



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



# INFLUÊNCIA DA FLORIVORIA SOBRE A POLINIZAÇÃO DE ESPÉCIES ORNITÓFILAS

**PRISCILA TEIXEIRA TUNES**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) Botânica, Área de concentração Morfologia e Diversidade Vegetal.

**Botucatu – SP**

**2017**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Julio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

INFLUÊNCIA DA FLORIVORIA SOBRE A POLINIZAÇÃO  
DE ESPÉCIES ORNITÓFILAS

**PRISCILA TEIXEIRA TUNES**

**ORIENTADORA: PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> ELZA GUIMARÃES**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para a obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) Botânica, Área de concentração Morfologia e Diversidade Vegetal.

**Botucatu – SP**

**2017**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Tunes, Priscila Teixeira.

Influência da florivoria sobre a polinização de espécies ornitófilas / Priscila Teixeira Tunes. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Elza Guimarães

Capes: 20300000

1. Interação animal-planta. 2. Herbivoria. 3. Flores. 4. Polinização. 5. Beija-flor. 6. Pesquisa ornitológica.

Palavras-chave: Atração visual; Beija-flores; Dano floral; Herbivoria floral; Reconhecimento da forma floral.

## **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa de mestrado concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), IBB, Unesp pelo suporte para a realização do mestrado.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Elza Guimarães, pela excelente orientação, pela confiança em mim depositada, por demonstrar diariamente o real significado de se orientar a um aluno, pela amizade e paciência, pelo apoio e incentivo durante os altos e baixos do desenvolvimento deste trabalho, por todos os ensinamentos que eu com certeza levarei para a vida, e por ser um exemplo de profissional ética e comprometida com a Ciência.

Ao Prof. Dr. Gilson Volpato e ao Dr. Anselmo Nogueira pelas contribuições realizadas nas versões iniciais desse trabalho.

Ao Instituto Florestal do Estado de São Paulo, por autorizar a realização de parte desse estudo em sua área, e aos funcionários da Estação Ecológica de Santa Bárbara, por estarem sempre dispostos a nos receber, nos ajudar e nos resgatar em atoleiros.

À Estação Ecológica de Águas Emendadas, por autorizar a realização de parte desse estudo em sua área.

Às queridas amigas Carolina, Fabiana, Letícia e Mariana, pela amizade, pela paciência e pela imensa boa vontade para me ajudar em campo e analisando intermináveis vídeos.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia e Evolução das Interações Planta- Animal, pela convivência, pela ajuda no campo, pelos litros de café, pelas risadas e por todos os bons momentos compartilhados.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUÇÃO GERAL.....	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	10
CAPÍTULO 1 - Intersecção entre florivoria e polinização: Danos à corola afetam a deposição de pólen em uma espécie ornitófila?.....	12
Resumo.....	13
Introdução.....	14
Material e métodos.....	15
Resultados.....	19
Discussão.....	21
Referências.....	24
CAPÍTULO 2 - A integridade floral importa para beija-flores?.....	29
Resumo.....	30
Introdução.....	31
Material e métodos.....	33
Resultados.....	41
Discussão.....	42
Referências.....	45
Apêndice 1.....	55
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55

TUNES, P. **INFLUÊNCIA DA FLORIVORIA SOBRE A POLINIZAÇÃO DE ESPÉCIES ORNITÓFILAS**. 2017. 55p. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

**RESUMO** -A florivoria pode ter um impacto significativo na reprodução das espécies vegetais devido à modificação da forma, odor ou padrão de coloração das flores, o que pode comprometer a comunicação e a interação entre flores e seus polinizadores. No caso dos beija-flores, danos nas flores e a descaracterização da forma floral podem representar importantes interferências na comunicação planta-polinizador, uma vez que os beija-flores são animais que se guiam essencialmente pela visão e pela memória. Neste trabalho, apresentamos dois capítulos em que exploramos o impacto da florivoria sobre a polinização de espécies ornitófilas. No primeiro, trazemos um estudo em que investigamos se danos semelhantes aos causados por florívoros em *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae), podem interferir na visita dos polinizadores. Já no segundo capítulo, trazemos um estudo mais amplo, envolvendo seis espécies ornitófilas, e investigamos se os beija-flores deixam de visitar flores danificadas, e se há uma preferência em relação às flores íntegras, visando explorar mais a fundo a importância da integridade da forma floral para a polinização por beija-flores. Em ambos os estudos, verificamos baixos índices de florivoria em todas as espécies estudadas. Além disso, obtivemos o mesmo resultado no que diz respeito à influência dos danos às flores (florivoria) sobre a polinização ornitófila, concluindo que a integridade floral não é essencial para a manutenção da interação planta-polinizador em espécies ornitófilas.

**Palavras-chave:** Atração visual, beija-flores, dano floral, herbivoria floral, reconhecimento da forma floral

## ABSTRACT

Florivory may have a significant impact in plant species reproduction due to the modification of flower shape, odour, and colour pattern, what may compromise the communication and interaction between flowers and their pollinators. For hummingbirds, floral damages and the decharacterization of floral shape may represent an important interference on plant-pollinator communication, since hummingbirds are guided essentially by vision and memory. In this study, we present two chapters in which we explore the impact of florivory on the pollination of ornithophilous species. In the first one, we bring a study in which we investigate if damages, similar to those caused by florivores, in *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae), may interfere in pollinator visits. In the second one, we bring a more ample study, comprising six ornithophilous species, and we investigated if hummingbirds stop visiting damaged flowers, and if there is any preference regarding intact flowers, aiming to explore in a deeper manner the importance of floral shape integrity to hummingbird pollination. In both studies, we verified low index of florivory in all the studied species. Besides, we obtained the same result regarding the influence of floral damages (florivory) on ornithophilous pollination, concluding that floral integrity is not essential for the maintenance of plant-pollinator interactions in ornithophilous species.

**Keywords:** floral damages, floral herbivory, floral shape recognition, hummingbirds, visual attraction



## INTRODUÇÃO GERAL

A herbivoria floral, ou florivoria, pode ter um impacto expressivo sobre o sucesso reprodutivo das espécies vegetais (Crawley 1989; McCall e Irwin 2006). Além disso, herbívoros florais podem exercer grande pressão seletiva sobre a morfologia floral (Galen e Cuba 2001), podendo modular a biologia floral das espécies (Strauss e Whittall 2006; Armbruster et al. 2009; Johnson et al. 2014, 2015, Jogesh et al. 2016). Um dos modos como a florivoria pode impactar o sucesso reprodutivo das espécies vegetais é devido à modificação da forma, odor ou padrão de coloração das flores, o que pode comprometer a comunicação e a interação entre flores e seus polinizadores (Krupnick e Weis 1999; Mothershead e Marquis 2000). Isso pode ocorrer quando os herbívoros, ao consumirem parte das flores, acabam por descaracterizá-las frente às percepções sensoriais de seus polinizadores. No caso dos beija-flores, especificamente, danos nas flores e a descaracterização da forma floral podem representar importantes interferências na comunicação planta-polinizador, uma vez que os beija-flores são animais que se guiam essencialmente pela visão e pela memória (Healy e Hurley, 2001).

No presente trabalho, nós utilizamos duas abordagens para investigar o impacto da florivoria sobre a polinização de espécies ornitófilas. No primeiro capítulo, trazemos um estudo em que investigamos se danos semelhantes aos causados por florívoros na espécie *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae), utilizada como modelo, podem levar os polinizadores a deixarem de visitar as flores ou então a visitarem preferencialmente flores intactas. Utilizamos como indicador da resposta do beija-flor aos danos florais o número de grão de pólen depositados no estigma das flores. Já no segundo capítulo, trazemos um estudo mais amplo, envolvendo seis espécies ornitófilas, não só visando investigar se os beija-flores deixam de visitar flores danificadas, mas se há uma preferência em relação às flores íntegras, visando explorar mais a fundo a importância da integridade da forma floral para a polinização por beija-flores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armbruster WS, Lee J, Baldwin BG. 2009. Macroevolutionary patterns of defense and pollination in *Dalechampia* vines: Adaptation, exaptation, and evolutionary novelty. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**: 18085–18090.
- Crawley, MJ. 1989. Insect herbivores and plant population dynamics. *Annual review of entomology*, **34**(1): 531-562.
- Galen C, and Cuba J. 2001. Down the tube: pollinators, predators, and the evolution of flower shape in the alpine skypilot, *Polemonium viscosum*. *Evolution* **55**: 1963–1971.
- Healy, S. D. e Hurly, T. A. 2001. Foraging and spatial learning in hummingbirds. In Chittka, L. and Thomson, J. D. (Eds) *Cognitive ecology of pollination – Animal behavior and floral evolution*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 127-147.
- Jogesh, T., Overson, R.P., Raguso, R.A., and Skogen, K.A. 2016. Herbivory as an important selective force in the evolution of floral traits and pollinator shifts. *AoB Plants*, plw088.
- Johnson MTJ, Ives AR, Ahern J, Salminen J-P. 2014. Macroevolution of plant defenses against herbivores in the evening primroses. *New Phytologist* **203**:267–279.
- Johnson MTJ, Campbell SA, Barrett SCH. 2015. Evolutionary interactions between plant reproduction and defense against herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **46**: 191–213.
- Krupnick, G.A., and Weis, A.E. 1999. The effect of floral herbivory on male and female reproductive success in *Isomeris arborea*. *Ecology*. **80**(1): 135-149.
- McCall, A.C. and Irwin, R.E. 2006. Florivory: the intersection of pollination and herbivory. *Ecology Letters*. **9**: 1351–1365.

Mothershead, K., and Marquis, R. J. 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant–pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology*, 81(1), 30-40.

Strauss, S. Y., and Whittall, J. B. 2006. Non-pollinator agents of selection on floral traits. *In* *Ecology and evolution of flowers*. Edited by Harder, L. D., and Barrett, S. C. Oxford University Press on Demand. pp. 120-138.

## **CAPÍTULO 1**

### **INTERSECÇÃO ENTRE FLORIVORIA E POLINIZAÇÃO: DANOS À COROLA AFETAM A DEPOSIÇÃO DE PÓLEN EM UMA ESPÉCIE ORNITÓFILA?**

## INTERSECÇÃO ENTRE FLORIVORIA E POLINIZAÇÃO: DANOS À COROLA AFETAM

### A DEPOSIÇÃO DE PÓLEN EM UMA ESPÉCIE ORNITÓFILA?

#### RESUMO

A florivoria, ou dano a flores causado por herbívoros, pode impactar diretamente a reprodução das espécies vegetais devido à redução da quantidade de gametas disponíveis para a polinização; ou impactá-la indiretamente por reduzir a visitação dos polinizadores, levando à uma diminuição da transferência de pólen a estigmas receptivos. Neste estudo, nós avaliamos a florivoria natural visando identificar os padrões de danos florais em populações naturais de uma espécie polinizadas por beija-flores, *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae). Em seguida, nós simulamos experimentalmente esses padrões de danos em flores recém-abertas para testar se esses danos afetam a deposição de pólen nos estigmas de *P. venusta*. Os danos mais comuns foram pequenos, 1-3% de tecido da corola removido, e o dano mais raro foi grande, aproximadamente 60% do tecido da corola removido. Nós observamos que nem os danos menores (1-3%) nem os danos maiores simulados (>50%), levaram a mudanças no número de grãos de pólen depositados nos estigmas de *P. venusta* ( $H = 1.1013$ ;  $p = 0.5766$ ). Assim, nesse sistema, a florivoria aparentemente não afeta a visitação de beija-flores, sugerindo que a integridade da forma floral não seja essencial para a localização de recurso por parte dos beija-flores. Esse resultado gera novas questões à respeito intersecção florívoro-planta-polinizador, e quais são as pressões seletivas agindo sobre esse complexo sistema.

**Palavras-chave:** Bignoniaceae, herbivoria floral, florivoria, polinização por beija-flores, *Pyrostegia venusta*.

## INTRODUÇÃO

A herbivoria floral pode ter um impacto tão grande quanto a herbivoria foliar sobre o valor adaptativo das espécies vegetais (Crawley 1989; McCall e Irwin 2006) e em algumas espécies ela pode afetar mais de 80% das flores (Tobler et al. 2006). Herbívoros podem exercer forte pressão seletiva sobre a morfologia floral (Galen e Cuba 2001, Sun et al. 2016), modulando a biologia reprodutiva das espécies vegetais (Strauss e Whittall 2006; Armbruster et al. 2009; Johnson et al. 2014, 2015) e influenciando a troca de polinizadores em taxóons de plantas filogeneticamente aparentadas (Jogesh et al. 2016). A florivoria pode ter um impacto direto no valor adaptativo das espécies vegetais quando os florívoros consomem estruturas que contem gametas, afetando os componentes feminino e masculino do sucesso reprodutivo; ou um efeito indireto por romper a interação com os polinizadores das espécies, fazendo com que os gametas disponíveis não sejam utilizados devido a mudanças das preferências e da eficiência dos polinizadores (Krupnick e Weis 1999; Mothershead e Marquis 2000).

Além disso, a florivoria pode resultar na remoção completa das flores por consumidores de grande porte, como cervos (Spotswood et al 2002; Gomes et al. 2016) ou pode resultar na remoção parcial das flores, normalmente causada por consumidores menores, como aves (Olsen 2006) e insetos (Leavitt e Robertson 2006; McCall 2008; Willmer 2011; Kessler et al. 2013). No último caso, se as flores apresentando formas modificadas, devido a danos causados por herbívoros, forem negligenciadas pelos mutualistas, a reprodução das plantas pode ser afetada negativamente (Karban e Strauss 1993; Krupnick et al. 1999; Mothershead e Marquis 2000). Especificamente, os danos às pétalas podem afetar o anúncio floral e alterar as interações planta-polinizador (McCall 2008; Willmer 2011), já que eles podem interferir na sinalização visual e, conseqüentemente, na comunicação flor-polinizador (Leavitt e Robertson, 2006;

McCall e Irwin, 2006) por tornar as flores irreconhecíveis ou menos preferidas pelos polinizadores (Johnson et al. 1995, Krupnick et al. 1999).

Considerando a interação florívoro-planta-polinizador, uma das principais questões é se os danos florais representam um custo para a planta, em termos da rejeição das flores danificadas por parte dos polinizadores, ou se as plantas podem suportar as atividades dos florívoros e dos polinizadores sem que haja um impacto negativo em seu sucesso reprodutivo. Nesse cenário, uma espécie de Bignoniaceae zoófila que apresenta abundantes flores conspícuas e nectaríferas e que atrai uma variedade de mutualistas e antagonistas que se alimentam de recursos florais (Gentry 1974; Guimarães et al. 2008; Genini et al. 2010; Quinalha et al. 2016), representa um sistema ideal para se estudar as consequências da florivoria na reprodução das plantas. A espécie ornitófila de Bignoniaceae selecionada para este estudo *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl.) Miers, apresenta anúncio floral massivo e uma concentração local de recursos que podem favorecer a exploração de suas flores por diversos grupos de florívoros, além dos polinizadores. Deste modo, nós hipotetizamos que danos à corola podem impactar negativamente a visitação dos polinizadores e, conseqüentemente, a reprodução sexuada de *P. venusta*. Assim, nesse estudo, nós objetivamos investigar se a modificação de um dos supostos componentes do anúncio floral, a forma floral, afeta a polinização por beija-flores.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Sistema planta-polinizador***

*Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl.) Miers é uma liana neotropical que ocorre desde a costa atlântica do Brasil até o Nordeste da Argentina (Pool 2008). Essa espécie auto-compatível apresenta panículas terminais ou axilares com flores laranjas longas,

tubulares, prorândricas e hermafroditas que são polinizadas por beija-flores (Pool 2008). As corolas das flores de *Pyrostegia venusta* apresentam lobos curvados para trás, quarto estames didínamos exertos, e um gineceu sincárpico com ovário bilocular, estilete longo e estigma bilobado, com lobos que se fecham a partir de estímulos externos (Pool 2008; Singh et al. 2009). Seu pico de florescimento ocorre entre Junho e Setembro, mas é possível observar indivíduos floridos ao longo do ano todo (com exceção do mês de Dezembro) (Pool 2008). A antese dura aproximadamente dois dias (48 h) (E. Guimarães e P. Tunes, observação pessoal). As flores apresentam um disco nectarífero que é responsável pela produção de quantias copiosas de néctar rico em sucrose, aproximadamente 30 µl ao longo de sua vida, com uma concentração de 28% (Galletto et al. 1994); sendo este o recurso explorado pelos beija-flores. Nós depositamos o voucher de um espécime no Herbário BOTU “Irina Delanova de Gemtchujnicov” (voucher número 30788). Uma variedade de espécies de beija-flores já haviam sido descritas como polinizadores de *Pyrostegia venusta*, como *Eupetomena macroura*, *Phaethornis squalidus*, *P. pretrei* (Leone 2011), *Sappho sparganura*, *Chlorostilbon aureoventris* (Galletto et al. 1994), e outros. Em nosso sistema de estudo, nós observamos apenas *Phaethornis pretrei* (Phaethornithinae) e *Chlorostilbon lucidus* (Trochilinae, anteriormente *C. aureoventris* (Grantsau 1988)) atuando como polinizadores, visitando as flores de *P. venusta* legitimamente durante o pico de florescimento (Junho-Setembro).

### ***Procedimentos experimentais***

Nós conduzimos esse estudo em duas etapas. Na primeira nós avaliamos os danos naturais a flores funcionais de *P. venusta*; e na segunda etapa, nós danificamos experimentalmente as flores (de acordo com os danos naturais observados na primeira



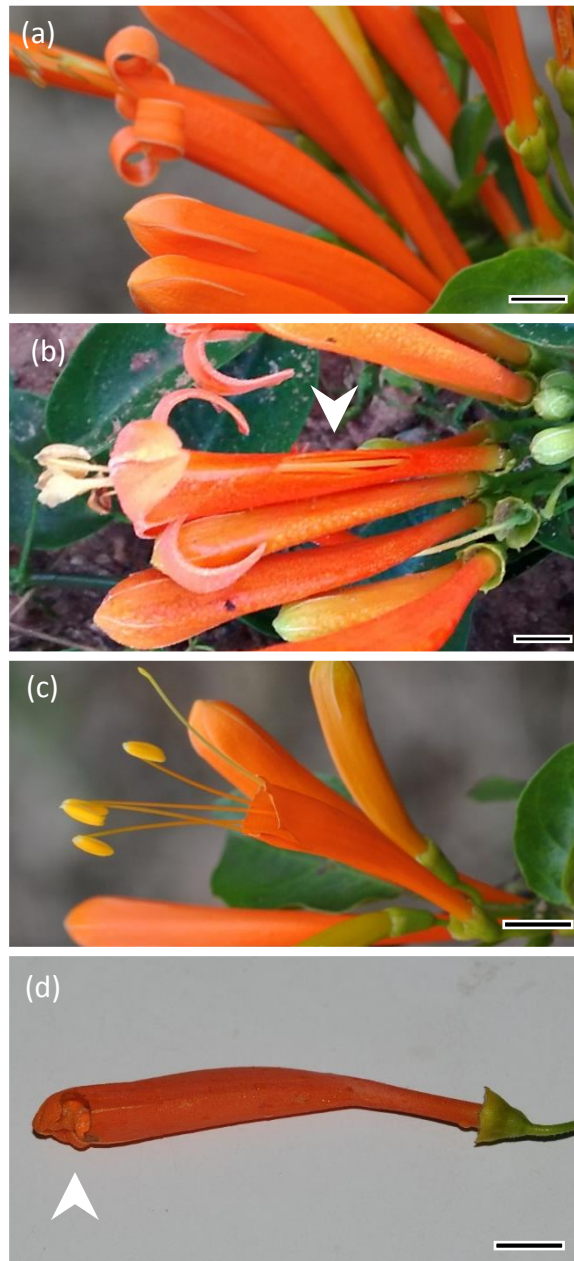
etapa) para investigar se a perda da integridade floral afetaria a polinização por beija-flores.

#### Levantamento da florivoria natural

Antes da manipulação experimental das flores, nós designamos, aleatoriamente, 40 plantas de *P. venusta*, nos arredores da cidade de Botucatu, estado de São Paulo, Brazil, para serem avaliadas. Nós amostramos todas as suas flores para avaliar a porcentagem de flores com danos. Em seguida, nós estimamos visualmente a porcentagem da corola que havia sido removida em cada uma das flores danificadas e as classificamos em uma das seguintes categorias: 1-3%, 4-6%, 7-10%, 11-20%, 21-30%, 31-40%, 41-50%, e > 50% de tecido da corola removido. Além disso, nós identificamos os principais padrões de danos florais. Nós sempre utilizamos o mesmo observador para classificar os danos em cada flor. Em seguida, nós determinamos qual era o padrão mais frequente de florivoria e qual era o mais raro nas flores de *P. venusta*, baseando-nos nas categorias e formas dos danos registrados.

#### O efeito dos danos florais experimentalmente simulados sobre a deposição de pólen

Para esse experimento, nós designamos 45 flores recém abertas (previamente ensacadas em estágio de botão floral), distribuídas em cinco plantas aleatórias no modo mais balanceado possível, a um de três tratamentos: (i) controle, no qual todas as flores foram mantidas intactas (Fig. 1a); (ii) dano frequente experimentalmente simulado (ED-I) (Fig. 1b); e (iii) dano raro experimentalmente simulado (ED-II) (Fig. 1c). Nos tratamentos ED-I and ED-II, nós experimentalmente cortamos fora um pedaço da corola das flores correspondendo, respectivamente ao padrão de florivoria mais frequente e mais raro registrados durante o ‘Levantamento da florivoria natural’, descrito na seção anterior.



**Figura 1.** *Pyrostegia venusta* e os danos causados por florívoros. (a) Flor intacta. Barra de escala: 0.8 cm. (b) Padrão de dano mais frequente (ponta de seta) observado no estudo (1 – 3% de dano à corola; ED-I). Barra de escala: 0.8cm. (c) Padrão de dano mais raro (ponta de seta) observado no estudo (mais de 50% de dano à corola; ED-II). Barra de escala: 0.8cm. (d) Dano à um botão floral (ponta de seta) causado por uma lagarta de Lycaenidae ao sair do botão. Barra de escala: 0.8 cm.

Nós deixamos as flores controle e experimentalmente manipuladas (ED-I e ED-II) expostas à visita dos polinizadores por dois dias consecutivos, do início da antese até a abscisão da corola, 48 horas depois. Em seguida, nós coletamos os estigmas de todas

as flores para quantificar o número de grãos de pólen depositados em cada um deles. Para isso, nós fixamos os estigmas em uma solução de FPA (formalina 40%, ácido propiônico concentrado, etanol 50%, em volumes de 5:5:90), depois nós coramos os estigmas com azul de anilina e acetato de potássio, de acordo com o protocolo proposto por Dafni et al. (2005). Por fim, nós contamos o número de grãos de pólen depositados nas superfícies estigmáticas em microscópio de fluorescência equipado com um filtro de transmissão máxima de 365 nm. Após verificar a não-normalidade dos dados, nós aplicamos o teste de Kruskal-Wallis para comparar o número de grãos de pólen depositados nos estigmas das flores controle e das experimentalmente manipuladas, ED-I e ED-II.

## **RESULTADOS**

### ***Levantamento da florivoria natural***

Das 504 flores amostradas, 115 (26.7%) apresentaram quantias variadas de tecido da corola removido, variando de 1-3% a > 50%. Nós também observamos vários formatos de dano floral, como buracos alongados na porção média do tubo da corolla, remoção completa do lobo de uma pétala, pequenos buracos em círculo nos lobos das pétalas, e remoção da metade superior do tubo da corola.

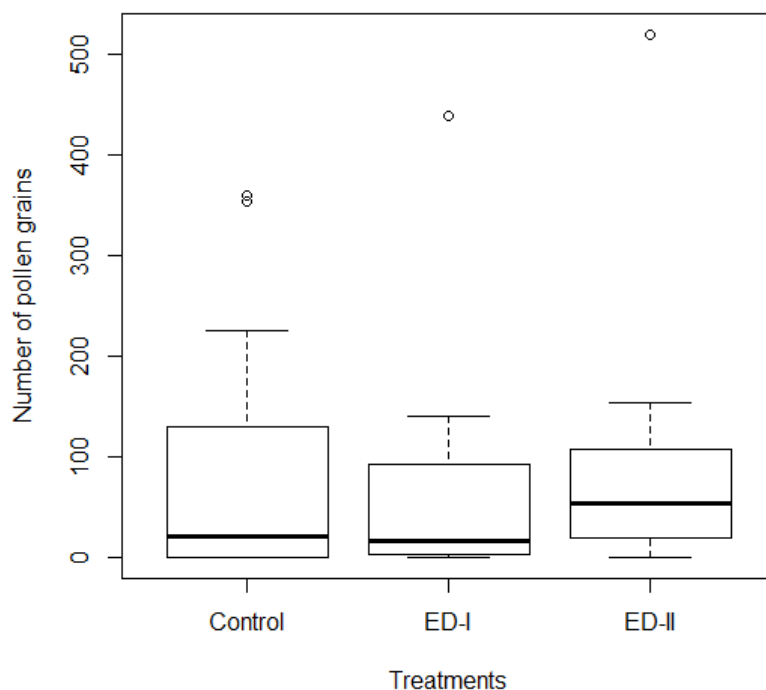
O padrão mais frequente de florivoria registrado foi o buraco alongado na porção média do tubo da corola, correspondendo à categoria 1-3% do tecido da corola removido (Fig. 1b). Esse padrão foi registrado em 58.3% das flores danificadas e foi utilizado como modelo para o dano floral experimentalmente simulado ED-I. Apesar dos florívoros responsáveis por causar este dano nunca haverem sido observados em campo, baseado nas marcas de mordidas deixadas nas flores, que consistiam em linhas retas, é possível que se trate de um gafanhoto. O padrão mais raro observado foi a remoção da metade superior da corolla, correspondendo a aproximadamente 60% do tecido da corolla

removido, estando incluído na categoria de > 50% do tecido da corola removido (Fig. 1c). Esse padrão foi observado apenas em 0.0086% das flores danificadas e foi utilizado como modelo para o dano floral experimentalmente simulado ED-II. Provavelmente, esse padrão de dano foi causado por uma ave, já que algumas aves conhecidamente forrageiam em flores e obtém delas carotenoides (Galetti 1993; Olson 2006).

Além dos danos causados exclusivamente ao tecido da corola, nós observamos larvas de Lycaenidae crescendo dentro de botões florais e se alimentando de suas estruturas reprodutivas. Essas larvas normalmente consumiam todas as estruturas do androceu e do gineceu durante o seu desenvolvimento, até o momento em que elas abriam pequenos buracos circulares (Fig. 1d) nos lobos das pétalas por onde elas saíam dos botões florais. Esses danos foram observados em 5.75% do botões florais e, apesar dessas flores entrarem em antese, seu sucesso reprodutivo é nulo.

### ***O efeito dos danos florais experimentalmente simulados sobre a deposição de pólen***

Nós não observamos nenhuma diferença significativa ao comparar o número de grãos de pólen depositados nos estigmas das flores, independentemente do tratamento aplicado a elas ( $H = 1.1013$ ;  $p = 0.5766$ ; Fig. 2). Nós registramos uma mediana de 20 ( $Q_1 = 0$ ;  $Q_3 = 213$ ), 16 ( $Q_1 = 1$ ;  $Q_3 = 137.25$ ), e 54 ( $Q_1 = 1$ ;  $Q_3 = 113.5$ ) grãos de pólen depositados nos estigmas das flores controle e experimentalmente manipuladas, ED-I e ED-II, respectivamente.



**Figura 2.** Resultados mostrando o número de grãos de pólen depositados nos estigmas de flores de *P. venusta* nos tratamentos controle e dano experimentalmente simulado (ED-I e ED-II). Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos ( $W = 111.00$ ;  $p = 0.9666$ ). As barras de dispersão correspondem ao primeiro e terceiro quartis sobre a mediana de grãos de pólen nas flores dos tratamentos controle (20;  $Q_1 = 0$ ;  $Q_3 = 213$ ), ED-I (16;  $Q_1 = 1$ ;  $Q_3 = 137.25$ ), e ED-II (54;  $Q_1 = 1$ ;  $Q_3 = 113.5$ ).

## DISCUSSÃO

Nesse estudo nós mostramos que os níveis de danos nas flores de *Pyrostegia venusta* são principalmente baixos e variáveis em forma. Mesmo quando as flores exibiam altos níveis de dano, a polinização por beija-flores não foi afetada, já que todas as flores apresentaram quantidade semelhante de grãos de pólen depositados em seus estigmas, independentemente do tratamento aplicado a elas. Esse resultado sugere que beija-flores não apresentam sensibilidade à remoção de tecidos da corola.

Nós observamos que uma única espécie de planta pode ser explorada por uma gama de animais que podem danificar suas flores. Os danos mais frequentes observados sugerem que o principal grupo de florívoros interagindo com essas flores são invertebrados, que são descritos como animais que comumente removem pequenas partes da corola a cada mordida (Leavitt e Robertson 2006). Além disso, nós observamos que o

padrão de remoção de tecido da corola mais frequente em flores abertas (1-3% do tecido da corola removido) é consideravelmente pequeno, especialmente quando comparado com níveis de florivoria natural observados em uma espécie polinizada por esfingídeos,  $5\% \pm 1.1\%$  (Kessler et al. 2013), e por abelhas, cuja florivoria variou entre os anos de estudo de  $15\% \pm 1.7\%$  a  $69.5\% \pm 4.1\%$  (McCall 2008).

A pequena quantidade de danos observados em *P. venusta* pode ser devido à presença de compostos defensivos nos tecidos florais que podem levar à sua baixa palatabilidade (Howe e Jander 2008), ou que podem ser liberados como compostos voláteis deterrentes (Kessler e Halitschke 2009 e referências). Sendo assim, os florívoros podem se deparar com substâncias impalatáveis nos tecidos florais ou algum composto volátil deterrente poderia ser emitido após o florívoro morder a flor, o que levaria esses animais a interromper seu forrageio, resultando na presença das pequenas marcas observadas durante o estudo.

Alternativamente, os baixos níveis de florivoria observados podem ter ocorrido devido ao fato de que flores polinizadas por beija-flores normalmente não possuem odor, e portanto, atrairiam menos florívoros, já que a maioria dos insetos depende da percepção de compostos voláteis para localizar seu alimento, sendo sua atividade de forrageio intimamente relacionada com os períodos de emissão de odores florais (Theis 2006; Theis e Adler 2012; Kessler et al. 2013). Em nosso sistema de estudo, não apresentar odor pode ser uma vantagem anti-florívoros, pois as plantas polinizadas por beija-flores podem evitar o conflito que comumente ocorre em plantas polinizadas por insetos, nas quais o odor pode ser responsável pela atração tanto de polinizadores, quanto de florívoros (Theis 2006). Além disso, espécies polinizadas por beija-flores podem evitar o custo ecológico de repelir seus polinizadores, o que poderia ocorrer como efeito colateral de emitir compostos voláteis defensivos (Kessler e Halitschke 2009; Kessler 2015).

Adicionalmente, o anúncio floral massivo de *Pyrostegia venusta* pode atuar de dois modos, sinalizando eficientemente a presença de flores aos polinizadores, mas também sinalizando sua presença aos florívoros (Andersson 1996; Harder e Johnson 2005). Nesse contexto, o fato de que as flores de *P. venusta* apresentaram danos pequenos e que 73.3% de suas flores não apresentaram nenhuma remoção de tecido da corola, pode reforçar a ideia de que as flores de *P. venusta* apresentam mecanismos de defesa contra florívoros (Kessler e Halitschke 2009).

Entretanto, o dano mais raro, por volta de 60% da corola removida, é consistente com a atividade de florívoros vertebrados, que comumente consomem grandes porções da corola e até as flores como um todo (Leavitt e Robertson 2006, Gomes et al. 2016). Além disso, caso os danos correspondentes a > 50% de remoção da corola fossem mais comuns, eles poderiam impactar o anúncio floral, uma vez que muitas flores seriam reduzidas a menos de sua metade. Assim, o anúncio floral poderia sofrer uma redução proporcional e, caso os polinizadores dependam do anúncio floral para identificar e visitar as plantas, isso pode levar à negligência ou diminuição de visitas a essas plantas (Andersson 1996). Apesar dos danos à corola causados por lagartas de Lycaenidae terem sido pequenos e haverem ocorrido em poucas flores (efeito indireto), o dano causado pelo consumo das estruturas reprodutivas durante a fase de botão floral, pode afetar diretamente a reprodução sexual de *P. venusta*. Na realidade, as lagartas de Lycaenidae, conhecida família de florívoros que se alimentam em botões florais (Morais et al. 2009; Carregaro 2011), pode representar o maior impacto negativo sobre a reprodução de *P. venusta*, afetando tanto os componentes feminino quanto masculino do sucesso reprodutivo.

Entretanto, considerando apenas os efeitos indiretos da florivoria, nossos resultados contradizem estudos anteriores sobre o impacto dos danos florais no valor

adaptativo das espécies vegetais, que mostraram efeitos negativos da florivoria como limitação polínica (Leavitt e Robertson 2006; McCall 2010), diminuição da transferência de pólen (Tsuji et al 2016), e diminuição do número de sementes formadas (Sánchez-Lafuente 2007). Além disso, os beija-flores continuaram a visitar as flores danificadas, diferente do observado para outros grupos de polinizadores como abelhas (Karban e Strauss 1993; Krupnik et al. 1999; McCall 2008), morcegos (von Helversen e von Helversen 1999) e esfingídeos (Mothershead e Marquis 2000), que apresentaram um declínio do número de visitas a flores danificadas. Isso indica que a transferência de pólen por beija-flores pode não ser afetada pelos níveis de florivoria registrados em condições naturais, nem positiva nem negativamente. Esse estudo trás à tona a necessidade de mais investigações para melhor compreender a intersecção florívoro-planta-polinizador como um sistema complexo e variável.

#### **AGRADECIMENTOS**

Esse estudo é parte da dissertação de mestrado de P. Tunes master's thesis. Nós agradecemos à Capes 'Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior' pela bolsa concedida a P. Tunes, à 'Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP' pela bolsa de Pós-Doutorado concedida a E. Guimarães (Proc. 2009/17611-7), e aos estudantes do Laboratório de 'Ecologia e Evolução das Interações Planta-Animal' pelo suporte em campo.

#### **REFERÊNCIAS**

Anderson, S. 1996. Floral display and pollination success in *Senecio jacobaea* (Asteraceae): interactive effects of head and corymb size. *American Journal of Botany*, 71-75.



- Armbruster WS, Lee J, Baldwin BG. 2009. Macroevolutionary patterns of defense and pollination in Dalechampia vines: Adaptation, exaptation, and evolutionary novelty. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**: 18085–18090.
- Carregaro, J.B. 2011. Insetos associados a botões florais de plantas do Cerrado. D.Sc. dissertation, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, D.F.
- Crawley, MJ. 1989. Insect herbivores and plant population dynamics. *Annual review of entomology*, **34**(1): 531-562.
- Dafni, A., Pacini, E., and Nepi, M. 2005. Pollen and stigma biology. *In Practical pollination biology. Edited by Dafni, A., Kevan, P.G., and Husband, B.C.* Environquest, Cambridge, Ontario, Canada. pp. 142-143.
- Galen C, and Cuba J. 2001. Down the tube: pollinators, predators, and the evolution of flower shape in the alpine skypilot, *Polemonium viscosum*. *Evolution* **55**: 1963–1971.
- Galetti, M. 1993. Diet of the scaly-headed parrot (*Pionus maximiliani*) in a semideciduous forest in southeastern Brazil. *Biotropica*, 419-425.
- Galetto, L., Bernardello, L.M., and Juliani, H.R. 1994. Characteristics of secretion of nectar in *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl.) Miers (Bignoniaceae). *New Phytologist*. **127**(3): 465-471.
- Genini, J., Morellato, L.P.C., Guimarães, P.R., and Olesen, J.M. 2010. Cheaters in mutualism networks. *Biology Letters*. **6**(4): 494-497. doi:10.1098/rsbl.2009.1021
- Gentry, A.H. 1974. Coevolutionary patterns in central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **61**(3): 728-759.

- Guimarães, E., Di Stasi, L.C., and Maimoni-Rodella, R.D.C.S. 2008. Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. *Annals of Botany*. **102**(5): 699-711. doi: 10.1093/aob/mcn152
- Grantsau, R. 1988. Os Beija-flores do Brasil: Uma chave de identificação para todas as formas de beija-flores do Brasil. Expressão e Cultura, Rio de Janeiro, Brasil, 233p.
- Gomes, V.G.N., Koroiva, R., and Araujo, A.C. 2016. Vertebrate florivory on the short-columnar cactus *Echinopsis rhodotricha* K. Schum. in the Brazilian Chaco. *Plant Ecology*, **217**(12): 1481-1487. doi: 10.1007/s11258-016-0659-9
- Harder, L.D., and Johnson, S.D. 2005. Adaptive plasticity of floral display size in animal-pollinated plants. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **272**(1581): 2651-2657.
- Howe, G.A., and Jander, G. 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**: 41-66. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825
- Jogesh, T., Overson, R.P., Raguso, R.A., and Skogen, K.A. 2016. Herbivory as an important selective force in the evolution of floral traits and pollinator shifts. *AoB Plants*, plw088.
- Johnson MTJ, Ives AR, Ahern J, Salminen J-P. 2014. Macroevolution of plant defenses against herbivores in the evening primroses. *New Phytologist* **203**:267–279.
- Johnson MTJ, Campbell SA, Barrett SCH. 2015. Evolutionary interactions between plant reproduction and defense against herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **46**: 191–213.
- Johnson, S.G., Delph, L.F., and Elderkin, C.L. 1995. The effect of petal-size manipulation on pollen removal, seed set, and insect-visitor behavior in *Campanula americana*. *Oecologia*. **102**(2): 174-179.

- Karban, R., and Strauss, S.Y. 1993. Effects of herbivores on growth and reproduction of their perennial host, *Erigeron glaucus*. *Ecology*. **74**(1): 39-46.
- Kessler, A. 2015. The information landscape of plant constitutive and induced secondary metabolite production. *Current Opinion in Insect Science*, **8**, 47-53.
- Kessler, A., and Halitschke, R. 2009. Testing the potential for conflicting selection on floral chemical traits by pollinators and herbivores: predictions and case study. *Functional Ecology*. **23**(5): 901-912. doi: 10.1111/j.1365-2435.2009.01639.x
- Kessler, D., Diezel, C., Clark, D.G., Colquhoun, T.A., and Baldwin, I.T. 2013. Petunia flowers solve the defence/apparency dilemma of pollinator attraction by deploying complex floral blends. *Ecology letters*. **16**(3): 299-306. doi: 10.1111/ele.12038
- Krupnick, G.A., and Weis, A.E. 1999. The effect of floral herbivory on male and female reproductive success in *Isomeris arborea*. *Ecology*. **80**(1): 135-149.
- Krupnick, G.A., Weis, A.E., and Campbell, D.R. 1999. The consequences of floral herbivory for pollinator service to *Isomeris arborea*. *Ecology*. **80**(1): 125-134.
- Leavitt, H., and Robertson, I.C. 2006. Petal herbivory by chrysomelid beetles (*Phyllotreta* sp.) is detrimental to pollination and seed production in *Lepidium papilliferum* (Brassicaceae). *Ecological Entomology*. **31**(6): 657-660. doi: 10.1111/j.1365-2311.2006.00820.x
- Leone, F.R. 2011. Plantas ornitófilas, com enfoque em *Sinningia sceptrum* (Mart.) Wiehler (Gesneriaceae), em fragmentos de Floresta Atlântica: aspectos reprodutivos e rede de interações mutualísticas. M.Sc. thesis, Department of Plant Biology, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Malo, J.E., Leirana-Alcocer, J., and Parra-Tabla, V. 2001. Population Fragmentation, Florivory, and the Effects of Flower Morphology Alterations on the Pollination Success of *Myrmecophila tibicinis* (Orchidaceae) 1. *Biotropica*, **33**(3): 529-534.

- Spotswood, E., Bradley, K. L., & Knops, J. M. (2002). Effects of herbivory on the reproductive effort of 4 prairie perennials. *BMC ecology*, **2**(1): 2.
- Strauss, S.Y., and Whittall, J.B. 2006. Non-pollinator agents of selection on floral traits. *In Ecology and evolution of flowers. Edited by Harder, L.D., and Barrett, S.C.* Oxford University Press on Demand. pp. 120-138.
- Sun, S-G., Armbruster, WS., Huang, S-Q. 2016. Geographic consistency and variation in conflicting selection generated by pollinators and seed predators. *Annals of Botany* **118**: 227–237.
- Theis, N. 2006. Fragrance of Canada thistle (*Cirsium arvense*) attracts both floral herbivores and pollinators. *Journal of chemical ecology*. **32**(5): 917-927. doi: 10.1007/s10886-006-9051-x
- Theis, N., and Adler, L.S. 2012. Advertising to the enemy: enhanced floral fragrance increases beetle attraction and reduces plant reproduction. *Ecology*. **93**(2): 430-435. doi: 10.1890/11-0825.1
- Tobler, M. A., Van Zandt, P. A., Hasenstein, K. H., & Mopper, S. (2006). Growth and reproduction of a clonal plant in response to salinity and florivory. *Wetlands*, **26**(3): 803-812.
- Tsuji, K., Dhami, M. K., Cross, D. J., Rice, C. P., Romano, N. H., & Fukami, T. (2016). Florivory and pollinator visitation: a cautionary tale. *AoB Plants*, **8**, plw036.
- Von Helversen, D., and von Helversen, O. 1999. Acoustic guide in bat-pollinated flower. *Nature*. **398**(6730): 759-760.
- Willmer, P. 2001. *Pollination and Floral Ecology*. Princeton University Press. pp. 832.

## **CAPÍTULO 2**

### **A INTEGRIDADE FLORAL IMPORTA PARA BEIJA-FLORES?**

## A INTEGRIDADE FLORAL IMPORTA PARA BEIJA-FLORES?

### RESUMO

Os polinizadores dependem de sinais florais para identificar e visitar as flores. Normalmente esses sinais são visuais, como o padrão de cores e a forma floral, e olfatórios, como compostos voláteis emitidos pelas flores. Nas espécies polinizadas por beija-flores, os atrativos visuais são considerados os mais importantes, uma vez que os beija-flores são animais altamente visuais. Portanto, eles devem utilizar padrões de cores e a forma floral como indicativos para decidir se visitam ou não determinada planta ou flor. Além disso, a memória tem um papel importante no comportamento de forrageio dos beija-flores. Nesse estudo, nosso objetivo foi avaliar se a integridade da forma floral importa para o reconhecimento de flores por beija-flores. Para isso, nós investigamos como os beija-flores responderam à alterações da forma floral artificialmente simuladas com base em padrões de danos observados comumente na natureza, representando os danos causados por florívoros, e à alterações da forma floral artificialmente simuladas com base em padrões de danos incomuns na natureza. Nós observamos que os beija-flores não apresentaram nenhum sinal de preferência em relação às flores intactas, já que eles visitaram semelhantemente flores intactas e artificialmente modificadas. Além disso, eles não apresentaram nenhum padrão com relação a qual das flores era visitada primeiro em uma planta. A partir dos resultados aqui apresentados, podemos inferir que os beija-flores não dependem essencialmente da integridade da forma floral para identificar e visitar as flores, esfatizando que a percepção da florivoria e das flores em si pelos beija-flores é mais intrigante e complexa do que hipotetizamos inicialmente.

**Palavras-chave:** atrativo visual, dano floral, polinização, reconhecimento de forma.

## INTRODUÇÃO

O estabelecimento de uma via de comunicação entre plantas e animais antófilos é crucial para que as interações entre ambos os grupos possa existir (Schaefer e Ruxton 2011). Normalmente, os atrativos visuais e químicos atuam como mediadores da comunicação planta-animal, sinalizando a presença das flores (Chittka e Thomson 2001). Cada grupo de visitantes florais reconhece sinais florais de acordo com suas próprias capacidades sensoriais, o que significa que um sinal floral específico pode ser interpretado de formas diferentes por distintos grupos de animais (Chittka e Thomson 2001). Mais especificamente, em mutualismos, como nas interações planta-polinizador, comunicação é crucial e permite que ambos os grupos interagentes tenham seu valor adaptativo aumentado, os polinizadores por obterem recurso trófico, como néctar e pólen; e a planta, por assegurar sua reprodução sexual (Willmer 2011).

Em geral, os atrativos florais responsáveis por mediar as interações com polinizadores são visuais, como a cor (Healy e Hurly 2001, e referências; Papiorek et al. 2016), os padrões de cores (Papiorek et al. 2016) e a forma floral (Willmer 2011); e olfatórios, como compostos orgânicos voláteis emitidos pelas flores (Schaefer e Ruxton 2011; Fleming e Kress 2013). Em espécies polinizadas por beija-flores, os atrativos químicos parecem não ser importantes para a identificação das flores, pois Apodiformes (ordem à qual pertence a família dos beija-flores, Trochilidae) são conhecidos por possuir o sentido do olfato pouquíssimo desenvolvido (Bang e Cobb 1968). Entretanto, os atrativos visuais tem sido considerados especialmente importantes, uma vez que a visão dos beija-flores é extremamente aguçada (Percival 1969; Goldsmith 1990; Ödeen e Håstad 2003). Portanto, os beija-flores devem se utilizar dos padrões de coloração e da forma floral como dicas para decidir quais flores eles deveriam ou não visitar.

Por muitos anos se acreditou que os beija-flores apresentavam uma preferência inata por flores avermelhadas (Faegri e Van der Pijl 1968; Proctor e Yeo 1979) e tubulares (Grant e Grant 1968 apud Sutherland e Vickery Jr. 1993). Entretanto, estudos mais recentes tem começado a apresentar um cenário diferente, uma vez que eles demonstraram que os beija-flores são sensíveis à uma grande gama de cores de flores, devido à sua visão tetracromática (Goldsmith, 1990; Ödeen e Håstad, 2003); e que eles não são atraídos por nenhuma cor em específico (McDade 1983; Lunau et al. 2011), apesar do padrão de coloração ter se mostrado importante para o reconhecimento das flores nos mesmos sistemas (Melendez-Ackerman e Campbell 1998; Healy e Hurly 2001). Além disso, a forma floral também é considerada um importante atrativo para que os beija-flores se aproximem das flores (Sutherland e Vickery Jr. 1993). Apesar das flores tubulares serem comumente associadas aos beija-flores, eles frequentemente visitam flores com diferentes formas (Percival 1969; Maruyama et al. 2013), incluindo tubos de dimensões variáveis, flores com estandarte e flores em pincel. Além disso, os beija-flores também são guiados pela memória (Sutherland e Gass, 1994; Hurly e Healy, 1996; Healy e Hurly, 2001; Schaefer e Ruxton, 2011), então, se os beija-flores se depararem com flores com sua forma modificada eles as visitam? Eles reconheceriam as flores com formas incomuns como uma potencial fonte de recursos?

Por outro lado, alguns sinais florais podem ter efeitos similares (e.g. atração) em grupos de animais com diferentes papéis ecológicos no sistema, como polinizadores e herbívoros florais (Theis 2006). Os herbívoros florais normalmente forrageiam nos tecidos das corolas das flores e em suas estruturas reprodutivas (McCall e Irwin, 2006 e referências). Sendo assim, os florívoros podem representar um fator de interferência na comunicação planta-polinizador, pois a remoção de tecidos florais pode alterar a forma e os padrões de coloração das flores (Malo et al. 2001). Entretanto, há poucas evidências



de como os beija-flores reagem à modificação natural da forma floral devido à florivoria. Alguns estudos mostram evidências de diminuição da visitação de beija-flores devido à presença de marcas de roubo de néctar nas flores (Irwin e Brody, 1999; Caballero et al., 2013), possivelmente devido à memória da associação da presença do dano com a ausência de néctar. Entretanto, outros estudos mostram evidências de que os beija-flores não respondem à presença de marcas de roubo de néctar (Zimmerman e Cook, 1985; Maloof, 2001), mais isso poderia ocorrer pois eles estão acostumados com a presença dessas marcas? Ou até, será que essas espécies repõe o néctar floral constantemente, de modo que as marcas de roubo de néctar não sejam associadas à ausência de recurso trófico? O que acontece quando os beija-flores se deparam com um novo padrão de danos floral na natureza? Nesse contexto, nosso objetivo foi avaliar se a integridade da forma floral importa para o reconhecimento das flores por beija-flores. Nossa hipótese é que flores com danos frequentemente observados na natureza sejam tão visitadas quanto flores intactas, enquanto flores com danos incomuns na natureza sejam negligenciadas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### *Áreas de estudo e sistemas planta-polinizador*

Nós estudamos seis espécies vegetais polinizadas por beija-flores pertencentes a cinco diferentes famílias e apresentando distintas formas florais, de flores tubulares e com estandarte a inflorescências em pincel, são elas: *Ananas ananassoides* (Baker) L.B.Sm. (Bromeliaceae), *Calliandra dysantha* Hassk. (Leguminosae), *Collaea speciosa* (Loisel.) DC. (Leguminosae), *Esterhazyia splendida* J.C.Mikan (Orobanchaceae), *Palicourea marcgravii* A.St.-Hil. (Rubiaceae), e *Zeyheria montana* Mart (Bignoniaceae). Para abranger as espécies selecionadas, nós utilizamos cinco áreas de estudo, cada área e a localização de cada população estão descritas no Apêndice 1. Todas as espécies vegetais

oferecem néctar que é utilizado como recurso trófico pelos beija-flores (Ormond et al., 1998; Bittencourt e Semir, 2004; Gottsberger e Silberbauer-Gottsberger, 2006; Ceolin e Miotto, 2009; Consolaro, 2009; Stahl et al., 2012), nós apresentamos algumas características essenciais da morfologia e biologia floral de cada espécie na Tabela 1.

**Tabela 1.** Descrição das flores de cada espécie de estudo incluindo cor, simetria, comprimento da corola e odor; e também as espécies de beija-flores que visitaram as flores de cada espécie nas áreas de estudo (obs. pess. E. Guimarães e P. Tunes) (N = Não; S = Sim)

Espécies	Forma	Cor	Simetria	Comprimento da corola (mm)	Odor	Espécies de beija-flores observados visitando as flores
<i>Ananas ananassoides</i>	Tubular <sup>a, b</sup>	Branco e lilás <sup>b</sup>		24.5 <sup>c</sup>	N	<i>Amazilia fimbriata</i> , <i>A. lactea</i> , <i>Chlorostilbon lucidus</i> , <i>Eupetomena macroura</i> , <i>Hylocharis chrysura</i> , <i>Phaethornis pretrei</i> e <i>Polytmus guainumbi</i>
<i>Calliandra dysantha</i>	Pincel <sup>d</sup>	Vermelho <sup>d</sup>	Actinomorfa <sup>e</sup>	30.5 <sup>d</sup>	N	<i>Calliphlox amethystina</i> , <i>Colibri serrirostris</i> e <i>Eupetomena macroura</i>
<i>Collaea speciosa</i>	Estandarte <sup>f</sup>	Vermelho <sup>f</sup>	Zigomorfa <sup>g</sup>	22.0 <sup>h</sup>	N	<i>Hylocharis chrysura</i> e <i>Chlorostilbon lucidus</i>
<i>Esterhazyia splendida</i>	Tubular <sup>i</sup>	Vermelho/laranja <sup>i</sup>	Zigomorfa <sup>i</sup>	50.0 <sup>d</sup>	N	<i>Colibri serrirostris</i> e <i>Eupetomena macroura</i>
<i>Palicourea margravii</i>	Tubular <sup>j</sup>	Amarelo, branco e rosa/ lilás <sup>j</sup>	Actinomorfa <sup>k</sup>	22.7 <sup>j</sup>	S <sup>j</sup>	<i>Chlorostilbon lucidus</i> e <i>Amazilia lactea</i>
<i>Zeyheria montana</i>	Tubular <sup>l</sup>	Castanho e amarelo <sup>l</sup>	Zigomorfa <sup>m</sup>	30.5 <sup>d</sup>	N <sup>l</sup>	<i>Eupetomena macroura</i>

**Referências:** <sup>a</sup> Martins et al. 2007; <sup>b</sup> Stahl et al. 2012; <sup>c</sup> Faria and Araújo 2010; <sup>d</sup> Gottsberger and Silberbauer-Gottsberger 2006; <sup>e</sup> Tamashiro and Escobar 2016; <sup>f</sup> Sazima et al. 1996; <sup>g</sup> Tozzi 2016; <sup>h</sup> Ceolin and Miotto 2009; <sup>i</sup> Ormond et al. 1998; <sup>j</sup> Koschnitzke et al. 2009; <sup>k</sup> Jung-Mendaçolli 2007; <sup>l</sup> Bittencourt and Semir 2004; <sup>m</sup> Dias Netto 2009.

As espécies vegetais selecionadas representam uma ampla variedade de formas e padrões de cores florais (veja flores ‘Controle’ na Figura 1). Deste modo, podemos testar nossa hipótese considerando a visitaç o dos beija-flores a flores com a forma floral modificada em uma ampla perspectiva, já que nossos testes não se restringem a uma única forma ou colora o floral. Adurante o período de florescimento de cada uma das espécies

vegetais, nós marcamos plantas em campo e amostramos diversos subgrupos desses indivíduos em cada um dos experimentos descritos adiante.

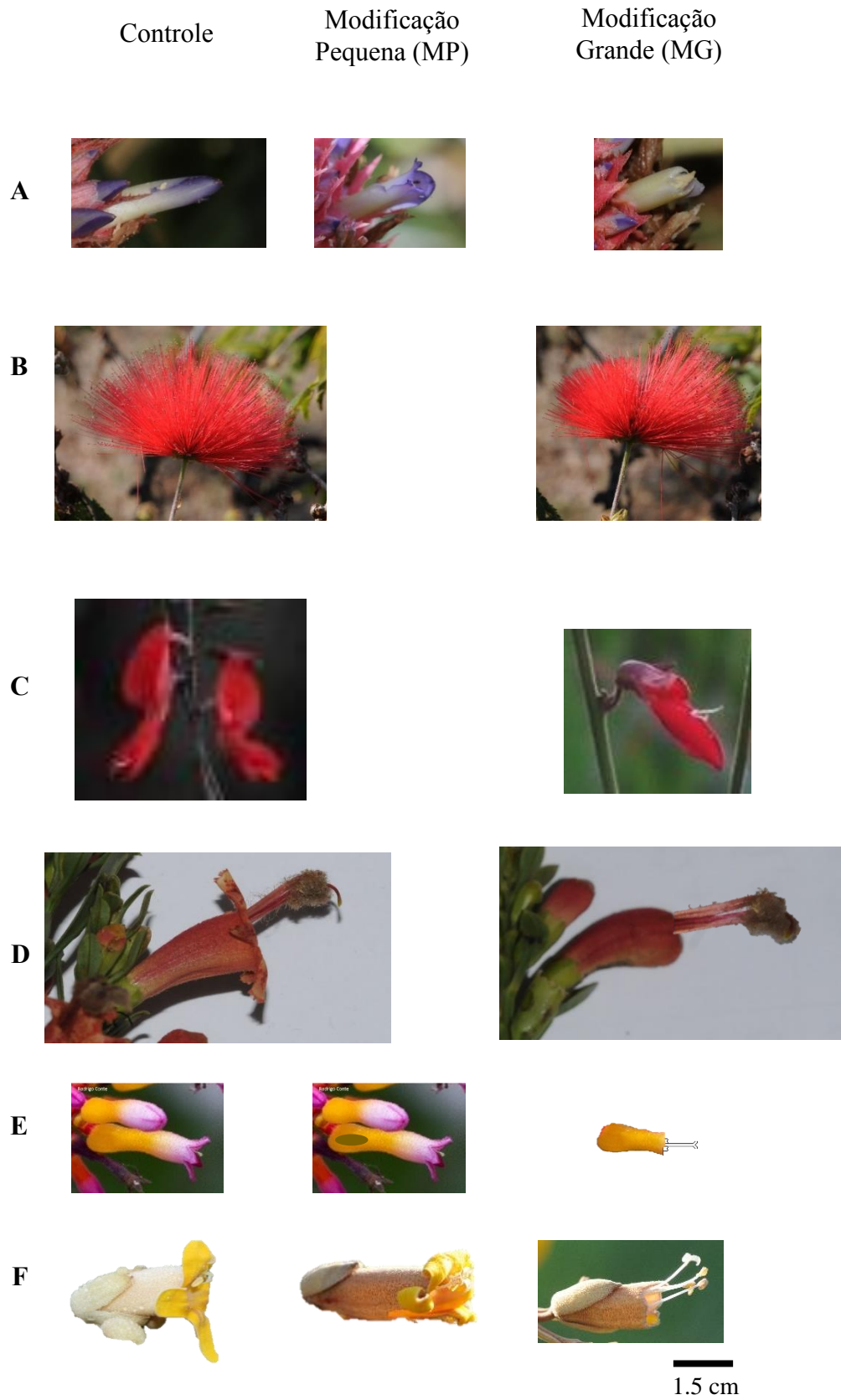
### ***Florivoria***

Com o intuito de avaliar o impacto dos florívoros sobre as espécies de estudo, nós realizamos um levantamento preliminar em dez indivíduos aleatórios de cada espécie e identificamos que a atividade dos florívoros nas espécies do estudo era comumente baixa e em sua maioria gerava danos pequenos, variando de 0% a 5% de área da corola; *Calliandra dysantha*, *Collaea speciosa* e *Esterhazyia splendida* não apresentaram nenhum dano causado por florívoros. Entretanto, em *Ananas ananassoides* e *Palicourea marcgravii* os danos mais comuns causados por florívoros correspondiam a 1 a 3% da área da corola; em *A. ananassoides* esse dano correspondia à remoção de uma porção de parte de uma das pétalas de suas flores (Fig. 1A, segunda coluna), e em *P. marcgravii*, esse danos correspondia à remoção de uma pequena área circulas na base da corola (Fig. 1E, segunda coluna); enquanto os danos observados em *Zeyheria montana* variaram de 3 a 5% da área da corola e correspondiam a remoção de parte de uma pétala lateral, parte da pétala inferior e parte do tubo da corola (Fig. 1F, segunda coluna). A ocorrência de danos correspondendo a mais de 50% da área da corola foram raros, mas podiam ser observados em *Ananas ananassoides* e *Zeyheria montana* (Tunes e Guimarães *in prep*). O dano mais frequentemente registrado nesse estudo preliminar foi utilizado como um modelo para simularmos experimentalmente os danos florais (modificações nas formas florais) em todas as espécies nos experimentos a seguir e serão, a partir de agora, nomeados ‘modificação pequena’.

***Procedimentos experimentais para testar se beija-flores negligenciam flores com formas florais modificadas***

Para investigar a importância da integridade da forma floral na polinização por beija-flores, nós dividimos esse estudo em dois experimentos. Em ambos nós manipulamos experimentalmente a forma floral e avaliamos a visitação de beija-flores a flores intactas e modificadas. Em ambos os experimentos nós aplicamos três tratamentos às flores, (i) ‘controle’ (C): flores sem nenhuma modificação em sua forma (primeira coluna na Fig. 1); (ii) ‘modificação pequena’ (MP): flores com modificações da forma simulando a florivoria natural mais frequente registrada em populações naturais de cada espécie (Tunes e Guimarães *in prep*) (segunda coluna na Fig. 1); (iii) ‘modificação grande’ (MG): flores com modificações de forma simulando danos raros de florivoria natural, em que 50% da corola das flores foram removidos (terceira coluna na Fig. 1). Veja na Figura 1 os padrões de dano aplicados às flores de cada espécie. *Calliandra dysantha*, *Collaea speciosa* e *Esterhazyia splendida* não apresentaram danos causados por florívoros, portanto nós não aplicamos o tratamento ‘modificação pequena’ em suas flores. Para essas três espécies nós comparamos apenas ‘controle’ e ‘modificação grande’ como uma representação de danos incomuns (veja na Figura 1 os padrões de dano de cada espécie).

No primeiro experimento, nós investigamos a importância da integridade da forma floral na polinização por beija-flores, quando uma mesma planta apresentava tanto flores intactas quanto danificadas, nós distribuimos os tratamentos ‘controle’, ‘modificação pequena’ e ‘modificação grande’ dentre todas as flores de plantas em condições naturais. Enquanto no segundo experimento, nós investigamos se beija-flores negligenciam flores danificadas quando todas as flores de uma mesma planta eram modificadas.



**Fig. 1** Fotografias ilustrando os tratamentos aplicados às flores de cada espécie de estudo. A. flores de *Ananas ananassoides*; B. *Calliandra dysantha*; C. *Collaea speciosa*; D. *Esterhazyia splendida*; E. *Palicourea marcgravii*; e F. *Zeyheria montana*.

### ***Experimento 1: Distintas formas florais por planta***

Nós utilizamos um mínimo de 10 flores em cada tratamento por espécie, e distribuímos os tratamentos dentre as flores de cada planta do modo mais balanceado possível (veja a Tabela 2 para detalhes do número de plantas e flores amostradas em cada espécie).

Após aplicar os tratamentos em flores recém-abertas, nós expusemos as flores à visitação dos beija-flores e realizamos observações focais contínuas (pessoalmente e através de filmagens) baseadas no protocolo proposto por Potts (2005). As observações foram realizadas durante todo o período de luz dos dias, totalizando, ao fim do experimento, mais de 580 horas, quando considerando todas as espécies vegetais (Tabela 2). Durante as observações, nós registramos quais flores (tratamentos) em cada planta receberam ou não receberam visitas de beija-flores. Esse experimento nos permitiu avaliar se os beija-flores apresentavam preferência por algum dos tratamentos. Algumas perguntas adicionais foram exploradas: Quais dos tratamentos foi mais frequentemente visitado primeiro em uma ronda de forrageio? Os beija-flores visitam flores ‘controle’ primeiro e só depois visitam as flores modificadas? Para responder a essas questões, nós também registramos o número de primeiras visitas que as flores de cada tratamentoreceberam, considerando cada vez que um beija-flor se aproximava de uma planta. Nós realizamos essa avaliação apenas para *Ananas ananassoides*, *Palicourea marcgravii* e *Zeyheria montana* (ela será realizada para as outras espécies no próximo período de floração em 2017).

### ***Experimento 2: Uma forma floral por planta***

Nós aplicamos os tratamentos ‘controle’, ‘modificação pequena’ e ‘modificação grande’ em 30 plantas aleatórias, e todas as flores de uma mesma planta receberam o

**Tabela 2.** Detalhes dos indivíduos amostrados no experimento *distintas formas florais por planta*, numero de flores amostradas por tratamento e horas de observação por espécie vegetal (C = controle, MP = modificação pequena, MG = modificação grande)

Espécie	Indivíduos (n)	Flores por tratamento			Flores por espécie (n)	Horas de observação
		C	MP	MG		
<i>Ananas ananassoides</i>	27	49	50	46	145	173h
<i>Calliandra dysantha</i>	5	>100	*	>100	>200	47h
<i>Collaea speciosa</i>	5	11	*	10	21	47h
<i>Esterhazyia splendida</i>	5	42	*	42	84	55h
<i>Palicourea marcgravii</i>	19	21	20	21	62	187h
<i>Zeyheria montana</i>	8	10	10	10	30	75h
Total	69	>233	80	>229	>542	584h

\* Não havia flores no tratamento MP para essas espécies.

mesmo tratamento (veja a Tabela 3 para detalhes do número de flores por planta em cada tratamento). Esse experimento foi realizado com *Ananas ananassoides* e *Palicourea marcgravii* (nós iremos realizar este experimento para as outras espécies de estudo no próximo período de florescimento das espécies, em 2017). Após aplicarmos os tratamentos, nós expusémos as flores à visitaçào de beija-flores e realizamos observaçõe (pessoalmente e através de filmagens) baseadas no protocolo proposto por Potts (2005). As observaçõe foram realizadas durante todo o período de luz do dia, totalizando, ao fim do experimentos, mais de 430 horas, quando considerando ambas as espécies vegetais (Tabela 3). Durante as observaçõe, nós registramos quais plantas e tratamentos recebem ou não receberam visitas de beija-flores.

### *Análises estatísticas*

Para verificar se os beija-flores egligenciam flores com a forma modificada quando elas são oferecidas na mesma planta que flores intactas, nós modelamos a presença/ ausência

**Tabela 3.** Detalhes dos indivíduos amostrados no experimento *uma forma floral por planta*, número de flores amostradas por tratamento, e horas de observação por espécie vegetal. (C = controle, MP = modificação pequena, MG = modificação grande)

Espécie	Indivíduos	Flores por tratamento			Flores por espécie	Horas de observação
		C	MP	MG		
<i>Ananas ananassoides</i>	30	28	33	23	84	279h
<i>Palicourea marcgravii</i>	30	31	52	38	121	157h
Total	60	59	85	61	205	436h

de visitas de beija-flores à cada tratamento utilizando modelos lineares generalizados mistos (GLMM) com distribuição de erro binomial, considerando tratamento como efeito fixo categórico e indivíduo como variável aleatória. Para determinar se algum dos tratamentos era mais frequentemente visitado primeiro, quando um beija-flor iniciava uma ronda de forrageio em uma planta, nós dividimos o número de visitas a cada flor pelo total de flores por planta, e aplicamos o teste de Kruscall-Wallis a esses dados ponderados (essa foi uma análise preliminar, para a versão final do manuscrito nós também iremos explorar a probabilidade de ocorrência de visitas de beija-flores a cada tratamento ao longo do dia, visando identificar mudanças na frequência de visitas aos três tratamentos devido a uma possível associação da ‘nova forma floral’ com a presença de recurso). Para investigar se os beija-flores negligenciam flores com formas modificadas quando todas as flores em uma planta apresentam a mesma forma, nós modelamos a presença/ ausência de visitas de beija-flores a cada um dos tratamentos utilizando modelos lineares generalizados mistos (GLMM) com distribuição de erro binomial, considerando tratamento como efeito fixo categórico e o número de flores agrupadas em cada indivíduo como variável aleatória. Nós realizamos todas as análises estatísticas no software R v. 3.2.5 (R Development Core Team, 2016) com pacotes padrão e lme4 como pacote adicional (Bates et al. 2015).



## RESULTADOS

### *Beija-flores negligenciam flores com formas modificadas?*

#### *Experiment 1: Respostas dos beija-flores a Distintas formas florais por planta*

Nós observamos efeito do indivíduo e nenhum efeito do tratamento aplicado às flores na presença de visitas de beija-flores às flores de *Ananas ananassoides*, *Esterhazyia esplendida*, *Palicourea marcgravii* e *Zeyheria montana* ( $\chi^2$  (2) = 3.2783,  $p$  = 0.1941;  $\chi^2$  (1) = 0.0076,  $p$  = 0.9306; e  $\chi^2$  (2) = 2.1551,  $p$  = 0.3404, respectivamente). Em *Calliandra dysantha*, o modelo que melhor se encaixou em nossos dados leva em conta o efeito do tratamento e do indivíduo ( $\chi^2$  (1) = 4.8596,  $p$  = 0.02749; e  $\chi^2$  (1) = 5.1318,  $p$  = 0.02349, respectivamente). Entretanto, tanto os efeitos dos tratamentos ‘controle’ e ‘modificação grande’ não foram estatisticamente significativos ( $Z$  = 1.92,  $p$  = 0.0549; e  $Z$  = -1.486,  $p$  = 0.1373, respectivamente). Não foi possível testar a influência do tratamento ou do indivíduo sobre a visitação de beija-flores em *Collaea speciosa*, pois registramos apenas 3 visitas às suas flores e todas foram a flores ‘controle’.

Nós não detectamos nenhuma diferença na sequência de visitas ao comparar a frequência de primeiras visitas a cada tratamento por rota de forrageio dos beija-flores em *A. ananassoides* ( $H$  = 0.4818,  $p$  = 0.7859), em *P. marcgravii* ( $H$  = 1.2942,  $p$  = 0.5236), nem em *Z. montana* ( $H$  = 2.415,  $p$  = 0.2989). Em *A. ananassoides*, nós registramos uma mediana de 2 ( $Q_1$  = 0;  $Q_3$  = 3), 3 ( $Q_1$  = 2;  $Q_3$  = 5), e 1 ( $Q_1$  = 0.25;  $Q_3$  = 3.25) visitas aos tratamentos ‘controle’, ‘modificação pequena’ e ‘modificação grande’, respectivamente; em *P. marcgravii*, nós registramos uma mediana de 0 ( $Q_1$  = 0;  $Q_3$  = 1), 0 ( $Q_1$  = 0;  $Q_3$  = 0.5), e 0 ( $Q_1$  = 0;  $Q_3$  = 0) visitas aos mesmos tratamentos; e em *Z. montana*, nós registramos uma mediana de 1.5 ( $Q_1$  = 0;  $Q_3$  = 2), 0 ( $Q_1$  = 0;  $Q_3$  = 0.25), e 0 ( $Q_1$  = 0;  $Q_3$  = 1) visitas por tratamento, também para os mesmos tratamentos.

### ***Experimento 2: Respostas dos beija-flores a uma forma floral por planta***

Nós não detectamos nenhum efeito dos tratamentos aplicados ou do indivíduo sobre a presença de visitas de beija-flores às flores de *Ananas ananassoides*, já que todas as suas flores foram visitadas independentemente do tratamento a elas aplicado; entretanto, nós detectamos um efeito do indivíduo sobre a frequência de visitas de beija-flores às flores de *Palicourea marcgravii* ( $\chi^2 (1) = 8.7122, p = 0.003161$ ).

### **DISCUSSÃO**

Nesse estudo, nós mostramos que os beija-flores não responderam a modificações na integridade da forma floral, uma vez que eles visitaram similarmente flores intactas e danificadas, independentemente da modificação na forma floral ser comum ou incomum na natureza. Através da realização do primeiro experimento, com flores com diferentes modificações na forma floral presentes simultaneamente em uma mesma planta, nós verificamos que os beija-flores não apresentaram preferência por flores intactas. Esse resultado nos dá uma perspectiva da percepção dos beija-flores a curta distância, e pode indicar que, por um lado, beija-flores não distinguem as flores com base na integridade de sua forma e que flores modificadas ainda eram identificadas pelos beija-flores como fonte de recurso. Por outro lado, esse resultado poderia ser um reflexo do fato de que os beija-flores identificavam e buscavam flores intactas, e só exploravam as flores danificadas secundariamente, devido a seu comportamento exploratório. Se essa segunda hipótese estivesse correta, nós teríamos observado uma maior frequência de primeiras visitas às flores controle. Entretanto, nós observamos uma frequência similar de primeiras visitas a cada um dos tratamentos, o que significa que, possivelmente, os atrativos restantes nas flores danificadas ainda eram suficientes para levar à uma visita. O segundo experimento poderia nos dar uma perspectiva da percepção dos beija-flores a distâncias

mais longas do que o primeiro experimento, já que a presença de muitas flores modificadas em uma mesma planta poderia afetar o anúncio floral como um todo. Isso confirmou a ideia de que os beija-flores também não discriminam entre plantas apresentando somente flores íntegras ou somente flores danificadas, de modo que eles exploraram ambas as flores como fonte primária de recurso trófico.

A ausência de diferença entre a frequência de visitas dos polinizadores a flores intactas e danificadas contradiz resultados prévios para plantas polinizadas por abelhas (Karban e Strauss, 1993; Krupnik et al., 1999; McCall, 2008), morcegos (von Helversen e von Helversen, 1999) e esfingídeos (Mothershead e Marquis, 2000). Nossos dados são sustentados por uma assembleia de espécies polinizadas por beija-flores que pertencem a diferentes grupos filogenéticos e apresentam uma ampla variedade de formas florais (estandarte, pincel e tubular), cores (vermelho, laranja, amarelo, rosa/ lilás com branco e amarelo, e branco com lilás), tamanhos, e também são sustentados por um significativo número de espécies de beija-flores atuando como polinizadores nessas espécies. Merece destaque o fato de os beija-flores não negligenciaram flores mesmo com grandes modificações em sua forma floral, como em *Esterhazyia splendida*, na qual as flores passaram de longos tubos, considerados mais especializados (Dalsgaard *et al.*, 2009), a flores similares a campanuladas. Esse resultado foi inesperado, uma vez que flores campanuladas não são comumente associadas à polinização por beija-flores, existindo apenas alguns relatos de flores subcampanuladas sendo visitadas por beija-flores (Martén-Rodríguez e Fenster, 2008; Martén-Rodríguez *et al.*, 2010).

Na verdade, a florivoria, mesmo quando exacerbada, não tornou as flores irreconhecíveis para os beija-flores, o que foi intrigante, uma vez que beija-flores são conhecidos por sua capacidade de distinguir dicas visuais refinadas como mudanças de cor (Gottsberger, 1971) e até por serem capazes de prever a posição de flores que

produzem menos recurso (Colwell *et al.*, 1974). Deste modo, baseados nessas percepções, os beija-flores podem evitar ou buscar certas flores em detrimento de outras (George, 1980). Contudo, em nosso estudo, beija-flores visitaram flores com tubos florais modificados apesar de elas estarem posicionadas ao lado de flores intactas. O fato de que os beija-flores não apresentaram preferência por flores não danificadas corrobora a ideia de que beija-flores podem adotar um comportamento generalista na busca por néctar (Dalsgaard *et al.*, 2009; Abrahamczyk e Kessler, 2010; Maruyama *et al.*, 2013). Provavelmente, eles provaram as flores modificadas, pois as identificaram como potenciais fontes de recurso, uma vez que elas se mantiveram parecidas com tubos.

Considerando nossos resultados e o fato de que todas as modificações foram realizadas em flores recém abertas, que possuíam néctar, nós hipotetizamos que a presença do recurso trófico é o fator determinante para a constância de visitas. De fato, George (1980) observou que os beija-flores provavam algumas flores de segundo dia que não possuíam néctar, mas passavam a visitá-las ativamente quando néctar era artificialmente introduzido nessas flores. Entretanto, quando os danos florais eram associado à depleção de recursos por antagonistas (marcas de roubo de néctar), os beija-flores evitavam essas flores (Irwin e Brody, 1999; Caballero *et al.*, 2013), possivelmente devido à memória associando a presença desses danos com a ausência de néctar.

Beija-flores tem sido historicamente associados a flores longas e tubulares (Faegri e Van der Pijl, 1979; Grant e Temeles, 1992), entretanto, não há evidências de como os beija-flores percebem a forma e a integridade das flores. A partir dos resultados aqui apresentados, podemos dizer que os beija-flores não dependem essencialmente da forma floral para identificar e visitar flores, trazendo à tona o fato de que a percepção da florivoria e das flores em si pelos beija-flores pode ser mais intrigante e complexa do que nós hipotetizamos inicialmente.

## AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos à ‘Estação Ecológica de Santa Bárbara’, ao ‘Instituto Florestal do Estado de São Paulo’, e à ‘Estação Ecológica Águas Emendadas – ESECAE’ pela infraestrutura das áreas de coleta, ao Dr. Gilson Volpato e ao Dr. Anselmo Nogueira pelas contribuições feitas na primeira versão deste manuscrito, ao Dr. Klaus Lunau pelas proveitosas discussões a respeito da percepção dos beija-flores, à Dr. Ana Maria Rodrigues Cassiolato pelo auxílio com as análises estatísticas e aos alunos do laboratório de Ecologia e Evolução das Interações Planta-Animal pelo auxílio em campo.

## REFERÊNCIAS

- Abrahamczyk, S., and Kessler, M. 2010. Hummingbird diversity, food niche characters, and assemblage composition along a latitudinal precipitation gradient in the Bolivian lowlands. *Journal of Ornithology*, 151(3), 615-625.
- Andrews, E. S., Theis, N., and Adler, L. S. 2007. Pollinator and herbivore attraction to *Cucurbita* floral volatiles. *Journal of chemical ecology*, 33(9), 1682-1691.
- Bang, B. G. and Cobb, S. 1968. The size of the olfactory bulb in 108 species of birds. *The auk*, 85(1), 55-61.
- Douglas Bates, Martin Maechler, Ben Bolker, Steve Walker (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48.<doi:10.18637/jss.v067.i01>.
- Bittencourt Jr, N. S., and Semir, J. 2004. Pollination biology and breeding system of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 247(3-4), 241-254.

- Brown, J. W. and Mindell, D. P. 2009. Swifts, treeswifts, and hummingbirds (Apodiformes) In: Hedges, S. B. and Kumar, S. (Eds.). The timetree of life. OUP Oxford.
- Caballero, P., Ossa, C. G., Gonzáles, W. L., González-Browne, C., Astorga, G., Murúa, M. M., and Medel, R. 2013. Testing non-additive effects of nectar-robbing ants and hummingbird pollination on the reproductive success of a parasitic plant. *Plant ecology*, 214(4), 633-640.
- Chapin III, F. S., Matson, O. A. and Mooney, H. A. 2002. Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology. Springer-Verlag, New York, 436p.
- Ceolin, G. B., and Miotto, S. T. S. 2009. The genus *Collaea* DC. (Leguminosae, Papilionoideae) in South Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 23(4):991-998.
- Colwell, R. K., B. J. Betts, P. Bunnell, F. L. Carpenter, and P. Feinsinger. 1974. Competition for the nectar of *Centropogon valerii* by the hummingbird *Colibri thalassinus* and the flower-piercer *Diglossa plumbea*, and its evolutionary implications. *Condor* 76:447- 452.
- Consolaro, H. N. 2009. A distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado.
- Cronk, Q. and Ojeda, I. 2008. Bird-pollinated flowers in an evolutionary and molecular context. *Journal of experimental botany*, 59(4), 715-727.
- Dalsgaard, B., González, A. M. M., Olesen, J. M., Ollerton, J., Timmermann, A., Andersen, L. H., and Tossas, A. G. 2009. Plant–hummingbird interactions in the West Indies: floral specialisation gradients associated with environment and hummingbird size. *Oecologia*, 159(4), 757-766.
- Dafini, A., Kevan, P. G. and Husband, B. C. (Eds.). 2005. Practical pollination biology. Environquest, Cambridge, Ontario, Canada, 590p.

- Del-Claro, K. 2012. Origem e importância das relações plantas-animais para a ecologia e conservação. In Del-Claro, K. and Torezan-Silingardi, H. M. (eds) Ecologia das interações plantas-animais, uma abordagem ecológico-evolutiva. Technical Books, Rio de Janeiro – RJ, p. 36-50.
- Dias Netto, C. G. 2009. Dinâmica da secreção de néctar em *Zeyheria montana* Mart. (Bignoniaceae) relacionada à atividade dos beija-flores.
- Faegri, K. and Van der Pijl, L. van der. 1979. The principle of pollination ecology. Pergamon Press, Oxford, England, 244p.
- Faria, Rogério R., and Araújo, Andréa C.. (2010). Flowering phenology and pollination of ornithophilous species in two habitats of Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brazil. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 82(4), 843-855. <https://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652010000400006>
- Feinsinger, P., and Colwell, R. K. 1978. Community organization among neotropical nectar-feeding birds. American Zoologist, 18(4), 779-795.
- Fleming, T. H., and Kress, W. J. 2013. The ornaments of life: coevolution and conservation in the tropics. University of Chicago Press.
- Galen, C., and Cuba, J. 2001. Down the tube: pollinators, predators, and the evolution of flower shape in the alpine skypilot, *Polemonium viscosum*. Evolution, 55(10), 1963-1971.
- George, M. W. 1980. Hummingbird foraging behavior at *Malvaviscus arboreus* var. *Drummondii*. The auk, 790-794.
- Goldsmith, T. H. 1990. Optimization, constraint, and history in the evolution of eyes. Quarterly Review of Biology, 281-322.
- Gottsberger, G. 1971. Colour change of petals in *Malvaviscus arboreus* flowers. Acta Botanica Neerlandica, 20(4), 381-388.

- Gottsberger, G. and Silberbauer-Gottsberger, I. 2006. Life in the cerrado: a South American Tropical Seasonal Ecosystem. Vol. II. Pollination and seed dispersal. Reta Verlag. 383p.
- Grant, V. 1949. Pollination systems as isolating mechanisms in angiosperms. *Evolution*, 82-97.
- Grant, V., and Temeles, E. J. 1992. Foraging ability of rufous hummingbirds on hummingbird flowers and hawkmoth flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(20), 9400-9404.
- Hanley, M. E., Lamont, B. B. and Armbruster, W. S. 2009. Pollination and plant defence traits co-vary in Western Australian Hakeas. *New Phytologist*. 182: 251–260
- Healy, S. D. e Hurly, T. A. 2001. Foraging and spatial learning in hummingbirds. In Chittka, L. and Thomson, J. D. (Eds) *Cognitive ecology of pollination – Animal behavior and floral evolution*. Cambridge University Press, Cambridge. p. 127-147.
- Herrera, G., Zagal, J. C., Diaz, M., Fernández, M. J., Vielma, A., Cure, M., ... and Palacios, A. G. 2008. Spectral sensitivities of photoreceptors and their role in colour discrimination in the green-backed firecrown hummingbird (*Sephanoides sephanioides*). *Journal of Comparative Physiology A*, 194(9), 785-794.
- Howe GA, Jander G. Plant immunity to insect herbivores. 2008. *Annu Rev Plant Biol*. 59:41-66.
- Hurly, A. T., and Healy, S. D. 1996. Memory for flowers in rufous hummingbirds: location or local visual cues?. *Animal Behaviour*, 51(5), 1149-1157.
- Irwin, R. E., Adler, L. S., and Brody, A. K. (2004). The dual role of floral traits: pollinator attraction and plant defense. *Ecology*, 85(6), 1503-1511.
- Irwin, R. E., and Brody, A. K. (1999). Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *Ecology*, 80(5), 1703-1712.



- Johnson, S. D., and Nicolson, S. W. 2008. Evolutionary associations between nectar properties and specificity in bird pollination systems. *Biology Letters*,4(1), 49-52.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. F., and Donoghue, M. J. 2002. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc.
- Jung-Mendaçolli, S.L. (coord.) 2007. Rubiaceae In: Melhem, T.S., Wanderley, M.G.L., Martins, S.E., Jung-Mendaçolli, S.L., Shepherd, G.J., Kirizawa, M. (eds.) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*, vol. 5, pp: 259-460.
- Karban, R., and Strauss, S. Y. 1993. Effects of herbivores on growth and reproduction of their perennial host, *Erigeron glaucus*. *Ecology*, 74(1), 39-46.
- Kessler, D. and Baldwin, I. T. 2006. Making sense of nectar scents: the effects of nectar secondary metabolites on floral visitors of *Nicotiana attenuata*. *The Plant Journal* 49: 840–854
- Kessler, D., Diezel, C., Clark, D. G., Colquhoun, T. A., and Baldwin, I. T. 2013. *Petunia* flowers solve the defence/apparency dilemma of pollinator attraction by deploying complex floral blends. *Ecology letters*, 16(3), 299-306.
- Kessler, A., and Halitschke, R. 2009. Testing the potential for conflicting selection on floral chemical traits by pollinators and herbivores: predictions and case study. *Functional Ecology*, 23(5), 901-912.
- Kessler, D., Kallenbach, M., Diezel, C., Rothe, E., Murdock, M., and Baldwin, I. T. 2015. How scent and nectar influence floral antagonists and mutualists. *Elife*, 4, e07641.
- Koschnitzke, C., Rodarte, A., Gama, R. D. C. R., and Tâmega, F. 2009. Flores ornitófilas odoríferas: duas espécies de *Palicourea* (Rubiaceae) na Estação Biológica de Santa Lúcia, ES, Brasil.
- Krupnick, G. A., and Weis, A. E. 1999. The effect of floral herbivory on male and female reproductive success in *Isomeris arborea*. *Ecology*, 80(1), 135-149.

- Krupnick, G. A., Weis, A. E., and Campbell, D. R. 1999. The consequences of floral herbivory for pollinator service to *Isomeris arborea*. *Ecology*, 80(1), 125-134.
- Kudoh, H., and Whigham, D. F. 1998. The effect of petal size manipulation on pollinator/seed-predator mediated female reproductive success of *Hibiscus moscheutos*. *Oecologia*, 117(1-2), 70-79.
- Leavitt, H. and Robertson, I. C. 2006. Petal herbivory by chrysomelid beetles (*Phyllotreta* sp.) is detrimental to pollination and seed production in *Lepidium papilliferum* (Brassicaceae). *Ecological Entomology*. 31: 657–660.
- Lunau, K. 2004. Adaptive radiation and coevolution—pollination biology case studies. *Organisms Diversity and Evolution*, 4(3), 207-224.
- Lunau, K., Papiorek, S., Eltz, T., and Sazima, M. 2011. Avoidance of achromatic colours by bees provides a private niche for hummingbirds. *Journal of Experimental Biology*, 214(9), 1607-1612.
- Martén-Rodríguez, S., and Fenster, C. B. (2008). Pollination ecology and breeding systems of five *Gesneria* species from Puerto Rico. *Annals of Botany*, 102(1), 23-30.
- Martén-Rodríguez, S., Fenster, C. B., Agnarsson, I., Skog, L. E., and Zimmer, E. A. (2010). Evolutionary breakdown of pollination specialization in a Caribbean plant radiation. *New Phytologist*, 188(2), 403-417.
- Martins, S. E., Proença, S. L., and Wanderley, M. G. L. 2007. Ananas Mill. Flora fanerogâmica do estado de São Paulo. Instituto de Botânica. São Paulo, 6, 62-65.
- Maruyama, P. K., Oliveira, G. M., Ferreira, C., Dalsgaard, B., and Oliveira, P. E. 2013. Pollination syndromes ignored: importance of non-ornithophilous flowers to Neotropical savanna hummingbirds. *Naturwissenschaften*, 100(11), 1061-1068.
- McCall, A. C. 2008. Florivory affects pollinator visitation and female fitness in *Nemophila menziesii*. *Oecologia*, 155(4), 729-737.

- McCall, A.C. and Irwin, R.E. 2006. Florivory: the intersection of pollination and herbivory. *Ecology Letters*. 9: 1351–1365.
- McDade, Lucinda A. "Long-Tailed Hermit Hummingbird Visits to Inflorescence Color Morphs of *Heliconia irrasa*." *The Condor* 85, no. 3 (1983): 360-64. doi:10.2307/1367077.
- Melendez-Ackerman, E., and Campbell, D. R. 1998. Adaptive significance of flower color and inter-trait correlations in an *Ipomopsis* hybrid zone. *Evolution*, 1293-1303.
- Mothershead, K., and Marquis, R. J. 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant–pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. *Ecology*, 81(1), 30-40.
- Ödeen, A., and Håstad, O. 2003. Complex distribution of avian color vision systems revealed by sequencing the SWS1 opsin from total DNA. *Molecular biology and evolution*, 20(6), 855-861.
- Ormond et al. 1998. Biologia floral e da reprodução de *Esterhazyia splendida* Mikan (Scrophulariaceae). *Boletim do Museu Nacional* 105:1-12.
- Potts, S.G., 2005. Plant interface – pollinator interface: recording pollinator behaviour on flowers. In: Dafni, A., Kevan, P.G., Husband, B.C. (Eds.), *Pollination Ecology: A Practical Approach*. Enviroquest Ltd, Ontario, pp. 329–339.
- Sánchez-Lafuente, A. M. 2007. Corolla herbivory, pollination success and fruit predation in complex flowers: an experimental study with *Linaria lilacina* (Scrophulariaceae). *Annals of botany*, 99(2), 355-364.
- Sazima, I., Buzato, S. and Sazima, M. 1996. An Assemblage of Hummingbird-pollinated Flowers in a Montane Forest in Southeastern Brazil. *Botanica Acta*, 109: 149–160. doi: 10.1111/j.1438-8677.1996.tb00555.x

- Schaefer, H. M. and Ruxton, G. D. 2011. Plant-animal communication. Oxford University Press, Oxford, England, 274p.
- Söber, V., Teder, T., and Moora, M. 2009. Contrasting effects of plant population size on florivory and pollination. *Basic and Applied Ecology*, 10(8), 737-744.
- Stahl, J. M., Nepi, M., Galetto, L., Guimarães, E., and Machado, S. R. 2012. Functional aspects of floral nectar secretion of *Ananas ananassoides*, an ornithophilous bromeliad from the Brazilian savanna. *Annals of botany*, 109(7), 1243-1252.
- Stiles, F. G. 1975. Ecology, flowering phenology, and hummingbird pollination of some Costa Rican *Heliconia* species. *Ecology*, 56(2), 285-301.
- Strauss, S. Y., and Whittall, J. B. 2006. Non-pollinator agents of selection on floral traits. *Ecology and evolution of flowers*, 120-138.
- Sutherland, G. D., and Gass, C. L. 1995. Learning and remembering of spatial patterns by hummingbirds. *Animal Behaviour*, 50(5), 1273-1286.
- Sutherland, S. D., and Vickery Jr, R. K. 1993. On the relative importance of floral color, shape, and nectar rewards in attracting pollinators to *Mimulus*. *The Great Basin Naturalist*, 107-117.
- Tamashiro, J.Y. and Escobar, N.A.G.E. (coord.) 2016. Mimosoideae In: Tozzi, A.M.G.A., Melhem, T.S., Forero, E., Fortuna-Perez, A.P., Wanderley, M.G.L., Martins, S.E., Romanini, R.P., Pirani, J.R., Fiuza de Melo, M.M.R., Kirizawa, M., Yano, O., Cordeiro, I. (eds.) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 8, pp: 84-166.
- Theis, N. 2006. Fragrance of Canada thistle (*Cirsium arvense*) attracts both floral herbivores and pollinators. *Journal of chemical ecology*, 32(5), 917-927.
- Theis, N., and Adler, L. S. 2012. Advertising to the enemy: enhanced floral fragrance increases beetle attraction and reduces plant reproduction. *Ecology*, 93(2), 430-435.

- Tsuji, K., Dhimi, M. K., Cross, D. J., Rice, C. P., Romano, N. H., and Fukami, T. 2016. Florivory and pollinator visitation: a cautionary tale. *AoB Plants*, plw036.
- Tobler, M. A., Van Zandt, P. A., Hasenstein, K. H., and Mopper, S. 2006. Growth and reproduction of a clonal plant in response to salinity and florivory. *Wetlands*, 26(3), 803-812.
- Tozzi, A.M.G.A. (coord.) 2016. Papilionoideae In: Tozzi, A.M.G.A., Melhem, T.S., Forero, E., Fortuna-Perez, A.P., Wanderley, M.G.L., Martins, S.E., Romanini, R.P., Pirani, J.R., Fiuza de Melo, M.M.R., Kirizawa, M., Yano, O., Cordeiro, I. (eds.) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 8, pp: 167-397
- Van der Pijl, L. 1961. Ecological Aspects of Flower Evolution. II. Zoophilous Flower Classes. *Evolution* 15(1):44-59. doi: 10.2307/2405842
- von Helversen, D., and von Helversen, O. 1999. Acoustic guide in bat-pollinated flower. *Nature*, 398(6730), 759-760.
- Wilmer, P. 2011. *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press, New Jersey, 778p.
- Wilson P, Thomson JD. 1996. How do flowers diverge? In *Floral Biology: Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants*, ed. DG Lloyd, SCH Barrett, pp. 88-111. New York: Chapman and Hall

**Apêndice 1.** Locais de coleta para cada espécie estudada e os respectivos tipos de vegetação em que as espécies se encontram

Espécie	Família	Localização	Tipo de vegetação
<i>Ananas ananassoides</i> (Baker) L.B.Sm.	Bromeliaceae	22°46' a 22°41'S e 49°16' a 49°10' W (Águas de Santa Bárbara/SP)	Savana
<i>Calliandra dysantha</i> Hassk.	Leguminosae	15° 31' a 15° 35'S e 47° 32' a 47° 37'W (Planaltina/DF)	Savana
<i>Collaea speciosa</i> (Loisel.) DC.	Leguminosae	19° 09' a 19° 11'S e 48° 23' a 48° 24' W (Uberlândia/MG)	Floresta estacional
<i>Esterhazyia splendida</i> J.C.Mikan	Orobanchaceae	15° 31' a 15° 35'S e 47° 32' a 47° 37'W (Planaltina/DF)	Savana
<i>Palicourea marcgravii</i> A.St.-Hil	Rubiaceae	22° 88'S e 48° 50' a 48° 49'W (Botucatu/SP)	Floresta estacional
<i>Zeyheria montana</i> Mart	Bignoniaceae	22° 90' a 22° 91'S e 48° 50'W (Botucatu/SP)	Savana

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Através deste estudo, verificamos que a florivoria resulta em poucos e pequenos danos em espécies ornitófilas. Além disso, utilizando distintos métodos quantitativos (contagem de grãos de pólen depositados no estigma e registro de visitas dos beija-flores) obtivemos o mesmo resultado no que diz respeito à influência da florivoria sobre a polinização ornitófila, concluindo que a integridade floral não é crucial para a manutenção da interação planta-polinizador. É perceptível que o conhecimento à respeito do modo como os beija-flores percebem as flores é escasso e apresenta diversas lacunas. Aparentemente, a biologia sensorial desses animais é complexa e seus processos de decisão dependem de diversos fatores. Os beija-flores apresentam comportamento bastante plástico e mecanismos de decisão complexos, nos quais o fator mais importante pode ser a presença de recurso trófico nas flores por eles visitadas. Estudos que abordem os sentidos dos beija-flores de forma integrada se fazem necessários para que questões maiores sobre sua percepção sensorial possam ser elucidadas. O presente estudo representa mais um passo em direção ao entendimento do impacto da florivoria sobre a polinização e do aparentemente complexo mecanismo sensorial utilizado por beija-flores para identificar, visitar, estabelecer uma certa fidelidade na visitação às flores de uma dada espécie.