: overwintered queen bumblebees foraging on *Corydalis ambigua*. *Ecol. Entomol.* 13: 411-418.
- Inouye D. W. (1980) The terminology of floral larceny. *Ecology* 61 (5): 1251-1253.
- Irwin R. E., Brody A. K. (1999) Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregate* (Polemoniaceae). *Ecology* 80(5): 1703-1712.

Irwin R. E., Maloof J. E. (2002). Variation in nectar robbing over time, space and species. *Oecologia* 133: 525-533.

Janzen D. H. (1971) Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. *Science* 171: 203-205.

Lara C, Ornelas J. F. 2001. Preferential nectar robbing of flowers with long corollas: experimental studies of two hummingbird species visiting three plant species. *Oecologia* 128: 263-273.

Laroca S., Almeida M. C. (1985). Adaptação dos palpos labiais de *Niltonia virgilii* (Hymenoptera, Apoidea, Colletidae) para coleta de néctar em *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae), com descrição do macho. *Revta. Bras. Entomol.* 29(2): 289-297.

Maloof J. E., Inouye D. W. (2000) Are nectar robbers cheaters or mutualist? *Ecology* 81(10): 2651-2661.

Maués M. M., Souza M. S., Kanashiro M. (2004). The importance of solitary bees on the reproductive biology of timber trees at the tapajós national forest, Brazil. In: Freitas B. M., Pereira J. O. P. (eds.). *Solitary Bees – Conservation, Rearing and Management for Pollination*. Imprensa Universitária. Fortaleza, pp. 241-254.

Morawetz W. (1982) Morphologisch-ökologische differenzierung, biologie, systematik und evolution der netropischen gattung *Jacaranda* (Bignoniaceae). *Österreichische Akademie der Wissenschaften. Math.-nat.Klasse, Denkschriften*, Bd.

Morris W. F. (1996) Mutualism denied? Nectar-robbing bumble bees do not reduce female or male success of bluebells. *Ecology* 77 (5): 1451-1462.

- Navarro L. (2000) Pollination ecology of *Anthyllis vulneraria* subsp. *Vulgaris* (Fabaceae): nectar robber as pollinators. *Ame. J. Bot.* 87 (7): 980-985.
- Pinto C. E., Darrault R. O., Schlindwein C. (2005) Repetitive floral visits diminish fruit set in *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)? In: Annual Meeting of ATBC, 2005, Frontiers in tropical biology and conservation, pp 121.
- Richardson S. C. (2004a) Benefits and costs of floral visitors to *Chilopsis linearis*: pollen deposition and stigma closure. *Oikos* 107: 363-375.
- Richardson S. C. (2004b). Are nectar robbers mutualists or antagonists? *Oecologia* 139: 246-254.
- Rivera G. (2000) Nectarios y tricomas florales en cuatro especies de Tecomeae (Bignoniaceae). *Darwiniana* 34 (1-4): 19-26.
- Rodal M. J. N., Andrade K. V. A., Sales M. F., Gomes A. P. S. (1998) Fitossociologia do componente lenhoso de um refúgio vegetacional no município de Buíque, Pernambuco. *Revta. Bras. Biol.* 58(3): 517-526.
- Roubik D. W. (1982) The ecological impact of nectar-robbing bees and pollinating hummingbirds on a tropical shrub. *Ecology* 63(2): 354-360.
- Roubik D. W. (1989) Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge University Press, New York. 514p.
- Sandwith N. Y., Hunt D. R. (1974) Flora Ilustrada Catarinense – *Bignoniáceas*. Itajaí.
- Shu-Xiang Y., Chun-Feng Y., Tao Z., Qing-Feng W. (2004) A mechanism facilitates pollination due to stigma behavior in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Acta Bot. Sin.* 46: 1071-1074.

- Silberbauer-Gottsberger I., Gottsberger G. (1988) A polinização de plantas do Cerrado. *Revta Bras. Biol.* 48 (4): 651-663.
- Singh J, Chauhan S. V. S. (1996) Morphological changes in the stigma of seasonally transient sterile *Tecoma stans* L. *Phytomorphology* 46, 1-7.
- Souza D. A. S., Lenzi M. e Orth A. I. (2004) Contribuição à ecologia da polinização de *Tabebuia pulcherrina* (Bignoniaceae) em área de restinga, no sul de Santa Catarina. *Biotemas* 17 (2): 47-66.
- Statsoft, inc. (2001) Statistica (data analysis software system), version 6.0. www.statsoft.com. Tulsa, USA.
- Stephenson A. G., Thomas W. W. (1977) Diurnal and nocturnal pollination of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Syst. Bot.* 2 (3): 191-198.
- Stevens A. D. (1994) *Reproduktionsbiologie einiger Bignoniaceen in Cerrado brasiliens*. Biosystematics and Ecology Series 5, Österreichische Akademie der Wissenschaften.
- SUDENE (1990) Dados pluviométricos mensais do Nordeste. Estado de Pernambuco. Pluviometria 6. Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste, Recife.
- Traveset A., Willson M. F., Sabag C. (1998) Effect of nectar-robbing birds on fruit set of *Fuchsia magellanica* in tierra del fuego: a disrupted mutualism. *Func. Ecol.* 12: 459-464.
- Vieira M. F., Meira R, M, S., Queiroz L. P., Meira-Neto J. A. A. (1992) Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) Dc. (Bignoniaceae) em área de Cerrado do Sudeste brasileiro. *Anais 8º Congr. SBPC*: 13-19.
- Zar J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. 4ª Edição. Prentice Hall, New Jersey.

Zimmerman M., Cook S. (1985) Pollinator foraging, experimental nectar-robbing and plant fitness in *Impatiens capensis*. Am. Midl. Nat. 113 (1): 84-91.

Manuscrito a ser encaminhado à Revista *Annals of Botany*

Ecologia da polinização e ação de pilhadores em *Tabebuia impetiginosa* (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco

Milet-Pinheiro, P e Schlindwein, C - Pilhadores e polinizadores de *Tabebuia impetiginosa*.

Autores: Paulo Milet-Pinheiro ¹ e Clemens Schlindwein ²

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50670-901 Recife, PE. (miletpinheiro@hotmail.com).

² Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50670-901 Recife, PE, (schlindw@ufpe.br).

7 figuras e 3 tabelas

RESUMO

Tabebuia impetiginosa é uma árvore com floração maciça do tipo cornucopia. As flores melitófilas apresentam guias de néctar atrativos. Em uma população desta planta, no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil, estudamos a ecologia de polinização, a função da mudança de cor dos guias de néctar e o impacto dos pilhadores na frutificação. *T. impetiginosa* é uma espécie auto-incompatível, polinizada principalmente por abelhas das tribos Centridini e Euglossini. Essas abelhas diferenciam flores do primeiro, segundo e terceiro dia de antese, indicadas pela alteração na coloração dos guias de néctar. Espécies de *Xylocopa* e *Trigona spinipes* foram os principais pilhadores primários de néctar, atingindo 66% das flores. Flores protegidas contra pilhadores produziram mais frutos do que flores desprotegidas. A baixa taxa de frutificação na população estudada é resultado da ação destrutiva das visitas de *T. spinipes* e uma alta taxa de geitonogamia, associada ao fechamento irreversível dos estigmas sensitivos após deposição de pólen co-específico.

Palavras-chave: Bignoniaceae, biologia da polinização, Centridini, Euglossini, guias de néctar, Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Nordeste brasileiro, *Tabebuia impetiginosa*.

INTRODUÇÃO

As Bignoniaceae abrangem cerca de 110 gêneros e 800 espécies, ocorrendo predominantemente na região neotropical (Sandwith e Hunt, 1974; Gentry, 1980, 1990). As flores dessa família possuem caracteristicamente pétalas fusionadas tubulares com diversas variações morfológicas associadas à polinização por abelhas, morcegos, pássaros, mariposas e borboletas (Gentry, 1980, 1990; Frankie *et al.*, 1983; Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger, 1988; Stevens, 1994; Lopes *et al.*, 2002; Bittencourt e Semir, 2004; Machado e Vogel, 2004). Abelhas de médio e grande porte são os agentes mais importantes pela polinização da maioria das Bignoniaceae (Gentry, 1974a, 1980, 1990).

A atividade de pilhadores em flores de Bignoniaceae tem sido freqüentemente relatada na literatura (Borrero, 1972; Gentry, 1974a, 1980; Barrows, 1977; Stephenson e Thomas, 1977; Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger, 1988; Vieira *et al.*, 1992; Maloof e Inouye, 2000; Barros, 2001; Maués *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2004). O efeito da ação dos pilhadores no sucesso reprodutivo das plantas envolvidas parece variar de acordo com a espécie de pilhador, podendo ser negativo (Roubik, 1982; Traveset *et al.*, 1998; Irwin e Brody, 1999), neutro (Zimmerman e Cook, 1985; Arizmendi *et al.*, 1996) ou positivo (Higashi *et al.*, 1988; Navarro, 2000; Richardson, 2004a).

É comum na família que as flores apresentem guias de néctar que orientam as abelhas durante a visita à flor (Weiss, 1991, 1995). Esses guias ou a flor inteira podem mudar sua coloração durante a antese o que pode ser percebido pelos visitantes florais que aprendem a não visitar flores após mudanças, uma vez que estas não oferecem mais recursos (Müller, 1883; Weiss, 1991, 1995). A mudança de cor pode estar relacionada a fatores fisiológicos naturais, *e.g.* senescência, mas às vezes a polinização ou retirada de algum recurso floral pode interferir na longevidade floral e provocar alterações florais (Gori, 1983; Weiss, 1991, 1995; Doorn, 1997; Weiss e Lamont, 1997; Martini *et al.* 2003). O gênero *Tabebuia* Gomes ex A. DC compreende cerca de 100 espécies muitas delas com guias de néctar (Gentry, 1980; Weiss, 1991, 1995; Barros, 2001) e está distribuído do Norte do México e Antilhas ao Norte da Argentina, sendo Hispaniola e Colômbia as regiões de maior diversidade de espécies (Gentry, 1992).

Tabebuia impetiginosa (Mart. ex. DC.) Standl é uma espécie de distribuição ampla, ocorrendo do Noroeste mexicano ao Noroeste argentino (Gentry 1992). Essa espécie possui flores rochas com guias de néctar amarelos atrativos que mudam de cor e devem ter uma função

na sua polinização. Nesse estudo procuramos conhecer a ecologia da polinização de *T. impetiginosa* no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco, Brasil, destacando a função da mudança de cor dos guias de néctar e o efeito da ação de pilhadores para frutificação dessa planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado no Parque Nacional do Catimbau, situado nos municípios de Buíque, Tupanatinga e Ibimirim, com cerca de 62000 ha (Andrade et al. 2004). Indivíduos de *Tabebuia impetiginosa* foram acompanhados em duas locais, Serra Branca e Igreja, entre setembro e dezembro de 2004 e 2005. A vegetação dessas áreas é predominantemente arbustiva com indivíduos perenifólios, poucos elementos arbóreos e estrato subarborescente denso. (Rodal et al., 1998, Andrade et al., 2004).

O posto meteorológico mais próximo da área situa-se na sede do município de Buíque e registra temperatura e precipitação médias anuais de 25°C e 1.095,9 mm com maior pluviosidade entre os meses de abril a junho (SUDENE, 1990).

Espécie estudada

Tabebuia impetiginosa é uma espécie de ampla distribuição geográfica, comum em florestas secas estacionais decíduas ou semidecíduas, ocorrendo desde o Noroeste mexicano ao Noroeste argentino (Gentry, 1992). Possui porte arbóreo, atingindo até 30 metros de altura. No Vale do Catimbau as plantas alcançavam no máximo seis metros, mas a maioria dos indivíduos media entre dois e quatro metros, o que facilitou a manipulação do material biológico. As flores, dispostas em panículas terminais, são hermafroditas, róseas com guias de néctar amarelos, tubulares-campanulares, com quatro estames didínamos e um estigma composto por dois lobos sensitivos (Gentry, 1992).

Biologia floral e reprodutiva

Foram ensacados 50 botões florais para acompanhar a antese das flores, desde a abertura até a abscisão. No decorrer das observações foram registrados o horário de abertura floral, deiscência das anteras, receptividade estigmática, viabilidade polínica, disponibilidade de néctar, coloração da corola e guias de néctar e padrão de floração. A receptividade estigmática foi determinada utilizando-se peróxido de oxigênio (H₂O₂). Para a determinação da viabilidade

polínica, grãos de pólen foram removidos de anteras fixadas em FAA e colocados em lâmina com carmim acético. Foram contados, em microscópio, os primeiros 300 grãos de pólen e registrados quantos deles tinham sido corados.

Para mensurar volume e concentração de néctar foram utilizados, respectivamente, microcapilares graduados de 10µl e refratômetro de bolso (Atago). Foram feitas medidas às 7:00h e 17:00h, utilizando-se 10 flores previamente ensacadas para cada horário.

A morfometria foi determinada em dez flores de cinco indivíduos. Foram mensurados nas flores a altura e diâmetro da entrada, comprimento e diâmetro da flor, comprimento do tubo floral e câmara nectarífera e comprimento dos estames e estilete.

Para verificar o sistema reprodutivo de *T. impetiginosa* foram realizados cinco tratamentos em 12 indivíduos: 1) autopolinização espontânea, flores sem manipulação; 2) autopolinização manual, flores polinizadas com seu próprio pólen; 3) geitonogamia manual, flores polinizadas com pólen do mesmo indivíduo, mas de flores diferentes; 4) polinização cruzada manual, flores polinizadas com pólen de outros indivíduos e 5) polinização por visitantes em condições naturais (polinização natural). Todas as flores foram previamente ensacadas e para cada tratamento utilizaram-se 36 flores, excetuando-se as 180 flores expostas à polinização natural. Após as manipulações todas as flores foram reensacadas, com a exceção novamente daquelas do tratamento de polinização natural. Os frutos formados no experimento foram coletados para contagem das sementes.

A razão pólen-óvulo (P/O) foi determinada a partir de 10 botões coletados aleatoriamente no campo. Os grãos de pólen por flor foram contados com o auxílio da câmara de Neubauer. Todas as anteras foram maceradas em Eppendorf com 0,5 ml de ácido láctico glicerinado 3/1. Depois de homogeneizadas, amostras da solução foram imediatamente aplicadas na câmara e contadas em microscópio. Para cada amostra foram feitas duas contagens. O valor aproximado de grãos por flor foi determinado a partir da fórmula $G_t = G_o \times V_t / V_c$, onde G_t é o número aproximado de grãos; G_o é o número de grãos observados na contagem; V_t é o volume total no Eppendorf (0,5ml) e V_c é o volume da câmara (0,0004ml). Os ovários de cada um dos botões foram dissecados e os óvulos contados com o auxílio de estereomicroscópio. A média e desvio padrão da razão P/O da espécie foram determinados a partir da razão P/O de cada um dos botões.

Polinizadores efetivos e efeito de pilhagem

Os visitantes florais foram capturados aleatoriamente durante a visita às flores com rede entomológica e armazenados em câmaras mortíferas. Os exemplares coletados foram montados em alfinetes entomológicos, secos em estufa a 40 ° C por dois dias, etiquetados e identificados. As informações de coleta foram incluídas no banco de dados do grupo de pesquisa “Plebeia” e os insetos foram armazenados na Coleção Entomológica da UFPE. O material vegetal coletado em campo foi prensado e secado em estufa por cinco dias. As exsiccatas preparadas foram armazenadas no Herbário Geraldo Mariz UPE.

A frequência de visitantes foi acompanhada em três indivíduos vegetais durante três dias não consecutivos. Em cada indivíduo foram acompanhadas 15 flores (5 do primeiro dia, 5 do segundo e 5 do terceiro) das 06:00h às 17:00h em intervalos de 30 em 30 minutos, perfazendo um total de 18h de observação. Foram registrados o tipo de visita (legítima ou ilegítima), contato dos visitantes com anteras e estigma e os recursos florais procurados. As injúrias nas flores, realizadas pelos visitantes ilegítimos, foram classificadas de acordo com sua forma e posição na flor.

Para determinar os polinizadores efetivos e pilhadores foram utilizados os critérios de comportamento de visitas, contato com as partes reprodutivas, frequência relativa de visita e vôos entre indivíduos co-específicos.

A taxa de pilhagem foi determinada em 300 flores, considerando os tipos de injúrias. Para impedir a pilhagem e verificar seu efeito no sucesso reprodutivo de *Tabebuia impetiginosa*, foram envolvidas por papel filme a base do cálice e corola de 150 flores em 15 indivíduos. Nesses mesmos indivíduos foram marcadas outras 150 flores sem proteção contra pilhadores. A taxa de frutificação foi determinada nos dois tratamentos.

A posição do estigma (aberto ou fechado) em diferentes horários, 9:00, 13:00, e 17:00h, foi observada em 25 flores do primeiro dia de abertura. Estigma de 25 flores do segundo e terceiro foram monitoradas às 17:00h.

Análises estatísticas

O volume de néctar, assim como a concentração, registrados às 7:00 e 17:00 horas foram comparados através do teste ANOVA.

O teste χ^2 foi utilizado para verificar se existia diferença significativa na frequência de formação de frutos entre os tratamentos do experimento de sistema reprodutivo e entre os tratamentos do experimento de proteção contra pilhadores.

Para determinar se havia diferença significativa entre o número de visitantes em flores do primeiro, segundo e terceiro dia foi utilizado o teste ANOVA. Os dados foram transformados em suas raízes quadradas com um fator de correção, $\sqrt{x+0,5}$ (Zar 1999), por não apresentarem distribuição normal.

A normalidade de todos os dados foi verificada a partir do teste Kolmogorov-Smirnov. Quando necessário o teste de Tukey foi utilizado para fazer comparações a posteriori. Os testes acima mencionados foram realizados através do *software* Statistica versão 6.0 (Statsoft 2001).

RESULTADOS

Biologia floral e reprodutiva

As flores de *Tabebuia impetiginosa* são dispostas em panículas terminais e de acordo com Gentry (1974a) possuem um padrão de floração do tipo *cornucopian*. As flores têm em média $41,5 \pm 2,3$ mm de comprimento e $38,0 \pm 3,6$ mm de diâmetro. As pétalas fusionadas formam um tubo floral com comprimento de $35,2 \pm 2,6$ mm e abertura com altura/diâmetro de respectivamente $8,3 \pm 1,1$ mm e $15,1 \pm 2,6$ mm. O estilete, incluindo o estigma bilobado sensitivo, mede $28,3 \pm 3,2$ mm e os pares de estames didínamos $22,1 \pm 1,7$ mm e $27,3 \pm 1,35$ mm. Os filetes são concrecidos na base com o tubo da corola, formando uma câmara nectarífera com em média $9,7 \pm 1,1$ mm de comprimento que permite que apenas abelhas com línguas maiores que 1 cm colem o néctar. Na entrada da câmara nectarífera existe uma densa pilosidade que dificulta ainda mais o acesso ao néctar por abelhas de língua curta. O néctar é produzido no disco nectarífero, situado na base do ovário.

Tabebuia impetiginosa apresentou um único evento de floração por ano, claramente delimitado entre os meses de novembro e dezembro de 2004 e outubro e novembro de 2005. A floração dos indivíduos, no entanto, dura no máximo duas semanas com as flores permanecendo abertas por cerca de 5-7 dias. A abertura floral ocorre de forma aleatória em qualquer horário do dia entre 6:00 e 17:00 h. Na hora de abertura a maioria dos estigmas ainda está fechada, enquanto as anteras já estão deiscendo e apresentando pólen. Após cerca de 15 min os dois lóbulos estigmáticos começaram a abrir até chegar na posição máxima de abertura, aproximadamente 45°

(figura 1a). Testes com peróxido de oxigênio mostraram que o estigma já estava receptivo quando iniciou a abertura.

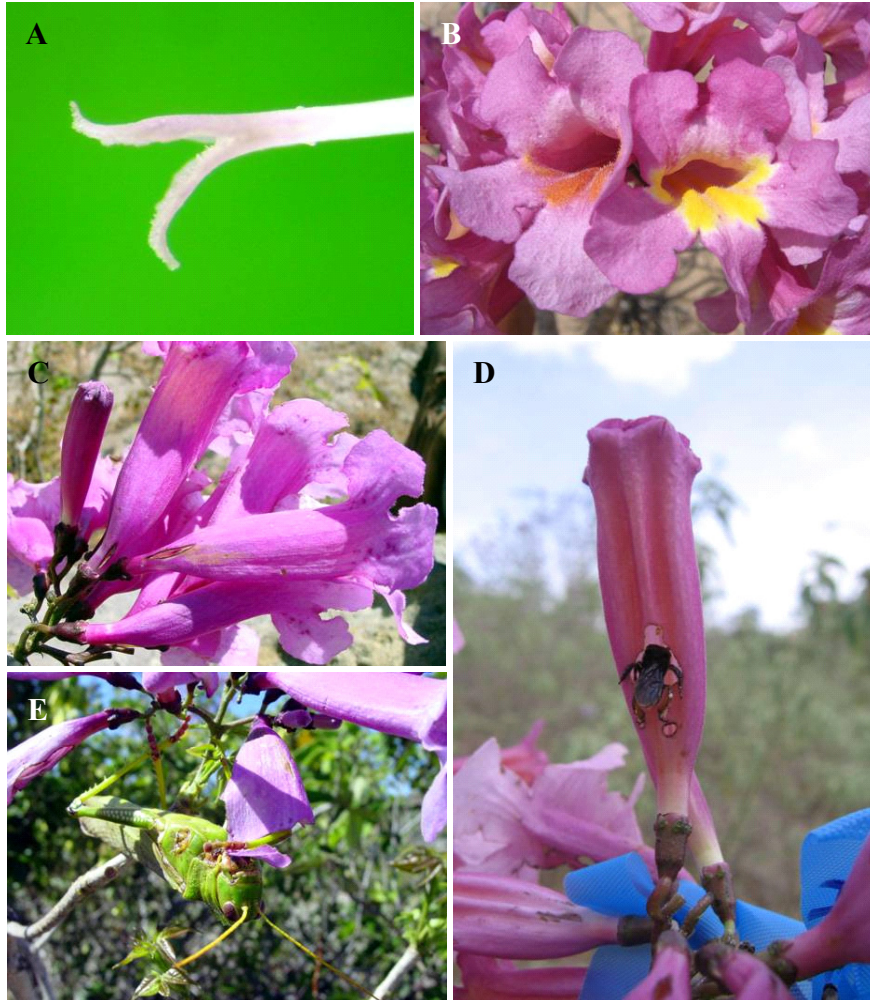


Figura 1. Lóbulos estigmáticos abertos em *Tabebuia impetiginosa* (A); flores do primeiro e segundo dia de antese com guia de néctar amarelo e alaranjado, respectivamente (B); fendas longitudinais na base da corola produzidas por espécies pilhadoras de *Xylocopa* (C); *Trigona spinipes* perfurando a corola do botão floral para pilhagem de pólen (d) e um gafanhoto comendo flores de *T. impetiginosa* (E).

As flores de *T. impetiginosa* possuem um guia de néctar com quatro listras longitudinais e uma suave pilosidade. Os guias de néctar das flores sofrem mudança de coloração ao longo da antese, sendo fortemente amarelo no primeiro dia, alaranjado no segundo, avermelhado no terceiro e desaparecendo a partir do quarto dia (figura 1b). Flores polinizadas tiveram o mesmo padrão de longevidade e alteração da cor dos guias que flores ensacadas e não manipuladas,

indicando que o evento de polinização não altera o padrão natural de senescência e alteração da cor dos guias.

No momento de abertura floral, o volume de néctar foi muito pequeno. A determinação do volume de néctar em flores ensacadas do primeiro dia de antese mostrou que a produção de néctar é contínua. O volume por flor aumentou em média de $1,8 \pm 1,4 \mu\text{l}$ no início do dia para $4,7 \pm 2,1 \mu\text{l}$ no final da tarde ($n = 10$, figura 2) e a diferença foi significativa ($F = 13,677$; g.l = 1; $p < 0,01$). A concentração do néctar variou entre $46,1 \pm 6,5 \%$ e $50 \pm 4,6 \%$ de açúcar, mostrando um leve aumento ao longo do dia, mas a diferença não foi significativa ($n = 10$, figura 2).

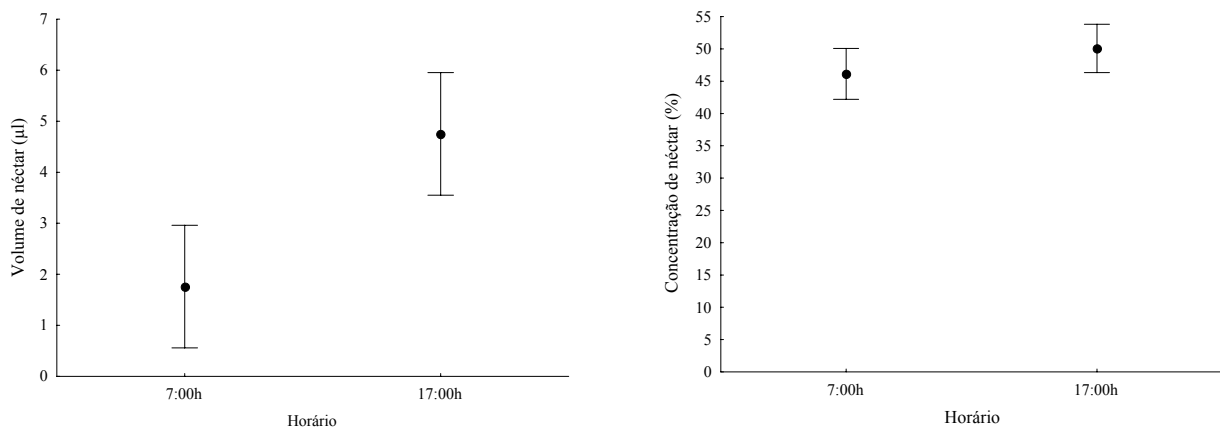


Figura 2. Volume (esquerda) e concentração (direita) de néctar acumulado ao longo do dia em flores ensacadas de *Tabebuia impetiginosa* no Parque Nacional do Catimbau ($n=10$, média e intervalo de confiança).

O experimento de polinização dirigida mostrou que apenas as flores que sofreram polinização cruzada manual e polinização natural produziram frutos, indicando que *Tabebuia impetiginosa* é uma espécie xenogâmica obrigatória (tabela 1). As flores acessíveis aos visitantes florais, contudo, apresentaram uma taxa de frutificação pequena. A diferença entre a produção de frutos dos tratamentos é significativa ($\chi^2 = 27,26$; g.l = 1; $p < 0,00001$).

As flores produzem em média 133.562 ± 33.150 grãos de pólen e $118,2 \pm 19,0$ óvulos, o que reflete em uma razão pólen-óvulo de 737. A taxa de viabilidade polínica é de $94,868 \pm 2,81 \%$ ($n = 10$).

Tabela 1. Formação de frutos no experimento de polinização controlada em *Tabebuia impetiginosa* no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

Tratamentos	n	Frutos desenvolvidos	sucesso (%)
Autopolinização manual	36	0	0
Autopolinização espontânea	36	0	0
Geitonogamia	36	0	0
Polinização cruzada manual	36	16	44,44
Polinização natural	180	15	8,33

Polinizadores efetivos e efeito de pilhagem

Foram encontradas 33 espécies de abelhas como visitantes florais de *Tabebuia impetiginosa* (tabela 2). Entre eles 30 eram visitantes legítimos e 3 ilegítimos. Os visitantes de *T. impetiginosa* foram separados em categorias de acordo com seu comportamento de forrageamento: categoria I – visitantes florais legítimos, coletores de néctar e polinizadores potenciais; categoria II – visitantes legítimos, coletores de pólen; categoria III – visitantes ilegítimos, pilhadores primários de néctar e categoria IV – visitantes ilegítimos que coletam pólen perfurando a corola do botão floral.

Tabela 2. Visitantes florais de *Tabebuia impetiginosa* no Parque Nacional do Catimbau, Buíque Pernambuco. Categorias: I - visitantes legítimos, polinizadores potenciais; II – visitantes legítimos, coletores de pólen; III visitantes ilegítimos, pilhadores primários de néctar e IV – visitantes ilegítimos, coletores de pólen. Legendas: N - néctar e P - pólen.

Espécie/Família	Categoria	Sexo	Recurso
Apidae			
<i>Bombus (Fervidobombus) brevivillus</i> Franklin, 1913	I	♀	N
<i>Centris (Centris) aenea</i> (Lepeletier, 1841)	I	♀/♂	N
<i>Centris (Centris) caxiense</i> (Ducke, 1910)	I	♀/♂	N
<i>Centris (Centris) flavifrons</i> Fabricius 1777	I	♀/♂	N
<i>Centris (Hemisiella) tarsata</i> Smith, 1874	I	♀/♂	N
<i>Centris (Hemisiella) trigonoides</i> lepeletier, 1841	I	♀/♂	N
<i>Centris (Heterocentris) analis</i> Fabricius 1804	I	♀/♂	N
<i>Centris (Heterocentris) sp.</i>	I	♀/♂	N
<i>Centris (Trachina) fuscata</i> Lepeletier, 1841	I	♀/♂	N
<i>Ceratina (Crewella) maculifrons</i> Smith 1854	II	♀/♂	P
<i>Ceratina (Crewella) sp.</i>	II	♀/♂	P
<i>Euglossa (Euglossa) melanotricha</i> Moure, 1967	I	♀/♂	N
<i>Euglossa (Euglossa) cordata</i> (Linnaeus, 1758)	I	♀/♂	N

Espécie/Família	Categoria	Sexo	Recurso
<i>Eulaema (Apeulaema) nigrita</i> Lepeletier, 1841	I	♀/♂	N
<i>Frieseomelitta francoi</i> Moure, 1946	II	♀	P
<i>Frieseomelitta varia</i> (Lepeletier, 1836)	II	♀	P
<i>Melitoma segmentaria</i> (Fabricius, 1807)	I	♀/♂	N
<i>Mesocheira bicolor</i> (Fabricius, 1804)	I	♀/♂	N
<i>Mesoplia</i> cf. <i>bifrons</i>	I	♀/♂	N
<i>Paratrigona lineata</i> (Lepeletier, 1836)	II	♀	P
<i>Plebeia flavocincta</i> (Cockrell, 1912)	II	♀	P
<i>Plebeia</i> sp.	II	♀	P
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius, 1793)	II,III e IV	♀	N/P
<i>Trigonisca pediculana</i> (Fabricius, 1804)	II	♀	P
<i>Xylocopa (Megaxylocopa) frontalis</i> (Olivier, 1789)	III	♀	N
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) grisescens</i> Lepeletier, 1841	III	♀	N
Colletidae			
<i>Hylaeus</i> sp. 1	II	♀/♂	P
<i>Hylaeus</i> sp. 2	II	♂	P
Halictidae			
<i>Augochlora (Augochlora)</i> sp.	II	♀	P
<i>Augochlora (Oxystoglossa)</i> sp.	II	♀	P
<i>Dialictus (Chloralictus)</i> sp.1	II	♀	P
<i>Dialictus (Chloralictus)</i> sp.2	II	♀	P
<i>Pseudaugochlora pandora</i> (Smith, 1853)	II	♀/♂	P

O pico de atividade das abelhas em flores de *Tabebuia impetiginosa* ocorreu entre 9:00 e 12:00 horas (figura 3). Os polinizadores, *Bombus brevivillus*, *Centris aenea*, *C. analis*, *C. caxienseis*, *C. flavifrons*, *C. fuscata*, *C. tarsata*, *C. trigonoides*, *Euglossa melanotricha*, *E. cordata* e *Eulaema nigrita* tiveram maior frequência de visitas florais entre as 11:00 e 14:00h. O comportamento dessas abelhas é muito característico e antes de uma visita elas pairam perante a flor, pousam na abertura floral, entram na flor (contatando o estigma e posteriormente as anteras), coletam o néctar e saem da flor na mesma posição que entraram. Nessa categoria os machos e fêmeas de *Centris fuscata* foram os mais abundantes (tabela 3).

Tabela 3. Frequência de visitantes por espécie em flores de *Tabebuia impetiginosa* ao longo dos três dias de observação no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco (n = 45). Grupos: *Centris* (*Centris analis*, *C. caxiense*, *C. tarsata*, *C. trigonoides* e *C. sp.*); *Ceratina* (*Ceratina maculifrons* e *C. sp.*); *Frieseomelita* (*Frieseomelita varia* e *F. francoi*); Halictidae (*Augochlora* (*Augochlora*) sp., *Augochlora* (*Oxystoglossa*) sp. e *Pseudaugochlora pandora*) e *Plebeia* (*Paratrigena lineata*, *Plebeia flavocincta* e *P. sp.*).

nº de visitas/espécie	Horário												Total
	6-6:30h	7-7:30h	8-8:30h	9-9:30h	10-10:30h	11-11:30h	12-12:30h	13-13:30h	14-14:30h	15-15:30h	16-16:30h	17-17:30h	
<i>Centris fuscata</i>	0	15	7	11	10	10	22	9	3	1	3	0	91
<i>Centris aenea</i>	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Euglossa melanotricha</i>	0	0	0	2	3	0	3	4	3	0	0	0	15
Grupo <i>Centris</i>	0	0	10	11	13	41	16	25	25	26	7	2	176
Grupo <i>Ceratina</i>	0	1	1	2	4	0	1	2	2	0	0	0	13
Grupo <i>Frieseomelitta</i>	0	0	0	1	5	11	3	6	1	0	0	0	27
Grupo Halictidae	0	0	0	3	0	0	1	0	0	2	0	0	6
Grupo <i>Plebeia</i>	0	0	5	13	6	2	6	0	3	0	0	0	35
<i>Trigona spinipes</i>	2	8	15	22	17	7	6	9	11	7	3	1	108
<i>Xylocopa frontalis</i>	0	13	6	15	4	1	0	3	0	1	0	0	43
<i>Xylocopa grisescens</i>	0	0	0	4	0	9	2	0	7	2	2	8	34
Total	2	37	44	85	62	81	60	58	55	39	15	11	549

Os visitantes legítimos, coletores de pólen (categoria II), tiveram uma maior atividade entre as 9:00 e 11:00 horas (figura 3). Essas abelhas permaneceram vários minutos dentro da flor coletando grãos de pólen diretamente das anteras e constantemente contataram os estigmas. Abelhas do gênero *Plebeia* e *Frieseomelita* são as mais abundantes da categoria II. Os pilhadores primários de néctar *Trigona spinipes*, e abelhas do gênero *Xylocopa* (categoria III) apresentaram um pico de atividade entre 8:00 e 11:00 horas, sofrendo uma queda brusca a partir das 13:00 horas. *T. spinipes* foi o visitante mais frequente dessa categoria (tabela 3).

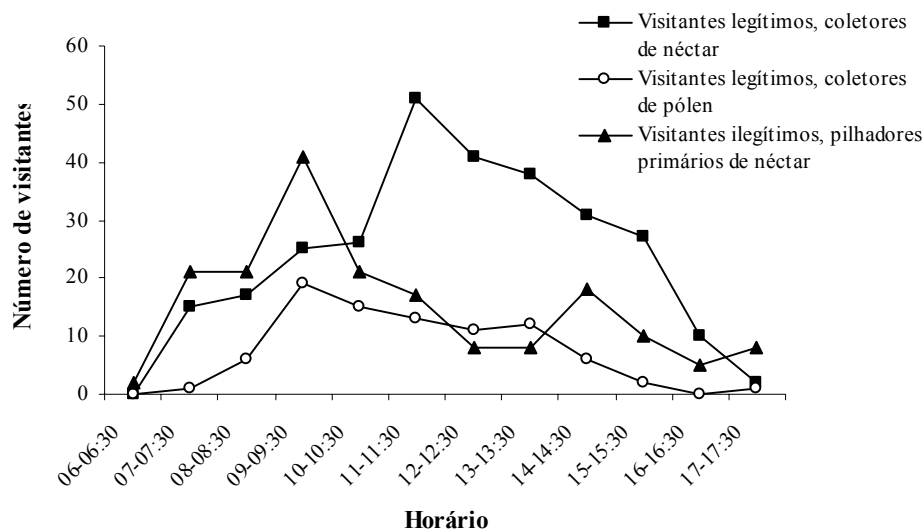


Figura 3. Frequência de visitantes por categoria em flores de *Tabebuia impetiginosa* ao longo dos três dias de observação no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco (n = 45; três dias, 18h, de observação).

A frequência de visitas foi comparada em flores de diferentes idades. As abelhas diferiram flores do primeiro, segundo e terceiro dia de antese em *Tabebuia impetiginosa* (figura 4). A taxa de visitação em flores do primeiro dia com guia de néctar amarelo foi, em média 27 visitas por dia, caindo para oito em flores do segundo dia com guia alaranjado e duas em flores do terceiro dia nas quais a coloração do guia de néctar não se diferencia do resto da corola. A diferença no número de visitas em flores do primeiro, segundo e terceiro dia de antese foi significativa ($F = 70.103$; g.l = 2 $p < 00001$) e o teste de Tukey mostrou diferença significativa

entre todos os pares testados ($p < 0,005$). As visitas às flores do quarto dia em diante não diferiram daquelas após mudança floral.

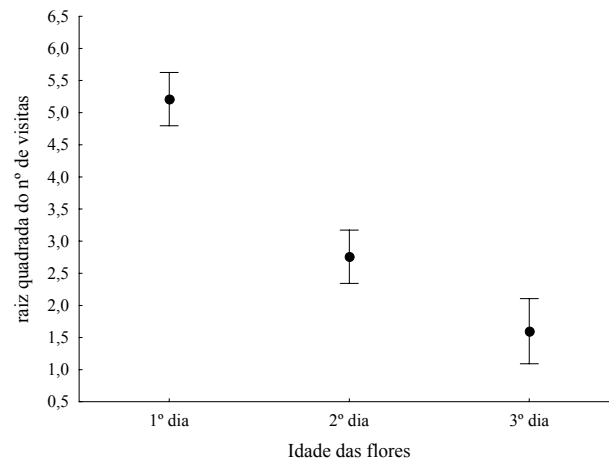


Figura 4. Número de visitas por flor do primeiro, segundo e terceiro dia de abertura em *Tabebuia impetiginosa* no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco ($n = 15$ por dia, observações entre 6 e 17 h em intervalos de 30 minutos por hora, durante três dias). A diferença entre todos os tratamentos é significativa ($p < 0,005$).

O monitoramento da posição dos lóbulos estigmáticos ao longo do primeiro dia e no segundo e terceiro dia mostram que às 6:00 h todos os estigmas encontravam-se abertos, enquanto a partir das 9:00 h 16% estavam fechados, chegando a 76% no fim da tarde. Essa porcentagem praticamente não mudou para flores do segundo e terceiro dia (figura 5).

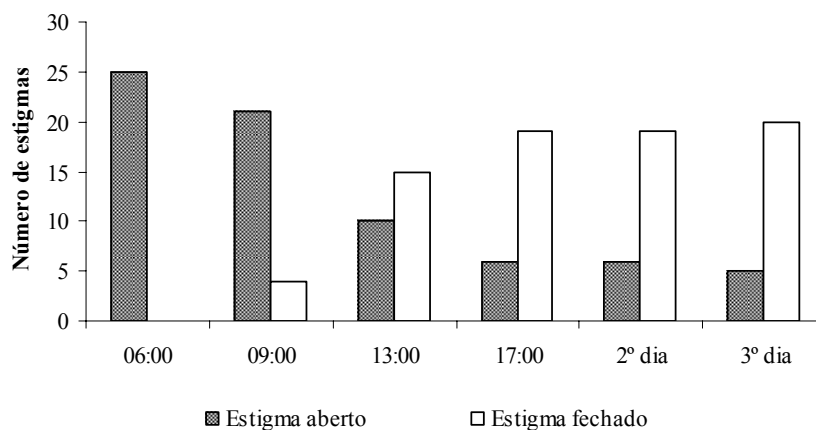


Figura 5. Posição do estigma ao longo do primeiro dia de antese e em flores do segundo e terceiro dia em *Tabebuia impetiginosa* no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco ($n = 25$).

O monitoramento das injúrias feitas nas flores de *Tabebuia impetiginosa* mostrou uma taxa de pilhagem de 66% (figura 6). As abelhas do gênero *Xylocopa* foram ativas na pilhagem, atingindo 41% das flores contadas. Todas as espécies de *Xylocopa* tiveram um padrão de pilhagem muito semelhante, visitando diversas flores de um mesmo indivíduo, pousando brevemente (entre 2 e 5 segundos) sobre a região adaxial da flor sem entrar em contato com as anteras e estigmas e fazendo uma fenda longitudinal com sua gálea na base da corola, região da câmara nectarífera (figura 1c). Em aproximadamente 16 min uma fêmea de *X. grisescens* pilhou 258 flores de um indivíduo de *T. impetiginosa* com cerca de 4 metros de altura sem diferenciar flores de diferentes idades.

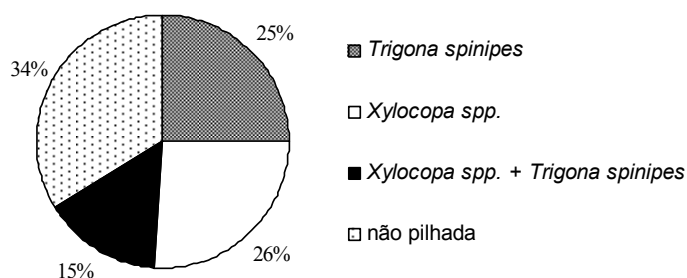


Figura 6. Taxa de pilhagem em flores de *Tabebuia impetiginosa* e seus respectivos pilhadores no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

Operárias de *Trigona spinipes* foram responsáveis pela pilhagem de 40% das flores. Para ter acesso à base do ovário, onde fica situado o disco nectarífero, essas abelhas permaneceram muito tempo nas flores, recortando com a mandíbula o cálice e a base da corola. Essa atividade formou grandes orifícios na região mencionada. *T. spinipes* foi registrada também como pilhadora de pólen. Nesse caso, antes mesmo da abertura floral, essa abelha perfurava a região da corola onde ficavam os órgãos reprodutivos e muitas vezes arrancavam as anteras e danificavam os estigmas (figura 1d). No campo, os indivíduos de *Tabebuia impetiginosa* que sofreram uma alta taxa desse tipo de pilhagem perderam praticamente todos os botões florais e não formaram nenhum fruto. Durante a atividade de pilhagem *T. spinipes* apresentou um comportamento agressivo perante outros visitantes. Diversas flores de *T. impetiginosa* foram comidas inteiramente por uma espécie de gafanhoto muito comum na área de estudo (figura 1e).

A base do cálice e corola de 150 flores foi protegida contra pilhadores com filme transparente de PVC. Fêmeas de *Xylocopa* e operárias de *Trigona spinipes* tentaram perfurar a proteção sem sucesso. As flores protegidas contra pilhadores formaram mais frutos (27) do que as flores sem proteção (13) e essa diferença foi significativa ($\chi^2 = 4,9$; g.l = 1; $p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Tabebuia impetiginosa apresenta flores melitófilas, classificadas por Gentry (1980) como tipo-*Anemopaegma*, polinizadas por abelhas de médio e grande porte. O padrão de floração é do tipo cornucópia (Gentry, 1974a, 1974b), ou seja, espécies que disponibilizam um grande número de flores ao longo de poucas semanas. Entre as espécies do gênero *Tabebuia* esse parece ser o padrão mais comum e também foi registrado em outros estudos (Gentry, 1974a, 1974b; Frankie *et al.*, 1983; Borrero, 1972; Barros, 2001; Souza *et al.*, 2004).

O presente estudo também mostra que os principais polinizadores de *Tabebuia impetiginosa* são abelhas como *Centris fuscata*, *C. trigonoides*, *C. tarsata*, *C. caxiense* e *Centris* sp. Estas abelhas apresentaram alta frequência de visita, tamanho corporal adequado, contataram anteras e estigmas e voaram abundantemente entre diferentes indivíduos de *T. impetiginosa*. Outras abelhas como *Centris analis*, *C. flavifrons*, *Euglossa cordata*, *E. melanotricha*, *Eulaema nigrita*, e *Bombus brevivillus* também são polinizadores efetivos, porém são menos importantes na área de estudo devido à sua baixa frequência. Segundo Barros (2001) as abelhas do gênero *Centris* também foram os polinizadores efetivos de *Tabebuia aurea* e *T. ochracea*. Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger (1988) indicaram abelhas desse gênero como uns dos principais polinizadores de Bignoniaceae no Cerrado brasileiro.

Operárias de várias espécies de abelhas sem ferrão como *Frieseomelita varia*, *F. francoi*, *Plebeia flavocincta*, *Plebeia* sp., *Paratrigona lineata* e *Trigona spinipes* coletaram pólen em flores de *Tabebuia impetiginosa* em visitas legítimas, mas, apesar de contatarem as anteras e estigmas durante a visita floral, não foram polinizadores efetivos. Essas operárias não efetuaram polinização cruzada, pois encheram suas corbículas em flores de um mesmo indivíduo e depois retornaram para seus ninhos.

Trigona spinipes, *Xylocopa frontalis* e *X. grisescens* foram os principais pilhadores de néctar de *Tabebuia impetiginosa*. Enquanto as espécies de *Xylocopa* perfuravam a base da corola para retirar néctar sem gerar maiores prejuízos físicos para a flor, a ação de *Trigona spinipes*

causou injúrias nos ovários e até mesmo o aborto de flores. A redução da quantidade de néctar disponível para os polinizadores, no entanto, poderia ter um efeito positivo indireto no sucesso reprodutivo da planta, uma vez que obrigaria os polinizadores efetivos a visitar mais flores e a voarem maiores distâncias para conseguir coletar a mesma quantidade de néctar que coletariam sem a interferência dos pilhadores (Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger, 1988; Vieira *et al.*, 1992; Barros, 2001; Dutra e Machado, 2001). Milet-Pinheiro (dados não publicados), estudando *Jacaranda rugosa*, verificou que o tempo de permanência dos polinizadores efetivos nas flores depende da disponibilidade de néctar.

Flores protegidas contra a ação de pilhadores formaram mais frutos do que flores sem proteção. Esses resultados demonstram que a ação dos pilhadores gerou um efeito negativo no sucesso reprodutivo de *Tabebuia impetiginosa*. Isso se deve principalmente à ação destrutiva de *Trigona spinipes*. A literatura indica que o efeito da ação de pilhadores no sucesso reprodutivo da planta pode ser positivo (Higashi *et al.*, 1988; Navarro, 2000; Richardson, 2004b), neutro (Zimmerman e Cook, 1985; Arizmendi *et al.*, 1996) ou negativo (Traveset *et al.*, 1998; Irwin e Brody, 1999). No entanto, a ação de pilhagem de abelhas do gênero *Trigona* sempre está relacionada a um efeito negativo, seja pelo prejuízo direto à flor e gineceu ou pelo comportamento agressivo dessas abelhas que terminam afugentando os polinizadores efetivos (Roubik, 1982, 1989; Laroca e Almeida, 1985; Sazima e Sazima, 1989).

Tabebuia impetiginosa é uma espécie auto-incompatível obrigatória que depende de abelhas para sua polinização. A taxa de frutificação natural muito baixa (8% no local de estudo) em relação à polinização cruzada manual evidencia uma forte limitação de polinização. Isto pode ser resultado da pilhagem destrutiva nas flores por *Trigona spinipes*, mas também um resultado da floração em massa. Segundo Bawa (1974) e Gentry (1978) a maior desvantagem para plantas auto-incompatíveis com floração em massa é que os polinizadores visitam muitas flores em um mesmo indivíduo, aumentando a geitonogamia sem promover a formação de frutos. As flores de *T. impetiginosa* possuem um estigma bilobado sensitivo que fecha após estímulos mecânicos. Os estigmas permanecem fechados após a deposição de pólen co-específico, seja de flores do mesmo indivíduo ou de flores de outros indivíduos, ficando indisponíveis para posterior deposição de pólen. Visitas consecutivas dos polinizadores a flores de um mesmo indivíduo geram conseqüentemente um elevado grau de aborto nesta espécie. Pinto *et al.* (2005), estudando *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae), uma espécie com floração em massa, evidenciou que

apenas as duas primeiras visitas consecutivas em um mesmo indivíduo foram eficientes em formar frutos e que as visitas seguintes promoveriam apenas a deposição de pólen de flores do mesmo indivíduo o que não resulta em fecundação.

Em outras espécies da família Bignoniaceae a limitação na produção de frutos tem sido associada ainda a uma baixa frequência de visita dos polinizadores (Bertin, 1982; Vieira *et al.*, 1992), o que não é o caso de *Tabebuia impetiginosa*. Polinizadores efetivos são os únicos visitantes capazes de levar ao fechamento estigmático em Bignoniaceae (Stephenson e Thomas, 1977; Bertin, 1982; Richardson, 2004a; Shu-Xiang *et al.*, 2004). A maioria dos estigmas em flores do primeiro, segundo e terceiro dia de antese em *Tabebuia impetiginosa* estava fechada o que demonstra que produção de frutos, nesse estudo, não foi limitada pela baixa frequência de polinizadores.

As flores dessa espécie têm uma longevidade de 5-7 dias e a polinização não altera sua duração nem o processo de mudança de cor dos guias de néctar, como tem sido demonstrado em outras espécies (Gori, 1983; Weiss, 1991, 1995; Doorn, 1997; Weiss e Lamont, 1997; Martini *et al.*, 2003). As flores velhas permanecem contribuindo para a atração dos visitantes a grande distância. Segundo Vieira *et al.* (1992) a grande quantidade de flores pode incrementar a atração a longa distância de visitantes florais e ser particularmente importante em situações de competição por polinizadores. A presença do guia de néctar em flores jovens tem um papel chave nesse sentido, uma vez que destaca flores novas, geralmente não polinizadas. O presente estudo mostrou que a mudança da cor do guia de néctar é um sinal para os visitantes florais. Estes aprendem a associar a cor amarela do guia com a presença de néctar nas flores jovens. Com isto os polinizadores economizam energia e diminuem as visitas florais no mesmo indivíduo o que favorece a polinização cruzada.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos a Airton T. Carvalho, Reislá O. Darrault, Carlos Eduardo da Silva e ao guia João Silva pela contribuição prestada no trabalho de campo; a Gabriela Bieber pela orientação nas análises estatísticas e ao IBAMA pela permissão e apoio logístico para realização do projeto no Parque Nacional do Catimbau. Esse estudo faz parte da dissertação de mestrado de Paulo Milet-Pinheiro e foi financiado pela CAPES/CNPq/UFPE.

LITERATURA CITADA

- Andrade KVSA, Rodal, MJN, Lucena, MFA, Gomes, APS. 2004.** Composição florística de um trecho do Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco – Brasil. *Hoehnea* **31**(3): 337-348.
- Arizmendi MC, Domingues CA, Dirzo, R. 1996.** The role of an avian nectar robber and of hummingbird pollinators in the reproduction of two plants species. *Functional ecology* **10**: 119-127.
- Barros MG. 2001.** Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. e Hook. and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in central Brazil Cerrado vegetation. *Revista Brasileira de Botânica* **24**(3): 255-261.
- Barrows EM. 1977.** Floral maturation and insect visitors of *Pachyptera hymenaea* (Bignoniaceae). *Biotropica* **9**: 133-134.
- Bawa KS. 1974.** Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* **28**: 85-92.
- Bertin RI. 1982.** Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumpet creeper (*Campsis radicans*, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **69** (1): 122-134.
- Bittencourt NS, Semir J. 2004.** Pollination biology and breeding system of *Zeyheria Montana* (Bignoniaceae). *Plant Systematics and Evolution* **247**: 241-254.
- Borrero JI. 1972.** Explotacion de las flores de guayacan (*Tabebuia chrysantha*) por varias especies de aves e insectos. *Biotropica* **4**(1): 28-31.
- Doorn WGV. 1997.** Effects of pollination on floral attraction and longevity. *Journal of Experimental Botany* **48** (314): 1615-1622.

- Dutra JCS, Machado VLL. 2001.** Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (Juss.) Seem (Bignoniaceae), durante ser período de floração. *Neotropical Entomology* **30**(1): 43-53.
- Frankie GW, Haber WA, Bawa KS. 1983.** Characteristics and organization of the large bee pollination system in the Costa Rican dry forest. In: Jones CE, Little RJ, eds. *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold Company, Inc. New York, 411-448.
- Gentry A H. 1978.** Anti-pollinators for mass-flowering plants? *Biotropica* **10**(1): 68-69.
- Gentry AH. 1974a.** Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* **6**(1): 64-68.
- Gentry AH. 1974b.** Coevolutionary patterns in central american Bignoniaceae. *Annals of Missouri Botanical Garden* **61**: 728-754.
- Gentry AH. 1980.** Bignoniaceae. *Flora Neotropica, Monograph No. 25(I)*. The New York Botanical Garden.
- Gentry AH. 1990.** Evolutionary patterns in neotropical Bignoniaceae. *Memoirs of the New York Botanical Garden* **55**: 118-129.
- Gentry AH. 1992.** Bignoniaceae. *Flora Neotropica, Monograph No. 25(II)*. The New York Botanical Garden.
- Gori DF. 1983.** Post-pollination phenomema and adaptative floral changes. In: Jones CE, Little R, eds. *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold Company, Inc. New York, 31-43.

- Higashi S, Ohara M, Arai H, Matsuo K. 1988.** Robber-like pollinators: overwintered queen bumblebees foraging on *Corydalis ambigua*. *Ecological Entomology* **13**: 411-418.
- Irwin RE, Brody AK. 1999.** Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregate* (Polemoniaceae). *Ecology* **80**(5): 1703-1712.
- Laroca S, Almeida MC. 1985.** Adaptação dos palpos labiais de *Niltonia virgilioi* (Hymenoptera, Apoidea, Colletidae) para coleta de néctar em *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae), com descrição do macho. *Revista Brasileira de Entomologia* **29**(2): 289-297.
- Lopes AV, Vogel S, Machado IC. 2002.** Secretory trichomes, a substitutive floral nectar source in *Lundia* A. DC. (Bignoniaceae), a genus lacking a functional disc. *Annals of Botany* **90**: 169-174.
- Machado IC, Vogel S. 2004.** The North-east-brazilian liana, *Adenocalymna dichilum* (Bignoniaceae) pollinated by bats. *Annals of Botany* **93** (5): 609-613.
- Maloof JE, Inouye DW. 2000.** Are nectar robbers cheaters or mutualist? *Ecology* **81**(10): 2651-2661.
- Martini P, Schlindwein C, Montenegro A. 2003.** Pollination, flower longevity, and reproductive biology of *Gongora quinquenervis* Ruiz e Pavón (Orchidaceae) in an atlantic forest fragment of Pernambuco, Brasil. *Plant Biology* **5**: 495-503.
- Maués MM, Souza MS, Kanashiro M. 2004.** The importance of solitary bees on the reproductive biology of timber trees at the tapajós national forest, Brazil. In: Freitas BM, Pereira JOP, eds. *Solitary Bees – Conservation, Rearing and Management for Pollination*. Imprensa Universitária. Fortaleza, 241-254.
- Müller H. 1883.** The effect of the change of colour in the flowers of *Pulmonaria officinales* upon its pollinators. *Nature* **28**: 81.

- Navarro L. 2000.** Pollination ecology of *Anthyllis vulneraria* subsp. *Vulgaris* (Fabaceae): nectar robber as pollinators. *American Journal of Botany* **87** (7): 980-985.
- Pinto CE, Darrault RO, Schlindwein C. 2005** Repetitive floral visits diminish fruit set in *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)? In: *Annual Meeting of ATBC, 2005, Frontiers in tropical biology and conservation*, 121.
- Richardson SC. 2004a.** Benefits and costs of floral visitors to *Chilopsis linearis*: pollen deposition and stigma closure. *Oikos* **107**: 363-375.
- Richardson SC. 2004b.** Are nectar robbers mutualists or antagonists? *Oecologia* **139**: 246-254.
- Rodal MJN, Andrade KVA, Sales MF, Gomes APS. 1998.** Fitossociologia do componente lenhoso de um refúgio vegetacional no município de Buíque, Pernambuco. *Revista Brasileira de Biologia* **58**(3): 517-526.
- Roubik DW. 1982.** The ecological impact of nectar-robbing bees and pollinating hummingbirds on a tropical shrub. *Ecology* **63**(2): 354-360.
- Roubik DW. 1989.** *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press, New York.
- Sandwith NY, Hunt DR. 1974.** *Flora Ilustrada Catarinense – Bignoniáceas*. Itajaí.
- Sazima I, Sazima M. 1989.** Mamangavas e irapuás (Hymenoptera, Apoidea): visitas, interações e consequências para a polinização do maracujá (Passifloraceae). *Revista Brasileira de Entomologia* **33** (1): 109-118.

- Shu-Xiang Y, Chun-Feng Y, Tao Z, Qing-Feng W. 2004.** A mechanism facilitates pollination due to stigma behavior in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Acta Botanica Sinica* **46**, 1071-1074.
- Silberbauer-Gottsberger I, Gottsberger G. 1988.** A polinização de plantas do Cerrado. *Revista Brasileira de Biologia* **48** (4): 651-663.
- Souza DAS, Lenzi M, Orth AI. 2004.** Contribuição à ecologia da polinização de *Tabebuia pulcherrina* (Bignoniaceae) em área de restinga, no sul de Santa Catarina. *Biotemas* **17** (2): 47-66.
- Statsoft, inc. 2001.** *Statistica (data analysis software system), version 6.0.* www.statsoft.com. Tulsa, USA.
- Stephenson AG, Thomas WW. 1977.** Diurnal and nocturnal pollination of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Systematic Botany* **2** (3): 191-198.
- Stevens AD. 1994.** *Reproduktionsbiologie einiger Bignoniaceen in Cerrado brasiliens.* Biosystematics and Ecology Series 5, Österreichische Akademie der Wissenschaften.
- SUDENE (1990)** Dados pluviométricos mensais do Nordeste. Estado de Pernambuco. Pluviometria 6. Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste, Recife, 112p.
- Traveset A, Willson MF, Sabag C. 1998.** Effect of nectar-robbing birds on fruit set of *Fuchsia magellanica* in tierra del fuego: a disrupted mutualism. *Functional Ecology* **12**: 459-464.
- Vieira MF, Meira RMS, Queiroz LP, Meira-Neto JAA. 1992.** Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) Dc. (Bignoniaceae) em área de Cerrado do Sudeste brasileiro. Anais do 8º Congresso da SBPC, 13-19.

Weiss MR, Lamont BB. 1997. Floral colour change and insect pollination: a dynamic relationship. *Israel Journal of Plant Science* **45**: 185-199.

Weiss MR. 1991. Floral colour changes as cues for pollinators. *Nature* **35**(4): 227-229.

Weiss MR. 1995. Floral color change: a widespread functional convergence. *American Journal of Botany*, 82:167-185.

Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 4ª Edição.

Zimmerman M, Cook S. 1985. Pollinator foraging, experimental nectar-robbing and plant fitness in *Impatiens capensis*. *American Midland Naturalist* **113** (1): 84-91.

Manuscrito a ser submetido à revista *Flora*

Conseqüências do fechamento estigmático definitivo para cinco espécies de Bignoniaceae no Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco.

Milet-Pinheiro *et al.* – Estigmas sensitivos em cinco espécies de Bignoniaceae.

Autores: Paulo Milet-Pinheiro ¹, Airton Torres Carvalho ¹ e Clemens Schlindwein ²

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50670-901 Recife, PE. (miletpinheiro@hotmail.com).

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50670-901 Recife, PE. (carvalhoairton@hotmail.com).

² Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50670-901 Recife, PE, (schlindw@ufpe.br).

Resumo

As Bignoniaceae possuem estigmas bilobados sensitivos que fecham ao serem estimulados. No Parque Nacional do Catimbau e Chapada Diamantina, cinco espécies dessa família (*Anemopaegma laeve*, *Arrabidaea limae*, *Jacaranda rugosa*, *J. irwinii* e *Tabebuia impetiginosa*) foram manipuladas experimentalmente para determinar os fatores que estão envolvidos no mecanismo de fechamento e reabertura dos estigmas. O estudo mostrou que qualquer estímulo mecânico foi capaz de promover o fechamento estigmático, no entanto, apenas a deposição de pólen co-específico viável (autopolinização e polinização cruzada) o manteve permanentemente colapsado. Os estigmas de *Arrabidaea limae* foram os únicos que reabriram após a polinização. O fechamento definitivo pode ter um efeito negativo no sucesso reprodutivo das plantas envolvidas, uma vez que indisponibiliza os estigmas para deposições polínicas posteriores. Em espécies auto-incompatíveis com floração em massa, cujos polinizadores efetuam diversas visitas em um mesmo indivíduo e, conseqüentemente promovem a geitonogamia, o fechamento definitivo do estigma deve promover uma grande perda de flores.

Palavras-chave: Bignoniaceae, sensibilidade estigmática, polinização, auto-incompatibilidade, Nordeste brasileiro

Introdução

A sensibilidade estigmática tem sido descrita na literatura como uma característica exclusiva da ordem Scrophulariales, mais especificamente das famílias Bignoniaceae, Lentibulariaceae, Martyniaceae e Scrophulariaceae (Newcombe, 1922, 1924). Entre as Bignoniaceae esse fenômeno deve ser regra. Stevens (1994), estudando 18 espécies de Bignoniaceae no Cerrado, observou que todas apresentavam esse fenômeno. Segundo Newcombe (1922, 1924) e Fetscher e Kohn (1999) as espécies vegetais com estigmas sensitivos compartilham características em comum como flores hermafroditas, corolas tubulares e estigmas bilobados.

O significado evolutivo e funcional do comportamento estigmático vem despertando o interesse de cientistas desde o século XIX (Darwin, 1876; Newcombe, 1922, 1924; Stephenson e Thomas, 1977; Bertin, 1982; Fetscher e Kohn, 1999; Fetscher, 2001; Shu-Xiang, et al., 2004). Várias hipóteses foram sugeridas para explicar o significado do fechamento do estigma: prevenir a autopolinização (Newcombe, 1922, 1924; Ritland e Ritland, 1989; Fetscher e Kohn, 1999), facilitar a polinização cruzada (Fetscher e Kohn, 1999; Li et al., 2001), aumentar a captura e retenção de grãos de pólen (Thieret, 1976), reduzir a interferência entre recepção e exportação de pólen dentro da flor (Webb e Lloyd, 1986; Fetscher, 2001; Fetscher et al., 2002), aumentar a exportação de pólen (Fetscher e Kohn, 1999; Fetscher et al., 2002) e por fim, fornecer condições mais favoráveis para a germinação dos grãos de pólen (Newcombe, 1922, 1924). Todas estas explicações propostas, porém, não são excludentes entre si, e o fechamento pode, dependendo da espécie, ter funções e/ou respostas diferentes (Newcombe, 1922, 1924).

Ao ser tocado por um visitante floral o estigma fecha, ficando assim indisponível para deposição polínica até uma eventual reabertura. Esse comportamento deve ter um efeito direto no sucesso reprodutivo da planta e é alvo do presente estudo. Para várias espécies foi demonstrado que o fechamento do estigma pode ser permanente (Newcombe, 1922, 1924, Bertin, 1982; Singh e Chauhan, 1996; Shu-Xiang et al., 2004), mas não se sabe quais fatores determinam esse fechamento definitivo. Nossa hipótese considera que o fechamento estigmático definitivo em todas as espécies está relacionado à deposição de grãos de pólen co-específicos no estigma.

No Parque Nacional do Catimbau, uma reserva no interior de Pernambuco, Nordeste do Brasil, existe pelo menos cinco espécies de Bignoniaceae (Rodal et al., 1998; Andrade et al., 2004), todas com estigmas bilobados sensitivos. Nesse estudo procuramos responder as seguintes

questões: 1) que estímulos determinam o fechamento e reabertura estigmática? 2) o que determina o fechamento definitivo do estigma? 3) o mecanismo cansa após alguns fechamentos e reaberturas? 4) a resposta de fechamento segue o mesmo padrão nas diferentes espécies?

Material e métodos

Área de estudo – O estudo foi realizado no Parque Nacional do Catimbau, com cerca de 62mil hectares e situado entre os municípios de Buíque, Tupanatinga e Ibimirim, Pernambuco, Brasil (Andrade et al. 2004). A fitofisionomia da região é predominantemente arbustiva com indivíduos perenifólios, poucos elementos arbóreos e estrato subarbustivo denso. (Rodal et al., 1998; Andrade et al., 2004). A temperatura e precipitação médias anuais são de respectivamente 25°C e 1.095,9 mm com maior pluviosidade entre os meses de abril a junho (SUDENE, 1990).

A espécie *Jacaranda irwinii* Gentry foi acompanhada na cidade Lençóis, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. A temperatura média anual, segundo dados do INEMET, é de 23,1°C e a precipitação pluviométrica anual é de 1445,3 mm. A vegetação predominante é um cerrado gramíneo-lenhoso com elementos de campo rupestre (Martins, 1995).

Espécies estudadas – O estudo foi feito com cinco espécies de Bignoniaceae, *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl., *Jacaranda rugosa* Gentry, *J. irwinii*, *Anemopaegma laeve* DC. e *Arrabidaea limae* Gentry. Essas espécies apresentam flores grandes, hermafroditas tubulares (figura 1), quatro estames didínamos e estigma bilobado sensitivo. A espécie *J. rugosa*, endêmica da região de Buíque, e *J. irwinii* possuem um estaminódio bem desenvolvido característico do gênero (Gentry, 1980, 1992).



Figura 1. Aspecto geral das flores hermafroditas de cinco espécies de Bignoniaceae. A) *Tabebuia impetiginosa*, B) *Jacaranda rugosa* C) *J. irwinii*, D) *Arrabidaea limae* e E) *Anemopaegma laeve*. Todas as espécies, com exceção de *J. irwinii* endêmica da Chapada diamantina, foram estudadas no Parque Nacional do Catimbau.

Desenho experimental – Foram realizados dois experimentos padrões para compreender o comportamento estigmático das espécies. No primeiro, para verificar a que tipo de estímulo o fechamento estigmático responde e o que determina seu fechamento definitivo, foram realizados seis tratamentos: 1) toque mecânico; 2) deposição de grãos de pólen co-específico de indivíduos diferentes; 3) deposição de pólen co-específico do mesmo indivíduo 4) deposição de areia; 5) deposição de pólen de *Ipomoea*, Convolvulaceae e 6) deposição de pólen co-específico morto. Os grãos de pólen para este último tratamento foram inviabilizados em banho maria a 65° C por uma hora. Todas as flores utilizadas no experimento foram previamente ensacadas. Cada tratamento foi repetido seis vezes para as espécies *Tabebuia impetiginosa*, *Jacaranda rugosa* e *J. irwinii* e 15 vezes para *Anemopaegma laeve* e *Arrabidaea limae*. A posição do estigma logo após o estímulo, duas horas após, ao final do dia e nos dias posteriores foi registrada. A produção de frutos foi acompanhada em todas as espécies, com exceção de *J. irwinii*, para verificar o sistema reprodutivo.

No segundo experimento foi determinado o tempo de fechamento e reabertura estigmática após o toque mecânico. Para isso foram utilizadas 15 flores de cinco indivíduos previamente ensacadas. Após a reabertura dos estigmas toques mecânicos adicionais foram efetuados para verificar a continuidade da sensibilidade dos estigmas. Por fim, em *Tabebuia impetiginosa*, foram feitos toques mecânicos em estigmas de flores do primeiro, segundo e terceiro dia de antese para evidenciar se existe diferença no tempo de fechamento entre flores de diferentes idades. Para verificar se a diferença entre o tempo de fechamento das flores de diferentes idades é significativa utilizou-se o teste ANOVA (Zar, 1999). O teste Tukey foi utilizado para comparar a diferença entre os pares, enquanto o de Kolmogorov-Smirnov verificou a normalidade das amostras. Todos os testes acima mencionados foram realizados a partir do *Software* Statistica versão 6.0 (Statsoft, 2001).

Resultados

O fechamento do estigma das espécies estudadas está relacionado a qualquer estímulo mecânico. Com a exceção de *Arrabidaea limae*, o fechamento definitivo ocorre apenas após a deposição de pólen co-específico viável no estigma. Não existe diferença entre os tratamentos de autopolinização e polinização cruzada. Em *A. limae* a maioria dos estigmas voltou a abrir mesmo após a deposição de grãos co-específicos (Tabela 1).

Tabela 1: Posição do estigma em flores de cinco espécies de Bignoniaceae após o estímulo. EF - Estigma fechado e EA - estigma aberto. As flores das duas espécies de *Jacaranda* têm um dia de longevidade, enquanto as outras duram entre 3 e 7 dias.

Tratamento/espécie	Posição do estigma									
	logo após o estímulo		2h após o estímulo		final do dia		1 dia após		2 dias após	
	EF	EA	EF	EA	EF	EA	EF	EA	EF	EA
<i>Tabebuia impetiginosa</i>										
Toque mecânico	6	0	0	6	0	6	0	6	0	6
Polinização cruzada manual	6	0	6	0	6	0	6	0	6	0
Autopolinização	6	0	6	0	6	0	6	0	6	0
Deposição de areia	6	0	0	6	0	6	0	6	0	6
Deposição de pólen de <i>Ipomoea</i> sp.	6	0	0	6	0	6	0	6	0	6
Deposição de pólen co-específico inviável	6	0	0	6	0	6	0	6	0	6
<i>Jacaranda irwinii</i>										
Toque mecânico	6	0	0	6	0	6				
Polinização cruzada manual	6	0	6	0	6	0				
Autopolinização	6	0	6	0	6	0				
Deposição de areia	6	0	0	6	0	6				
Deposição de pólen de <i>Ipomoea</i> sp.	6	0	0	6	0	6				
Deposição de pólen co-específico inviável	6	0	0	6	0	6				
<i>Jacaranda rugosa</i>										
Toque mecânico	6	0	0	6	0	6				
Polinização cruzada manual	6	0	6	0	6	0				
Autopolinização	6	0	6	0	6	0				
Deposição de areia	6	0	0	6	0	6				
Deposição de pólen de <i>Ipomoea</i> sp.	6	0	0	6	0	6				
Deposição de pólen co-específico inviável	6	0	0	6	0	6				
<i>Anemopaegma laeve</i>										
Toque mecânico	15	0	1	14	0	15	0	15	0	15
Polinização cruzada manual	15	0	15	0	15	0	15	0	15	0
Autopolinização	15	0	15	0	14	1	14	1	14	1
Deposição de areia	15	0	6	9	3	12	0	15	0	15
Deposição de pólen de <i>Ipomoea</i> sp.	15	0	4	11	0	15	0	15	0	15
Deposição de pólen co-específico inviável	15	0	7	8	1	14	0	15	0	15
<i>Arrabidaea limae</i>										
Toque mecânico	15	0	2	13	2	13	0	15	0	15
Polinização cruzada manual	15	0	15	0	11	4	6	9	5	10
Autopolinização	15	0	8	7	5	10	2	13	1	14
Deposição de areia	15	0	5	10	1	14	0	15	0	15
Deposição de pólen de <i>Ipomoea</i> sp.	15	0	1	14	1	14	0	15	0	15
Deposição de pólen co-específico inviável	15	0	0	15	0	15	0	15	0	15

Jacaranda rugosa, *Tabebuia impetiginosa*, e *Anemopaegma laeve* formaram frutos apenas no tratamento de polinização cruzada (tabela 2). As flores de *Arrabidaea limae* não formaram frutos em nenhum tratamento.

Tabela 2. Formação de frutos no experimento de fechamento estigmático nas cinco espécies estudadas. *formação de frutos não acompanhada.

Tratamento/espécie	Flores	frutos	sucesso (%)
<i>Tabebuia impetiginosa</i>			
Polinização cruzada manual	6	2	33
Autopolinização manual	6	0	0
<i>Jacaranda irwinii</i>*			
Polinização cruzada manual	6	-	-
Autopolinização manual	6	-	-
<i>Jacaranda rugosa</i>			
Polinização cruzada manual	6	2	33
Autopolinização manual	6	0	0
<i>Anemopaegma laeve</i>			
Polinização cruzada manual	15	9	60
Autopolinização manual	15	0	0
<i>Arrabidaea limae</i>			
Polinização cruzada manual	15	0	0
Autopolinização manual	15	0	0

O tempo de fechamento estigmático médio nas espécies *Anemopaegma laeve* e *Arrabidaea limae*, respectivamente 69 e 76s, foi mais lento do que em *Tabebuia impetiginosa* que levou 16,41s, *Jacaranda rugosa*, 23s e *Jacaranda irwinii*, 24s (figura 2). Os estigmas das espécies levaram em média entre 38 e 66 minutos para reabrir após o estímulo (figura 3).

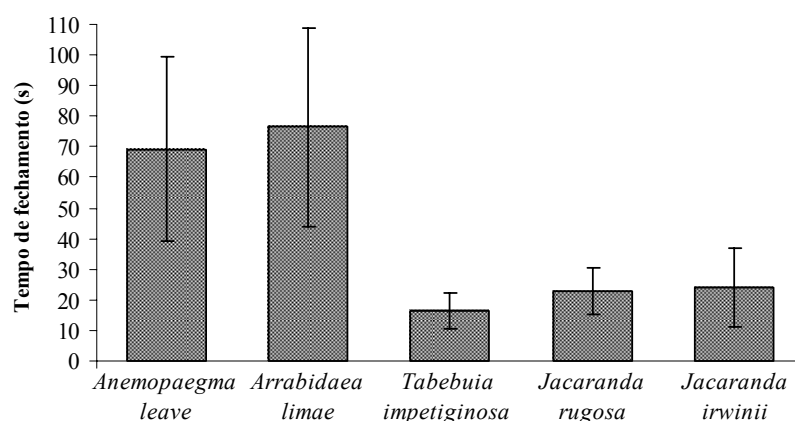


Figura 2. Tempo médio e desvio padrão do fechamento estigmático no experimento de toque mecânico para as cinco espécies estudadas (n = 15).

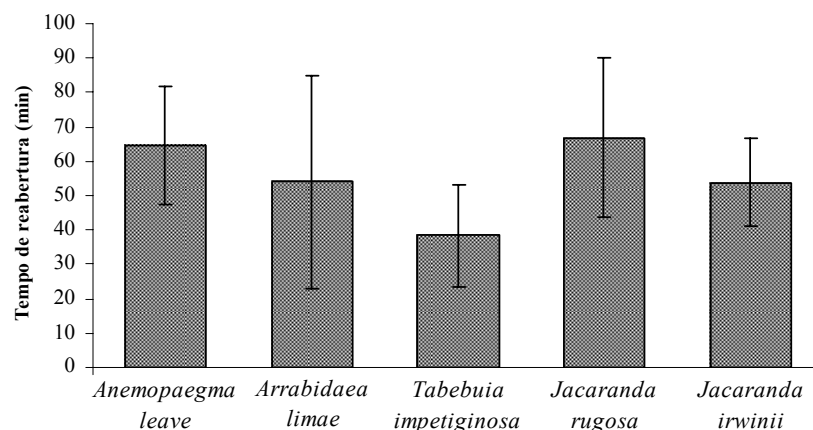


Figura 3. Tempo médio e desvio padrão em minutos da reabertura do estigma no experimento de toque mecânico para as cinco espécies estudadas (n = 15).

Os toques mecânicos realizados após as reaberturas estigmáticas mostraram que o mecanismo de fechamento e reabertura em todas as espécies não cessa. Isso significa que enquanto não ocorrer deposição de pólen co-específico os estigmas continuam apresentando esse funcionamento.

Em *Tabebuia impetiginosa* foi verificado quanto tempo os estigmas de flores do primeiro, segundo e terceiro dia de antese levaram para fechar. Os estigmas permaneceram sensíveis, apesar do tempo do fechamento dos mesmos em flores do primeiro, segundo e terceiro dia ser significativamente diferente ($F = 92,49$; g.l = 2; $p < 0,00001$, figura 4). A resposta do estigma ao estímulo em flores jovens foi mais rápida do que em flores mais velhas, levando até mais do que 2 minutos para fechar em flores do terceiro dia. O teste de Tukey mostrou diferença significativa entre as flores de todas as idades ($p < 0,001$).

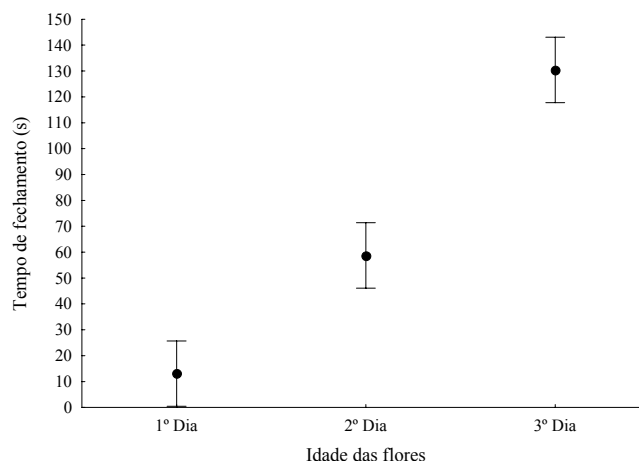


Figura 4. Tempo de fechamento estigmático em flores do primeiro, segundo e terceiro dia de antese em *Tabebuia impetiginosa* (n=10; média e intervalo de confiança). A diferença entre todos os tratamentos é significativamente diferente ($p < 0,001$).

Discussão

Os resultados deste estudo mostram que grãos de pólen viáveis e co-específicos são reconhecidos no estigma, uma vez que, para todas as espécies com exceção de *Arrabidaea limae*, o fechamento definitivo dos estigmas ocorreu apenas nos tratamentos manuais de autopolinização e polinização cruzada. Diversos trabalhos realizados em espécies de Bignoniaceae têm evidenciado que após sofrer polinização cruzada os estigmas podem não abrir novamente (Stephenson e Thomas, 1977; James e Knox, 1993; Singh e Chauhan, 1996; Richardson, 2004) e que uma eventual reabertura secundária estaria relacionada à limitada deposição de pólen na superfície estigmática (Bertin, 1982; Fetscher e Kohn, 1999; Shu-Xiang et al., 2004). Segundo Shu-Xiang e colaboradores (2004), em *Campsis radicans* (L.) Seem. ex. Bureau. o estigma fecha definitivamente após autopolinização e polinização cruzada.

Linskens (1976) atribui o fechamento do estigma à perda de turgor das células que compreendem o tecido estigmático. Segundo esse autor, a germinação de pólen e o subsequente crescimento do tubo polínico, um processo no qual a água é desviada do tecido envolvendo o pistilo para o crescimento do tubo, provavelmente mantém o estigma no estado fechado. Newcombe (1922, 1924), estudando espécies de Bignoniaceae, encontrou uma maior taxa de germinação de grãos de pólen em estigmas fechados do que em abertos. Um dos significados do fechamento do estigma seria incrementar a germinação de pólen em ambientes secos, uma vez

que o fechamento do mesmo propiciaria condições favoráveis à germinação dos grãos. Segundo Raven (1996) uma vez em contato com o estigma, o grão de pólen absorve água e inicia o processo de germinação. Assim sendo, o tempo que os estigmas das espécies estudadas permanecem fechado após um toque mecânico (no mínimo 38,3min) seria suficiente para o início do processo de crescimento do tubo polínico e, conseqüentemente, para que o estigma não abra novamente.

Em *Arrabidaea limae* apenas cinco estigmas do tratamento de polinização cruzada e um do tratamento de autopolinização permaneceram fechados. Não temos explicação para a reação diferente desta espécie, incluindo a não formação de frutos. Carvalho (com. Pessoal) verificou que *A. limae* não formou frutos em flores polinizadas manualmente ($n = 130$) e que, apesar do grande número de repetições ($n = 1660$) apenas um fruto foi formado naturalmente. Fetscher e Kohn (1999), estudando *Mimulus aurantiacus* (Scrophulariaceae), relacionaram o fechamento estigmático definitivo ao número de óvulos fertilizados e não somente à carga polínica depositada no estigma. A não formação de frutos da espécie indica que poucos ou nenhum óvulo foi fertilizado, o que promoveria a reabertura na maioria dos estigmas.

Segundo Bawa (1974) e Gentry (1978) a maior desvantagem para plantas com floração em massa é a tendência dos polinizadores visitarem muitas flores em um mesmo indivíduo, aumentando a geitonogamia. Para as Bignoniaceae, plantas com floração em massa auto-incompatíveis (Bawa, 1974; Frankie et al., 1983; Gentry, 1990; Stevens, 1994) que possuem esse mecanismo de fechamento estigmático, as visitas consecutivas podem prejudicar seu sucesso reprodutivo. A deposição de pólen de um mesmo indivíduo determina o fechamento definitivo do estigma em quatro das cinco espécies estudadas. No caso de plantas auto-incompatíveis, isto significa que somente as primeiras visitas de um polinizador numa determinada planta resultarão na formação de frutos. Visitas posteriores aumentam o fluxo de pólen geitonógamo e, conseqüentemente indisponibiliza estigmas para eventuais deposições polínicas. Pinto et al (2005), estudando *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae), uma espécie com floração em massa com um mecanismo de polinização altamente especializado, evidenciaram que apenas as duas primeiras visitas em um mesmo indivíduo foram eficientes em formar frutos. As visitas seguintes promoveram apenas a geitonogamia e não resultaram em frutificação.

Em muitas Bignoniaceae o tempo de fechamento do estigma é menor do que o período de permanência de polinizadores nas flores (Bertin, 1982). Em *Jacaranda rugosa* e *Tabebuia*

impetiginosa a duração de uma visita floral poucas vezes durou mais que 10s (Milet-Pinheiro, dados não publicados). Assim sendo, é pouco provável que o fechamento do estigma esteja relacionado à redução da autopolinização como sugerido para outras espécies (Newcombe, 1922, 1924; Ritland e Ritland, 1989; Fetscher e Kohn, 1999).

O tempo de reabertura do estigma das espécies estudadas após o toque mecânico, mesmo sem ocorrer polinização, varia em média entre 38 e 68min. Esse comportamento torna o estigma indisponível à deposição de grãos de pólen até sua reabertura e, conseqüentemente, teria um efeito negativo temporário para o sucesso reprodutivo.

Agradecimentos

Nós gostaríamos de agradecer a Peter Kevan, Vernon G. Thomas e Luis Primo pelas sugestões, a Blandina F. Viana, Fabiana O. Silva e Favízia Freitas pelo apoio logístico, ao IBAMA pela permissão para realização do projeto no Parque Nacional do Catimbau, a Gabriela D. Bieber pela ajuda nos testes estatísticos e a Reislá O. Darrault pela leitura crítica e sugestões no manuscrito. Parte deste trabalho foi desenvolvida durante o II Pollination Course, realizado em lençóis, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil, promovido por uma parceria da UFBA, UEFS e UOGUELPH. Este estudo faz parte da dissertação de mestrado de Paulo Milet-Pinheiro e foi financiado pela CAPES/CNPq/UFPE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, K.V.S., Rodal, M.J.N., Lucena, M.F.A., Gomes, A.P.S., 2004. Composição florística de um trecho do Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco - Brasil. *Hoehnea* 31(3), 337-348.
- Bawa, K.S., 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28, 85-92.
- Bertin, R.I., 1982. Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumpet creeper (*Campsis radicans*, Bignoniaceae). *Ame. J. Bot.* 69(1), 122-134.
- Darwin, C., 1876. The effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom. London.
- Frankie, G.W., Haber, W.A., Bawa, K.S., 1983. Characteristics and organization of the large bee pollination system in the Costa Rican dry forest. In: Jones C.E., Little R.J. (Eds), *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold Company, Inc. New York. pp. 411-448.
- Fetscher, A.E., Kohn J.R., 1999. Stigma behavior in *Mimulus aurantiacus* (Scrophulariaceae). *Ame. J. Bot.* 86 (8), 1130-1135.
- Fetscher, A.E., 2001. Resolution of male-female conflict in an hermaphroditic flower. *Proc. R. Soc. Lond. B* 268, 525-529.
- Fetscher, A.E., Rupert, S.M., Kohn, J.R., 2002. Hummingbird foraging position is altered by the touch sensitive stigma of bush monkeyflower. *Oecologia* 133, 551-558.
- Gentry, A.H., 1978. Anti-pollinators for mass-flowering plants? *Biotropica* 10(1), 68-69.

- Gentry, A.H., 1980. Bignoniaceae. Flora Neotropica, Monograph No. 25(I). The New York Botanical Garden.
- Gentry, A.H., 1990. Evolutionary patterns in neotropical Bignoniaceae. Mem. New York Bot. Gard. 55, 118-129.
- Gentry, A.H., 1992. Bignoniaceae. Flora Neotropica, Monograph No. 25(II). The New York Botanical Garden.
- James, E.A., Knox, R.B., 1993. Reproductive biology of the Australian species of the genus *Pandorea* (Bignoniaceae). Aust. J. Bot. 41, 611-626.
- Li, Q.J., Xu, Z.F., Kress, W.J., Xie, Y.M., Zhang, L., Deng, X.B., Gao, J.Y., Bai, Z.L., 2001. Flexible style that encourages outcrossing. Nature 410, 432.
- Martins, C.F., 1995. A flora apícola e nichos tróficos de abelhas na Chapada Diamantina (Lençóis-BA, Brasil). Revista Nordestina de Biologia 10, 119-140.
- Newcombe, F.C., 1922. The significance of the behavior of sensitive stigmas. Ame. J. Bot 9(3), 99-120.
- Newcombe, F.C., 1924. The significance of the behavior of sensitive stigmas II. Ame. J. Bot 11(2), 85-93.
- Pinto C. E., Darrault R. O., Schlindwein C. (2005) Repetitive floral visits diminish fruit set in *Hancornia speciosa* Gomes (Apocynaceae)? In: Annual Meeting of ATBC, 2005, Frontiers in tropical biology and conservation, pp 121.
- Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E., 1996. Biologia Vegetal. Editora Guanabara Koogan, S. A., Rio de Janeiro.
- Richardson, S.C., 2004. Benefits and costs of floral visitors to *Chilopsis linearis*: pollen deposition and stigma closure. Oikos 107, 363-375.

- Ritland, C., Ritland, K., 1989. Variation of sex allocation among eight taxa of the *Mimulus guttatus* species complex (Scrophulariaceae). *Ame. J. Bot.* 76(12), 1731-1739.
- Rodal, M.J.N., Andrade, K.V.A., Sales, M.F., Gomes, A.P.S., 1998. Fitossociologia do componente lenhoso de um refúgio vegetacional no município de Buíque, Pernambuco. *Revta. Bras. Biol.* 58(3), 517-526.
- Shu-Xiang, Y., Chun-Feng, Y., Tao, Z., Qing-Feng, W., 2004. A mechanism facilitates pollination due to stigma behavior in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Acta Bot. Sin.* 46, 1071-1074.
- Singh, J., Chauhan, S.V.S., 1996. Morphological changes in the stigma of seasonally transient sterile *Tecoma stans* L. *Phytomorphology* 46, 1-7.
- Statsoft, inc. 2001. Statistica (data analysis software system), version 6.0. www.statsoft.com. Tulsa, USA.
- Stephenson, A.G., Thomas, W.W., 1977. Diurnal and nocturnal pollination of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Syst. Bot.* 2(3), 191-198.
- Stevens, A.D., 1994. Reproduktionsbiologie einiger Bignoniaceen in Cerrado brasiliens. *Biosyst. Ecol. Ser.* 5, Österreichische Akademie der Wissenschaften.
- SUDENE 1990. Dados pluviométricos mensais do Nordeste. Estado de Pernambuco. Pluviometria 6. Superintendência do Desenvolvimento do Nordeste, Recife.
- Thieret, J.W., 1976. Floral biology of *Proboscidea lousianica* (Martyniaceae). *Rhodora* 78, 169-179.

Webb, C.J., Lloyd, D.G., 1986. The avoidance on interference between the presentation of pollen and stigmas in agiosperms. *NZ. J. Bot.* 24, 163-178.

Zar, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 4ª Edição.

CONCLUSÕES

Tabebuia impetiginosa e *Jacaranda rugosa* são espécies auto-incompatíveis que dependem exclusivamente de abelhas para sua polinização. Abelhas da tribo Centridini e Euglossini são seus principais polinizadores efetivos, enquanto *Trigona spinipes* e espécies de *Xylocopa* são os pilhadores primários de néctar mais freqüentes. A ação das diferentes espécies de pilhadores pode ter diferentes efeitos no sucesso reprodutivo das plantas. Enquanto a diminuição da disponibilidade de néctar pode induzir um acréscimo no número de visitas florais e fluxo entre indivíduos vegetais pelos polinizadores, a ação destrutiva de *Trigona spinipes* diretamente na flor reduz as chances de desenvolvimento de frutos. Assim, a baixa taxa de frutificação natural encontrada nas espécies estudadas está relacionada a dois fatores: 1) a ação *Trigona spinipes* nas flores e 2) a alta taxa de geitonogamia, associada ao fechamento definitivo dos estigmas sensitivos após deposição de pólen co-específico. Estigmas sensitivos são exclusivos da ordem Scrophulariales. Nosso estudo indica que esse mecanismo poderia diminuir o sucesso reprodutivo das plantas. Seria interessante avaliar a vantagem desse fenômeno tigmonástico em espécies de Bignoniaceae que não apresentem floração em massa ou cornucópia. Em plantas que produzem poucas flores por dia durante um longo período de tempo (*steady-state*), esses movimentos não devem comprometer a produção de frutos.