

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

**A DINÂMICA DA POLINIZAÇÃO VIBRÁTIL EM DUAS ESPÉCIES DA
VEGETAÇÃO DE RESTINGA NO ESPÍRITO SANTO**

JÚLIA RIZZI RIGUETE

VILA VELHA
FEVEREIRO / 2014

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE ECOSISTEMAS

**A DINÂMICA DA POLINIZAÇÃO VIBRÁTIL EM DUAS ESPÉCIES DA
VEGETAÇÃO DE RESTINGA NO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

JÚLIA RIZZI RIGUETE

VILA VELHA
FEVEREIRO / 2014

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

R572d Riguete, Júlia Rizzi.

A dinâmica da polinização vibrátil em duas espécies da vegetação de restinga no Espírito Santo / Júlia Rizzi Riguete. – 2014.

35 f. : il.

Orientador: Dr. Ary Gomes da Silva.

Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecossistemas) - Universidade Vila Velha, 2014.

Inclui bibliografias.

1. Ornitofilia. 2. Biofísica. 3. Polinização vibrátil. 4. Restinga – Espírito Santo. 5. Geitonogamia. Silva, Ary Gomes da. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 581.09852

JÚLIA RIZZI RIGUETE

**A DINÂMICA DA POLINIZAÇÃO VIBRÁTIL EM DUAS ESPÉCIES DA
VEGETAÇÃO DE RESTINGA NO ESPÍRITO SANTO**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Ecossistemas, para a obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2014,

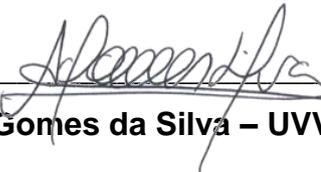
Banca Examinadora:



Profa. Dr. Jakeline Prata de Assis Pires – PUC Rio



Profa. Dr. Ana Carolina Srbek Araujo – UVV



Prof. Dr. Ary Gomes da Silva – UVV (Orientador)

Aos meus pais, pelo apoio e ajuda incondicional.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu querido orientador, Prof. Dr. Ary Gomes da Silva, a quem sou muito grata pela oportunidade de realizar este trabalho e por todo apoio, dedicação e paciência que sempre teve comigo. Obrigada por ter acreditado em mim e me incentivado sempre.

Ao professor Ernani Vassoler Rodrigues, pela orientação nos experimentos de biofísica da polinização e na confecção do oscilador.

Aos companheiros do Laboratório de Ecologia Funcional (LEF), que é pequeno apenas no tamanho. Obrigada por todos os momentos de descontração e aprendizado. Em especial a Drielle Pratte, Lorena Tereza e Anderson Bruno.

Aos meus pais, Antônio e Aurora, que me ajudaram ativamente neste trabalho, sacrificando horas de sono e alguns finais de semana comigo em campo, debaixo de sol ou chuva. Não há palavras pra dizer o quanto sou grata por tudo que vocês sempre fizeram e fazem por mim. Amo vocês.

Ao doutorando Luiz Carlos de Araújo por todas as caronas até a área de estudo e auxílio em campo.

A Tatiele dos Reis e Gabriela Perin pela ajuda em alguns procedimentos em laboratório.

A todos os professores do programa de mestrado em Ecologia de Ecossistemas que contribuíram pra minha formação acadêmica e profissional.

A todos meus colegas do programa, ecólogos ou futuros ecólogos.

A Fapes pelo apoio financeiro a esta pesquisa, sem o qual não seria possível minha permanência no mestrado.

A Universidade Vila Velha por toda a infra-estrutura que permitiu a realização deste trabalho.

Obrigado a todos que de alguma forma de ajudaram!!!

SUMÁRIO

RESUMO	2
ABSTRAT	3
Introdução	5
Material e Métodos	6
Resultados	11
Discussão	23
Conclusão	31
Referências	32

RESUMO

RIGUETE, Juia Rizzi, M. Sc., Universidade Vila Velha – ES, fevereiro de 2014. **A dinâmica da polinização vibrátil em duas espécies da vegetação de restinga no Espírito Santo.** Orientador: Ary Gomes da Silva.

A polinização vibrátil é resultado de uma longa história de coevolução e adaptação planta-polinizador, observada em algumas famílias de plantas, tais como Solanaceae, Melastomataceae e Fabaceae. Apesar da importância para os sistemas naturais e agrícolas, a polinização por vibração tem recebido atenção limitada, sendo a última revisão completa publicada há mais de 30 anos. No presente estudo pretende-se avaliar a demanda por serviços de polinização e a dinâmica da polinização vibrátil em *Gaylussacia brasiliensis*, que apresenta anteras flácidas e néctar, e *Bonnetia stricta*, com anteras pequenas conectadas a longos filetes e apenas pólen como recurso, para serem modelos presumíveis de polinização vibrátil de baixa demanda vibratória, ampliando a compreensão da polinização vibrátil realizável por transferência da vibração das asas de beija-flores. Parcelas foram implantadas na Área de Proteção Ambiental Paulo César Vinha, Espírito Santo, Brasil, para determinar a distribuição das espécies em escala macro e nos adensamentos, através do índice de dispersão de Morisita e Morisita Estandarizado. De cada indivíduo situado dentro das parcelas foi medido o diâmetro a nível do solo, a altura e as coordenadas, para determinar os perfis alométricos das populações. Testes foram feitos para determinar as estratégias reprodutivas das espécies, com o isolamento de botões em pré-antese com sacos de voil. Foram investigadas as características morfológicas e biologia floral das espécies, além do registro dos visitantes florais diretamente em campo. *G. brasiliensis* apresentou padrão de distribuição de agregados aleatórios e acúmulo de indivíduos nas classes de altura e diâmetro menores. *B. stricta*, apresentou distribuição agregada e nos adensamentos de forma aleatória, a estratificação não é evidente, contudo o diagrama de classes de diâmetros sugere que há diferentes pulsos reprodutivos. Ambas são espécies autocompatíveis, mas a autopolinização espontânea não ocorre, sendo a hercogamia entre as estruturas reprodutoras o provável fator que impede a autopolinização natural, necessitando de polinizadores para promover a fecundação. As frequências de vibrações que promovem a liberação do pólen são mais restrita em *G. brasiliensis*, o que restringe a gama de visitantes florais capazes de promover a liberação do pólen por vibração. Mesmo não vibrando *Augochloropsis cupreola* mostra-se como potencial agente polinizador em *G. brasiliensis*, pois corta a corola e ordenha o pólen das anteras.

Palavras chaves: ornitofilia, biofísica, polinização vibrátil, restinga, geitonogamia

ABSTRACT

RIGUETE, Julia Rizzi, M.Sc., University Vila Velha – ES, February 2014. **The dynamics of buzz pollination in two species of restinga vegetation in Espírito Santo.** Supervisor: Ary Gomes da Silva

The buzz pollination is the result of a long history of co-evolution and adaptation of plant-pollinator, observed in some plant families such as Solanaceae, Fabaceae and Melastomataceae. Despite the importance for natural and agricultural systems, the buzz pollination has received limited attention, being the last full revision published for over 30 years. The present study aims to assess the demand for pollination services and the dynamics of buzz pollination in *Gaylussacia brasiliensis*, which presents flaccid anthers and nectar, and *Bonnetia stricta*, with small anthers connected to long threads and only pollen as a resource, to be models suspected of buzz pollination low vibratory demand, expanding the understanding of realizable buzz pollination by transferring the vibration of the wings of hummingbirds. Plots were established in the Environmental Protection Area Paulo César Vinha, Espírito Santo, Brazil, to determine the distribution of species in macro scale and density, through the Morizita dispersion and Morisita Standardized. Each individual located within the plots was measured the diameter at ground level and the height and the coordinates to determine the Allometric distribution. Tests were done to determine the reproductive strategies of the species, with the isolation of buttons in pre-anthesis with voile bags. Morphological characters and floral biology of the species were investigated, as well as record of floral visitors directly in the field. *G. brasiliensis* showed the distribution pattern of random aggregates and accumulation of individuals classes in height and smaller diameter. *B. stricta*, showed aggregated distribution and high density of random stratification was not evident. However, the class diagram suggests that there are different diameters reproductive pulses. Both are self-compatible species, but the spontaneous self-pollination does not occur. The herkogamy between the reproductive structures are likely factor that impedes the natural pollination. Pollinators are need to promote fertilization. The frequencies of vibrations that promote pollen release are more restricted in *G. brasiliensis*, which constrains the range of floral visitors able to promote liberação pollen by vibration. Even not vibrating *Augochloropsis cupreola* shows up as a potential pollinator agent in *G. brasiliensis*, since cuts corolla and milking the pollen from the anthers.

Key words: ornithophily, biophysics, buzz pollination, sandbanks, geitonogamy

A dinâmica da polinização vibrátil em duas espécies da vegetação de restinga no Espírito Santo

J.R. Rigquete and A.G. Silva*

*Laboratório de Ecologia Funcional - Universidade Vila Velha (UVV), Rua Comissário José Dantas de Melo, 21, Boa Vista, 29102-770, Vila Velha, ES.

E-mail arygomes@uvv.br

Manuscrito apresentado nas normas da revista Integrative and Comparative Biology (JCR 3,023)

Synopsis The buzz pollination is the result of a long history of co-evolution and adaptation of plant-pollinator, observed in some plant families such as Solanaceae, Fabaceae and Melastomataceae. Despite the importance for natural and agricultural systems, the buzz pollination has received limited attention, being the last full revision published for over 30 years. In the present study aims to assess the demand for pollination services and the dynamics of buzz pollination in *Gaylussacia brasiliensis*, which presents flaccid anthers and nectar, and *Bonnetia stricta*, with small anthers connected to long threads and only pollen as a resource, to be models suspected of buzz pollination low vibratory demand, expanding the understanding of realizable buzz pollination by transferring the vibration of the wings of hummingbirds. Plots were established in the Environmental Protection Area Paulo César Vinha, Espírito Santo, Brazil, to determine the distribution of species in macro scale and density, through the Morizita dispersion and Morisita Standardized. Each individual located within the plots was measured the diameter at ground level and the height and the coordinates to determine the Allometric distribution. Tests were done to determine the reproductive strategies of the species, with the isolation of buttons in pre-anthesis with voile bags. Morphological characters and floral biology of the species were investigated, as well as record of floral visitors directly in the field. *G. brasiliensis* showed the distribution pattern of random aggregates and accumulation of individuals classes in height and smaller diameter. *B. stricta*, showed aggregated distribution and high density of random stratification was not evident. However the class diagram suggests that there are different diameters reproductive pulses. Both are self-compatible species, but the spontaneous self-pollination does not occur. The herkogamy between the reproductive structures are likely factor that impedes the natural pollination. Pollinators are need to promote fertilization. The frequencies of vibrations which promote pollen release are more restricted in *G. brasiliensis*, which constains the range of floral visitors able to

promote liberação pollen by vibration. Even not vibrating *Augochloropsis cupreola* shows up as a potential pollinator agent in *G. brasiliensis*, since cuts corolla and milking the pollen from the anthers.

Introdução

As anteras porcidas conferem maior proteção ao pólen e diminuem a sua perda, já que podem direcionar os grãos para o corpo do polinizador, além de limitar o espectro de visitantes florais, visto que, em princípio, só alguns grupos de abelhas são capazes de vibrar as anteras e promover a polinização vibrátil (Endress 1996). Da mesma forma que anteras porcidas se desenvolveram em grupos vegetais filogeneticamente independentes, o hábito vibrátil se desenvolveu em grupos de abelhas também filogeneticamente distintos, evidenciando que, apesar de ser um processo especializado de polinização, evolutivamente apresenta características de convergência ecológica (De Luca e Vallejo-Marín 2013).

De fato, a grande maioria das flores com antera porcidas são visitadas por abelhas capazes de produzir vibrações desencadeadas pelos músculos indiretos de vôo do tórax que são transmitidas às pernas e, durante a visita às flores, às anteras, fazendo com que o pólen seja liberado (Manente-Balestieri e Machado 1999). Esse comportamento é chamado de *buzz-pollination* ou polinização por vibração (Buchmann 1983) que ocorre, geralmente, em flores com anteras porcidas e que apresentam pólen como único recurso floral (Vogel 1978), sendo resultado de uma longa história de coevolução e adaptação planta-polinizador (Proença 1992).

Nos grupos que demandam a polinização vibrátil, as flores apresentam como características típicas: a antese diurna; a apresentação da corola com padrões contrastantes na faixa da luz visível e da ultravioleta; a presença de áreas de concentração de emissão de odor; os estames coloridos e vistosos; as anteras porcidas coniventes ao redor do estilete; e, os grãos de pólen são pequenos e leves, liberados por vibração mecânica direta. Além dessas características, grãos são lisos e sem adesivos lipídicos, facilitando a sua liberação. Esta combinação de características e deiscência porcida das anteras definem a síndrome de polinização por vibração (Buchmann 1983).

Este tipo de síndrome é associado a algumas Famílias de plantas, tais como Solanaceae, Melastomataceae e Fabaceae (Fenster et al. 2004) e apresentase de forma generalizada nas Angiospermas (Buchmann 1983). Contudo, apesar disto e da importância para os sistemas naturais e agrícolas, a polinização por vibração tem recebido atenção limitada, sendo a última revisão completa publicada há mais de 30 anos (Buchmann 1983; De Luca e Vallejo-Marín 2013).

Se por um lado a presença de anteras poricidas numa flor produz a expectativa da polinização vibrátil por abelhas, Araújo et al. (2011) incluíram beija-flores entre as espécies capazes de polinizar pela transferência de vibração do batimento de suas asas às anteras poricidas de *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn., numa área de cerrado do interior do Brasil. Este relato se reveste de grande importância, uma vez que, entre as espécies de beija-flores encontradas por aqueles autores como polinizadores, a frequência de vibração variava entre 30 e 60 Hz, cerca de metade da frequência mínima produzida por abelhas de grande porte, como as dos gêneros *Bombus* (Apidae:Apinae) e *Xylocopa* (Apidae:Anthophorinae) (De Luca e Vallejo-Marín 2013).

O presente trabalho objetiva avaliar comparativamente, a demanda por serviços de polinização determinados pela estrutura das populações e a morfologia e biologia florais, e a dinâmica da polinização vibrátil em *G. brasiliensis* (Spreng.) Meisn. (Ericaceae), por possuir anteras flácidas e néctar, e *Bonnetia stricta* (Nees) Nees ex Mart. (Bonnetiaceae), com anteras pequenas conectadas a longos filetes e apenas pólen como recurso, para serem modelos presumíveis de polinização vibrátil de baixa demanda vibratória, de modo a ampliar a compreensão da polinização vibrátil realizável por transferência da vibração das asas de beija-flores.

Materiais e Métodos

Área de Estudo

O estudo foi realizado na Área de Proteção Ambiental Paulo César Vinha (APA PCV) e no Parque Estadual Paulo Cesar Vinha (PEPCV), localizados entre a região nordeste do Município de Guarapari e o extremo sul do Município de Vila Velha/ES (20°35'04" S e 40°25'27" W), sendo a APA uma zona de amortecimento do Parque. As duas áreas apresentam 12.960 ha de extensão territorial, onde,

7.500 ha estão em ambiente terrestre e 5.460 ha em ambiente marinho, constituindo a maior APA e a primeira unidade de conservação do Espírito Santo a incluir o ambiente marinho (CEPEMAR 2007).

Dentre as diversas comunidades vegetais da restinga, foi escolhida a área de formação arbustiva aberta (*sensu* Pereira 2003), em função da facilidade de deslocamento e acessibilidade da vegetação. É característica marcante desta formação a presença de areia branca exposta e a vegetação distribuída em moitas de diferentes tamanhos e formas, com até oito metros de altura, intercaladas por espaços onde a cobertura vegetal é esparsa (Pereira 1990).

Estrutura Populacional

Para a análise do padrão espacial foram instaladas 50 parcelas de 100 m² entre os quilômetros 34 e 35 do lado Oeste da Rodovia do Sol, a ES-060, na APA PCV. As parcelas foram distribuídas de forma paralela e distando no mínimo 100 m da rodovia, alocadas em faixas contínuas englobando tanto a vegetação em moitas como as áreas de entre-moitas, perfazendo 5000 m² de área analisada. Sete parcelas de 4 x 4 m foram implantadas nos adensamentos das espécies, subdivididas em microparcelsas de 1 x 1 m, onde para todos os indivíduos amostrados foram registradas as coordenadas cartesianas métricas para localização dentro da parcela. O critério de inclusão dos indivíduos na amostragem foi o de enraizamento, independentemente do diâmetro no nível do solo (Brower et al. 1997, Krebs 1998).

Foram registradas a presença e o número de indivíduos das espécies estudadas em cada parcela. Os dados foram analisados a partir da aplicação do índice de dispersão de Morisita (IDM) e o índice de dispersão de Morisita Estandarizado (IDME), sendo que se IDM for razoavelmente menor do que um, a população apresenta padrão uniforme; maior que 1, o é padrão agregado; e, igual a 1, o padrão é aleatório. Quando o IDME for igual ou maior que 0,5, o padrão espacial é agregado, se for menor ou igual a - 0,5, o padrão é uniforme, e se o valor for intermediário, é aleatório. Os ajustes de distribuição de probabilidade de Poisson, binomial positiva e binomial negativa foram realizados para verificar a significância dos padrões espaciais: aleatório (Poisson), uniforme (binomial positiva) e agregado (binomial negativa). Os parâmetros utilizados para interpretação do padrão espacial dos indivíduos foram estimados pelo programa WinKrebs 7.0 (Krebs 1998).

Foram ainda calculadas a densidade (Da) e a dominância (Do) para ambas as espécies (Brower et al. 1997). Para as determinações alométricas, que permitem a estruturação etária das populações das espécies estudadas, foi registrado o diâmetro no nível do solo com paquímetro digital e a altura com uma trena. Os valores de altura e diâmetro foram logaritimizadas e confrontados por meio de gráfico de diagrama de dispersão e para analisar a estrutura vertical (altura) e horizontal (diâmetro) foram utilizados gráficos de barra com valores encontrados para as espécies (Krebs 1998).

Aspectos Morfológicos e Anatômicos das Espécies

Foram coletadas amostras das partes aéreas, sementes e partes subterrâneas das espécies estudadas. Além do material fresco, foram utilizadas amostras fixadas em FAA-50 e conservadas em álcool etílico 70° GL (Johansen 1940), adicionado em 20% de glicerina. Os estames e sementes foram diafanizados em hipoclorito de sódio a 2,5% por 12h e, em seguida, expostos a uma mistura de álcool 50% e glicerina a 20% (Smith 1968).

Biologia Floral

O horário de abertura das flores foi determinado por observações em campo e pelo monitoramento em laboratório de inflorescências coletados e mantidas em recipiente com água. Foram medidos o comprimento e a largura da corola e o comprimento dos órgãos reprodutivos.

A presença de néctar foi investigada nos horários de 3h00 as 6h00, 6h00 as 9h00, 9h00 as 12h00, 14h00 as 17h00, 19h00 as 22h00, em flores de 1º, de 2º e de 3º dia após a antese, observando se a produção de néctar é contínua. O néctar acumulado foi coletado em flores de segundo dia, previamente protegidas por sacolas de voil, com micropipetas de 5µL e 20 µL e a concentração foi medida no campo com refratômetro portátil. A receptividade do estigma foi determinada, pela atividade da catalase estigmática sobre H₂O₂ (van Fleet 1952) a 10 volumes, diluído de 1:9 em água destilada, em flores de diferentes estágios após a antese.

A eliminação de odor floral e estruturas secretoras de voláteis florais foram identificadas pelos testes do vermelho neutro (Vogel 1963). Para a avaliação experimental de concentração do odor, foram coletadas flores íntegras que foram em seguida acondicionadas em frascos hermeticamente fechados e incubadas a 4° C por 24 h.

Outras flores tiveram os verticilos isolados em frascos também hermeticamente fechados e incubados da mesma forma. Após 24 horas, os frascos foram abertos e submetidos ao teste organoléptico de olfação.

Para avaliar a presença de substância aglutinante do pólen foram observadas as alterações apresentadas desde a pré- até a pós-antese, utilizando o pólen eliminado pela compressão das anteras. A presença de monossacarídeos e de glicanas hidrolisáveis foi evidenciada pelos reativos de Fehling (Sass 1951). Para investigar a presença de mucilagem foi empregado o teste de higroscopicidade em meio a tinta da China (Costa 1972) e a caracterização das mucilagens pelas colorações com verde de metila, para as de origem celulósica, e com o vermelho de rutênio, para as de origem péctica (Jensen 1962).

Os processos de floração das duas espécies foram acompanhados em campo por dois anos, em excursões de frequência semanal no primeiro mês de atividade e espaçada para quinzenais nos seguintes meses.

Sistema Reprodutivo

Para as análises do sistema reprodutivo, flores foram marcadas para acompanhamento da produção de frutos em condições naturais. Nos tratamentos de polinização controla em campo, botões em pré-antese foram isolados com sacolas de voil, e quando abertos tiveram a corola parcialmente retirada, com o auxílio de uma pinça, para facilitar o acesso as estruturas reprodutivas. Posteriormente, foram submetidos aos experimentos reprodutivos para verificar a ocorrência de autopolinização espontânea, a partir de flores apenas ensacoladas sem nenhum tipo manipulação; autopolinização manual, onde as flores receberam o próprio pólen depositado manualmente no estigma; geitonogamia, onde receberam pólen de outra flor da mesma inflorescência; e, polinização cruzada, onde o pólen depositado em flores isoladas na área da PEPCV foi o de indivíduos localizados na APA PCV, garantindo que a transferência de pólen fosse entre indivíduos distintos, já que as espécies estudadas podem apresentar propagação vegetativa.

A ocorrência de fruto foi considerada como sucesso reprodutivo, visto que as flores eram reensacadas, não permitindo o acesso dos visitantes florais e polinizadores. As flores permaneceram assim até o final do experimento, 20 dias após a manipulação. Para a verificação da frutificação em condições naturais, botões em pré-antese foram marcados com linha colorida e depois de 15 dias o número de frutos foi contado. De ramos frutificados foi contada a relação do número de pedicelos, cicatrizes e frutos, cuja somatória estima o número de flores oferecidas para a polinização. O sucesso reprodutivo foi determinado pela razão entre número de frutos/somatório do número de pedicelos, cicatrizes e frutos. A propagação vegetativa subterrânea foi averiguada por escavação em torno de indivíduos que já estiver em floração.

A agamospermia espontânea foi testada mediante a emasculação dos botões, com prejuízo quase total do perianto, sendo posteriormente, ensacados. Como controle do processo de emasculação foram escolhidas e ensacadas outras flores não emasculadas, distribuídas nos mesmos ramos dos testes de agamospermia, com observação simultânea dos testes e dos controles.

Ecologia da Polinização

Para análise de atividade dos visitantes florais foram feitas observações diretas em campo, documentadas a partir de registro fotográfico e os visitantes identificados por especialista. Objetivando estimar a frequência de polinização natural durante uma florada, 30 flores em estágio de pós-antese foram aleatoriamente coletadas (Zar 2010). A dupla coloração pelo verde malaquita:fucsina ácida foi utilizada para avaliar a fertilidade do pólen (Alexander 1980).

Em laboratório e em campo foi simulada a indução de vibração para verificar a liberação de pólen das anteras. Para isso, foi utilizando um oscilador capaz de gerar frequências controladas, verificando a partir de qual intensidade de vibração há liberação de pólen das anteras nas diferentes espécies estudadas. O oscilador é composto por um alto-falante de duas polegadas de diâmetro, ligado a um conector de plug p2, para utilização em tocadores de som portáteis. Uma haste feita com três fios de arame de aço enrolados e rígidos e massa pequena o suficiente para que não influencie como amortecedor, foi colada ao cone do alto-falante com fita adesiva, com três pontos de apoio, em posições de separação angular igual a 120°, de maneira a fazer uma montagem igualmente distribuída.

O experimento consistiu em encaixar as pontas da haste de arame na flor, simulando o contato do polinizador, e emitir a onda sonora, em intervalos de 2 5Hz de um gradiente de 175 a 55 0Hz, provocando uma oscilação semelhante àquela provocada pelo inseto no ato da polinização. Enquanto a frequência da onda sonora era alterada, foi identificado para qual valor o vegetal liberou uma quantidade máxima de pólen, verificando se a liberação do pólen é uma função da frequência de vibração gerada pelo polinizador, no ato da polinização. O efeito da frequência oscilatória sobre a liberação de pólen foi testado a partir de regressão linear simpler (Zar 2010).

Resultados

Estrutura Populacional

Nas parcelas instaladas na APA PCV foram encontrados 248 indivíduos de *Gaylussacia brasiliensis*. As análises estatísticas indicaram uma distribuição do tipo aleatória (IDM = 0 IDME= - 0,029) e melhor ajuste de distribuição para Poisson ($\chi^2 = 48$; $p = 0,51$). Nas parcelas implantadas nos adensamentos foram encontrados 97 indivíduos apresentando padrão agregado (IDM= 6,43; IDME= 0,52) e melhor ajuste de distribuição para Binomial Negativa ($\chi^2 = 654,17$ e $p \ll 0,01$).

Para *Bonnetia stricta* na APA PCV foram encontrados 22 indivíduos com distribuição do tipo agregada, (IDM = 11,69; IDME= 0,6) e com melhor ajuste de distribuição para Binomial Negativa ($\chi^2 = 273,46$; $p \leq 0,01$). Nos adensamentos foram encontrados 45 indivíduos apresentando padrão aleatório (IDM= 0,897; IDME= - 0,084) e melhor ajuste de distribuição para Poisson ($\chi^2 = 105,47$; $p = 0,605$).

Assim, na área em estudo, a população de *G. brasiliensis* apresenta um padrão de agregados aleatórios, ou seja, com os adensamentos de indivíduos distribuídos de maneira aleatória. Para *B. stricta*, ao contrário, a população se apresenta em agregados de indivíduos aleatoriamente distribuídos em seus adensamentos.

Com relação a densidade e dominância, *G. brasiliensis* apresentou índices menores para os dois parâmetros ($D_a=0,0004 \text{ ind/m}^2$; $D_o= 0,000003 \text{ ind/m}^2$), quando comparados com os de *B. stricta* ($D_a=0,0044 \text{ ind/m}^2$; $D_o= 0,000039 \text{ ind/m}^2$) para a área de estudo.

O perfil alométrico observado no diagrama de dispersão mostra que tanto a população de *G. brasiliensis* (Fig. 1) quanto a de *B. stricta* (Fig. 2), não apresentam uma estratificação etária evidenciada por uma eventual segregação de grupos. Cabe ressaltar que na população de *B. stricta* foi evidenciado um indivíduo outlier quanto ao diâmetro de sua base em relação aos demais indivíduos da mesma classe de altura (Fig. 2). Ambas as populações apresentaram um ajuste que não difere significativamente do linear, indicando que é possível encontrar no ambiente indivíduos mais altos e de maior diâmetro que os amostrados, uma vez que não se aproximou da assíntota da curva.

Na população de *G. brasiliensis* (Fig. 3) a distribuição dos indivíduos em classes de altura reforçam a inexistência de estratificação etária. Este fato, associado a distribuição dos indivíduos em classes de diâmetro, demonstram um padrão de distribuição normal, com maior acúmulo de indivíduos nas classes iniciais, presumivelmente juvenis, e diminuição de frequências para os indivíduos de maior diâmetro, presumivelmente senis (Fig. 4).

Na população de *B. stricta*, apesar de não haver indicativos de uma estratificação (Fig. 2) e poder ser assumida uma única moda para classes de altura entre 90 e 100 cm (Fig. 5), seria possível identificar pelo menos duas outras em classes de alturas menores (Fig. 5). Quando são consideradas as classes de diâmetro dos indivíduos da população de *B. stricta*, o diagrama evidencia igualmente três modas (Fig. 6), sugerindo haver na população diferentes pulsos reprodutivos.

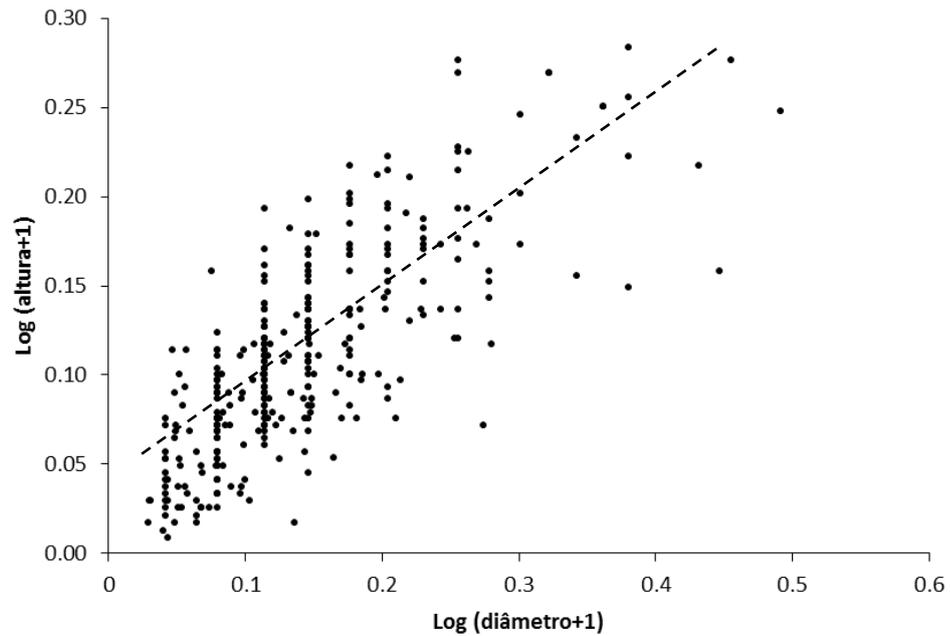


Fig. 1 Diagrama de dispersão das medidas alométricas de diâmetro e altura da população de *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn. na APA PCV, Guarapari, ES, com tendência de ajuste linear para quase todos os indivíduos amostrados (- - -).

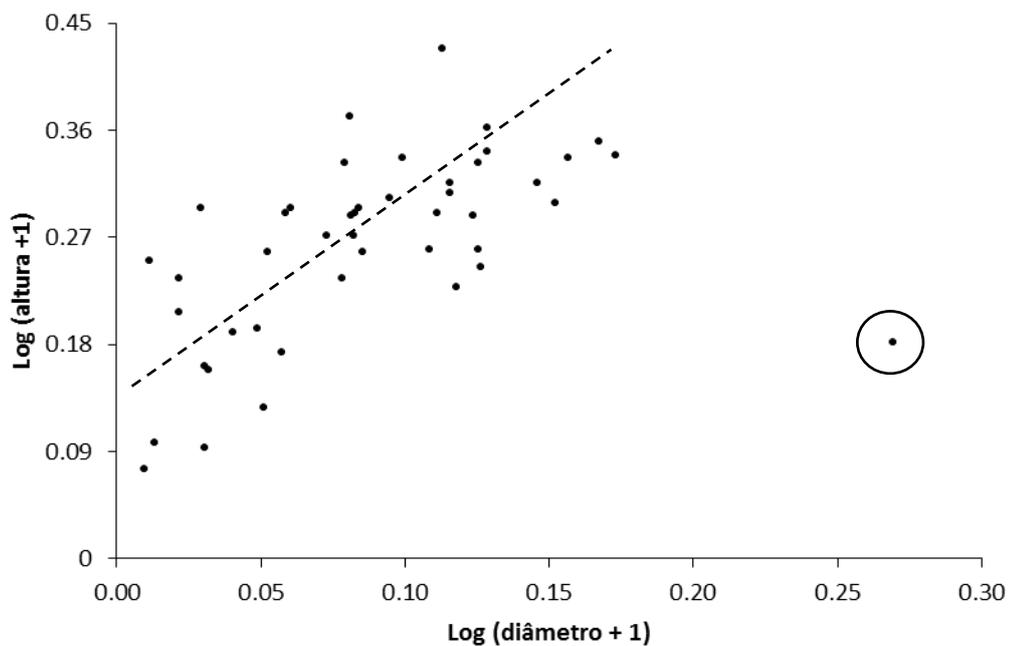


Fig. 2 Diagrama de dispersão das medidas alométricas de diâmetro e altura da população de *Bonnetia stricta* (Nerd) Nees ex Mart. na APA PCV, Guarapari, ES, com tendência de ajuste linear

para quase todos os indivíduos amostrados (- - -), a não ser para o circulado que apresentou um diâmetro desproporcionalmente maior que os demais indivíduos de sua mesma classe de alturas.

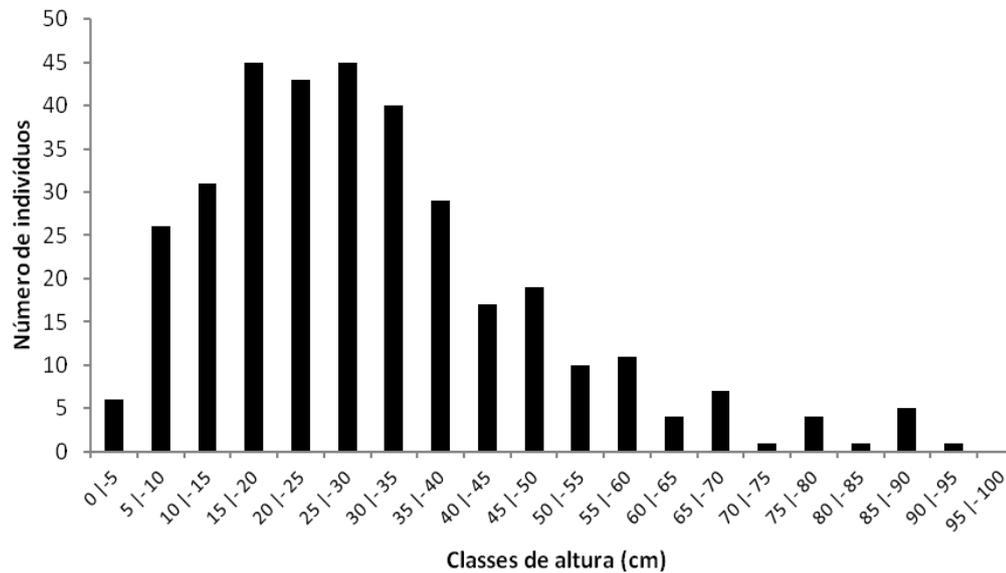


Fig. 3 Distribuição das classes de altura para os 345 indivíduos de *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn. amostrados na APA PCV, Guarapari, ES.

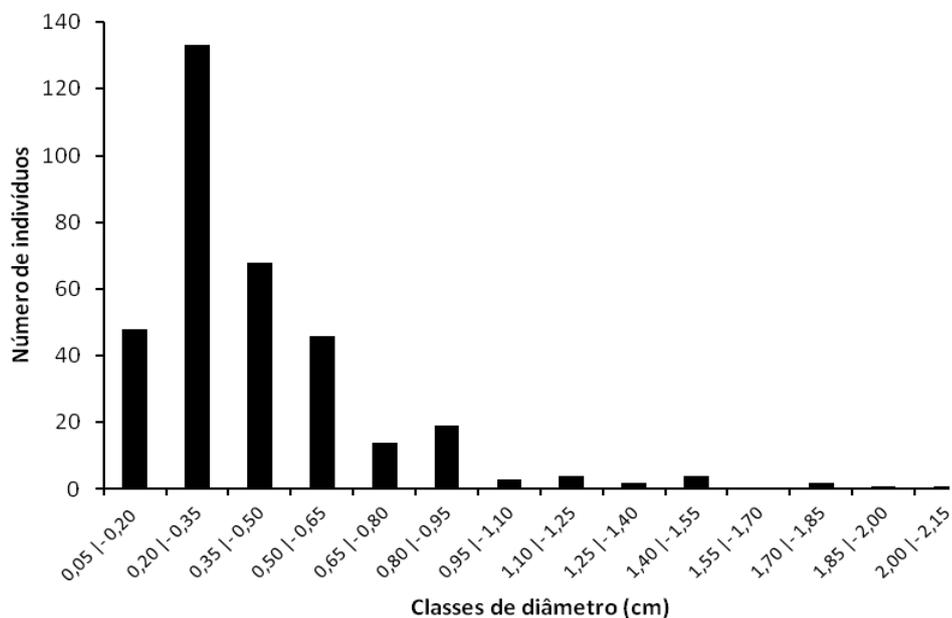


Fig. 4 Distribuição das classes de diâmetro para os 345 indivíduos de *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn. amostrados na APA PCV, Guarapari, ES.

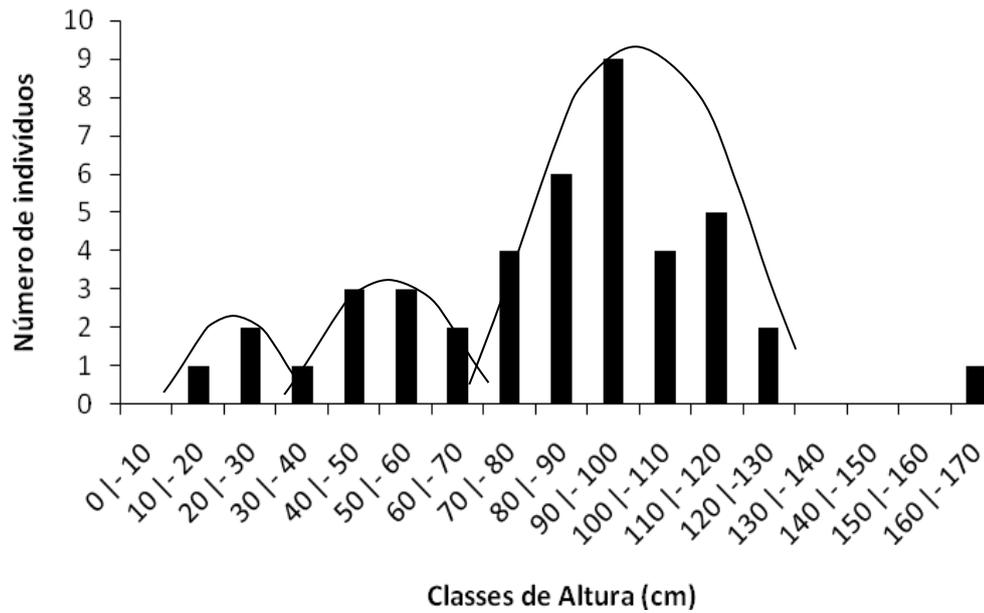


Fig. 5 Distribuição das classes de altura para os 45 indivíduos de *Bonnetia stricta* (Nees) Nees ex Mart. amostrados na APA PCV, Guarapari, ES.

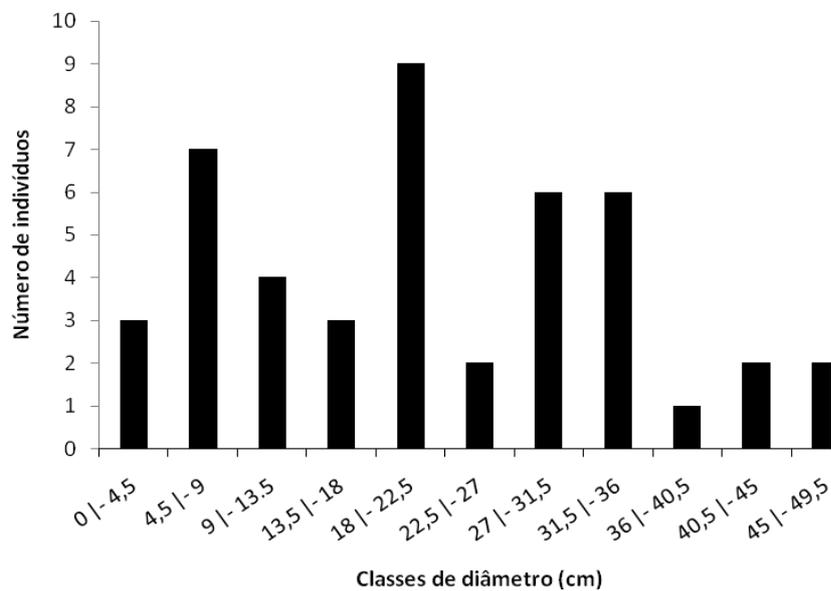


Fig. 6 Distribuição das classes de diâmetro para os 45 indivíduos de *Bonnetia stricta* (Nees) Nees ex Mart. amostrados na APA PCV, Guarapari, ES.

Aspectos Morfológicos e Anatômicos das Espécies

As flores de *G. brasiliensis* se apresentam em inflorescências apicais racemosas, com corola pentâmera urceolada pendente, de cor vermelha vinosa quando jovens e rosadas quando senis (Fig. 7a). A flor é perfeita e de simetria actinomorfa. O ovário é ínfero e possui um disco nectarífero desenvolvido no topo (Fig. 7b). Apresenta 10 estames com filetes arranjados ao redor do gineceu formando uma câmara nectarífera e anteras com abertura em poros apicais (Fig. 7c). O estigma secretor (Fig. 7d) é apical, ao nível da fauce da corola, enquanto as aberturas dos estames se localizam mais abaixo (Fig. 7e), no interior do tubo da corola, havendo uma separação espacial entre o estigma e as anteras. Os grãos de pólen são triaperturados e liberados na forma de tétrades (Fig. 7f). Os frutos são bagas carnosas e com várias sementes, apresentando cor preta quando maduros (Fig. 7g).

As flores de *B. stricta* se apresentam em inflorescências axilares cimosas, podendo ocorrer desde flores isoladas até inflorescências com tetrafloras (Fig. 8a). As flores são alvas e com a extremidade da face dorsal maculada em róseo, de corola pentâmera e patente. A flor é perfeita e de simetria zigomórfica. O androceu é poliândrico (Fig. 8b), com estames de filetes eretos amarelados (Fig. 8b) e com anteras bitecas róseas com conectivo membranáceo vermelho e deiscência apical e basal na forma de poros (Fig. 8c). O ovário é súpero e o gineceu é excêntrico, projetando-se em sentido divergente ao androceu, lageniforme e de coloração esverdeada (Fig. 8a). O estilete termina em três ramos, cada um com estigma apical triangular papiloso (Fig. 8d). Os grãos de pólen são tricolporados e liberados em mônades (Fig. 8e). Os frutos são cápsulas secas, rostradas e com deiscência descendente do tipo septifraga.

Biologia Floral, Sistema Reprodutivo e Ecologia da Polinização

A floração de *G. brasiliensis* é contínua durante o ano, enquanto a de *B. stricta* inicia-se em setembro, atingindo o pico entre novembro e janeiro, e finalizando entre o final de março e início de abril.

As flores de ambas as espécies se abrem pela manhã, em torno das 6h00 da manhã. As flores de *G. brasiliensis* permanecem abertas por três dias até secarem, enquanto as de *B. stricta* abrem de forma gradativa, estando completamente abertas de 40 minutos a 2 horas após a abertura da flor,

permanecendo assim até por volta das 17h00, quando a flor começa a fechar e depois de fechada a corola não mais volta a se abrir.

A presença de néctar em *G. brasiliensis* foi constante durante todo o tempo em que a flor estava aberta, não havendo extravasamento de néctar. A quantidade média de néctar coletado nas flores foi $2,050 \pm 0,573 \mu\text{L}$ (n= 19 flores) e com concentração média de $16,888 \pm 0,822$ (n=19 flores). A espécie apresentou estigma receptivo em flores de primeiro, segundo e terceiro dias.



Fig. 7 Morfologia floral de *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn.: (a) inflorescências com flores abertas e botões; (b) corte longitudinal de uma flor sem a corola; (c) poros apicais das anteras; (d) estigma secretor; (e) disposição do estígma, superior a altura da corola, e das aberturas das anteras, localizadas mais abaixo; (f) grãos de pólen triaperturados; e, (g) frutos verdes e maduros.

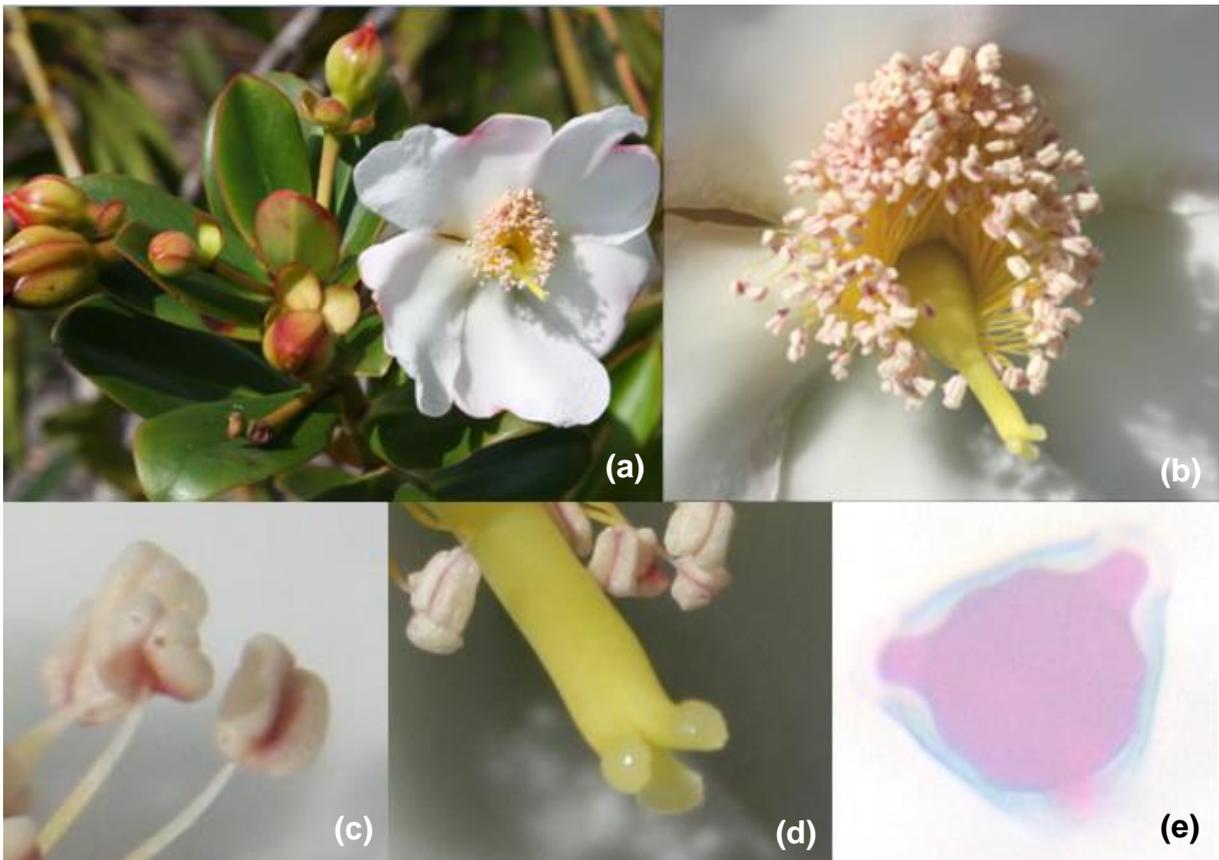


Fig. 8 Morfologia floral de *Bonnetia stricta* (Nees) Nees ex Mart.: (a) inflorescências com flore aberta e botões; (b) disposição do androceu poliândrico e do gineceu lageniforme que projeta-se em sentido divergente ao androceu; (c) anteras com poros apicais e basais; (d) estigma triangular papiloso no final de cada um dos três ramos do estilete; e, (e) grãos de pólen tricolporados.

Para *B. stricta* o estigma não se apresentou receptivo logo após o processo inicial de abertura da flor, mas, a partir do momento em que as pétalas separam-se, ele encontrou-se receptivo. Nos primeiros momentos após a abertura total da flor de *B. stricta*, quando as paredes das tecas ainda estavam flácidas, os grãos de pólen encontram-se agregados por uma mucilagem celulo-péctica. Quando as tecas tornaram-se enrijecidas, os grãos de pólen já não estavam aglutinados e podiam ser liberados por qualquer agitação, inclusive a provocadas pelo vento.

O pólen de *G. brasiliensis* não apresentou mucilagem, sendo facilmente liberado ao tocar-se nas flores logo após a antese. O teste de vermelho de neutro não revelou a presença de osmóforos em ambas as espécies. *G. brasiliensis* não apresentou odor, enquanto *B. stricta* eliminou de forma difusa odor suave, menos intensamente nas pétalas e de forma mais ativa nos estames.

As análises do sistema reprodutivo mostraram que em *G. brasiliensis* houve desenvolvimento do ovário e/ou a formação de fruto em todos os tratamentos, exceto no de autopolinização espontânea onde as inflorescências não apresentaram desenvolvimento da área do ovário ou formação de fruto, estando secos 20 dias depois do início do experimento (Tabela 1). Nas flores selecionadas para observações da reprodução em condições naturais também não houve sucesso reprodutivo. Sem a presença de visitantes florais, não há sucesso reprodutivo em condições naturais para nenhum dos sistemas testados em *Gaylussacia brasiliensis*.

Esse mesmo padrão foi observado para *Bonnetia stricta* (Tabela 2), onde houve autopolinização, porém esta não ocorreu de forma espontânea, sendo dependente de visitantes florais. Assim, *G. brasiliensis* e *B. stricta* são autocompatíveis, mas demandam a participação de polinizadores para a produção de frutos. A propagação vegetativa subterrânea foi observada nas duas espécies em estudo.

Tabela 1 Resultados dos testes reprodutivos em *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn. na APA PCV, Guarapari, ES.

Tratamento	Flores (n)	Frutos (n)
Condições Naturais	32	0
Agamospermia	50	0
Autopolinização Espontânea	76	0
Autopolinização Manual	16	16
Geitonogamia	20	20
Polinização Cruzada	18	18

Tabela 2 Resultados dos testes reprodutivos em *Bonnetia stricta* (Nees) Nees ex Mart. na APA PCV, Guarapari, ES.

Tratamento	Flores (n)	Frutos (n)
Condições Naturais	50	3
Agamospermia	50	0
Autopolinização Espontânea	50	0
Autopolinização Manual	50	42
Geitonogamia	50	38
Polinização Cruzada	50	39

O sucesso reprodutivo natural tanto em *G. brasiliensis* (Tabela 1) como em *B. stricta* (Tabela 2) foi baixo, mas em *G. brasiliensis* ele foi bem variável (Tabela 3), havendo ramos onde todas as flores formam frutos e outros onde não há formação de frutos ou o número de frutos produzidos em relação as flores ofertadas é pequeno. Assim, nas inflorescências e nos adensamentos a visitação das flores não é um evento freqüente, indicando que há imprevisibilidade na polinização.

Tabela 3 Relação do número de frutos, flores, pedicelos e cicatrizes dos nove ramos com frutos usado para verificação do sucesso reprodutivo natural de *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn. em condições naturais na APA PCV, Guarapari, ES.

Ramos	Fruto (n)	Pedicelos (n)	Cicatriz (n)	Sucesso Reprodutivo
1	1	2	7	0,1
2	2	11	1	0,14
3	11	0	0	1
4	0	0	10	0
5	0	0	10	0
6	2	0	6	0,25
7	7	0	5	0,58
8	0	0	12	0
9	7	0	6	0,54

Os visitantes florais observados em *G. brasiliensis* foram abelhas, borboletas, formigas e beija-flores. Entre as abelhas de pequeno porte, *Augochloropsis cupreola* (Cockerell, 1900) apresentou dois

comportamentos: o de perfurar a base da corola, pilhando néctar (Fig. 9a), e o de perfurar e cortar a região médio-apical da corola, abrindo acesso as anteras e ordenhando-as para retirada de pólen (Fig. 9b). Em ambos os casos, a abelha não produziu qualquer tipo de vibração e visitou mais de uma flor da inflorescência. Abelhas de grande porte, como *Xylocopa brasiliatorum* (Linnaeus, 1767) (Fig. 9c e 9d) e *Centris longimana* (Fabricius, 1804) pousaram nas flores sem produzir vibração e acessaram o néctar fazendo pequenos orifícios na parte lateral da corola, partindo rapidamente. Uma espécie de borboleta, *Heliconius erato* (Linnaeus, 1758) (Fig. 9e) introduziu a probóscide no interior da corola, sem causar danos, e não provocou vibrações que permitissem a liberação dos grãos de pólen. Além destas espécies, a formiga *Camponotus crassus* (Santschi, 1925) (Fig. 9f) também foi registrada, mas aproveitando injúrias causadas por outros visitantes a corola para acessar o néctar. Três espécies de beija-flores foram observadas visitando as flores de *G. brasiliensis*: *Chlorostilbon lucidus* (d'Orbigny e Lafresnaye, 1838), *Amazilia fimbriata* (Gmelin, 1788) e *Polytmus guainumbi* (Pallas, 1764). Estes visitantes não foram registrados em fotografia, devido à baixa frequência de suas visitas, o que dificultou a realização de imagens.

Em *B. stricta*, os visitantes avistados foram abelhas e besouros. Entre as abelhas, as de pequeno porte como *A. cupreola*, *Plebeia mosquito* (Smith, 1863) e *Tetragonisca angustula* (Latreille, 1825) raramente tocam no gineceu da flor, pousam sobre o androceu agrupando somente algumas anteras e produzem uma vibração que libera o pólen, podendo interromper a coleta para transferi-lo do corpo para as pernas traseiras, permanecendo de um a dois minutos na mesma flor (Fig. 9g e 9h). Abelhas de grande porte como *X. brasiliatorum* e *Centris flavifrons* (Fabricius, 1775) dirigem-se ao conjunto de androceu e gineceu, tocando primeiro o estigma com a face ventral do corpo, envolvendo o androceu com as pernas anteriores e abdômen, enquanto as traseiras seguram-se ao ovário e, nesta posição, elas vibram e promovem a liberação de uma nuvem de pólen que ficam retidos nas cerdas de seu ventre (Fig. 9i). Além destas, a abelha *Apis mellifera* pousa sobre a corola e segue em direção aos estames, movimentam-se entre eles, e podendo entrar em contato com o gineceu, e provocando agitação entre os filetes, estirando e flexionando as pernas dianteiras, promovendo uma oscilação semelhante a um pêndulo que resulta na liberação dos grãos de pólen (Fig. 9j). Coleópteros da família Melolonthidae e do gênero *Diabrotica* foram encontrados em até nove indivíduos numa mesma flor, os quais consomem as anteras e parte dos filetes, podendo perfurar a corola antes da antese para ter acesso ao recurso (Fig. 9l e 9m).



Fig. 9 Visitantes florais em *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn.: (a) *Augochloropsis cupreola* pilhando néctar; (b) *A. cupreola* ordenhando pólen das anteras; (c) e (d) *Xylocopa brasilianorum* perfurando a corola e pilhando néctar; (e) *Heliconius erato*; e (f) *Camponotus crassus*. Em *Bonnetia*

stricta (Nees) Nees ex Mart.: (g) e (h) *Augochloropsis cupreola*; (i) *Xylocopa brasilianorum*; (j) *Apis mellifera*; (l) *Diabrotica sp.*; e, (m) após consumo das anteras e parte dos filetes.

A exposição do conjunto floral de *G. brasiliensis* a frequências inferiores a 475 Hz não produziram liberação de pólen por vibração. De 475 a 550 Hz o aumento da frequência levou a um significativo incremento na maior liberação de grãos pólen ($F= 98,2$; $p= 0,000$; $r= 0,95$; $r^2= 0,90$) (Fig. 10a), considerando que os dados apresentaram, distribuição normal (Lilliefors = 0,16; $p= 0,67$). Para *B. stricta*, frequências inferiores a 400 Hz não produziram liberação de pólen por vibração. De 400 a 550 Hz o aumento da frequência levou a um significativo incremento na maior liberação de grãos pólen ($F= 73,05$; $p= 0,000$; $r= 0,90$; $r^2= 0,81$) (Fig 10b), considerando que os dados apresentaram, distribuição normal (Lilliefors = 0,15; $p= 0,29$).

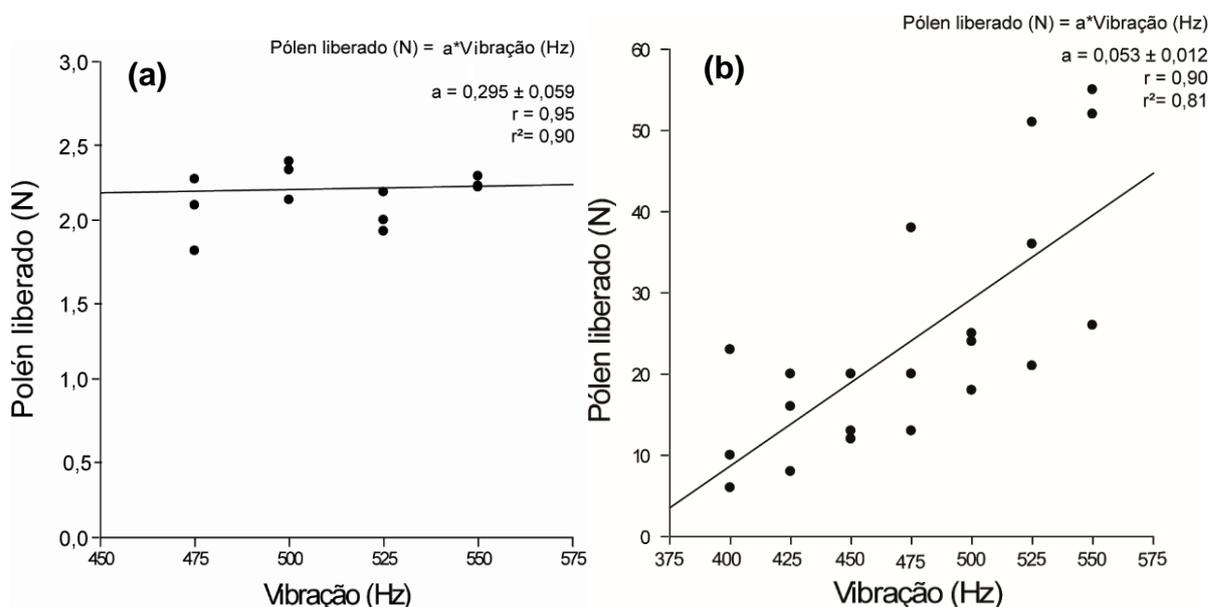


Fig. 10 Regressão Linear do efeito do aumento da frequência de vibração em Hz com o número de grãos de pólen liberados. (a) *Gaylussacia brasiliensis* (Spreng.) Meisn. e (b) *Bonnetia stricta* (Nees) Nees ex Mart.

Discussão

Gaylussacia brasiliensis e *Bonnetia stricta* mostraram-se autocompatíveis, mas a morfologia floral apresenta barreiras que impedem a autopolinização espontânea nestas espécies. Este fato,

associado ao padrão espacial de distribuição de cada espécie, aleatórios de indivíduos agregados em seus adensamentos para *G. brasiliensis*, e agregados de indivíduos aleatoriamente distribuídos em seus adensamentos em *B. stricta*, tornam essencial a participação de serviços de polinização não só para transferência do pólen do androceu para o estigma das flores, como também para promover o fluxo gênico entre os indivíduos da população.

O padrão agregado de distribuição é verificado quando em parcelas de tamanhos iguais a presença de um indivíduo influencia a existência de outro, e o padrão de distribuição aleatório, quando a presença de um indivíduo não é influenciada por outro indivíduo (Harper 1977). Em *G. brasiliensis*, espécie em que ocorre mergulhia espontânea de ramos e a agregação local pode ser promovida pela propagação vegetativa. A reprodução vegetativa associada à tendência da maioria das sementes e esporos caírem próximas a planta-mãe (Jones et al. 2007) são os possíveis fatores determinantes da agregação observada na espécie. Esta apresenta propagação vegetativa caracterizada pela presença de ramificações paralelas ao nível do solo, facilmente observada em campo a partir da escavação ao redor dos indivíduos, sendo difícil determinar nos agrupamentos os diferentes indivíduos. Os padrões de distribuição encontrados para *G. brasiliensis* são os mesmo descritos por Pimentel e Silva (2011) para a mesma área de estudo.

Em *B. stricta*, que apresenta-se numa escala macro de forma agregada e nos adensamentos seus indivíduos se distribuem de forma aleatória, a distribuição agregada pode estar relacionada a oferta desigual de microsítios favoráveis em ambientes heterogêneos (Jones et al. 2007). Nas restingas, muitos são os fatores limitantes para o estabelecimento e desenvolvimento de plantas, como os baixos teores de nutrientes e a falta de água no substrato, a salinidade, a instabilidade do substrato arenoso e a intensa luminosidade (Mantovani e Iglesias 2008), além de outros fatores como a competição, a herbivoria, as doenças e infecções por fungos, assim como as atividades humanas (Maun 1994). *B. stricta* pode estabelecer-se, preferencialmente, em áreas permanentemente alagadas, com lâmina d'água de 10 a 15 cm de altura sobre a superfície do solo, e em regiões sob influencia de lagoas interiores e periferia de brejos (locais onde se situam os adensamentos de *B. stricta* na área de estudo), onde é grande a quantidade de húmus e o grau de agregação do substrato e a lâmina d'água (Silva e Barroso 1995). Diferente de *G. brasiliensis*, a propagação vegetativa de *B. stricta* se dá por ramificações paralelas e perpendiculares à superfície do solo, apresentando tufos de

rebrote com ramificações a nível do solo formando indivíduos com numerosos caules eretos (Silva e Barroso 1995).

Perfis alométricos na forma de “J” invertido indicam uma estrutura populacional estável, com potencial de recrutamento constante, devido ao elevado número de plântulas (Silva Matos e Watkinson 1998), e apontam para um excelente potencial regenerativo, onde, mesmo com o decréscimo de indivíduos adultos a grande quantidade de indivíduos jovens garante a manutenção da população (Primack e Rodrigues 2001). Levando em consideração os perfis alométricos, é provável que a população de *G. brasiliensis* esteja estável e apresente um bom estado de conservação.

Os dados alométricos de *B. stricta* mostram que a estratificação não é evidente, contudo o diagrama de classes de altura sugere que na população há diferentes pulsos reprodutivos. Isso possivelmente se deve ao fato da espécie apresentar um período reprodutivo específico no ano, de meados de setembro a início de abril, o que não ocorre com a população de *G. brasiliensis* onde a florada é contínua o ano todo, não havendo picos reprodutivos.

A autocompatibilidade permite a reprodução e consequente manutenção das populações onde a polinização cruzada é menos frequente (Schoen e Busch 2008), seja pela baixa disponibilidade de parceiros em potencial nas proximidades dos indivíduos reprodutivos, ou até mesmo pela deficiência de agentes polinizadores (Charlesworth 2006).

Ambas as espécies são autocompatíveis, contudo a autopolinização não ocorre naturalmente. Para *G. brasiliensis*, isto também foi observado nos testes reprodutivos de Araújo et al. (2011). Devido à hercogamia existente nas flores *G. brasiliensis*, onde há uma separação espacial entre a abertura das anteras e o estigma. Mesmo as flores sendo pendentes e havendo a possibilidade do grão de pólen cair das anteras estes entrarão em contato com a parte não receptiva do estigma, não ocorrendo a fecundação. Em *B. stricta* a hercogamia é acentuada pela disposição excêntrica do gineceu, projetando-se em sentido divergente ao androceu. Em espécies de plantas autocompatíveis esta segregação espacial das anteras e estigmas nas flores é considerada uma estratégia evolutiva capaz de reduzir a frequência da autopolinização (Medrano et al. 2005).

Em espécies que apresentam grandes arranjos florais, a hercogamia pode ser ineficiente para evitar a cosanguinidade, devido à dispersão de pólen entre flores da mesma planta (Medrano et al. 2005). Em *G. brasiliensis* as flores sobrevivem por período de três dias, e o padrão de agregação dos indivíduos aumenta ainda mais o display floral e a atração dos polinizadores. O número de flores abertas ao mesmo tempo também influencia a atividade dos agentes polinizadores, atraindo-os, geralmente, mais do que o necessário. O movimento destes agentes nas inflorescências com muitas flores abertas aumenta a polinização por geitonogamia, ou seja, entre as flores da mesma inflorescência (Karron et al. 2004, Kudo e Harder 2005). Assim como a autopolinização, a geitonogamia leva a depressão por endogamia e o pólen utilizado fica indisponível para uma possível fecundação cruzada, reduzindo a atuação da planta como fonte de pólen (Barrett e Harder 1996).

As flores de *B. stricta* tem uma duração de apenas um dia, contudo a produção de flores durante os 8 meses de floração é constante, tendo pico de produção de novembro a janeiro. Há uma oferta contínua de recurso apesar da curta duração das flores, atraindo continuamente os visitantes florais e evitando desperdícios energético de floradas muito abundantes.

A morfologia das flores de *G. brasiliensis* e o horário de abertura dos botões indicam que a espécie pertence ao grupo de plantas incluídas na síndrome de ornitofilia, tendo como características típicas a corola tubular, de coloração vermelha ou vermelha combinada com amarelas; são inodoras; as inflorescências são horizontais ou pendentes; o néctar é abundante e localizado na base do tubo floral; e com antese diurna (Abreu e Vieira, 2004). Foram registradas na literatura visitas de quatro espécie beija-flores em *G. brasiliensis* (Araújo et al. 2011), dentre elas *Amazilia fimbriata* e *Chlorostilbon lucidus*, também observados neste trabalho.

No caso de *G. brasiliensis* a secreção de néctar numa flor que possui anteras poricidas cria uma condição ecologicamente especializada. Como não há apresentação secundária de pólen, sua saída das anteras poricidas demanda uma quantidade de energia diferenciada, fornecida usualmente pela polinização vibrátil, que está normalmente presente em flores que possuem apenas pólen como recurso (Buchmann and Hurley 1978).

Não fosse a presença de néctar e uma corola urceolada ao invés de patente, *G. brasiliensis* pertenceria tipicamente ao padrão *Solanum*, pelo fato de possuir um androceu cujos estames são eretos, apesar de não serem vistosos e estarem inclusos na corola, com os filetes curtos e com pelo menos um quinto do tamanho das anteras, sem haver apresentação de pólen. Considerando que o pólen não é exposto ao visitante, que o androceu concentra sobre si, a atividade dos polinizadores, que a deiscência das anteras é poricida e que o pólen é liberado em nuvem, por vibração ou agitação dos estames (Vogel 1978).

De fato as espécies de abelhas, *X. brasilianorum* e *A. cupreola* e *C. longimana* que visitaram a flor de *G. brasiliensis*, tomaram néctar perfurando externamente a corola, sem realizarem a vibração típica de que são capazes com a musculatura de suas asas. Em *B. stricta* também foi constatado por Silva e Barroso (1995) que a espécie era polinizada por abelhas grandes, vibradoras e por *trapliners* dos gêneros *Xylocopa* e *Centris*, ao mesmo tempo em que era visitada por *A. cupreola* que não era capaz de produzir ali a polinização. Abelhas pequenas como *A. cupreola* apesar de apresentarem comportamento adequado para a polinização vibrátil, não tem tamanho compatível com as flores de *B. stricta*, vibrando em um ou dois estames, mas raramente entrando em contato com o gineceu da flor e promovendo a polinização, como em *Cambessedesia hilariana* (Fracasso e Sazima 2004). Em *G. brasiliensis*, *A. cupreola* corta a corola para ter acesso as anteras, onde orgenha os grãos de pólen, não apresentando comportamento vibratório típico da espécie.

Pode ser que o comportamento seja inerente ao visitante. Desta maneira, ele pode ser entendido, da mesma forma que abelhas que aprenderam a vibrar anteras poricidas utilizam a vibração para obter pólen em flores de anteras rimosas (Buchmann 1985, Oliveira e Sazima, 1990).

A elevação da energia cinética dos grãos provoca uma elevação da entropia de um sistema quase fechado, representado pelas tecas. Não havendo como dissipar tal energia e, existindo um único poro que permita a saída do pólen das tecas, os grãos escapam pelo ápice, atingindo a face ventral do corpo do polinizador (Buchmann e Hurley 1978).

Apesar das tendências coevolutivas previamente assumidas, Buchmann (1985) admite, entretanto, que abelhas que aprenderam a vibrar anteras poricidas, também utilizam a vibração para obter pólen

em anteras rimosas, como acontece nas espécies de *Kielmeyera* sp.(Clusiaceae) estudadas por Oliveira e Sazima (1990). O pólen exposto de *Kielmeyera* sp. não necessitaria da vibração para ser coletado, indicando ser esta forma de polinização, neste caso, muito mais uma característica etológica do visitante do que uma necessidade da flor.

Duas alternativas são, entretanto, possíveis. Como *G. brasiliensis* possui flores urceoladas, a própria corola pode funcionar como um sistema acceptor de vibração, conforme observado por Bittrich et al. (1993) para duas espécies de *Ternstroemia* (Pentaphylacaceae), caracterizando um processo de transferência de função (cf. Corner, 1958). Outra alternativa é a liberação de pólen em nuvem pela compressão das anteras, conforme observado por Buzato (1990) em flores de *Mendoncia* (Acanthaceae) e por Sazima et al. (1993) para *Cyphomandra* sp. (Solanaceae).

Entre os beija-flores que polinizaram *G. brasiliensis*, *Amazilia fimbriata* exibiu o empuleiramento nas áreas de adensamento e defendendo seu território de forrageio em encontros agonísticos principalmente com *Chlorostilbon lucidus*, o que é uma característica do comportamento territorial, enquanto *Polytimus guainumbi* apresentou um comportamento de forrageio mais próximo do padrão de *trapliner* (Armstrong 1992). *Chlorostilbon lucidus* não apresentou característica de nenhum dos padrões anteriores, mas tem sido indicado como uma espécie oportunista, pressionada pelas demais dominantes a utilização marginal de recursos (Sazima et al. 1996).

Encontros agonísticos interespecíficos dos beija-flores também foram observados numa disjunção de vegetação de restinga, próxima a uma floresta de tabuleiro em Linhares, ES, numa população de *Vriesea neoglutinosa* em que *A. fimbriata* e *P. guainumbi* foram os principais polinizadores (van Sluys e Stotz, 1995). Para explicar o uso comum de um recurso floral por beija-flores de comportamento territorial, sem interações agonísticas, van Sluys e Stotz (1995) propuseram que, em função da distribuição esparsa de indivíduos na população de *V. neoglutinosa* observada em Linhares, os beija-flores estabeleceriam territórios tão grandes que invasões poderiam ocorrer sem que houvesse possibilidade de defesa dos territórios estabelecidos em condições de escassez do recurso alimentar. Em *G. brasiliensis*, nem mesmo com o padrão espacial agregado os encontros agonísticos, apesar de este padrão espacial ser associado à defesa territorial por nectarívoros (Carpenter 1987) e também por herbívoros (Ostfeld 1992). Contudo, Armstrong (1992) propôs que os animais precisariam

forragear em áreas tão extensas, que a defesa territorial não seria dependente da disponibilidade do alimento, mas sim da possibilidade de defender o recurso disperso numa área tão grande.

Desta maneira, a atuação de *A. fimbriata*, com características de comportamento territorial, tende a fazer a espécie concentrar sua atuação num agregado limitado de recursos, enquanto *P. guainumbi* tende a fazer o fluxo entre os agregados, devido ao seu comportamento de forrageio em *trapliner*. *C. lucidus* pode afetar a transferência de pólen tanto favorecendo a autopolinização como a geitonogamia.

A localização do estigma em *G. brasiliensis* acima do nível das anteras, expondo para elas sua face não receptiva; bem como a divergência entre o androceu e gineceu de *B. stricta*, impedem o aporte espontâneo de pólen originado na própria flor. A avaliação do sucesso reprodutivo natural refletiu o comportamento de visita de beija-flores, pois foram encontrados ramos com 10 a 12 flores que naturalmente não produziram frutos, aqueles em que não houve um aproveitamento não superior a 10%. A atuação de *A. fimbriata* e *C. lucidus* tende a favorecer a endogamia, mas o fluxo de pólen alógamo pode ser feito por *P. guainumbi*. Em outras ocasiões, quando houve um aproveitamento total das flores de uma inflorescência que se converteram em frutos, pode ser resultado que da atividade de *A. cupreola* que visita várias flores de uma mesma inflorescência coletando pólen e tomando néctar. Desta maneira, esta abelha favorece a endogamia, ao promover principalmente a autopolinização e a geitonogamia.

Os processos de autogamia, geitonogamia e xenogamia são definidos essencialmente, com base na procedência do pólen que leva à fecundação (Baker et al. 1983, Richards 1997). Em condições naturais, o pólen que chega aos estigmas das flores de *G. brasiliensis* e *B. stricta* podem provir tanto da própria flor como de flores diferentes, podendo ser flores dos diversos ramos de um mesmo indivíduo, ou de indivíduos diferentes, pertencentes ou não da mesma população, sendo determinante a participação dos insetos vetores do pólen, com suas características comportamentais marcando o contexto da ecologia da polinização.

Além da reprodução sexuada, ambas as espécies estudadas também apresentam propagação vegetativa. Em *G. brasiliensis* o processo se dá por mergulhia espontânea de ramos no substrato da

restinga e em *B. stricta*, por meio de ramificações do sistema subterrâneo dos indivíduos. Isto faz com que os aparentes espécimes, muitas vezes, não passem de um único indivíduo. A oferta de gametas a uma fecundação verdadeiramente cruzada pode chegar a inexistir neste tipo de organização populacional (Proctor e Yeo 1975). Numa população assim organizada, o sistema de reprodução pode chegar a ser tão fechado ao intercâmbio genético, como nas espécies exclusiva ou predominantemente apomíticas, caracterizadas pela estruturação de um complexo populacional agâmico (Stebbins Jr 1941).

Embora as espécies em estudo não cheguem a formar um sistema agâmico, a elevada frequência de endogamia favorece a homozigose. Desta forma, caberia investigar se o resultado final do processo reprodutivo não se equivaleria ao da apomixia, ou seja, a pouca variação genética da população (Stebbins Jr 1941, 1950), principalmente, quando se considera a distribuição destes efeitos pelas sucessivas gerações.

Em relação à participação de beija-flores na polinização vibrátil de *G. brasiliensis*, a utilização destes dois modelos permitiu levantar evidências importantes. Tanto em *G. brasiliensis* como em *B. stricta*, foi determinada uma frequência mínima capaz de promover a liberação de pólen por vibração. Foram 475 Hz transferidos à corola de *G. brasiliensis*, e 400 Hz transferidos ao conjunto de androceu e gineceu de *B. stricta*. Segundo a proposição de Araújo et al. (2011), a frequência de vibração necessária para a liberação do pólen em *G. brasiliensis* poderia ser transmitida às anteras pela vibração das asas dos beija-flores. Entretanto, considerando que a base desta proposição foi a faixa de vibração entre 14 batidas por segundo (14 Hz), nos gêneros *Ramphodon* e *Campylopterus*, a 80 batidas por segundo (80Hz), no gênero *Calliphlox*, apresentada por Sick (1984, 2001), esperava-se que em *G. brasiliensis* a demanda de frequência vibratória seria menor que 100 Hz. Porém, os achados experimentais do presente estudo contestam a capacidade de liberação do pólen de *G. brasiliensis* por beija-flores a partir de vibração das anteras.

Por outro lado, as paredes das tecas das anteras em ambas as espécies são membranáceas e facilmente diafanizáveis, podendo haver dissipação de energia em função de o receptor primário da vibração ser a corola em *G. brasiliensis* e o conjunto de verticilos reprodutivos de *B. stricta* que têm mobilidade restrita pela flor e pela sua própria fixação nas inflorescências. Neste sentido, Buchmann

e Hurley (1978) propuseram um modelo biofísico para a liberação do pólen no gênero *Solanum*, quando demonstraram que a saída dos grãos, sob a forma de nuvem, decorre da transferência da energia da vibração do polinizador para o pólen. Assim, as anteras funcionam como aceptores primários de energia, uma vez que, em *Solanum*, a gravidade e o componente de força a ela relacionado precisam ser vencidos. Os primeiros grãos que se chocam com as paredes das anteras adquirem energia cinética e desencadeiam um processo de transferência energética, através da elasticidade dos choques entre os grãos e destes com as paredes das tecas.

Enquanto *G. brasiliensis* necessitaria no mínimo 475 Hz de vibração para liberar o pólen de suas anteras, valor bem próximo aos 400 Hz de *B. stricta* com quem partilha espécies de abelhas como visitantes florais, um dos beija-flores assmidos por Araújo et al. (2011), *Chlorostilbon lucidus* (= *Chlorostilbon aureoventris* citado por Sick 1984), como polinizador de *G. brasiliensis*, produz 30 batidas por segundo (30 Hz). Estes achados se contrastam ainda com informações de Sick (1984, 2001) ao relatar que a frequência de vôo librado é semelhante ao de mamangavas, abelhas do gênero *Bombus*. Contudo, De Luca PA e Vallejo-Marín (2013), em experimento mensurando a frequência de vibração de abelhas do gênero *Bombus*, mostram que a frequência média de vibração destas abelhas é de 330 Hz, ou seja, maior que beija-flores e inferior a menor frequência de vibração que permitiu a liberação de pólen das anteras de *G. brasiliensis*, que foi de 475 a 550 Hz. Assim, a vibração produzida por beija-flores não seria suficiente e eficiente para liberar o pólen das anteras porcidas de *G. brasiliensis*.

Conclusão

G. brasiliensis e *B. stricta* são autocompatíveis, contudo, a morfologia floral apresenta barreiras que impedem a autopolinização espontânea nestas espécies. Isso torna essencial a participação de agentes polinizadores para que ocorra a transferência do pólen do androceu para o estigma das flores, assim como promover o fluxo gênico entre os indivíduos da população. *G. brasiliensis* agrega indivíduos e flores, aumentando o *display* floral e a atração de visitantes florais, enquanto *B. stricta* oferta menos flores e de maneira contante, o que diminui os gastos energéticos com a produção desnecessária de flores. Entre as espécies de abelhas que visitam ambas as espécies, *Augochloropsis cupreola* vibra em *B. stricta* e pilha néctar e ordenha pólen em *G. brasiliensis*. A

polinização de *G. brasiliensis* foi associada a vibração de beija-flores na literatura, contudo, os experimentos deste trabalho mostraram que a vibração necessária para promover a liberação dos grãos de pólen ficam em frequências superiores as dos beija-flores, e que a polinização seja mais efetiva pela ação da abelha *A. cupreola*, que tem acesso aos grãos cortando a corola e visitando varias flores de uma inflorescência e de inflorescências vizinhas.

Referências

- Abreu CRM, Vieira MF. 2004. Os beija-flores e seus recursos florais em um fragmento florestal de Viçosa, sudeste brasileiro. *Lundiana*. 5 (2): 129-134.
- Alexander MP. 1980. A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria. *Stain Tech*. 55: 13-18.
- Araújo FP, Farias YEF, Oliveira PE. 2011. Biologia floral e visitantes de *Gaylussacia brasiliensis* (Spr.) Meissner (Ericaceae) - uma espécie com anteras poricidas polinizada por beija-flores. *Acta Bot. Bras.* 25 (2): 387-394.
- Armstrong DP. 1992. Correlation between nectar supply and aggression in territorial honeyeaters: causation or coincidence? *Behav. Eco. Socialbio*. 30: 95-102.
- Baker HG, Bawa KS, Frankie GW, Opler PA. 1983. Reproductive biology of plants in tropical forests. In: *Ecosystems of the world: tropical rain forest ecosystems; structure and function*. Golley FB, Lieth H. New York: Elsevier Scientific Publishing. (14): 183-215.
- Bittrich V, Amaral MCE, Melo GAR. 1993. Pollination biology of *Ternstroemia levigata* and *T. dentata* (Theaceae). *Plant System. Evo*. 185: 99-122.
- Brower JE, Zar JH, von Ende CN. 1998. *Field and Laboratory Methods for General Ecology*. 4 ed. Boston (MA): WCB McGraw-Hill. 273p.
- Buchmann SL, Hurley JP. 1978. A biophysical model for pollination in angiosperms. *J. Theoret. Bio*. 72: 639-657.
- Buchmann SL. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: Jones CE, Little J.R. *Handbook of experimental pollination biology*. New York (NY): Van Nostrand Reinhold. pp. 73-113.
- Buchmann SL. 1985. Bees using vibration to aid pollen from non-poricidal flowers. *J. Kan. Ento. Soc*. 58: 517-525.
- Buzato S. 1990. Ecologia da polinização de duas espécies simpátricas de *Mendoncia* (Acanthaceae) na região de Campinas, SP. Campinas: Unicamp. Dissertação de Mestrado.

- Carpenter FL. 1987. The Study of Territoriality: Complexities and Future Directions. *Am. Zoo.* 27 (2): 401-409.
- CEPERMAR Serviços de Consultoria em Meio Ambiente. 2007. Plano de manejo do Parque Estadual Paulo César Vinha. Relatório Técnico COM RT.
- Charlesworth D. 2006. Evolution of Plant Breeding System. *Cur. Bio.* 16: R726–R735.
- Corner EJH. 1958. Transference of function. *Bot. J. Lin. Soc.* 56: 33-40.
- Costa AF. 1972. *Farmacognosia: farmacognosia experimental*. Vol 3. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- De Luca PA, Vallejo-Marín M. 2013. What's the 'buzz' about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Cur. Opi. Plant Bio.* 16:429-435.
- Endress PK. 1996. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge: Cambridge University Press. 511p
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, Dudash MR, Thomson JD. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Rev. Eco. System.* 35: 375-403.
- Fracasso CA, Sazima M. 2004. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) D.C. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Rev. Bras. Bot.* 27(4): 797-804.
- Harper JL (1977) *Population Biology of Plants*. London (UK): Academic Press.
- Jensen WA. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. San Francisco: W. H. Freeman & Co. 408 p.
- Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York (NY): Mc GrawHill.
- Jones MM, Olivas Rojas P, Tuomisto H, Clark DB. 2007. Environmental and neighbourhood effects on tree fern distributions in a neotropical lowland rain forest. *J. Veg. Science.* 18: 13-24.
- Karron JD, Mitchell RJ, Holmquist KG, Bell JM, Funk B. 2004. The influence of floral display size on selfing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity.* 92: 242–248.
- Krebs CJ. 1998. *Ecological methodology*. 2 ed. New York (NY): Benjamin Cummings. 620p.
- Kudo G, Harder LD. 2005. Floral and inflorescence effects on variation in pollen removal and seed production among six legume species. *Funct. Eco.* 19, 245–254.
- Manente-Balestieri FCDL, Machado VLL. 1999. Entomofauna Visitante das Flores de *Cassia spectabilis* (L.) D C. (Leguminosae). *Anais Soc. Ento. Bras.* 28(3): 429-437.

- Mantovani A, Iglesias RR. 2008. Factors limiting seed germination of terrestrial bromeliads in the sandy coastal plains (restinga) of Maricá, Rio de Janeiro, Brazil. *Rodriguesia* 59: 135-150.
- Maun MA. 1994. Adaptations enhancing survival and establishment of seedlings on coastal dune systems. *Vegetatio*. 111: 59-70.
- Medrano M, Herrera CM, Barrett SCH. 2005. Herkogamy and mating patterns in the self-compatible daffodil *Narcissus longispathus*. *Annals Bot.* 95: 1105–1111.
- Oliveira PEAM, Sazima M. 1990. Pollination biology of two species of *Kielmeyera* (Guttiferae) from Brazilian Cerrado vegetation. *Plant Systema. Evo.* 172: 35-49.
- Ostfeld, R.S. 1992. Small-mammal herbivores in a patchy environment: individual strategies and population responses. In: Effects of resource distribution on animal-plant interactions. Hunter MD, Ohgushi T, Price PW. San Diego: Academic Press. pp. 43-74.
- Pereira OJ. 1990. Caracterização fitofisionômica da restinga de Setiba - Guarapari, ES. In: Anais do II Simpósio de ecossistemas da costa sul e sudeste brasileira: estrutura, função e manejo. São Paulo: Editora ACIESP. 3: 207-219.
- Pereira OJ. 2003. Restinga: origem, estrutura e diversidade. In: Jardim MAG, Bastos MNC, Santos JUM. Desafios da botânica no novo milênio: inventário, sistematização e conservação da diversidade vegetal. UFRA: Embrapa/Museu Paraense Emílio Goeldi, p. 177-179.
- Pimentel TF, Silva AG. 2011. População de *Gaylussacia brasiliensis* na vegetação arbustiva aberta na Área de Proteção Ambiental de Setiba, Guarapari, ES. *Nat. on line.* 9 (2): 76-81.
- Primack R, Rodrigues E. 2001. *Biologia da conservação*. Londrina: Editora Planta.
- Proctor M, Yeo P. 1975. *The pollination of flowers*. London: William Collins.
- Proença C. 1992. Buzz pollination - Older and more widespread than we think? *J. Trop. Eco.* 8:115-120.
- Richards AJ. 1997. *Plant breeding systems*. 2 ed. London: George Allen & Unwin.
- Sass JE. 1951. *Botanical microtechnique*. 2 ed. Iowa (IA): Iowa State College Press. 228p.
- Sazima I, Sazima M, Buzato S. 1996. An assemblage of hummingbird-pollinated flowers in a montane forest in southeastern Brazil. *Bot. Acta.* 109: 149-160.
- Sazima M, Vogel S, Cocucci A, Hausner G. 1993. The perfume flowers of *Cyphomandra* (Solanaceae): pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores, and volatiles. *Plant System. Evo.* 187: 51-88.

- Schoen DJ, Busch JW. 2008. On the evolution of self-fertilization in a metapopulation. *Internat. J. Plant Scien.* 169 (1): 119–127.
- Sick H. 1984. Beija-Flores: Família Trochilidae. In: *Ornitologia Brasileira*. 3 ed. Brasília, Editora UNB, v. 1, p. 354-383.
- Sick H. 1997. Beija-Flores: Família Trochilidae. In: *Ornitologia Brasileira*. 4 ed. Rio de Janeiro, Vova Fronteira, p. 433-466.
- Silva AG, Barroso GM. 1995. A biologia da reprodução de *Bonnetia stricta* (Theaceae). *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*. 33 (2): 109-131.
- Silva Matos DM, Watkinson AR. 1998. The fecundity, seed and seedling ecology of the edible palm *Euterpe edulis* in southeastern Brazil. *Biotrop*. 30(4): 595-603.
- Smith I. 1968. Chromatographic and electrophoretic techniques. 2 ed. Vol 2. London (UK): William Heinemann Medical Books.
- Stebbins Jr GL. 1941. Apomixis in the angiosperms. *Bot. Rev.* 7: 507-42.
- Stebbins Jr GL. 1950. Variation and evolution in plants. New York: Columbia University Press.
- van Fleet DS. 1952. Histochemical localization of enzymes in vascular plants. *Bot. Review*. 18: 354-398.
- van Sluys M, Stotz DF. 1995. Patterns of hummingbird visitation to *Vriesea neoglutinosa* (Bromeliaceae) flowers in Espírito Santo, southeastern Brazil. *Bromelia*. 2: 27-35.
- Vogel S. 1963. Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung; über Bau und Funktion der Osmophoren. *Abhandlungen der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Klasse: Akademie der Wissenschaften und der Literatur Mainz*. 10: 1-165.
- Vogel S. 1978 Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In: *The pollination of flowers by insects*. Richards AJ. London: Academic Press. pp. 89-96.
- Vogel S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In: *The pollination of flowers by insects*. Richards AJ. London: Academic Press. pp. 89-96.
- Zar JH. 2010 *Biostatistical analysis*. 5 ed. New Jersey: Prentice Hall. 944p.