



Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação  
e Manejo da Vida Silvestre



**Biologia Reprodutiva de *Petunia mantiqueirensis* (Solanaceae) e comportamento de  
coleta de pólen de abelhas polinizadoras**

Fernanda Figueiredo de Araujo

Belo Horizonte

2016

Fernanda Figueiredo de Araujo

**Biologia Reprodutiva de *Petunia mantiqueirensis* (Solanaceae) e comportamento de coleta de pólen de abelhas polinizadoras**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e manejo da Vida Silvestre do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Clemens Schindwein  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Reislá Oliveira

Belo Horizonte

2016

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que de alguma maneira me ajudaram na realização desse trabalho.

Primeiramente, agradeço ao meu orientador Clemens Schlindwein pela confiança, atenção, paciência e principalmente pelos ensinamentos compartilhados.

À minha coorientadora Reislá Oliveira pela atenção, ensinamentos e por todas as suas contribuições.

Agradeço imensamente ao pessoal da Mantiqueira, em especial à Bete por me acolher tão bem em sua casa durante as atividades de campo; à Suely, Zé Maria, Márcio, Pedro, Rosa e Eurides pela receptividade e auxílio durante os trabalhos de campo.

Aos amigos do Grupo Plebeia pela ótima convivência, em especial ao Matheus, Ana Luisa, Nathália e Samuel pela ajuda no campo. Ao José, pela amizade, pelas conversas, troca de conhecimento e ajuda nas análises estatística. À Paula Calaça pelas dicas de análises polínica e estatística. À Bruna pela amizade.

Aos membros da banca, Alberto López Teixido e João Renato Stehmann, pelas ótimas contribuições.

Ao Theo Motta pelas análises de refletância e conversas sobre o tema.

À Paula Zama pela ajuda na identificação das abelhas.

Ao Professor Cleber Figueredo e seus alunos pela agradável convivência no laboratório.

À turma de mestrado (2014-2016) pelos momentos de alegria e ótimas lembranças. Em especial à friend Flávia, friend Samantha e Raquel pela amizade e carinho. À Isabelle pela amizade e ajuda no campo. Vocês tornaram essa caminhada muito mais agradável!

Ao Programa de Pós Graduação em Ecologia Conservação e Manejo da Vida silvestre; aos professores pelo aprendizado; aos secretários Fred Teixeira e a Cris pela gentileza e disponibilidade sempre que precisei. E aos colegas do programa.

À Universidade Federal de Minas Gerais, à FAPEMIG pela bolsa de estudos, ao CNPq pelo auxílio financeiro para o trabalho de campo, importante para execução deste trabalho.

Agradeço também a todos os amigos, principalmente à Poliana, Bruna e Camila, por estarem sempre presentes ao longo desses dois anos. Aos queridos amigos de Montes Claros, Ellen e Fábio que mesmo longe sempre me mandaram muita energia positiva!

Aos familiares, em especial Tia Ester por me acolher em sua casa e Natália pela amizade.

E finalmente meu agradecimento para aquelas pessoas que são as mais importantes em minha vida e sem os quais chegar até aqui não seria possível! Aos meus pais, Carla e Benício, por todos os ensinamentos, apoio e amor incondicional. Às minhas irmãs, Paula e Júlia, por todo o amor e por trazer tanta felicidade à minha vida. Obrigada por compreenderem minha essência!

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	7
REFERÊNCIAS .....	8
<b>CAPÍTULO I</b> .....	10
RESUMO .....	11
INTRODUÇÃO.....	12
MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
Local de estudo .....	13
Espécie estudada.....	14
Biologia e morfologia floral.....	14
Análises de refletância espectral das estruturas florais.....	15
Sistema reprodutivo.....	16
Visitantes Florais .....	16
Remoção de pólen na primeira visita floral .....	17
Análise de carga polínica dos visitantes florais.....	18
RESULTADOS .....	18
Morfologia e biologia floral.....	18
Sistema reprodutivo.....	21
Visitantes florais.....	21
Remoção de pólen na primeira visita floral .....	25
Análise Carga polínica dos Visitantes florais.....	25
DISCUSSÃO .....	27
REFERÊNCIAS .....	31
<b>CAPÍTULO II</b> .....	36
RESUMO .....	37
INTRODUÇÃO.....	38
MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
Local de estudo .....	39
Local de estudo .....	39
Espécies estudadas.....	40

Comportamento de forrageio de pólen .....	41
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>42</b>
Caracterização da mancha de flores .....	42
Comportamento de forrageio de <i>Pseudagapostemon fluminensis</i> .....	42
Fidelidade à área de forrageio .....	42
Revisitas florais.....	43
Eficiência no forrageio de pólen.....	43
DISCUSSÃO .....	45
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>47</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A relação planta-polinizador é resultado de um longo processo de coevolução. Embora a história evolutiva mostre que os insetos polinizadores tenham surgido anteriormente às plantas com flores, o aumento na diversidade de ambos coincide (Baker & Hurd, 1968), bem como o surgimento de inúmeras adaptações recíprocas, que facilitam a interação entre plantas e polinizadores.

As plantas desenvolveram diversas características, como formas, tamanhos e cores das flores, que atraem uma grande variedade de animais polinizadores, dentre eles insetos, morcegos e aves (Ricklefs & Renner, 1994; Ashman *et al.*, 2004). Como recursos, além de pólen, as flores podem produzir néctar, resinas e óleos para transporte de pólen pelos visitantes (Simpson & Neff, 1981; Roubik, 1989). Por outro lado, os polinizadores desenvolveram características morfológicas e comportamentais que aperfeiçoam a coleta dos recursos florais (Schilindwein, 2000).

As abelhas são o principal grupo de polinizadores (Baker & Hurd, 1968; Faegri & van der Pijl, 1979). Isso pode ser explicado pelo fato de que praticamente toda a dieta dos adultos e larvas é proveniente das flores (Baker & Hurd, 1968). Em relação à coleta de pólen, é possível distinguir as abelhas em poliléticas, que obtêm o pólen de várias espécies de plantas e as oligoléticas que restringem a coleta de pólen a poucas espécies vegetais, geralmente do mesmo gênero ou mesmo de uma única espécie (Linsley, 1958; Michener, 1979; Cane & Sipes, 2006). A distribuição das abelhas oligoléticas é muitas vezes ajustada com a das plantas das quais obtêm recursos florais. No entanto, a distribuição das espécies de plantas nem sempre é ligada à presença das espécies oligoléticas. Na ausência das espécies oligoléticas, essas plantas podem vir a ser polinizadas pelas espécies poliléticas (Michener, 1979). No entanto, na maioria das vezes as abelhas oligoléticas são os polinizadores mais efetivos das plantas das quais dependem (Schlindwein & Wittmann, 1995, 1997; Schlindwein, 2004; Pick & Schlindwein, 2011).

Neste estudo, apresentamos a interação entre *Petunia mantiqueirensis* (Solanaceae) e seus polinizadores, além da descrição da biologia floral e reprodutiva da espécie e comportamento de forrageio da sua principal espécie polinizadora.

## REFERÊNCIAS

- ASHMAN, T.L.; KINIGHT, T.M.; STEETS, J.A.; AMARASEKARE, P.; BURD, M.; CAMPBELL, D.R.; JONHSTON, M.O.; MAZER, S.J.; MITCHELL, R.J.; MORGAN, M.T. & WILSON, W.G. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*. 85: 2408-2421.
- BAKER, H.G. & P.D. HURD, JR. 1968. Intrafloral ecology. *Annu. Rev. Entomol.* 13: 385-414.
- CANE, J.H. & SIPES, S. 2006. Characterizing floral specialization by bees: analytical methods and a revised lexicon for oligolecty. In: Waser, N. M.: Ollerton J. (Ed.). *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization*. Chicago: The University of Chicago, p. 99-122.
- FAEGRI, K. & L. VAN DER PIJL. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford, Pergamon Press. 244 pp.
- LINSLEY, E.G. 1958. The ecology of solitary bees. *Hilgardian* 27: 543-599.
- MICHENER, C.D. 1979. Biogeography of the bees. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 66:277-347
- PICK, R. A. & SCHLINDWEIN, C. 2011. Pollen partitioning of three species of Convolvulaceae among oligolectic bees in the Caatinga of Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 293:147-159.
- RICKLEFS, R.E. & RENNER, S.S. 1994. Species richness within families of flowering plants. *Evolution*, 48: 1619–1636.
- ROUBIK, D. W. 1989. *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press. 514p.
- SCHILINDWEIN, C. 2000. A importância de abelhas especializadas na polinização de plantas nativas e conservação do meio ambiente. *Anais do Encontro sobre Abelhas* 4: 131-141.



SCHLINDWEIN, C. 2004. Are oligolectic bees always the most effective pollinators? In Freitas BM, Pereira JOP (eds) Solitary bees. Conservation, rearing and management for pollinators. Fortaleza, Imprensa Universitária, 285p.

SCHLINDWEIN, C. & WITTMANN, D. 1995. Specialized solitary bees as effective pollinators of South Brazilian species of *Notocactus* and *Gymnocalycium* (Cactaceae). *Bradleya*, v. 13, p. 25-34.

SCHLINDWEIN, C. & WITTMANN, D. 1997. Micro-foraging routes of *Bicolletes pampeana* (Colletidae) and bee-induced pollen presentation in *Cajophora arechavaletae*. *Bot Acta*; 110:177-83.

SIMPSON, B. & NEFF, J. 1981. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri botanical Garden* 68: 301-322.

## CAPÍTULO I

**Relação especializada entre a espécie ameaçada *Petunia mantiqueirensis*  
(Solanaceae) e a abelha polilética  
*Pseudagapostemon fluminensis* (Halictidae)**

## RESUMO

O gênero *Petunia* (Solanaceae) ocorre no sul da América do Sul e compreende espécies com síndromes de polinização distintas. *Petunia mantiqueirensis*, espécie ameaçada de extinção, apresenta distribuição mais setentrionais do gênero e é endêmica de regiões elevadas da Serra da Mantiqueira em Minas Gerais, Brasil. Exibe flores roxas não convencionais, característica de petúnias melitófilas. Foi estudada a biologia floral, determinado o sistema reprodutivo, visitantes florais e uma possível associação especializada entre *P. mantiqueirensis* e suas abelhas polinizadoras efetivas, que são relatados para outras espécies de *Petunia*. O estudo foi realizado entre 2014 e 2016. *Petunia mantiqueirensis* é autoincompatível. A frutificação após polinização cruzada e polinização pelas abelhas não diferiram, revelando a ausência de limitação de polinizadores desta espécie. As flores fornecem especialmente pólen para as abelhas (cerca de 127.000 grãos/flor), uma vez que a quantidade de néctar produzida foi ínfima. Novas flores abrem ao longo do dia, fazendo que a apresentação de pólen seja imprevisível. O espectro de abelhas visitantes foi de 11 espécies, mas apenas fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* (Halictidae) foram os visitantes relevantes (90% das visitas de flores) e polinizadores efetivos durante os anos de estudo. Independentemente do tempo de abertura das flores, fêmeas de *P. fluminensis* fez todas as primeiras três visitas à flores monitoradas de *P. mantiqueirensis* (N = 115). Estas abelhas, portanto, mostram um comportamento de forrageamento de pólen especializado programado para o momento imprevisível da antese. Apesar do forrageamento de pólen altamente especializado, *P. fluminensis* não é oligolética em flores de *Petunia*. A análise da carga polínica das escopas de fêmeas coletadas em flores de *P. mantiqueirensis* continha grãos de pólen de outras famílias de plantas, muitas vezes em altas porcentagens.

**Palavras-chave:** *Petunia*, monitoramento de flor, especialização alimentar, espécies ameaçadas de extinção.

## INTRODUÇÃO

*Petunia* Jussieu (Solanaceae) é um gênero que exhibe flores vistosas e apresenta espécies importantes economicamente, como *Petunia hybrida* (“petúnia-de-jardim”), híbrido cultivado para fins ornamentais e uma das mais importantes plantas comercializadas no mundo (Griesbach, 2007). As flores apresentam grande diversidade de tamanhos e cores e o mercado de suas sementes é um importante recurso econômico para vários países (Stehmann *et al.*, 2009).

Além do uso ornamental, algumas espécies de *Petunia* apresentam características que favorecem sua utilização como sistema modelo, especialmente na área da genética molecular, como facilidade de crescimento, ciclo de vida relativamente curto, facilidade de propagação assexuada e alta eficiência de transformação genética (Gerats & Vandenbussche, 2005).

*Petunia* foi estabelecido por Jussieu em 1803 e após a descrição do gênero, várias propostas de mudanças na delimitação do gênero ocorreram ao longo dos anos. No entanto, somente no final do século XX, Wijsman & Jong (1985) evidenciaram por meio de análises genéticas e morfológicas que o gênero *Petunia* era composto por dois grupos distintos de espécies: um grupo com  $2n = 14$  e outro com  $2n = 18$ . Dessa maneira, a designação *Petunia* foi mantida para as espécies do primeiro grupo e 15 espécies  $2n=18$  foram designadas como *Calibrachoa* La Llave & Lex. (Wijsman, 1990).

O gênero *Petunia* ocorre em áreas subtropicais e temperadas da América do Sul. A classificação mais recente reconhece 14 espécies pertencentes ao gênero (Stehmann *et al.*, 2009), e a maior riqueza de espécies é encontrada no Brasil, seguido por Argentina, Uruguai, Paraguai e Bolívia. Todas as espécies ocorrem no Brasil, exceto *P. occidentalis*, que apresenta uma distribuição restrita às montanhas subandinas no noroeste da Argentina e sul da Bolívia (Stehmann *et al.*, 2009). No Brasil, os centros de diversidade do gênero são as terras altas do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Algumas espécies são endêmicas de localidades restritas e assim consideradas raras.

Diferentes síndromes de polinização podem ser observadas em *Petunia* (Stuurman *et al.*, 2004; Fregonezi *et al.*, 2013). A maioria das espécies são melitófilas, embora esfigofilia e ornitofilia estejam presentes. De modo geral, as características das flores estão em conformidade com o animal que a poliniza. Em ambos os gêneros, as espécies melitófilas apresentam flores com corola magenta ou púrpura e raramente

branca ou vermelha. Já as espécies esfingófilas, têm flores com corola branca, produzem forte odor noturno e quantidade considerável de néctar. A esfingofilia ocorre em apenas uma espécie, *P. axillaris*. As flores das espécies polinizadas por beija-flores (ornitofilia) apresentam corola vermelha, com estigma e anteras geralmente excertas. Em *Petunia*, apenas *P. exserta* é uma espécie ornitófila. (Stehmann *et al.*, 2009; Klahre *et al.* 2011; Fregonezi *et al.* 2013).

Interações altamente especializadas são reportadas para o gênero *Petunia*. Além disso, abelhas oligoléticas foram destacadas como os principais polinizadores de algumas espécies. Essas abelhas restringem a coleta de pólen a poucas espécies vegetais, da mesma família, gênero ou até de uma única espécie (Linsley, 1958; Cane & Sipes, 2006), como *Callonychium petuniae* (Andrenidae), especializada em espécies de *Petunia* com flores púrpuras (Wittmann *et al.*, 1990).

*Petunia mantiqueirensis* T. Ando & Hashim. é endêmica da Serra da Mantiqueira, no sul do estado de Minas Gerais, onde ocorre isoladamente das demais espécies cogenéricas, no limite norte da distribuição do gênero. A espécie está presente em área onde grande parte da cobertura vegetal original foi removida, o que resultada em forte declínio populacional da espécie (Kamino *et al.* 2012). Os locais de ocorrência vêm sendo modificados devido à atividades agrícolas. Em consequência, *P. mantiqueirensis* é classificada como espécie “criticamente ameaçada” (Fundação Biodiversitas, 2010) e “em Perigo” (CNCFlora, 2014).

Neste trabalho, estudamos a polinização de *Petunia mantiqueirensis* na Serra da Mantiqueira em Minas Gerias. Para tal, verificamos: (i) a biologia reprodutiva da espécie; (ii) a dinâmica de oferta de recursos florais; (iii) o espectro de visitantes florais e os polinizadores efetivos e perguntamos: a relação entre *P. mantiqueirensis* e seus polinizadores efetivos é especializada, como relatadas para outras espécies de *Petunia*?

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Local de estudo**

O estudo foi realizado em uma área rural, nos municípios de Camanducaia e Gonçalves, situados na Serra da Mantiqueira no sul do estado de Minas Gerais (S22° 42.494' W45° 56.536'). O trabalho de campo foi realizado ao longo de duas estações de florescimento, de outubro de 2014 a janeiro de 2016. O local de estudo está situado na

Área de Proteção Ambiental (APA) Fernão Dias, a 1750 metros de altitude, onde predomina Floresta Ombrófila Mista (Floresta com Araucária). As temperaturas médias mensais no período do estudo variaram de 10°C a 23°C (Agritempo, 2016). O clima é úmido ao longo do ano e a média mensal de precipitação foi de 98 mm nos período do estudo (Agritempo, 2016). Na região capões de mata nativa intercalam-se com áreas cultivadas e pastagens.

### **Espécie estudada**

*Petunia mantiqueirensis* é uma erva com hábito procumbente, podendo apresentar ramos ascendentes que, frequentemente, se apoiam à vegetação arbustiva que cresce ao seu redor. As plantas ocorrem em locais com solo úmido e parcialmente sombreados, em regiões com Floresta com Araucária. Assim como a maioria das outras espécies de *Petunia*, apresenta corola chamativa com coloração magenta. O tubo floral é branco com nervuras púrpuras e o pólen é azul. É a espécie que apresenta as plantas mais altas do gênero, e seus ramos podem atingir até quatro metros de altura (Ando & Hashimoto, 1994). É uma espécie rara, segundo a definição de Kruckeberg & Rabinowitz (1985), visto que apresenta distribuição e número populacional restrito. A espécie ocupa uma área de 92 km<sup>2</sup>, sendo assim, endêmica da Serra da Mantiqueira (Kamino *et al.* 2012).

### **Biologia e morfologia floral**

Medimos o diâmetro da corola aberta, o comprimento do tubo floral e da câmara nectarífera em 20 flores no local de estudo.

Ao longo da antese, uma gota de peróxido de oxigênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) foi depositada no estigma e a formação de bolhas no líquido indicou a receptividade estigmática (Dafni, Kevan & Husband, 2005). A presença de néctar foi verificada com o auxílio de microcapilares de 0,5 ml de volume (Hirschmann<sup>®</sup> Laborgeräte, Eberstadt, Alemanha).

Para determinar o número de grãos de pólen por flor, as cinco anteras de botões florais foram maceradas em tubos tipo Eppendorf contendo 0,5 ml de ácido láctico glicerinado (3:1). A solução foi homogeneizada em agitador vórtex e uma alíquota

transferida para a câmara de Neubauer onde os grãos de pólen foram contados em microscópio óptico (Maêda, 1985). A partir da contagem de duas subamostras de cada botão floral, foi calculado o número de grãos por flor utilizando 15 botões florais de plantas diferentes. Os mesmos botões empregados para contagem de pólen foram dissecados, sob estereomicroscópio para contar os óvulos e calcular a razão pólen/óvulo (P/O).

Para determinar a longevidade floral, 14 flores, acessíveis aos visitantes, foram marcadas individualmente e monitoradas até a senescência. Além disso, 14 flores foram ensacadas com sacos de organza para verificar se a longevidade floral varia em flores não visitadas. O início da antese foi determinado logo que as pétalas começaram a se separar e o estigma e anteras se tornaram visíveis. Para verificar se existiu diferença significativa entre a longevidade floral nos diferentes tratamentos, foi realizado o teste não-paramétrico Mann-Whitney (Teste U). O software utilizado para a realização das análises foi o SigmaStat 3.5.

### **Análises de refletância espectral das estruturas florais**

Para medir a qualidade espectral da luz refletida por estruturas florais foi utilizado um espectrofotômetro (USB2000+UV-VIS-ES, Ocean Optics Inc) calibrado radiometricamente entre 250 e 750 nm com uma fonte de luz mista deutério/tungstênio (DH-2000-BAL, Ocean Optics Inc). A calibração nesta faixa de comprimentos de onda permite avaliar com precisão os parâmetros espectrais de refletância na faixa do ultravioleta, luz visível e infravermelho. Dessa forma, a análise espectral realizada extrapola a faixa de percepção cromática humana e inclui componentes que estimulam o sistema visual de himenópteros (Peitsch *et al.*, 1992). O software *SpectraSuite* (Ocean Optics Inc) foi utilizado na aquisição e análise das curvas espectrais.

Para medidas de refletância floral foi utilizada uma fibra ótica especializada com tripla saída (R400-7-UV-VIS, Ocean Optics Inc) conectada ao espectrofotômetro e a uma fonte de luz de xenônio pulsado (PX-2, 220Hz, 220-750nm, Ocean Optics Inc). O sensor de luz da fibra ótica foi montado em suporte preto opaco (RPH-1, Ocean Optics Inc), que permitiu padronizar o ângulo ( $90^{\circ}$ ) e a distância (0,5 cm) da luz emitida em relação à amostra cuja refletância foi medida. Este sensor circular possui diâmetro de 1mm, permitindo medir o padrão específico de refletância em estruturas florais cuja

superfície seja igual ou maior a 0.8 mm<sup>2</sup>. Como padrão de branco para medidas de refletância foi usado material difusor de *Spectralon*<sup>®</sup> (WS-1-SL, Ocean Optics Inc).

Ramos de *Petunia mantiqueirensis* com flores, coletados na Serra da Mantiqueira, foram levados ao laboratório na Universidade Federal de Minas Gerais em Belo Horizonte e medida a refletância do limbo e tubo floral das pétalas, dissecadas com o auxílio de micro-estilete e lupa. A refletância foi medida em três flores recém-abertas e três flores velhas (do segundo e terceiro dia da antese). Dessa forma, foi avaliada a constância/variabilidade dos espectros e construída a curva de padrão de refletância espectral para flores novas e velhas. As curvas espectrais médias foram utilizadas para caracterização do padrão de refletância segundo modelos clássicos propostos na literatura, construídos tendo como base a fisiologia dos fotorreceptores presentes na retina de himenópteros (Peitsch *et al.*, 1992, Chittka & Menzel, 1992; Chittka *et al.*, 1994; Arnold *et al.*, 2010).

### **Sistema reprodutivo**

Para verificar o sistema reprodutivo de *Petunia manqueirensis* foi conduzido um experimento de polinização com quatro tratamentos: 1) autopolinização espontânea, flores sem manipulação; 2) autopolinização manual, flores polinizadas com seu próprio pólen; 3) polinização cruzada manual, no qual o pólen foi transferido para flores de outros indivíduos, distantes no mínimo 20 metros; e 4) polinização natural (controle), realizada por visitantes em condições naturais. Todas as flores foram previamente ensacadas e para cada tratamento foram utilizadas 15 flores. Após as manipulações, todas as flores foram reensacadas para impedir o acesso aos visitantes, com exceção daquelas do tratamento de polinização natural. Foi determinada a formação de frutos nos diferentes tratamentos.

### **Visitantes Florais**

Os visitantes florais foram coletados ao longo da floração de *Petunia mantiqueirensis*, com o auxílio de rede entomológica e câmaras mortíferas contendo acetato de etila. Os espécimes coletados foram montados em alfinetes entomológicos,



identificados e incluídos no banco de dados do grupo de pesquisa “Plebeia - Ecologia de Abelhas e da Polinização”. Os insetos foram depositados na Coleção Entomológica do Centro de Coleções Taxonômicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

A frequência dos visitantes florais foi determinada durante 14 dias (112 horas de trabalho) não consecutivos, das 08:00h às 16:00h em 115 flores marcadas. Assim, a taxa de visitação às flores ao longo do dia, foi determinada em quatro intervalos de tempo (8:00 as 10:00 h; 10:00 as 12:00 h; 12:00 as 14:00 h; 14:00 as 16:00 h). Anotamos horário e duração da visita por flor, se os visitantes florais coletaram pólen e/ou néctar durante as visitas e se contataram o estigma. Além disso, em cada flor nova, anotamos o nome e o sexo da espécie de abelha que realizou a primeira, segunda e terceira visita à flor e medimos a duração destas visitas. Foi medida também a duração das visitas a flores depois do primeiro dia de antese.

Baseado no número de visitas por flor em cada um dos intervalos foi estabelecida uma taxa de visitação por hora. Esta taxa foi comparada entre os intervalos utilizando o método das Equações de Estimativas Generalizadas (Generalized Estimating Equations - GEE), adequado para tratar dados com medidas repetidas ao longo do tempo (intervalos). O software utilizado para a realização das análises foi o R 3.3.0.

### **Remoção de pólen na primeira visita floral**

Determinamos a quantidade de pólen removido durante a primeira visita às flores de *Petunia mantiqueirensis*. Botões florais foram ensacados (N=15) e logo após o início da antese, o saco foi removido e permitido uma visita de uma abelha. O nome da espécie foi anotado e a flor foi removida e transferida para um tubo Eppendorf contendo álcool 70%. Em seguida, as anteras foram removidas e maceradas e o pólen aderido à corola foi lavado com álcool. As amostras foram homogeneizadas em agitador vórtex e centrifugadas durante cinco minutos a uma velocidade de 6,0 rpm. Em seguida, o álcool foi removido e 0,5 ml de solução de ácido láctico glicerinado foi acrescentado. A solução foi homogeneizada em agitador vórtex e transferida para Câmara de Neubauer, com auxílio de micropipeta e os grãos de pólen foram contados em microscópio óptico. Estimamos o número de grãos de pólen de acordo com o volume total, considerando a alíquota utilizada (Maêda, 1985). A quantidade de pólen removida por flor foi

determinada subtraindo o número de grãos de pólen que sobrou na flor do número médio de pólen quantificado em 15 flores não visitadas (ver acima).

### **Análise de carga polínica dos visitantes florais**

Na espécie mais frequente, foi removida a carga polínica da escopa de fêmeas coletadas (N=23) durante visitas a flores de *P. mantiqueirensis* e analisado sua composição polínica para conhecer sua fidelidade floral e obter informações sobre uma possível oligoetia dessa espécie. Uma amostra representativa do pólen foi transferida com pequenas porções de gelatina glicerinada para lâminas de microscópio. Estas foram aquecidas em chama de álcool, cobertas com lamínulas e seladas com parafina (Schlindwein & Wittmann, 1997). O conteúdo de cada lâmina foi analisado em microscópio óptico, com aumento de 400 vezes e os tipos polínicos identificados. A frequência dos tipos polínicos presentes na escopa das fêmeas foi determinada contando 300 grãos de pólen por lâmina. Os tipos polínicos com frequência menor que 1% foram considerados contaminação e desconsiderados no espectro polínico.

## **RESULTADOS**

### **Morfologia e biologia floral**

*Petunia mantiqueirensis* floresceu e frutificou de outubro a março. A corola infundibuliforme, contém cinco lobos púrpuros com diâmetro entre 26 e 34 mm ( $30,3 \pm 2,1$ ; N=20) (Fig. 1A). O tubo floral é subcilíndrico, formado pela fusão das pétalas e mede entre 24 e 30 mm de comprimento ( $28,8 \pm 1,5$ ; N=20) e apresenta nervuras púrpuras (Fig. 1B). O androceu é composto por cinco estames, dois longos, dois médios e um curto, de modo que os longos alcançam a abertura do tubo. Os filetes são fusionados ao tubo da corola, formando uma câmara nectarífera, que possui comprimento entre 5 e 7 mm ( $6,5 \pm 0,5$ ; N=20). O estigma bilobado é ligeiramente mais longo que os estames longos.



Figura 1. Flores de *Petunia mantiqueirensis*. A) Detalhe da corola; B) Flor no início da antese em vista lateral mostrando o tubo floral branco com nervuras roxas.

Aos olhos humanos, as flores de *Petunia mantiqueirensis* apresenta coloração magenta/púrpura. As medidas espectrofotométricas de suas flores revelaram diferenças entre o padrão de reflexão das pétalas e do tubo floral. A superfície das pétalas novas e velhas apresentam valores significativos de refletância nas faixas do azul (400-500nm) e vermelho (600-700nm) e baixa refletância relativa nas faixas no ultravioleta (300-400nm) e verde (500-600nm). Além disso, foi identificada uma leve discrepância na intensidade de refletância na faixa azul (~0.45) e vermelho (~0.85) medidos para as pétalas de flores novas quando comparadas à pétalas de flores velhas (azul ~ 0.30 e vermelho ~0.70). Os níveis de refletância relativa medidos nas faixas do azul e vermelho, explicam a uniformidade de coloração magenta observada nestas estruturas por olhos humanos. Em contraste, medidas espectrofotométricas da superfície do tubo floral, revelaram refletância também nas faixas do ultravioleta (300-400nm) e verde (500-600nm). Foi identificada uma leve discrepância na intensidade de refletância medidas entre tubos de flores novas e flores velhas. Os níveis de refletância relativa medidos nas faixas do azul, verde e vermelho, foram bastante similares, o que explica a uniformidade de coloração branca observada nesta estrutura (Fig. 2).

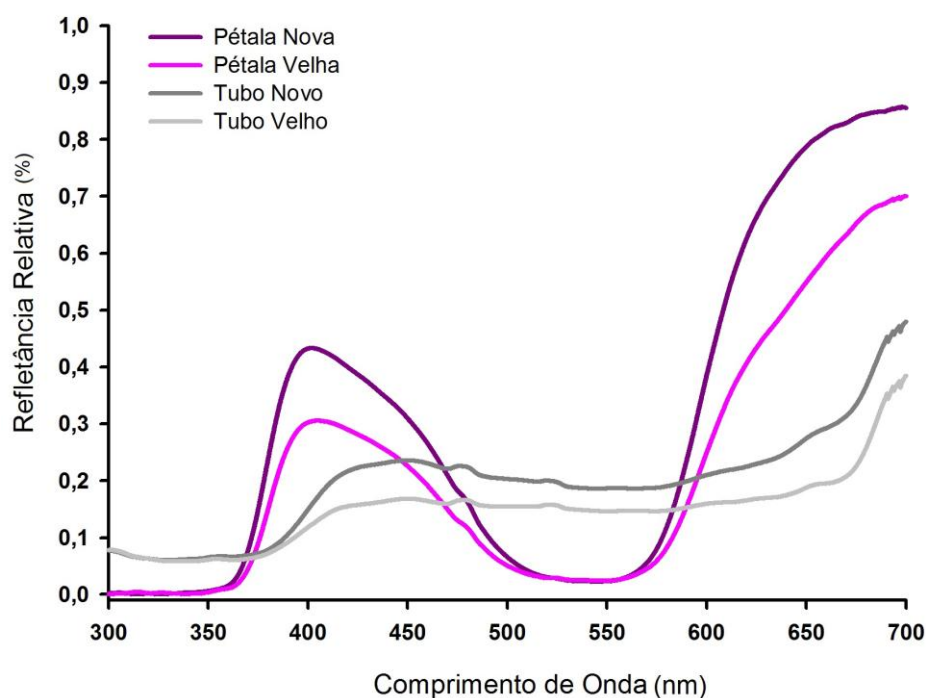


Figura 2. Espectro de refletância de pétalas e tubo floral de *Petunia mantiqueirensis*.

As anteras abriram logo após a abertura da flor, primeiro nas anteras dos estames maiores, seguido pelas intermediárias e posteriormente na antera do estame menor.

O teste de receptividade estigmática mostrou que o estigma já estava receptivo quando iniciou a abertura, permanecendo receptível até a senescência da flor. O néctar foi produzido em quantidades ínfimas, o que inviabilizou a quantificação do volume e sua concentração.

As flores produziram em média  $127033 \pm 16815$  grãos de pólen e em média  $111,5 \pm 10,7$  óvulos. A razão Pólen/Óvulo foi de  $1136,6 \pm 60$ .

A antese não foi sincronizada, ocorrendo a qualquer horário do dia. A longevidade floral durou  $7,1 \pm 0,7$  dias ( $N=14$ ) e flores visitadas por abelhas senesceram mais cedo e tiveram longevidade de  $4,6 \pm 1,1$  dias ( $N=14$ ). Houve diferença significativa da longevidade floral entre os tratamentos ( $U=11,5$ ;  $p<0,001$ ;  $N=14$ ) (Fig.3).

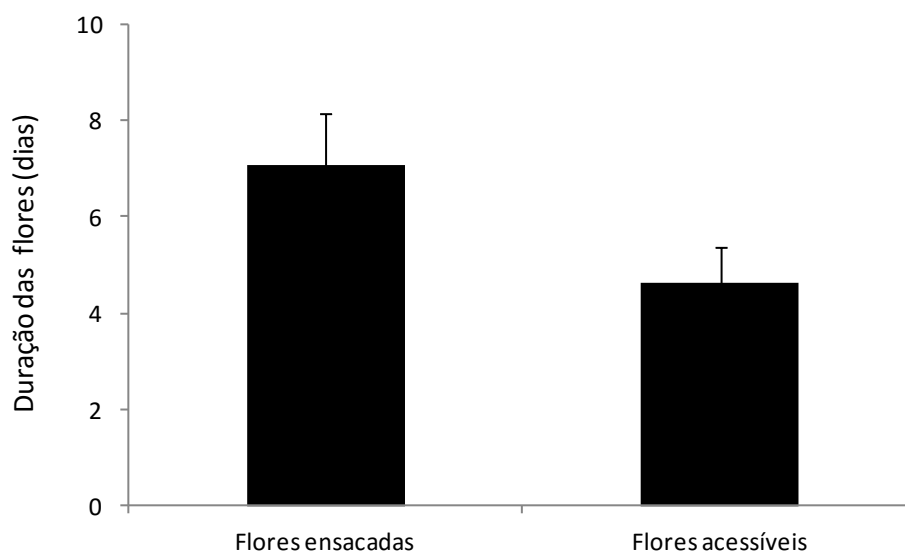


Figura 3. Longevidade de flores de *Petunia mantiqueirensis* acessíveis aos visitantes e ensacadas. Médias e desvio padrão (N=14).

### Sistema reprodutivo

Os tratamentos de polinização controlada mostraram que *Petunia mantiqueirensis* é autoincompatível, uma vez que não houve formação de frutos em ambos os tratamentos de autopolinização (Tabela 1). Houve uma alta taxa de frutificação nos tratamentos de polinização cruzada manual (80%) e na polinização natural (73,3%). Os frutos contiveram, em média,  $59,9 \pm 17,5$  (N=15) sementes

Tabela 1. Experimento de polinização controlada em *Petunia mantiqueirensis*.

Tratamentos	N	Frutos desenvolvidos	Sucesso (%)
Autopolinização manual	15	0	0
Autopolinização espontânea	15	0	0
Polinização cruzada manual	15	12	80
Polinização natural	15	11	73,3

### Visitantes florais

Flores de *Petunia mantiqueirensis* foram visitadas por abelhas de 11 espécies (Tabela 2).

Tabela 2: Visitantes florais de *Petunia mantiqueirensis* em Camanducaia e Gonçalves-MG.

Família	Tribo	Espécie
Andrenidae	Protandrenini	<i>Anthrenoides</i> sp.
Apidae	Meliponini	<i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758
		<i>Plebeia</i> sp.
		<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius, 1793)
Xylocopini		<i>Xylocopa brasiliatorum</i> (Linnaeus, 1767)
Halictidae	Augochlorini	<i>Augochlora</i> sp.
		<i>Augochloropsis</i> sp.
		<i>Neocorynura</i> sp.
	Halictini	<i>Pseudagapostemon cyanomelas</i> Cure, 1989
		<i>Pseudagapostemon fluminensis</i> (Schrottky, 1911)
Megachilidae	Megachilini	<i>Megachile</i> sp.

Fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* foram os visitantes mais frequentes ao longo da floração, seguido por *Anthrenoides* sp. e *Pseudagapostemon cyanomelas*. Abelhas das demais espécies visitaram as flores esporadicamente (Fig. 4).

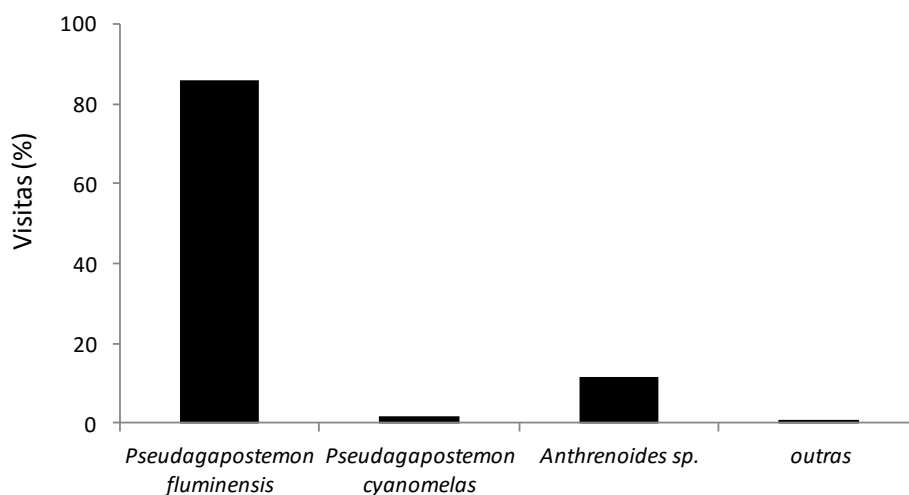


Figura 4. Frequência relativa de visitas por espécie em flores de *Petunia mantiqueirensis* durante 14 dias de observações.

As maiores taxas de visitação foram observados nos primeiros intervalos do dia (8:00 as 10:00 e 10:00 as 12:00 h), sendo que não houve diferença significativa entre esses dois intervalos ( $p=0,99$ ) (Fig. 5).

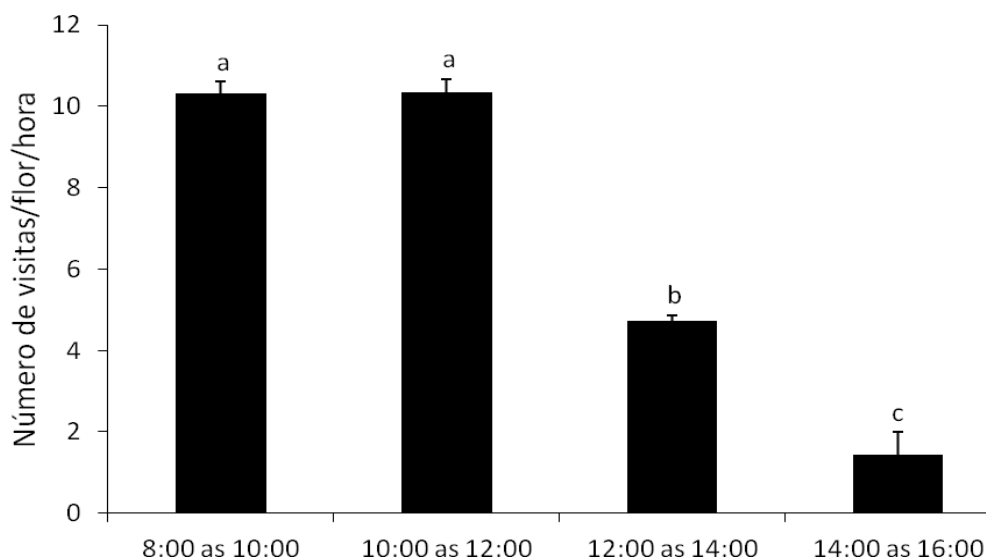


Figura 5. Número de visitas por intervalo de tempo em flores de *Petunia mantiqueirensis*. Média e desvio padrão (N= 115 flores). Letras diferentes indicam intervalos significativamente diferentes.

Fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* foram responsáveis por 86% das visitas às flores de *P. mantiqueirensis* na população estudada. Em 96% das visitas, as fêmeas dessa espécie contataram o estigma. Fêmeas de *P. fluminensis* visitaram preferencialmente flores de primeiro dia de antese e raramente flores mais velhas. A determinação do primeiro, segundo e terceiro visitante floral de *P. mantiqueirensis* revelou que exclusivamente fêmeas de *P. fluminensis* fizeram as três primeiras visitas florais em qualquer horário do dia. Em relação à primeira visita floral, 75 (65%) dessas foram realizadas até as 10:00 horas, 35 (31%) entre 10:00 e 12:00 horas e apenas 5 (4%) após 12:00 horas (Fig. 6). Para coletar pólen, as fêmeas agarraram-se às anteras e removeram o pólen com as pernas anteriores e médias. As fêmeas permaneceram no tubo floral para transferir o pólen para a escopa nas pernas posteriores e no metassoma.

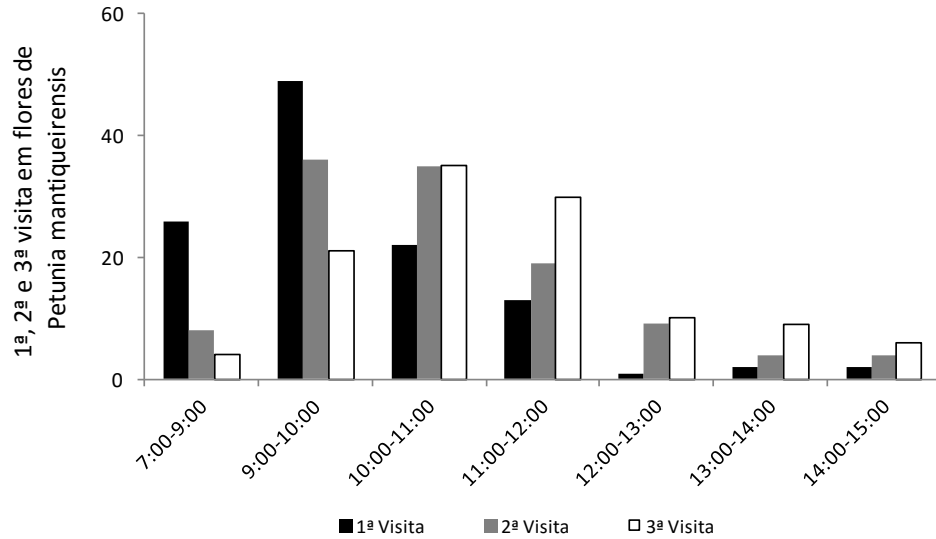


Figura 6. Três primeiras visitas de fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* à flores de *Petunia mantiqueirensis* ao longo do dia (N=115).

O tempo despendido pelas fêmeas durante a primeira visita floral foi maior ( $94,5 \pm 77,9$  seg.; N=115) quando comparada à segunda e terceira visita de uma flor de *P. mantiqueirensis*. Visitas a flores mais velhas foram curtas ( $9,6 \pm 5,2$  seg) (Fig. 7). Nessas visitas, as fêmeas não coletaram pólen e entraram no tubo floral até a câmara nectarífera para tomar néctar.

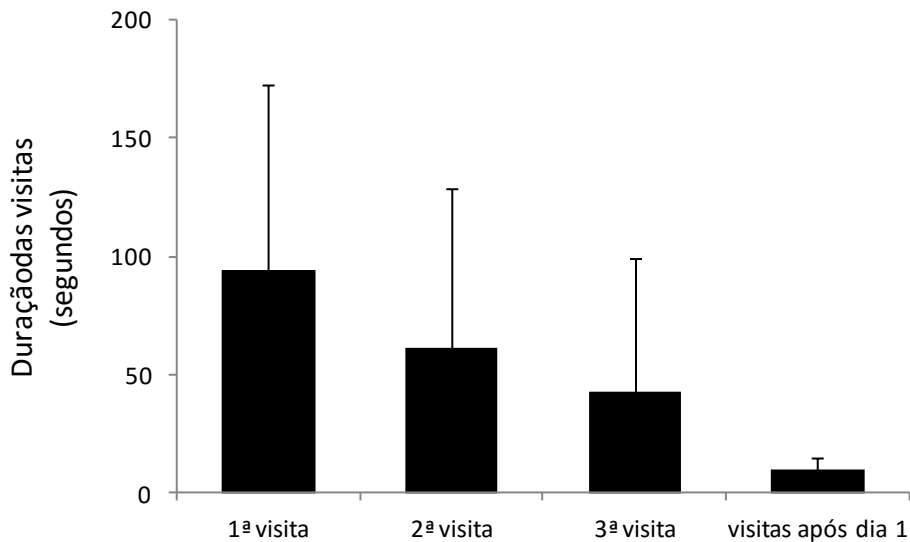


Figura 7. Duração das visitas de fêmeas de *P. fluminensis* à flores de *P. mantiqueirensis*. Média e desvio padrão (N=115).



## Remoção de pólen na primeira visita floral

Após a primeira visita restaram em média 18300 (dp=8937,88; N=15 visitas) grãos de pólen nas flores de *P. mantiqueirensis* (Fig. 8). Durante a primeira visita floral, as fêmeas de *P. fluminensis* removeram em média 86% dos grãos contidos em uma flor.

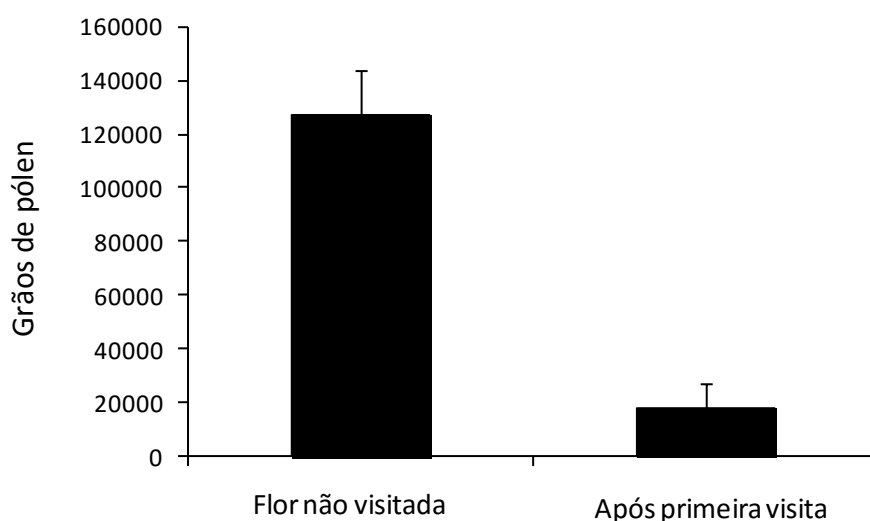


Figura 8. Grãos de pólen em flores não visitadas e após a primeira visita de fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* às flores de *Petunia mantiqueirensis*. Média e desvio padrão; N=15.

## Análise Carga polínica dos Visitantes florais

A análise da carga polínica de fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis*, mostrou a presença de sete tipos polínicos de famílias diferentes. O pólen de *P. mantiqueirensis* foi o mais frequente (51%), seguido pelo pólen de uma espécie de *Sisyrinchium* (Iridaceae) (M1) e o pólen tricolorado reticulado não identificado (T2) (Fig. 9A). Em 74% das fêmeas foram encontrados grãos de pólen de *P. mantiqueirensis* e em 30% foram encontrados grãos de pólen de *Cuphea* sp., que é comum nos arredores do local do estudo e é fonte de néctar para *P. fluminensis* (Fig. 9B). Além disso, apenas 17% (N=4) das fêmeas apresentaram carga polínica uniforme, sendo que a grande maioria apresentou de dois ou quatro tipos polínicos aderidos à escopa (Fig. 9C).

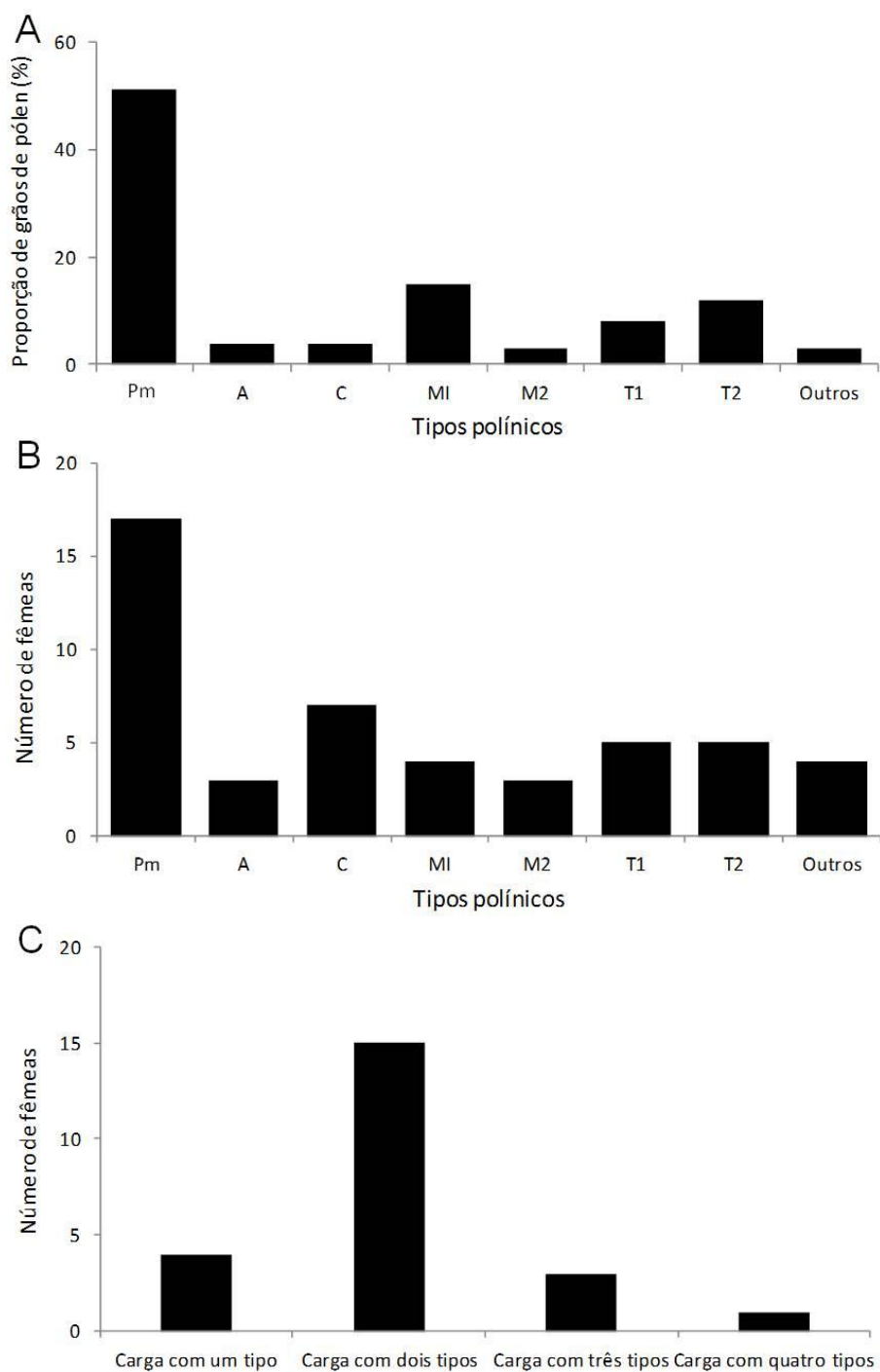


Figura 9. Análise da carga polínica de fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* coletadas em *Petunia mantiqueirensis*. A- Proporção de grãos de pólen de cada tipo polínico; B- Número de fêmeas com os diferentes tipos polínicos na escopa; C- Quantidade de tipos polínicos nas escopas. Onde Pm= *Petunia mantiqueirensis*, A= Asteraceae, C= *Cuphea* sp., M1= Monocotiledônea 1 (*Sisyrichium* sp.), M2= Monocotiledônea 2, T1= Trizonocolpado reticulado, T2= Tricolpado reticulado (N=23).

## DISCUSSÃO

Nosso estudo mostra que durante duas estações de florescimento, *Petunia mantiqueirensis* foi polinizada, quase que exclusivamente, por fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis*. Coletas anteriores de visitantes florais nessa planta (2001, 2012-2013) também amostraram fêmeas de *P. fluminensis* como principal visitante floral que revela que a interação entre os dois parceiros é consistente ao longo de vários anos (Castro e Stehmann; Schindwein, comunicação pessoal).

A análise da carga polínica das fêmeas mostrou que *P. fluminensis* é uma abelha polilética e coleta pólen em pelo menos sete espécies de diferentes famílias. Pólen de *P. mantiqueirensis* foi o tipo mais frequente na carga polínica das fêmeas desta espécie e parece ser importante na dieta de *P. fluminensis*. No entanto, para conhecer a contribuição do pólen de *P. mantiqueirensis* para a cria de *P. fluminensis*, seria importante analisar o provisionamento larval no ninho. Os ninhos de *P. fluminensis* infelizmente não são conhecidos e não encontramos ninhos para análise de provisionamento larval no local de estudo. Enquanto que espécies de Asteraceae e monocotiledôneas devem ter sido recursos polínicos, *Cuphea* sp., que é extraordinariamente comum nos arredores do local de trabalho, é fonte de néctar de *P. fluminensis* e de numerosas outras espécies de abelhas na área (observação pessoal).

Nas escopas de 82% das fêmeas de *P. fluminensis* foi encontrado pólen de apenas uma ou duas espécies de plantas, que revela que as fêmeas apresentam alta fidelidade floral durante seus voos de forrageio. No entanto, foi uma surpresa que cerca de um quarto (26%) das fêmeas não carregaram pólen de *P. mantiqueirensis* mesmo quando coletadas nas suas flores. Estas fêmeas, provavelmente, visitaram flores de *P. mantiqueirensis* velhas e sem pólen.

Mesmo sendo uma abelha polilética, consideramos que *Pseudagapostemon fluminensis* apresenta interação íntima com *P. mantiqueirensis* por (1) ser o visitante floral e polinizador dessa espécie de planta mais frequente durante toda floração em vários anos e (2) ajustar sua estratégia de coleta de pólen ao início da antese. Desta maneira, a maior quantidade de pólen produzido pelas flores da *Petunia mantiqueirensis* é destinada as fêmeas dessa espécie.

Diferentemente de *P. mantiqueirensis*, outras espécies de *Petunia* são polinizadas por abelhas oligoléticas: a abelha oligolética *Hexanthera missionica*

(Colletidae) foi citada como polinizador de várias espécies de *Petunia* e *Calibrachoa* (Schlindwein, 2004). Ela foi o principal polinizador de *Petunia integrifolia* (citada como *Petunia littoralis*) em Santa Catarina (Castellani & Lopes, 2002) e *Calibrachoa elegans* em Minas Gerais (Stehmann & Semir, 2001). A abelha cogenêrica *H. enneomera* também é polinizador oligolético de espécies de *Petunia* e *Calibrachoa* no Rio Grande do Sul (Schlindwein 2004). Outra relação altamente especializada ocorre entre a oligolética *Callonychium petuniae* (Andrenidae) e espécies de *Petunia* com flores púrpuras. A visão tetracromática - as abelhas possuem um receptor de vermelho, além dos usuais receptores de UV, azul e verde (Peitsch *et al.* 1992) – foi interpretada como adaptação para localização das flores de *Petunia* de cor púrpura (Wittmann *et al.*, 1990).

*Petunia mantiqueirensis* apresenta padrão de floração do tipo *steady-state* (*sensu* Gentry, 1974). As plantas produzem poucas flores por dia durante um longo período de tempo. Suas flores permanecem abertas por cerca de cinco dias, no entanto, após as primeiras visitas as anteras não contêm mais pólen. Assim, a manutenção prolongada das flores deve ter a função de aumentar a atração visual, como proposto para outras espécies que mantêm corolas em flores vazias após a polinização (Schlindwein *et al.*, 2014) e auxiliar as abelhas na localização das manchas dessa planta, uma vez que somente poucas flores de *Petunia* são produzidas por dia. Além disso, a produção contínua de poucas flores torna as flores *P. mantiqueirensis* uma fonte confiável de pólen para seus polinizadores durante um longo período, mesmo sendo pouco abundante. Do ponto de vista da planta, o padrão *steady-state* favorece a polinização cruzada e o fluxo polínico entre indivíduos coespecíficos (Pinto *et al.* 2008). Para a autoincompatível *P. mantiqueirensis*, polinização cruzada é obrigatória para garantir o sucesso reprodutivo como na maioria das espécies melitófilas do gênero *Petunia* e *Calibrachoa* (Ando *et al.* 2001, Kokubun *et al.* 2006).

A liberação do pólen nas flores de *P. mantiqueirensis* não é contínua ao longo da antese e isso dificulta o ajuste das visitas florais para coleta de pólen a um horário específico (Roubik, 1979). Fêmeas de *P. fluminensis* mostraram uma estratégia de forrageio voltada para realização de visitas florais no início da antese, independentemente do horário de abertura. Essa estratégia mostrou ser altamente eficiente e todas as três primeiras visitas às flores observadas de *P. mantiqueirensis* foram realizadas por fêmeas da espécie. Seria interessante verificar se outras espécies de

*Petunia* e *Calibrachoa* também mostram abertura das flores pouco sincronizadas e se as abelhas oligoléticas citadas como polinizadores efetivos (*Callonychium petuniae*, *Hexanthes missionica*, *H. enneamera*) também ajustam suas visitas ao início da antese, como descrito nesse trabalho para *P. fluminensis*.

Não há informações sobre a interação de *P. fluminensis* com outras espécies de plantas. No entanto, é importante ressaltar interações entre outras espécies de *Pseudagapostemon* com *Petunia* e *Calibrachoa*. No Brasil, a maioria das espécies de *Pseudagapostemon* ocorre nas regiões Sudeste e Sul (Cure, 1989) e algumas possuem distribuição geográfica bastante similar com as espécies de *Petunia*. Há relatos de coleta ativa de pólen de fêmeas de *Pseudagapostemon cyanomelas* em *Petunia reitzi* em Santa Catarina e *P. scheideana* no Paraná. Além disso, as fêmeas dessa espécie foram registradas como visitantes florais de *Calibrachoa linoides*, em Campos do Jordão, São Paulo, município localizado na Serra da Mantiqueira (Stehmann, 1999), em ambiente parecido com o de ocorrência de *P. mantiqueirensis*. Fêmeas de *P. cyanomelas* também foram registradas como visitantes florais de *P. mantiqueirensis*, porém são muito mais raras que às de *P. fluminensis*. Além disso, na região dos pampas no Rio Grande do Sul, uma espécie não identificada de *Pseudagapostemon* foi registrada coletando pólen em *P. secreta* e *P. scheideana* (Stehmann, 1999).

Assim como *Pseudagapostemon fluminensis*, abelhas de *P. cyanomelas* e *Anthrenoides* sp. foram registradas continuamente em manchas de *P. mantiqueirensis* ao longo da floração. Em nosso estudo, contudo, essas espécies mais raras nunca fizeram as primeiras visitas às flores de *P. mantiqueirensis* e parecem ser competidores fracos pelo pólen quando comparados com *P. fluminensis*.

Chama a atenção neste estudo, que abelhas altamente eusociais, como *Apis mellifera* e abelhas sem ferrão (Meliponini) foram extraordinariamente raras nas flores de *P. mantiqueirensis*. Essas abelhas amplamente poliléticas (Cane & Sipes, 2006), intensamente visitam plantas com floração maciça que fornecem pólen e néctar simultaneamente em grandes quantidades (Roubik, 1993; Willms *et al.*, 1996). A produção de néctar em quantidades ínfimas ao longo da antese, a apresentação de pólen por somente poucas flores por dia e em horários pouco previsíveis, torna as flores de *P. mantiqueirensis* pouco atrativas para essas espécies, especialmente na presença de *P. fluminensis* que são competidoras que apresentam comportamento de coleta especializado à exploração de pólen no início da antese. Informações disponíveis de

visitantes florais de outras espécies de *Petunia* e *Calibrachoa* também carecem de abelhas sociais ou citam essas somente como visitantes esporádicas (Stehmann e Semir, 2001; Castelani e Lopes, 2002).

A baixíssima taxa de visitação em flores de *P. mantiqueirensis* por outras espécies de abelhas pode estar relacionada à presença de *P. fluminensis* em sincronia com a abertura das flores, que ocasiona alto número de primeiras visitas e com isso, remoção da maior parte do pólen, tornando as flores pouco atrativas para outras abelhas.

Embora rara e ameaçada de extinção, *P. mantiqueirensis* não sofre déficit de polinização. No local do estudo, *P. fluminensis* garante a reprodução de *P. mantiqueirensis*, uma vez que *P. fluminensis* foi altamente eficiente na coleta e transferência de pólen, o que explica as altas taxas de formação de frutos em geral.

Assim, a manutenção dessa abelha, além dos locais de nidificação e de outras plantas importantes em sua dieta é fundamental para a manutenção de *P. mantiqueirensis*. Além disso, *P. mantiqueirensis*, possui populações pequenas e isoladas e ocorre em áreas fragmentadas devido à intensa atividade agrícola, sendo assim, ameaçada pela perda de habitat. Assim, informações sobre a biologia e comportamento dos seus polinizadores se tornam importantes para o planejamento e desenvolvimento de estratégias para a conservação de *P. mantiqueirensis*.

## REFERÊNCIAS

- AGRITEMPO - Sistema de monitoramento agrometeorológico. 2016. Disponível em:< <https://www.agritempo.gov.br/agritempo/index.jsp>>. Acesso em: 15 de Fev. 2016.
- ANDO, T. & HASHIMOTO, G. 1994. A new Brazilian species of *Petunia* (Solanaceae) from the Serra da Mantiqueira. *Brittonia*, 46(4): 340-343.
- ANDO, T., NOMURA, M., TSUKAHARA, J., WATANABE, H., KOKUBUN, H., TSUKAMOTO, T. & KITCHING, I. J. 2001. Reproductive isolation in a native population of *Petunia sensu* Jussieu (Solanaceae). *Annals of Botany*, 88(3), 403-413.
- ARNOLD, S.E.; FARUQ, S.; SAVOLAINEN, V.; MCOWAN, P.W. & CHITTKA, L. 2010. FReD: the floral reflectance database—a web portal for analyses of flower colour. *PloS one*: 5(12) e14287.
- CANE, J.H. & SIPES, S. 2006. Characterizing floral specialization by bees: analytical methods and a revised lexicon for oligolecty. In: Waser, N. M.: Ollerton J. (Ed.). *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization*. Chicago: The University of Chicago, p. 99-122.
- CASTELLANI, T. T. & LOPES, B. C. 2002. Abundância e biologia reprodutiva de *Petunia littoralis* Smith & Downs nas dunas da Praia da Joaquina, Ilha de Santa Catarina, SC. *Biotemas*, v. 15, n. 2, p. 7-22.
- CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DA FLORA, 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/>. Acesso em: 10 de Fev. 2016.
- CHITTKA L. & MENZEL R. 1992. The evolutionary adaptation of flower colours and the insect pollinators' colour vision. *Journal of Comparative Physiology A* 171: 171-181.
- CHITTKA L.; SHMIDA A.; TROJE N. & MENZEL R. 1994. Ultraviolet as a component of flower reflections, and the colour perception of Hymenoptera. *Vision research* 34: 1489-1508.
- CURE, J. R. 1989. Revisão de *Pseudagapostemon* Schrottky e descrição de *Oragapostemon*, gen. n. (Hymenoptera, Halictidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 33, n. 2, p. 229-335.

DAFNI, A., KEVAN, P.G. & HUSBAND, B.C. 2005. Practical pollination ecology. Cambridge: Enviroquest Ltda.

FREGONEZI, J.N. 2009. História Evolutiva do gênero *Calibrachoa* La Llave & Lex. (Solanaceae). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Tese de Doutorado.

FREGONEZI, J. N., TURCHETTO, C., BONATTO, S.L. & FREITAS, L.B. 2013. Biogeographical history and diversification of *Petunia* and *Calibrachoa* (Solanaceae) in the Neotropical Pampas grassland. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 171:140–153.

FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. 2010. Lista da flora brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: [http://www.biodiversitas.org.br/listas-mg/lista\\_floramg.asp](http://www.biodiversitas.org.br/listas-mg/lista_floramg.asp). Acesso em: 03 de Nov. 2015.

GERATS, T. & VANDENBUSSCHE, M. 2005. A model system for comparative research: *Petunia*. *Trends Plant Sci*, 10:251-256.

GRIESBACH, R.J. 2007. *Petunia Petunia x hybrida*. In: Anderson, N.O. (ed) Flower Breeding and Genetics - Issues, Challenges and Opportunities for the 21st Century. Springer, New York, pp 301-336.

GENTRY, A.H. 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica*, 6, 64–68.

KAMINO, L. H. Y., SIQUEIRA, M. F., SÁNCHEZ-TAPIA, A., & STEHMANN, J. R. 2012. Reassessment of the extinction risk of endemic species in the Neotropics: how can modelling tools help us. *Natureza & Conservação*, 10(2), 191-198.

KLAHRE, U., GURBA, A., HERMANN, K., SAXENHOFER, M., BOSSOLINI, E., GUERIN, P. M., & KUHLEMEIER, C. 2011. Pollinator choice in *Petunia* depends on two major genetic loci for floral scent production. *Current Biology*, 21(9): 730-739.

KOKUBUN, H., NAKANO, M., TSUKAMOTO, T., WATANABE, H., ASHIMOTO, G., MARCHESI, E. & ANDO, T. 2006. Distribution of self-compatible and self-



incompatible populations of *Petunia axillaris* (Solanaceae) outside Uruguay. *Journal of plant research*, 119(5): 419-430.

KRUCKEBERG, A. R.; RABINOWITZ, D. 1985. Biological aspects of endemism in higher plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 447-479.

LINSLEY, E.G. 1958. The ecology of solitary bees. *Hilgardian* 27: 543-599.

MAÊDA, J.M. 1985. Manual para uso da câmara de Neubauer para contagem de pólen em espécies florestais. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MICHENER, C. D. 1979. Biogeography of the bees. *Annals of the Missouri botanical Garden*, 277-347.

PEITSCH, D., FIETZ, A., HERTEL, H., SOUZA, J., VENTURA, D.F. & MENZEL, R. 1992. The spectral input systems of hymenopteran insects and their receptor-based colour vision. *Journal of Comparative Physiology A* 170(1): 23-40.

PINTO, C. E., OLIVEIRA, R. & SCHLINDWEIN, C. 2008. Do consecutive flower visits within a crown diminish fruit set in mass-flowering *Hancornia speciosa* (Apocynaceae)? *Plant Biology* 10:408–412.

ROUBIK, D.W. 1989. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge, University Press.

ROUBIK, D. W. 1993. Tropical pollinators in the canopy and understory: field data and theory for stratum “preferences”. *Journal of Insect Behavior*, v. 6, n. 6, p. 659-673.

SCHLINDWEIN, C. & WITTMANN, D. 1997. Stamen movements in flowers of *Opuntia* (Cactaceae) favour oligolectic pollinators. *Plant Systematics and Evolution* 204: 179-193.

SCHLINDWEIN, C. 2004. Are oligolectic bees always the most effective pollinators? In Freitas BM, Pereira JOP (eds) Solitary bees. Conservation, rearing and management for pollinators. Fortaleza, Imprensa Universitária, 285p.

SCHLINDWEIN, C., WESTERKAMP, C., CARVALHO, A.T. & MILET-PINHEIRO, P. 2014. Visual signalling of nectar-offering flowers and specific morphological traits

favour robust bee pollinators in the mass-flowering tree *Handroanthus impetiginosus* (Bignoniaceae). Botanical Journal of the Linnean Society, 2014, **176**, 396–407.

STEHMANN, J.R. 1999. Estudos taxonômicos na tribo Nicotianeae (Solanaceae): revisão de *Petunia* Jussieu, das espécies brasileiras de *Calibrachoa* La Llave & Lexarza e o estabelecimento do novo gênero *Petuniopsis* Stehmann & Semir. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

STEHMANN, J.R. & SEMIR, J. 2001. Biologia reprodutiva de *Calibrachoa elegans* (Miers) Stehmann & Semir (Solanaceae). Revta brasil. Bot., São Paulo, V.24, n.1, p.43-49.

STEHMANN, J.R., LORENZ-LEMKE, A.P., FREITAS, L.B. & SEMIR, J. 2009. The genus *Petunia*. In: Gerats T & Strommer J (eds) *Petunia Evolutionary, Developmental and Physiological Genetics*, 2ed, Springer, New York, pp 1-28.

STUURMAN, J., HOBALLAH, M. E., BROGER, L., MOORE, J., BASTEN, C & KUHLEMEIER, C. 2004. Dissection of Floral Pollination Syndromes in *Petunia*. *Genetics* 168: 1585–1599.

WIJSMAN, H.J.W. & JONG, J.H. 1985. On the interrelationships of certain species of *Petunia*. IV. Hybridization between *P. linearis* and *P. calycina* and nomenclatorial consequences in the *Petunia* group. *Acta Bot Neerl* 34:337-349.

WIJSMAN, H.J.W. 1990. On the inter-relationships of certain species of *Petunia* VI. New names for the species of *Calibrachoa* formerly included into *Petunia* (Solanaceae). *Acta Bot Neerl* 39:101-102.

WILMS, W., IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. & ENGELS, W. 1996. Resource partitioning between highly eusocial bees and possible impact of the introduced Africanized honey bee on native stingless bees in the Brazilian Atlantic Rainforest. *Studies on Neotropical Fauna & Environment* 31: 137–151.

WITTMANN, D., RADTKE, R., CURE, J. R. & SCHIFINO-WITTMANN, M. T. 1990. Coevolved reproductive strategies in the oligolectic bee *Callonychium petuniae*

(Apoidea, Andrenidae) and three purple flowered *Petunia* species (Solanaceae) in southern Brazil. *Z. zool. Syst. Evolut.-forsch.* 28:157-165.

## CAPÍTULO II

**Comportamento de forrageamento de *Pseudagapostemon fluminensis*  
(Schrottky, 1911) em flores de *Petunia mantiqueirensis* (Solanaceae)  
na Serra da Mantiqueira, Minas Gerais**

## RESUMO

*Pseudagapostemon fluminensis* (Schrottky, 1911) (Halictidae) é o principal polinizador de *Petunia mantiqueirensis* (Solanaceae) uma espécie endêmica da Serra da Mantiqueira, Brasil e ameaçada de extinção. Apesar de ser uma abelha polilética, apresenta uma interação especializada com *P. mantiqueirensis*. Para caracterizar o comportamento de forrageio de pólen por fêmeas de *P. fluminensis* examinamos sua fidelidade à manchas de flores, frequência de primeiras visitas florais, revisitas florais e inspeção florais. O estudo foi realizado em outubro e novembro de 2015. Em uma mancha de *Petunia mantiqueirensis*, acompanhamos as atividades de fêmeas de *P. fluminensis* nas flores, a fim de determinar a estratégia de forrageio adotada por elas. Para isso, fêmeas foram marcadas individualmente. O monitoramento da mancha de observação revelou que 28 % das fêmeas marcadas retornaram a mancha durante vários dias. As fêmeas diferiram quanto à sua fidelidade, frequência de primeiras visitas florais, revisitas e inspeções florais. Ao buscar por pólen, fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* podem empregar diferentes comportamentos de forrageio que influenciam na sua eficiência de coleta. A fidelidade à mesma mancha de flores de *P. mantiqueirensis* foi determinante em se alcançar maiores quantidades de pólen.

**Palavras-chave:** Comportamento animal, forrageamento ótimo, coleta de pólen.

## INTRODUÇÃO

A Teoria do forrageamento ótimo, proposta na década de 1960, prediz que os animais forrageiam de modo a maximizar sua aptidão (MacArthur & Pianka, 1966; Emlen, 1966). Com base nessa teoria, muitos estudos vêm tentando explicar e prever como os animais devem se comportar na busca de maior ganho energético possível por unidade de tempo (Charnov, 1976; Pyke *et al.*, 1977; Wells & Wells, 1986; Lihoreau *et al.*, 2010). Tais estudos assumem que as variações nos comportamentos de forrageio são hereditárias e susceptíveis a ação da seleção natural (MacArthur & Pianka, 1966).

A eficiência de um forrageador pode ser influenciada por diversos fatores como, tamanho (Spaethe *et al.*, 2000) e experiência do indivíduo (Chittka & Thomson, 1997), distribuição e disponibilidade dos recursos alimentares (Pyke *et al.*, 1977) e competição por recursos (Belovsky, 1997). Uma das maneiras de maximizar o forrageamento é o desenvolvimento de fidelidade a um local de forrageio, através de retornos e reutilização das mesmas áreas de forrageio (MacArthur & Pianka, 1966; Arthur *et al.*, 2015).

Por sua vez, polinizadores escolhem seu local de forrageamento e sua fonte de recursos de acordo com a disponibilidade e atratividade dos recursos florais (Heinrich, 1975; Roubik 1989), visto que há uma grande variedade de fontes de recursos disponíveis. Abelhas podem aprender os locais mais atrativos e retornar para essas plantas na expectativa de recompensas (Thomson *et al.*, 1997; Makino & Sakai, 2007). Estudos relatam que operárias de *Bombus* (Apidae) visitam mais frequentemente plantas gratificantes (Thomson, 1988; Cartar, 2004) e evitam plantas intensivamente visitadas por outras abelhas (Thomson *et al.*, 1987; Makino & Sakai, 2005). Ao aprender os locais de plantas rentáveis, abelhas podem evitar perdas de tempo e energia ao visitar plantas menos rentáveis e, assim, forragear eficientemente. Neste contexto, a fidelidade ao local de forrageio pode beneficiar indivíduos familiares com os recursos além de reduzir a predação.

De maneira geral, comportamentos de forrageamento de recursos florais, principalmente néctar, são bem descritos em abelhas sociais, como *Apis mellifera* (Ribbands, 1949; Kacelnick *et al.* 1986; Wells & Wells, 1986; Camazine, 1993) e algumas espécies de *Bombus* (Manning, 1956; Thomson *et al.*, 1982, 1987; Comba,

1999; Ohashi & Thomson, 2009). No entanto, estudos de forrageamento em abelhas solitárias são muito raros (Janzen, 1971; Ackerman *et al.*, 1982).

*Pseudagapostemon fluminensis* (Schrottky, 1911) (Halictidae) é o principal polinizador de *Petunia mantiqueirensis* (Solanaceae) uma espécie endêmica da Serra da Mantiqueira, Brasil, ameaçada de extinção (Capítulo I). Apesar de ser uma abelha polilética, apresenta uma interação especializada com *P. mantiqueirensis*: as fêmeas adotam um comportamento de coleta de pólen eficiente em *P. mantiqueirensis* com qual elas garantem a primeira visita floral em flores cheias de pólen em qualquer horário do dia. As flores dessa planta abrem, sobretudo pela manhã, mas não mostram um horário sincronizado de abertura das flores o que torna o momento de apresentação de pólen bastante imprevisível. Em todas as flores monitoradas dessa espécie, as fêmeas de *P. fluminensis* fizeram as três primeiras visitas florais o que lhes garante quase a totalidade do pólen, já que estas fêmeas removem mais que 85% do pólen já na primeira visita floral em *P. mantiqueirensis* (Capítulo I). Além disso, são polinizadores efetivos, e os visitantes florais mais frequentes ao longo da floração em vários anos. No entanto, o comportamento adotado pelas fêmeas para garantir uma alta eficiência de coleta de pólen não é conhecido.

Neste estudo, avaliamos o comportamento de forrageio de *P. fluminensis* em flores de *Petunia mantiqueirensis* e focamos nas seguintes questões: (1) Quais as características de comportamento de forrageio de *P. fluminensis* em flores de *Petunia mantiqueirensis*? (2) Fêmeas diferem quanto à sua eficiência de coleta de pólen?

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Local de estudo**

### **Local de estudo**

O estudo foi realizado em uma área rural, nos municípios de Camanducaia e Gonçalves, situados na Serra da Mantiqueira no sul do estado de Minas Gerais (S22° 42.494' W45° 56.536'). O trabalho de campo foi realizado em outubro e novembro de 2015. O local de estudo está situado na Área de Proteção Ambiental (APA) Fernão Dias, a 1750 metros de altitude, onde predomina Floresta Ombrófila Mista (Floresta

com Araucária). As temperaturas médias mensais no período do estudo variaram de 10°C a 23°C (Agritempo, 2016). O clima é úmido ao longo do ano e a média mensal de precipitação foi de 95 mm nos período do estudo (Agritempo, 2016). Na região capões de mata nativa intercalam-se com áreas cultivadas e pastagens.

### **Espécies estudadas**

*Petunia mantiqueirensis* é uma erva procumbente, podendo apresentar ramos ascendentes que se apoiam à vegetação arbustiva crescendo ao seu redor. As plantas ocorrem em locais com solo úmido e parcialmente sombreados, em áreas com Floresta com Araucária (*Araucaria angustifolia*, Araucariaceae) em Minas Gerais, Brasil. Assim como a maioria das outras espécies melitófilas de *Petunia*, apresenta corola chamativa com coloração magenta O tubo floral é branco com nervuras púrpuras (Ando & Hashimoto, 1994) e o pólen é azul. É a espécie que apresenta as plantas mais altas do gênero, e seus ramos podem atingir até quatro metros de altura (Ando & Hashimoto, 1994). A espécie é rara (Kruckeberg & Rabinowitz 1985), e apresenta distribuição restrita com populações pequenas. Desta maneira foi classificada como espécie ameaçada de extinção (Kamino *et al.* 2012; Fundação Biodiversitas, 2010; CNCFlora, 2014).

*Pseudagapostemon* Schrottky é um gênero da família Halictidae que possui 25 espécies descritas (Michener, 2007). Suas espécies apresentam distribuição Neotropical, ocorrendo exclusivamente na América do Sul, do norte do Brasil ao Chile e Argentina (Michener, 2007; Cure, 1989). O gênero é composto por três subgêneros bem definidos, *P. (Brasilagapostemon)* Moure e Sakagami, *P. (Neagapostemon)* Cure e *P. (Pseudagapostemon)* Schrottky. No subgênero *P. (Brasilagapostemon)*, destaca-se como espécie tipo *P. fluminensis* (Schrottky, 1911), que ocorre em Minas Gerais, São Paulo e Paraná e no local do estudo constitui o principal polinizador de *P. mantiqueirensis* (Fig. 1).





Figura 1. Flores de *Petunia mantiqueirensis* e visitas florais de *Pseudagapostemon fluminensis*.

### Comportamento de forrageio de pólen

O comportamento de forrageio de pólen por fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* foi caracterizado quanto (1) sua fidelidade à manchas de flores, que indica durante quantos dias uma abelha marcada retorna à mesma mancha de flores; (2) frequência de primeiras visitas florais; (3) revisitas florais, que indica quantas vezes ao dia uma abelha marcada visita uma mesma flor, e (4) inspeção floral. Inspeção floral foi quando a abelha paira em frente à flor, podendo tocar a corola por um instante (menos que 3 seg.), mas não pousando no limbo das pétalas ou no centro da flor. Nas inspeções, as abelhas nunca contataram anteras e estigma.

Em uma mancha de *Petunia mantiqueirensis*, acompanhamos as atividades de fêmeas de *P. fluminensis* nas flores, a fim de determinar a estratégia de forrageio adotadas por elas. O monitoramento das fêmeas foi realizado durante 14 dias não consecutivos, em dias ensolarados, entre 08:00 e 15:00 horas. Para isso, 24 fêmeas foram marcadas individualmente no mesossoma com código de cores, utilizando-se tintas coloridas Revell (© 2012 Revell GmbH & Co. KG, Bünde, Nordrhein-Westfalen, Germany). As abelhas foram acondicionadas por cerca de 5 minutos à baixa temperatura em uma caixa de isopor até alcançarem um estado de torpor. As fêmeas foram marcadas ao longo das observações. Quando apareceram fêmeas não marcadas, estas foram removidas temporariamente e marcadas. Na mancha, todas as flores abertas por dia foram marcadas.

A eficiência de uma fêmea foi definida como a frequência com qual ela coleta o pólen de flores novas, considerando a primeira-visita equivalente ao pólen ganho desta

flor, já que a fêmea de *P. fluminensis* remove 86% do pólen, durante a primeira visita a uma flor (Capítulo I).

Para avaliar a relação dos comportamentos adotados pelas fêmeas, como inspeções e revisitas, e certos parâmetros do forrageio, como intervalos de revisitas com a frequência de primeiras visitas, foi utilizada o Coeficiente de Correlação de Spearman ( $r_s$ ). Consideramos apenas as fêmeas que retornaram à mancha pelo menos um dia. As análises foram feitas no software Statistica 7.0.

## **RESULTADOS**

### **Caracterização da mancha de flores**

Na mancha de *Petunia mantiqueirensis* estudada estiveram abertas, em média,  $29,2 \pm 10,1$  flores por dia durante os 14 dias de observação, dentre essas, em média  $8,1 \pm 2,8$  eram novas (amplitude: 5 a 12 flores).

### **Comportamento de forrageio de *Pseudagapostemon fluminensis***

#### **Fidelidade à área de forrageio**

Foram marcadas 24 fêmeas de *P. fluminensis* com códigos individuais. O monitoramento da mancha de observação revelou que 11 indivíduos (28 %) retornaram a esta mancha entre cinco e 13 dias. Sete fêmeas marcadas não foram revistas na mancha (Fig. 2).

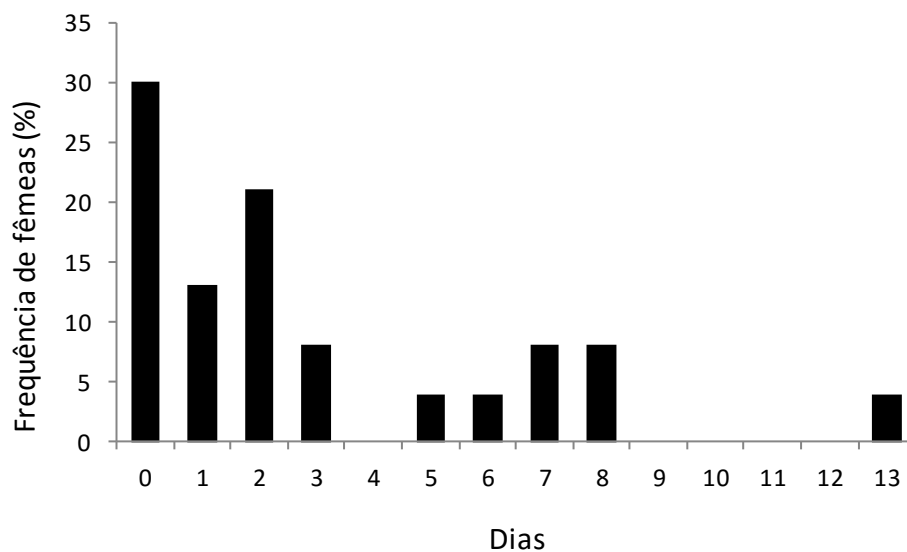


Figura 2. Fidelidade de fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* individualmente marcadas à uma mancha de flores de *Petunia mantiqueirensis* para forrageio de pólen.

### Revisitas florais

As fêmeas diferiram quanto à sua frequência de visitas florais diárias na mesma mancha. Os visitantes revisitaram a mancha de uma a 11 vezes por dia ( $3,3 \pm 2,3$ ) ao longo dos 14 dias de observações. O intervalo médio de revisitas à mancha variou de 10 a 222 minutos ( $40,9 \pm 41,8$  minutos). Em 30% dos casos, as revisitas à mancha ocorreram nos 10 minutos após a visita anterior e em 23% as revisitas ocorreram após 60 minutos.

### Eficiência no forrageio de pólen

Entre as fêmeas marcadas, a variação na frequência média de primeiras visitas por dia foi entre 0 e 28% (Fig. 3).

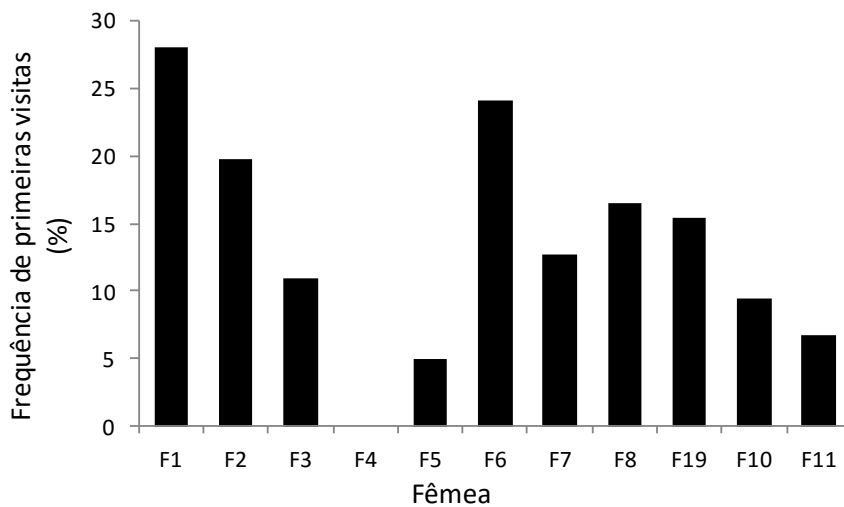


Figura 3- Frequência da primeira visita após início de antese em flores de *Petunia mantiqueirensis* realizadas por fêmeas individualmente marcadas de *Pseudagapostemon fluminensis*.

Em relação ao comportamento de busca por recursos, o número médio de inspeções florais por fêmea variou entre 0,5 e 8,5 por dia (Fig. 4).

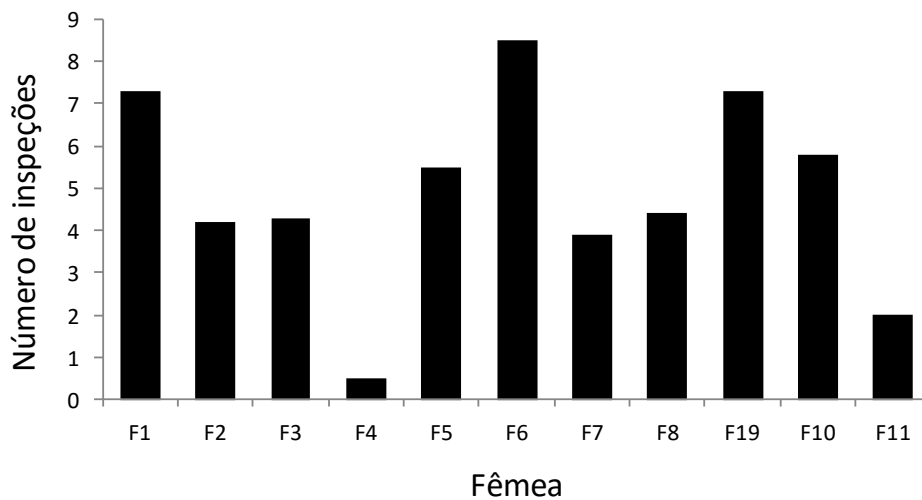


Figura 4- Número médio de inspeções realizadas por fêmeas individuais de *Pseudagapostemon fluminensis* a flores de *Petunia mantiqueirensis*.

Houve uma forte correlação entre a eficiência das fêmeas e a fidelidade ( $r_s=0,93$ ;  $p<0,001$ ) (Fig. 5), indicando que aquelas fêmeas mais fiéis à mesma mancha foram as mais eficientes na coleta de pólen em *P. mantiqueirensis*. Elas fizeram o maior número de primeiras visitas às flores. No entanto, embora não significativas, observou-se clara

tendência positiva na relação entre eficiência e número médio de revisitas a flores ( $r_s=0,59$ ;  $p>0,05$ ;  $N=11$ ) e eficiência e número médio de inspeções ( $r_s=0,42$ ;  $p>0,05$ ;  $N=11$ ).

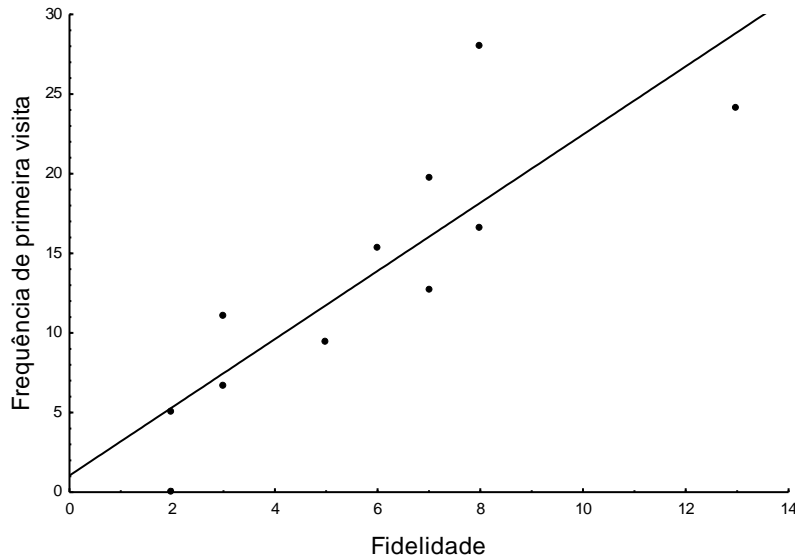


Figura 5. Relação entre a fidelidade das fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* e a frequência de primeiras visitas realizadas ( $r_s=0,93$ ;  $p<0,001$ ;  $N=11$ ).

## DISCUSSÃO

Neste estudo demonstramos que, ao buscar por pólen, fêmeas de *Pseudagapostemon fluminensis* podem empregar diferentes comportamentos de forrageio que influenciam na sua eficiência de coleta. A fidelidade à mesma mancha de flores de *P. mantiqueirensis* foi determinante em se alcançar maiores quantidades de pólen. O fenômeno da fidelidade ao sítio de coleta pode ser considerado adaptativo à medida que ao retornarem à mesma mancha, as fêmeas aprendem a reconhecer as mais rentáveis em termos de oferta de recurso (Wells & Wells, 1986; Williams & Thomson, 1998; Ohashi *et al.*, 2008). Ao acumular experiência de forrageio, fêmeas mais fiéis adquirem a capacidade de ajustar seu comportamento de forrageio à dinâmica de oferta do seu principal recurso polínico. Abelhas inexperientes de *Bombus*, por exemplo, empregam o tamanho da planta e informações sobre idade ou estágio de desenvolvimento das flores ao escolher que plantas visitar e quando partir para outra mancha de flores (Makino & Sakai, 2007). Abelhas experientes dispõem da mesma informação disponível para as ingênuas, mas adicionalmente dispõem das baseadas na sua

experiência anterior. Fêmeas de *P. fluminensis* podem inspecionar um número elevado de flores, antes de iniciar as visitas. Através desse comportamento, a fêmea pode adquirir experiência e distinguir as flores rentáveis, despendendo menos energia e tempo nas próximas visitas às manchas.

Polinizadores podem variar individualmente quanto a várias características do seu forrageio, incluindo preferências por manchas de flores, velocidade de deslocamento entre as manchas e eficiência de manuseio das flores. As marcações individuais de fêmeas de *P. fluminensis* mostraram a existência de variação intrapopulacional na eficiência de forrageamento entre as fêmeas em relação à fidelidade, revisitas e inspeções às flores.

Para nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que quantifica e relaciona o emprego de diferentes comportamentos de forrageio com a eficiência de coleta de pólen em abelhas solitárias. Como pólen é um recurso crítico para produção da prole, em estudos futuros seria interessante verificar o efeito dessas variações comportamentais individuais no número médio de células de cria provisionadas por uma fêmea. Apenas desta forma saberemos os efeitos desse comportamento no sucesso reprodutivo das fêmeas.

## REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, J. D., MESLER, M. R., LU, K. L., & MONTALVO, A. M. 1982. Food-foraging behavior of male Euglossini (Hymenoptera: Apidae): vagabonds or trapliners?. *Biotropica*, 241-248.
- AGRITEMPO - Sistema de monitoramento agrometeorológico. 2016. Disponível em:< <https://www.agritempo.gov.br/agritempo/index.jsp>>. Acesso em: 15 de Fev. 2016.
- ANDO, T. & HASHIMOTO, G. 1994. A new Brazilian species of *Petunia* (Solanaceae) from the Serra da Mantiqueira. *Brittonia*, 46(4): 340-343.
- ARTHUR, B., HINDELL, M., BESTER, M., TRATHAN, P., JONSEN, I., STANILAND, I. & LEA, M. A. 2015. Return customers: foraging site fidelity and the effect of environmental variability in wide-ranging Antarctic fur seals. *PloS one*, 10(3), e0120888.
- BELOVSKY, G. E. 1997. Optimal foraging and community structure: the allometry of herbivore food selection and competition. *Evolutionary Ecology*, 11(6), 641-672.
- CAMAZINE, S. 1993. The regulation of pollen foraging by honey bees: how foragers assess the colony's need for pollen. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32(4), 265-272.
- CARTAR, R.V. 2004. Resource-tracking by bumble bees: responses to plant-level differences in quality. *Ecology*. 85:2764–2771.
- CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DA FLORA, 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/>. Acesso em: 10 de Fev. 2016.
- CHARNOV, E. L. 1976. Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical population biology*, 9(2), 129-136.
- CHITTKA, L., & THOMSON, J. D. 1997. Sensori-motor learning and its relevance for task specialization in bumble bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 41(6), 385-398.

- COMBA, L. 1999. Patch use by bumblebees (Hymenoptera Apidae): temperature, wind, flower density and traplining. *Ethology Ecology & Evolution*, 11(3), 243-264.
- CURE, J. R. 1989. Revisão de *Pseudagapostemon* Schrottky e descrição de *Oragapostemon*, gen. n. (Hymenoptera, Halictidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 33, n. 2, p. 229-335.
- EMLEN, J. M. 1966. The role of time and energy in food preference. *Am. Nat.*, 100: 61-167.
- FUNDAÇÃO BIODIVERSITAS. 2010. Lista da flora brasileira ameaçada de extinção. Disponível em: [http://www.biodiversitas.org.br/listas-mg/lista\\_floramg.asp](http://www.biodiversitas.org.br/listas-mg/lista_floramg.asp). Acesso em: 03 de Nov. 2015.
- JANZEN, D. H. 1971. Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. *Science*, 171(3967), 203-205.
- HEINRICH, B. 1975. Energetics of pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics* 6: 139–170.
- KACELNIK, A., HOUSTON, A. I., & SCHMID-HEMPEL, P. 1986. Central-place foraging in honey bees: the effect of travel time and nectar flow on crop filling. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 19(1), 19-24.
- KAMINO, L. H. Y., SIQUEIRA, M. F., SÁNCHEZ-TAPIA, A., & STEHMANN, J. R. 2012. Reassessment of the extinction risk of endemic species in the Neotropics: how can modelling tools help us. *Natureza & Conservação*, 10(2), 191-198.
- KRUCKEBERG, A. R.; RABINOWITZ, D. 1985. Biological aspects of endemism in higher plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 447-479.
- LIHOREAU, M., CHITTKA, L., & RAINE, N. E. (2010). Travel optimization by foraging bumblebees through readjustments of traplines after discovery of new feeding locations. *The American Naturalist*, 176(6), 744-757.
- MACARTHUR, R. H., & PIANKA, E. R. 1966. On optimal use of a patchy environment. *American Naturalist*, 603-609.



- MAKINO, T. T., & SAKAI, S. 2005. Does interaction between bumblebees (*Bombus ignitus*) reduce their foraging area?: bee-removal experiments in a net cage. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 57(6), 617-622.
- MAKINO, T. T., OHASHI, K., & SAKAI, S. 2007. How do floral display size and the density of surrounding flowers influence the likelihood of bumble bee revisitation to a plant?. *Functional Ecology*, 21(1), 87-95.
- MANNING, A. 1956. Some aspects of the foraging behaviour of bumble-bees. *Behaviour*, 9(1), 164-200.
- MICHENER, C.D. 2007. *The bees of the world*. Baltimore, MD: Johns Hopkins University Press.
- OHASHI, K., LESLIE, A., & THOMSON, J. D. 2008. Trapline foraging by bumble bees: V. Effects of experience and priority on competitive performance. *Behavioral Ecology*, 19(5), 936-948.
- OHASHI, K., & THOMSON, J. D. 2009. Trapline foraging by pollinators: its ontogeny, economics and possible consequences for plants. *Annals of Botany*, mcp088.
- PYKE, G. H., PULLIAM, H. R. & CHARNOV, E. L. 1977. Optimal Foraging: A Selective Review of Theory and Tests. *The Quarterly Review of Biology*, 52(2): 137-154.
- RIBBANDS, C. R. 1949. The foraging method of individual honey-bees. *The Journal of Animal Ecology*, 47-66.
- ROUBIK, D. W. 1989. *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press. 514p.
- SPAETHE, J., TAUTZ, J. & CHITTKA, L. 2000. Foraging economics in bumble bees: do larger bees do a better job? In *International Behavioral Ecology Congress, Zürich*, Abstract Volume, p.185.
- THOMSON, J.D. 1988. Effects of variation in inflorescence size and floral rewards on the visitation rates of traplining pollinators of *Aralia hispida*. *Evol Ecol*. 2:65–76.

THOMSON, J. D., MADDISON, W. P., & PLOWRIGHT, R. C. 1982. Behavior of bumble bee pollinators of *Aralia hispida* Vent.(Araliaceae). *Oecologia*, 54(3), 326-336.

THOMSON, J. D., PETERSON, S. C., & HARDER, L. D. 1987. Response of traplining bumble bees to competition experiments: shifts in feeding location and efficiency. *Oecologia*, 71(2), 295-300.

THOMSON, J.D., SLATKIN, M. & THOMSON, B.A. 1997. Trapline foraging by bumble bees: II. Definition and detection from sequence data. *Behav Ecol*. 8:199–210.

WELLS, H., & WELLS, P. H. 1986. Optimal diet, minimal uncertainty and individual constancy in the foraging of honey bees, *Apis mellifera*. *The Journal of Animal Ecology*, 881-891.

WILLIAMS, N. M., & THOMSON, J. D. (1998). Trapline foraging by bumble bees: III. Temporal patterns of visitation and foraging success at single plants. *Behavioral Ecology*, 9(6), 612-621.