



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



**INFLUÊNCIA DAS INTERAÇÕES COM ABELHAS
MUTUALISTAS E ANTAGONISTAS E DA DISPONIBILIDADE
DE RECURSOS MATERNOS SOBRE O SUCESSO
REPRODUTIVO DE UMA ESPÉCIE DE BIGNONIACEAE DE
CERRADO**

MARÍLIA MONTEIRO QUINALHA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica),
Área de concentração: Morfologia e
Diversidade Vegetal

**BOTUCATU – SP
2016**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Julio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

INFLUÊNCIA DAS INTERAÇÕES COM ABELHAS
MUTUALISTAS E ANTAGONISTAS E DA DISPONIBILIDADE
DE RECURSOS MATERNOS SOBRE O SUCESSO
REPRODUTIVO DE UMA ESPÉCIE DE BIGNONIACEAE DE
CERRADO

MARÍLIA MONTEIRO QUINALHA

PROFA. DRA. ELZA MARIA GUIMARÃES SANTOS
ORIENTADORA

PROF. DR. ANSELMO NOGUEIRA
COORDENADOR

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação
em Ciências Biológicas (Botânica),
Área de concentração: Morfologia e
Diversidade Vegetal

BOTUCATU – SP
2016

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

Quinalha, Marília Monteiro.

Influência das interações com abelhas mutualistas e antagonistas e da disponibilidade de recursos maternos sobre o sucesso reprodutivo de uma espécie de Bignoniaceae de cerrado / Marília Monteiro Quinalha. - Botucatu, 2016

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

Orientador: Elza Maria Guimarães Santos

Coorientador: Anselmo Nogueira

Capes: 20303025

1. Jacaranda - Reprodução. 2. Plantas - Reprodução.
3. Bignoniaceae. 4. Polinização por abelhas. 5. Pólen.

Palavras-chave: Jacaranda caroba; Limitação de pólen;
Limitação de recursos maternos; Sucesso reprodutivo.

Dedico este trabalho ao meu pai, **Walter Quinalha**, pela educação, pelo apoio, amor, carinho e por seguir sempre ao meu lado, até que eu pudesse ser responsável pelo meu próprio caminho...

(In memoriam)

Agradecimentos

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa de estudos concedida.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, processo 446949/2014-0, projeto coordenado pela Prof. Dra. Elza Maria Guimarães Santos, pelo auxílio financeiro.

Ao projeto **Biota FAPESP**, processo 2008/55434-7, coordenado pela Prof. Dra. Silvia Rodrigues Machado, pelo auxílio financeiro.

À Profa. Dra. **Elza Maria Guimarães Santos**, pela dedicação e compromisso durante minha orientação, por todos os ensinamentos, pela confiança, paciência e por me incentivar e motivar a crescer profissionalmente.

Ao Dr. **Anselmo Nogueira**, pela excelente coorientação, paciência, pelas experiências trocadas e pelo apoio em todas as etapas desse trabalho.

Ao **Instituto Florestal do Estado de São Paulo**, pelo apoio e infraestrutura das reservas.

Ao **Alexandre Zuntini** pela identificação de *Jacaranda caroba*.

A **Elaine Franço**so pela identificação de *Bombus morio*.

Aos meus amigos, **César Trevelin** e **Sérgio Adachi**, pela ajuda no campo e pelos registros fotográficos.

Aos funcionários da Estação Ecológica de Águas de Santa Bárbara, **Carlos Roberto da Silva**, **José do Prato**, **José Benedito Desidério**, **Marcos Soler** e **Josimar de Souza**, pela disponibilidade em me ajudar e por todo auxílio prestado durante minhas coletas em campo.

A **Heloíza Cassola**, pelo auxílio no processamento do material de campo.

Aos meus queridos amigos, alunos e ex-alunos do Laboratório de Ecologia e Evolução das Interações Planta-Animal, **Adriano Valentin**, **Vinícius Nunes** e **Erika Ramos**, pelas conversas, pelo companheirismo, apoio e pelos bons momentos vividos dentro e fora do laboratório. Em especial, agradeço as minhas amigas, **Camila Vaz de Souza**, **Priscila Tunes e Bruna de Campos**, que além da amizade e apoio em todos os momentos, foram fundamentais para a realização desse trabalho. Obrigada pela enorme ajuda no campo, pela parceria, pelos momentos divertidos e descontraídos durante a coleta de dados e pelo apoio na elaboração final dessa dissertação.

Às minhas amigas, **Fernanda Palermo, Ana Maria Ruocco, Laís Tavares, Suyen Naide, Juliana Sthal, Katiane Reis, Elisa Cardoso e Ana Lis Uchida**, por todos esses anos de convivência e amizade, pelo apoio, pelas experiências trocadas e pelos bons momentos que fizeram dessa etapa da minha vida mais leve e divertida.

Às minhas companheiras e amigas de mestrado, **Ellen de Oliveira, Maria Angélica Paraizo e Janete Ferreira**, mesmo em áreas diferentes, vivemos juntas todas as dificuldades e todos os aprendizados da pós-graduação. Obrigada pelas conversas e experiências trocadas.

À minha família, em especial a minha mãe, **Neusa Quinalha**, pela educação, pelos conselhos e pelo apoio incondicional pra que eu realizasse os meus sonhos.

Sumário

Resumo.....	9
Abstract.....	11
Introdução.....	13
Material e Métodos.....	18
Resultados.....	30
Discussão.....	44
Referências bibliográficas.....	58
Considerações finais.....	66

Este trabalho foi redigido na forma de artigo científico a ser submetido ao periódico *Naturwissenschaften*

Influência das interações com abelhas mutualistas e antagonistas e da disponibilidade de recursos maternos sobre o sucesso reprodutivo de uma espécie de Bignoniaceae de cerrado

Marília Monteiro Quinalha¹, Anselmo Nogueira¹ & Elza Guimarães¹

¹Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, São Paulo, Brasil.

1. Resumo

As plantas normalmente apresentam um limite máximo de frutificação que é determinado pela disponibilidade de recursos maternos, no entanto, o sucesso reprodutivo feminino de determinadas espécies é ainda menor que o potencial intrínseco à planta-mãe. Nesse caso, fatores extrínsecos à planta, como a limitação de pólen, decorrentes das interações ecológicas estabelecidas com mutualistas e antagonistas da comunidade, podem interferir e impactar negativamente a reprodução. Considerando que a investigação simultânea de fatores intrínsecos e extrínsecos à planta pode ajudar a estabelecer o papel de cada um deles sobre a baixa produção de frutos em angiospermas, neste trabalho nós avaliamos experimentalmente a contribuição relativa da limitação de recursos maternos e da limitação de pólen sobre o sucesso reprodutivo de *Jacaranda caroba* (Bignoniaceae), uma espécie selecionada como modelo por ser zoófila, predominantemente xenógama e apresentar baixa frutificação natural. Assim, testamos as seguintes hipóteses: (1) o número total de frutos é menor que o número total de flores produzidas pela planta na ausência de limitação de pólen; (2) a frutificação natural é ainda inferior à capacidade de formação de frutos das plantas devido à limitação de pólen; (3) a baixa frequência de visitas do polinizador ou a transferência de grãos de pólen inadequados resulta em limitação quantitativa e qualitativa, respectivamente; (4) abelhas que roubam ou pilham recursos atuam como antagonistas

afetando negativamente, de forma direta ou indireta, o sucesso reprodutivo. Nossos resultados experimentais mostraram que a baixa produção de frutos em relação ao número de flores produzidas por planta é determinada pela limitação de recursos maternos, mas a frutificação natural foi ainda menor do que a capacidade reprodutiva das plantas devido à limitação de pólen na população. A baixa frequência de visitas do polinizador foi o principal fator responsável pela limitação quantitativa de pólen. Evidências indiretas mostraram que a transferência de pólen incompatível, devido ao comportamento do polinizador em visitar diversas flores em uma mesma planta, também pode afetar o sucesso reprodutivo da espécie pela limitação qualitativa de pólen. Experimentos que testaram o efeito das abelhas antagonistas indicam que a pilhagem de pólen pode não ter grande impacto sobre a quantidade de pólen disponível para a polinização e que, eventualmente, abelhas pequenas que coletam recursos, podem atuar como mutualistas. Assim, em condições naturais, a limitação de pólen que afeta o sucesso reprodutivo de *J. caroba* decorre dos efeitos combinados das interações simultâneas com mutualistas e antagonistas.

Palavras chave: limitação de recursos maternos, limitação de pólen, sucesso reprodutivo, *Jacaranda caroba*

Abstract

Plants normally present a maximum limit of fruit set that is determined by the maternal resources availability, however, the female reproductive success of certain species is even small than the intrinsic plant potential. In this case, extrinsic factors, as pollen limitation, related to the ecological interactions established with mutualists and antagonists, may interfere and negatively impact the reproduction. The simultaneous investigation of intrinsic and extrinsic factors to the plant can help us to establish the role of each one of them on the low fruit production in angiosperms. In this study we experimentally evaluated the relative contribution of the maternal resources limitation and the pollen limitation over the *Jacaranda caroba* (Bignoniaceae) reproductive success. We selected this species as model, because it is zoophilous, predominantly xenogamous and has low natural fruiting. Therefore, we tested the following hypothesis: (1) total number of fruits is smaller than the total number of flowers produced by the plant in the absence of pollen limitation; (2) natural fruit set is still smaller than the fruit set plant capacity due to the pollen limitation; (3) low frequency of pollinator visits or inadequate transfer of pollen grains results in quantitative and qualitative limitation, respectively; (4) bees that steal or rob resources act like antagonists negatively affecting, directly or indirectly, the reproductive success. Our experimental results showed that the low fruit set in relation to the number of flower produced per plant is determined by the maternal resources limitation, but natural fruit set was still smaller than the plant reproductive capacity due to the pollen limitation in the population. The low frequency of pollinator visits was the main cause of the quantitative pollen limitation. Indirect evidences showed that the transfer of incompatible pollen, due to pollinator behavior in visiting several flowers in the same plant, can also affect the specie reproductive success by the qualitative pollen limitation.

Experiments with antagonist bees indicate that pollen theft may not have a negative impact in the pollen quantity available to the pollination and, eventually, small bees collecting resources, can act like mutualists. Therefore, in natural conditions, the pollen limitation that affects the *J. caroba* reproductive success comes from the combined effects of simultaneous interaction involving mutualists and antagonists.

Word keys: maternal resources limitation, pollen limitation, reproductive success, *Jacaranda caroba*.

2. Introdução

As razões subjacentes às baixas taxas de frutificação natural, comumente observadas nas espécies hermafroditas (Stephenson 1981; Sutherland 1987), necessitam ser investigadas de forma integrada. Estudos realizados nas últimas décadas têm focado a limitação de pólen (Burd 1994, Larson e Barret 2000, Ashman et al 2004, Knight et al. 2005) ou a limitação de recursos maternos (Stephenson 1981; Sutherland 1987) como fatores associados ao baixo sucesso reprodutivo das plantas. A limitação do êxito feminino devido ao recebimento inadequado de pólen parece ser um fenômeno comum em angiospermas, pois estudos envolvendo dados de centenas de espécies indicam que cerca de 60% delas apresentam limitação de pólen significativa (Burd 1994, Knight 2005). Burd (1994) ressalta que, se a disseminação de pólen através de vetores não é suficiente, então, o êxito reprodutivo de ambos os componentes, masculino e feminino, irão ser limitados; neste caso, o componente feminino será limitado mais pelo número incipiente de cruzamentos (limitação de pólen) do que pela disponibilidade recursos.

A alocação de recursos para a reprodução em espécies vegetais hermafroditas é dividida entre a produção de pólen e sementes (Lloyd 1979). Uma vez que ocorreu a polinização adequada, os recursos energéticos da planta-mãe podem limitar o desenvolvimento de frutos e sementes (Stephenson 1981). Assim, o aborto de frutos e a inibição do desenvolvimento de novos botões a partir do início da frutificação podem ser respostas a essa limitação, evidenciando que a reprodução das plantas não depende apenas da quantidade de recurso materno disponível em si, mas também do balanço no investimento do mesmo em cada etapa do ciclo reprodutivo (Stephenson 1981).

Além de fatores intrínsecos à planta, nos sistemas naturais a limitação de pólen também pode ser um fator crucial na determinação do sucesso reprodutivo das plantas

(Bawa e Webb 1984; Sutherland 1986; Ayre e Whelan 1989). Entretanto, os estudos que investigam a limitação de pólen, normalmente enfatizam a limitação quantitativa, pois se baseiam em comparações feitas entre a fertilização oriunda da polinização natural e a fertilização experimental após suplementação de pólen. Assim, Aizen e Harder (2007) ressaltam que a limitação qualitativa de pólen pode ocorrer muito mais comumente do que se imagina, mas que a mesma não é capturada na abordagem utilizada na maioria dos estudos sobre limitação de pólen.

A limitação quantitativa de pólen é caracterizada pelo baixo número de grãos de pólen que chega até as flores, influenciando negativamente a fertilização dos óvulos e a produção de sementes (Ashman et al. 2004; Aizen e Harder 2007). Neste sentido, em espécies hermafroditas o excedente de flores produzidas pode ser interpretado como evidência de investimento no componente masculino, relacionada à dispersão de pólen (Sutherland e Delph 1984). Em espécies zoófilas a limitação quantitativa pode ser decorrente de diversos fatores, tais como a abundância e a composição da fauna de polinizadores (Aizen e Harder 2007), e a eficiência e frequência das visitas legítimas (Aizen 2001; Wilson e Thomson 1991).

Outro fator adicional que pode influenciar o sucesso reprodutivo das plantas é a qualidade do pólen depositado sobre o estigma. A chegada de grãos de pólen viáveis e homoespecíficos ao estigma pode ser suficiente para a formação de sementes em algumas espécies vegetais (Ashman et al. 2004). No entanto, há casos em que pode haver limitação qualitativa de pólen devido à transferência de pólen entre flores de uma mesma planta (Herlihy e Eckert 2004). Por exemplo, espécies autoincompatíveis podem enfrentar uma problemática adicional quando uma alta proporção de pólen oriundo de flores da própria planta é depositada sobre os estigmas, podendo diminuir as chances de germinação do pólen advindo da polinização cruzada (Duncan et al. 2004). Este fato

pode ser intensificado em espécies zoófilas, pois é comum que os polinizadores visitem sequencialmente diversas flores em um mesmo indivíduo ou em indivíduos próximos, que podem ser aparentados (Snow 1982; Eckert 2000), efetuando a polinização cruzada (*sensu* Percival, 1965), mas sem que haja a subsequente fertilização.

Mutualismos são especialmente susceptíveis aos ‘saqueadores’, espécies que não fornecem qualquer benefício aparente, como no caso dos ladrões de néctar associados ao mutualismo planta-polinizador por Darwin (1841). Assim, além dos polinizadores, que podem atuar diretamente na limitação qualitativa e quantitativa de pólen, as plantas também podem receber visitas de visitantes ilegítimos, que coletam recurso floral sem realizar a transferência do pólen, os quais podem interferir, em intensidades variáveis, na limitação de pólen afetando a reprodução da espécie vegetal. A pilhagem de néctar ou pólen ocorre quando esses recursos são obtidos pelos pilhadores sem danificar a flor, já o roubo de ambos envolve danos físicos à flor (Inouye 1980, Torezan-Silingardi 2012).

A pilhagem de pólen pode reduzir a quantidade de pólen que poderia ser retirada e dispersa pelos polinizadores, e assim pode limitar a produção de sementes (do Carmo et al. 2004), contribuindo para a limitação de pólen na população por diminuir a quantidade de gametas masculinos disponíveis para a fecundação (Hargreaves 2007; Hargreaves et al. 2009). No entanto, quando pilhadores de pólen, ocasionalmente, tocam as estruturas reprodutivas e depositam pólen sobre o estigma das flores, podem atuar como mutualistas (Hargreaves et al. 2009, Ballantyne et al. 2015).

O roubo e a pilhagem de néctar também podem ter diversos efeitos sobre a reprodução das plantas (Irwin e Brody 1999, Valdivia e González-Gómez 2006). Esses visitantes podem alterar a quantidade e a qualidade do néctar (Valdivia e González-Gómez 2006) e modificar o comportamento do polinizadores (Reddy et al. 1992,

Valdivia e González-Gómez 2006), afetando indiretamente o sucesso reprodutivo da espécie. No entanto, os efeitos do roubo de néctar são complexos e vão depender da identidade do ladrão e do polinizador, bem como da quantidade de néctar que o ladrão remove e da variedade de recursos disponíveis no ambiente (Maloof e Inouye 2000).

Bignoniaceae possui uma ampla rede de interações com os visitantes florais, sendo que 75% das relações são estabelecidas com visitantes que coletam recursos sem realizar transferência do pólen, gerando uma rede modular em que os ladrões de néctar conectam os módulos, enquanto os ladrões de pólen apresentam ligações mais especializadas (Genini et al. 2010). Levando em conta esse cenário, a avaliação do papel de cada grupo funcional se torna importante para melhor entender os fatores envolvidos no baixo sucesso reprodutivo das plantas desta família.

Assim, para este estudo, selecionamos como modelo *Jacaranda caroba*, uma espécie de Bignoniaceae com baixa frutificação natural, predominantemente xenógama e envolvida em uma rica rede de interações, incluindo antagonistas diversos que atuam como pilhadores de pólen, ladrões de pólen, pilhadores de néctar e ladrões de néctar, além de apresentar certa especialização para polinização, com apenas duas espécies de abelhas médias atuando como mutualistas (Guimarães et al. 2008).

Considerando que a investigação simultânea de fatores intrínsecos e extrínsecos à planta pode ajudar a estabelecer o papel de cada um deles sobre a baixa produção de frutos em angiospermas, neste trabalho nós avaliamos experimentalmente a contribuição relativa da limitação de recursos maternos e da limitação de pólen sobre o sucesso reprodutivo desta espécie. Dado que a reprodução de uma planta pode ser determinada, pelo menos em parte, pela quantidade de recursos maternos disponíveis, nós esperamos que o número total de frutos seja menor que o número total de flores produzidas pela planta na ausência de limitação de pólen, evidenciando um limite energético da planta-

mãe para a reprodução. Por outro lado, a limitação de pólen pode ocorrer em função de variações nas interações ecológicas estabelecidas com mutualistas e antagonistas da comunidade. Dessa forma, nós esperamos que a limitação de pólen possa diminuir o sucesso reprodutivo da planta, seja pela baixa frequência de visitas ou ineficiência dos polinizadores, seja pela transferência de grãos de pólen inadequados (inviáveis, heteroespecíficos ou geneticamente incompatíveis). Separar a limitação quantitativa da qualitativa não é simples, mas segundo Aizen e Harder (2007) pode haver uma mistura destes dois efeitos nos trabalhos que comparam apenas a frutificação natural com a experimental através de suplementação de pólen. Assim, nós procuramos testar experimentalmente quanto de pólen da própria planta uma flor de *J. caroba* pode receber sem afetar decisivamente a fertilização cruzada.

Outro fator que pode afetar o sucesso reprodutivo de uma espécie vegetal é a alta incidência de antagonistas que podem atuar direta ou indiretamente sobre a limitação de pólen. Ladrões geralmente não são polinizadores, segundo Inouye (1980), entretanto, Maloof e Inouye (2000) ressaltam que, em muitos estudos, isso é previamente assumido e que, na verdade, são necessários estudos experimentais para explorar esse pressuposto. Assim, neste trabalho avaliamos experimentalmente se abelhas pequenas, referidas como pilhadoras e ladras de pólen e néctar (Guimarães et al. 2008), podem atuar também como polinizadoras de *J. caroba*.

O objetivo geral deste estudo foi investigar os fatores que podem estar associados ao baixo sucesso reprodutivo *Jacaranda caroba*.

3. Material e Métodos

3.1. Espécie e área de estudo

Selecionamos a espécie *Jacaranda caroba* (Vell.) DC. para realizar este estudo devido a baixíssima frutificação natural (7.25%) verificada por Guimarães et al (2008). Essa espécie de *Jacaranda* é endêmica do Brasil ocorrendo nos Domínios do Cerrado e da Mata Atlântica (Lista de espécies da flora do Brasil 2016). A espécie pode ser considerada um arbusto ou árvoreta (0.7 – 3 metros) e possui ramos glabros, geralmente com lenticelas, filotaxia oposta e folhas compostas bipinadas; a inflorescência possui forma de panícula; as flores apresentam cálice cupular e corola tubular campanulada, roxo claro a escuro; o androceu apresenta estames didínamos e anteras bitecas, estaminódio longo e glandular; o gineceu é composto por um pistilo com ovário achatado disposto logo acima de um disco nectarífero cilíndrico, estilete alongado e estigma bilobado; o fruto é do tipo cápsula elíptica, cujas valvas se curvam na deiscência, expondo as sementes aladas membranáceas que são dispersas pelo vento (Gentry e Morawetz 1992). O nome *Jacaranda oxyphylla* Cham. é atualmente considerado sinônimo de *Jacaranda caroba* (Vell.) DC. (iPlants 2016).

O estudo foi realizado na Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB), administrada pelo Instituto Florestal do Estado de São Paulo, localizada no município de Águas de Santa Bárbara (SP) entre as coordenadas 22°46'30''a 22°50'30''S e 49°10'30''a 49°15'30''W, com uma área de 2712 ha, recoberta por vegetação de cerrado *lato sensu* e floresta estacional semidecídua.

Nas fisionomias savânicas de cerrado mapeamos uma população de *J. caroba*, com cerca de 230 indivíduos, e em seguida sorteamos parte deles para a coleta de dados e realização dos experimentos em campo. As plantas marcadas encontravam-se

agrupadas em cinco manchas, distantes cerca de 300 metros entre si. A distância entre os indivíduos dentro de cada mancha variou de três a 80 metros.

3.2. Contribuição relativa da limitação de recursos maternos e da limitação de pólen para o sucesso reprodutivo

Para investigarmos a contribuição relativa da limitação de recursos maternos e da limitação de pólen para o sucesso reprodutivo em uma população de *J. caroba* nós comparamos a frutificação natural com a frutificação oriunda de cruzamentos experimentais ao longo de todo o período reprodutivo. Em 2014, dentre as 230 plantas previamente mapeadas na população, nós inicialmente selecionamos 40 na população que continham de uma a seis inflorescências. Posteriormente dividimos essas plantas, por sorteio, em dois tratamentos, contendo 20 plantas cada, que foram designados como PTP (plantas totalmente polinizadas) e PNP (plantas naturalmente polinizadas).

Para efetuarmos os cruzamentos experimentais nas plantas totalmente polinizadas (PTP) determinamos previamente o período de receptividade do estigma utilizando o reagente peróxido de hidrogênio (Dafni et al. 2005) e polinizando manualmente flores de primeiro a quarto dia de antese ($n = 45$ flores, 5 plantas) com uma mistura de pólen de cinco indivíduos doadores. Ambos os testes evidenciaram que os estigmas estavam receptivos até o quarto dia de antese. Investigamos também a porcentagem de grãos de pólen viáveis corando-os com carmim acético (Dafni et al. 2005). Contamos 100 grãos de pólen de cada flor ($n = 9$ flores, 9 plantas) em microscópio de luz estimando a porcentagem de viabilidade do pólen a partir da avaliação do tamanho, morfologia e coloração dos mesmos. Verificamos que $93.2 \% \pm 3.6$ dos grãos de pólen eram viáveis. De posse destas informações procedemos aos cruzamentos experimentais descritos a seguir.

No tratamento PTP nós polinizamos absolutamente todas as flores produzidas por cada uma das 20 plantas durante todo o período de florescimento de 2014. A cada dois dias, contávamos e polinizávamos todas as flores abertas de cada ramo florífero, previamente isolado dos visitantes florais com sacos de filó. Como doadoras de pólen sorteamos 10 plantas, distantes pelo menos 100 metros das 20 plantas receptoras, com o objetivo de evitar o efeito potencial de grãos de pólen geneticamente incompatíveis. Minutos antes de realizarmos os experimentos de polinização manual, coletávamos as anteras das flores de primeiro e segundo dia das 10 plantas doadoras e fazíamos uma mistura com o pólen dessas flores. Aplicávamos essa mistura nos estigmas das flores utilizando um pincel de ponta fina. No tratamento PNP mantivemos as outras 20 plantas expostas à visitação natural dos polinizadores e demais visitantes florais (grupo controle). Em ambos os tratamentos nós realizamos a contagem periódica das flores e frutos produzidos em cada ramo florífero de cada planta durante todo o período de florescimento de 2014. Todos os frutos iniciados foram acompanhados periodicamente e foi possível estimar a proporção de frutos abortados por planta. Os frutos abortados foram aqueles que após o início de seu desenvolvimento permaneceram com tamanho reduzido e sofreram abscisão antes de seu amadurecimento. No tratamento PTP os frutos iniciados foram ensacados até o aborto ou a deiscência do fruto maduro. No tratamento PNP os frutos só foram ensacados após o final da floração, a fim de evitar que ensacamento dos frutos interferisse visualmente no processo de polinização de flores ainda expostas a visitação. Todos os frutos amadureceram no campo e foram coletados periodicamente nas 40 plantas para a contagem do número de sementes em laboratório.

3.3. Evidências da limitação de recursos maternos

3.3.1. Produção de flores e aborto de frutos

A falta de recursos maternos disponíveis para a reprodução sexuada pode reduzir ou inibir a produção de flores pelas plantas e induzir o aborto seletivo de frutos (Stephenson 1981). Dessa forma, nós comparamos o número total de flores produzidas por planta, por inflorescência e a proporção de frutos abortados ao longo de toda a estação reprodutiva para verificar se houve diferença entre as plantas dos tratamentos PTP (experimental) e PNP (controle). Na existência de limitação de recursos maternos, nós esperaríamos encontrar maior proporção de frutos abortados e menor produção de flores ao longo da estação reprodutiva nas plantas do tratamento PTP, no qual todas as flores foram manualmente polinizadas.

3.3.2. Produção de frutos no período reprodutivo subsequente

O alto investimento de recursos na produção de frutos em uma florada pode afetar a quantidade de recursos disponíveis para a reprodução na próxima florada (Janzen et al. 1980). Dessa forma, seria esperado que o tratamento PTP, na existência de limitação de recursos maternos, tivesse desempenho reprodutivo inferior no período de florescimento subsequente ao tratamento experimental. Assim, para verificar se as plantas do tratamento PTP teriam menor sucesso reprodutivo, do que o esperado em condições naturais, expusemos as flores das plantas de ambos os tratamentos (PTP e PNP) à visitação natural no período reprodutivo subsequente, em 2015. Designamos as plantas expostas à visitação natural em 2015 e que haviam sido totalmente polinizadas (PTP) em 2014 como PTP-2014/ PNP-2015, e as plantas que foram expostas à visitação natural em 2014 (PNP) e novamente em 2015 como PNP-2015. Assim, ao final do segundo período reprodutivo contabilizamos e comparamos a produção de frutos nos

dois tratamentos (PTP-2014/ PNP-2015 e PNP-2015), bem como a produção de frutos no tratamento PNP-2015 com o tratamento PNP de 2014.

3.4. Evidências da limitação de pólen – Interações com abelhas mutualistas e antagonistas

3.4.1. Frequência e comportamento dos visitantes florais

Durante todo o período de florescimento da espécie, realizamos observações focais dos visitantes florais segundo o protocolo de Dafni et al. (2005). Sorteamos 30 indivíduos dentre os 230 previamente marcados na população e realizamos observações sistemáticas em intervalos de uma hora em cada planta cobrindo todo o período de luz do dia, em dias alternados, de modo que ao final do período de florescimento concluímos 60 horas de observação. A cada intervalo nós registrávamos quantas vezes o visitante chegava à planta e visitava ao menos uma flor, quantas flores eram visitadas em sequência, e o tempo gasto pelo visitante em cada flor. Identificamos também o tipo de recurso coletado por cada espécie de visitante. Adicionalmente, classificamos os visitantes florais de acordo com seu comportamento, em quatro grupos: (1) abelhas médias coletoras de néctar: aquelas que ao coletarem o recurso floral contatavam as estruturas reprodutivas da flor por possuírem dimensões do corpo compatíveis com as do tubo da floral, dessa forma podendo realizar a transferência do pólen aos estigmas. (2) abelhas pequenas coletoras de pólen: aquelas que acessavam o tubo da corola para coleta de recurso e tocavam majoritariamente as anteras, podendo acidentalmente tocar o estigma durante as manobras de coleta. (3) abelhas pequenas coletoras de néctar: aquelas que usualmente entravam pelas laterais do tubo da corola para coletar néctar, sem tocar as estruturas reprodutivas da flor por não possuírem tamanho compatível com o tubo da flor e por acessarem o recurso, normalmente, sem passar pela porção central

do tubo, onde se localizam as estruturas reprodutivas. (4) abelhas que roubam néctar: aquelas que coletavam néctar por meio de um dano (fenda ou buraco) feito externamente na base da corola.

3.4.2. *Eficiência dos visitantes florais na polinização*

3.4.2.1. *Sucesso reprodutivo após visitas de abelhas médias e pequenas*

Após a observação prévia dos visitantes florais, realizamos experimentos para testar se a visita das abelhas médias e das abelhas pequenas que visitavam as flores entrando no tubo da flor poderiam efetivamente levar a formação de frutos e sementes. Para isso nós criamos dois tratamentos experimentais distintos, um descrevendo a eficiência das abelhas médias e outro representando a eficiência das abelhas pequenas, para serem comparados com o sucesso reprodutivo natural de *J. caroba* (tratamento PNP ou grupo controle descrito no item 3.2). Em geral, nós utilizamos o número médio de sementes por fruto para comparar o sucesso reprodutivo de *J. caroba* entre os três tratamentos: abelhas médias, abelhas pequenas e polinização natural.

Para o tratamento que descreveu a atuação das abelhas médias na polinização, nós realizamos um procedimento experimental utilizando espécimes fixados de duas espécies de abelhas médias, *Bombus morio* e *Eulema nigrita*, descritas como polinizadoras de *J. caroba* por Guimarães et al. (2008). Os dois espécimes foram selecionados da coleção de abelhas do Departamento de Botânica da UNESP de Botucatu, e representam espécimes de tamanho médio, amostrados em locais próximos à região do estudo. Para o procedimento experimental, cada espécime foi fixado na ponta de um palito de madeira longo e introduzido sequencialmente no interior de quatro flores doadoras de pólen, de quatro plantas distintas, tomando-se o cuidado para que a abelha tocasse o teto da corola aonde se situam as anteras. Nós então simulamos a

visita das duas espécies de abelhas em 100 flores previamente ensacadas de *J. caroba*, 50 visitas para a espécie de abelha *B. morio* e 50 visitas para *E. nigrita*. Posteriormente contabilizamos o número de sementes formadas por fruto em cada uma das visitas simuladas de cada espécie de abelha.

Para avaliar se as abelhas pequenas, que entram no tubo da flor para coletar pólen ou néctar, podem, eventualmente, ser eficientes na transferência do pólen e formação de frutos e sementes, elaboramos um tratamento de exclusão das abelhas médias. Para isso utilizamos 14 plantas na população, e em uma inflorescência de cada indivíduo, colocamos uma caixa confeccionada com tela de arame contendo furos pequenos o suficiente para permitir a entrada somente de abelhas pequenas, excluindo assim a visita de abelhas médias. Mantivemos as 14 inflorescências expostas à visitação durante todo o período reprodutivo e quantificamos o número de frutos produzidos e o número médio de sementes por fruto.

3.4.2.2. Efeito da polinização com proporções variáveis de pólen da própria planta e de outras plantas (PP: POP) sobre o sucesso reprodutivo

Jacaranda caroba é predominantemente xenógama, com apenas 3,85% das flores formando frutos por autopolinização (Guimarães et al. 2008), possivelmente devido a mecanismos de autoincompatibilidade de ação tardia, semelhantes aos descritos por Bittencourt e Semir (2006) para *J. racemosa*. Considerando que algumas espécies de polinizadores realizam visitas sucessivas a flores de uma mesma planta o sucesso reprodutivo desta espécie poderia ser afetado negativamente pela deposição de pólen da própria planta (PP) sobre o corpo das abelhas após visitas sucessivas a flores da mesma planta. Por isso, nós testamos experimentalmente o efeito do pólen da própria planta sobre a produção de frutos e sementes.

Para isso, sortearmos 15 plantas, ensacamos as inflorescências e posteriormente marcamos cinco flores de primeiro dia em cada planta (n= 75 flores/ 5 plantas). Cada uma das cinco flores de cada planta recebeu tratamento com diferentes proporções de pólen. Sendo que a mistura do pólen de outras plantas (POP) foi proveniente de quatro plantas doadoras, distantes pelo menos 100 metros das 15 plantas receptoras. Os cinco tratamentos aplicados em cada planta foram:

Flor 1 - 100% POP (todo o pólen foi proveniente de flores de outras plantas)

Flor 2 - 75 % de POP: 25% de PP;

Flor 3 - 50 % de POP: 50% de PP;

Flor 4 - 25 % de POP: 75% de PP

Flor 5 - 100 % PP (todo o pólen foi proveniente de flores da própria planta).

3.4.3. Efeito dos pilhadores de pólen sobre a quantidade total de pólen disponível por flor

Para testar especificamente o efeito das pilhadoras de pólen sobre a quantidade total de pólen disponível para a polinização nós realizamos um experimento de exclusão das abelhas médias, quantificando a remoção dos grãos de pólen das anteras das flores de *J. caroba*. Para isso utilizamos cinco plantas, e em duas inflorescências de cada indivíduo, nós aplicamos dois tratamentos experimentais distintos. No primeiro tratamento, nós colocamos uma caixa confeccionada com tela de arame contendo furos pequenos em uma das inflorescências, o suficiente para excluir abelhas médias e permitir a entrada de abelhas pequenas (idem experimento 3.4.2.1.). As flores ficaram expostas aos pilhadores de pólen durante os três primeiros dias de antese (flores experimentais). No outro tratamento nós isolamos uma segunda inflorescência de cada

uma das plantas utilizando sacos de filó, impedindo a atuação de qualquer visitante (flores controle).

Ao final do terceiro dia, três flores de cada tratamento (experimentais e controle) foram destacadas de cada uma das cinco plantas para a quantificação dos grãos de pólen remanescentes nas anteras.

3.4.4. Efeito das marcas de roubo de néctar sobre a polinização

Para avaliar o impacto da atuação dos ladrões de néctar sobre a polinização de *J. caroba*, nós sorteamos 20 plantas da população e por volta das 7:00 horas marcamos todos os botões em pré-antese e flores recém-abertas disponíveis em cada planta. Dentre os botões e flores marcadas no campo, nós descrevemos dois conjuntos distintos de flores: (1) flores com marcas de pilhagem de néctar desde o início da antese; (2) flores que não tiveram nenhuma marca de pilhagem de néctar ao longo de todo o primeiro dia de antese (grupo controle). Dessa forma, dentre as flores e botões marcados, nós anotamos todos aqueles que já possuíam marcas de roubo de néctar na base da corola por volta das 7 horas, de tal modo que esse conjunto de flores teve sinais de roubo de néctar durante todo o tempo em que ficou exposto à visita dos polinizadores. Do mesmo modo, ao final do dia nós quantificamos todas as flores marcadas que ainda estavam intactas (sem danos), ou seja, que não haviam sido visitadas pelos ladrões de néctar ao longo de todo o dia. Ao final do primeiro dia de antese coletamos os dois conjuntos de flores e comparamos a quantidade de pólen depositada nos estigmas de flores com e sem marcas de roubo.

3.5. Análise dos dados

3.5.1. Contribuição relativa da limitação de recursos maternos e da limitação de pólen para o sucesso reprodutivo

Para testar se existiu diferença no sucesso reprodutivo das plantas totalmente polinizadas (PTP) e plantas naturalmente polinizadas (PNP) nós utilizamos uma análise de covariância (ANCOVA), utilizando como covariável o número total de flores produzidas por planta para controlar a variação natural do número de inflorescências e de flores entre plantas. Dessa forma, as plantas totalmente polinizadas (PTP) descrevem o potencial reprodutivo de *J. caroba*, enquanto a diferença entre os descritores do sucesso reprodutivo destas plantas totalmente polinizadas (PTP) e das plantas naturalmente polinizadas (PNP) (controle), é um indicativo da limitação de pólen. Nesse experimento, o sucesso reprodutivo de *J. caroba* foi descrito por quatro variáveis dependentes distintas, que foram analisadas separadamente, sendo elas: (1) número total de frutos formados por planta, (2) razão fruto: flor, (3) número total de sementes produzidas por planta e (4) número médio de sementes por fruto. Para todas as análises de covariância nós consideramos o efeito dos tratamentos de polinização (PTP e PNP), da covariável (número de flores) e da interação entre os dois fatores. Nessas análises aplicamos modelos lineares generalizados, nos quais as distribuições probabilísticas utilizadas foram: (i) Binomial para a variável razão fruto: flor e (ii) Binomial Negativa para todas as demais variáveis (do tipo contagem) com base na dispersão dos resíduos inspecionados após cada análise (Crawley 2007).

3.5.2. Teste do efeito da limitação de recursos maternos sobre a produção de flores e aborto de frutos

Para comparar a produção de flores por planta, flores por inflorescência e proporção de frutos abortados entre os tratamentos: plantas totalmente polinizadas (PTP) e plantas naturalmente polinizadas (PNP), nós utilizamos o teste t. Os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram verificados graficamente antes e depois das análises, respectivamente, e nenhuma transformação foi aplicada aos dados originais.

3.5.3. Teste do efeito da limitação de recursos maternos no período reprodutivo subsequente

Para comparar a produção de frutos por planta entre os tratamentos das plantas expostas à polinização natural em 2015 e totalmente polinizadas em 2014 (PTP-2014/PNP-2015) e das plantas naturalmente polinizadas em 2015 e naturalmente polinizadas em 2014 (PNP-2015), e entre os tratamentos das plantas naturalmente polinizadas em 2014 (PNP) e das e naturalmente polinizadas em 2015 (PNP-2015) efetuamos análises de variância (ANOVA) separadamente. Para realizar essa análise utilizamos um modelo linear generalizado e uma distribuição de erro do tipo binomial negativa. Para compararmos a frutificação das plantas expostas à polinização natural em 2014 e 2015, utilizamos as mesmas plantas nos dois anos (tratamentos PNP e PNP-2015). Assim, para aplicar esses testes nós incluímos planta como variável aleatória e, portanto, utilizamos um modelo generalizado misto.

3.5.4. Teste da eficiência das visitas de abelhas médias e pequenas no sucesso reprodutivo

A eficiência na formação de sementes de abelhas médias, pequenas e a que ocorre em condições naturais, foi comparada por ANOVA. Para isso, utilizamos um modelo linear generalizado e uma distribuição de erro do tipo binomial negativa. Posteriormente realizamos um teste de Tukey para testar a diferença entre as médias da produção de sementes de cada grupo.

3.5.5. Teste do efeito da polinização com proporções variáveis de pólen da própria planta e de outras plantas (PP: POP) sobre o sucesso reprodutivo

Para avaliar o efeito da qualidade do pólen sobre a formação de frutos e sementes em *J. caroba* utilizamos um modelo generalizado misto. Neste modelo nós utilizamos como fator fixo a qualidade do pólen (5 tratamentos), e dado que múltiplas flores foram manipuladas em cada planta, a variável aleatória planta também foi adicionada nas análises. O sucesso reprodutivo feminino nesse experimento foi descrito pela formação ou não de frutos (variável binária 0 ou 1) e pelo número de sementes formadas por fruto (variável do tipo contagem). Nessas análises aplicamos modelos lineares generalizados mistos, nos quais as distribuições probabilísticas utilizadas foram: (i) Binomial para a variável binária 0 ou 1, e (ii) Poisson para o número de sementes formadas por fruto.

3.5.6. Teste do efeito dos pilhadores de pólen sobre a quantidade total de pólen disponível por flor

O efeito dos pilhadores de pólen sobre a quantidade total de pólen disponível por flor foi avaliado por meio de um teste t-pareado comparando flores totalmente isoladas

(flores controle) e flores visitadas somente pelos pilhadores de pólen em uma mesma planta, considerando as múltiplas réplicas (conjunto de plantas).

3.5.7. Teste do efeito das marcas de roubo de néctar sobre a polinização

A quantidade de pólen no estigma de flores com marcas de roubo de néctar e flores sem marcas foi comparada por ANOVA utilizando um modelo generalizado misto, no qual a distribuição probabilística utilizada foi a binomial negativa e a variável aleatória considerada a planta.

4. Resultados

4.1. Contribuição relativa da limitação de recursos maternos e da limitação de pólen para o sucesso reprodutivo de J. caroba

Todos os descritores de sucesso reprodutivo avaliados em *J. caroba*: número total de frutos produzidos por planta, razão fruto: flor, número total de sementes por planta e número médio de sementes por fruto, diferiram significativamente entre os tratamentos das plantas totalmente polinizadas (PTP) e das plantas naturalmente polinizadas (PNP), sendo que os valores médios dos descritores do sucesso reprodutivo das plantas totalmente polinizadas (PTP) foram sempre superiores (Tabela 1).

A análise de covariância revelou que, em média, plantas que emitiram mais flores e foram totalmente polinizadas (PTP) produziram maior quantidade de frutos quando comparadas às plantas que ficaram expostas a visita natural (PNP) ($F_{(3,35)} = 11.8, p < 0.0001$) (Figura 1A). Entretanto, plantas do tratamento PTP produziram 14.0% dos frutos que poderiam produzir caso a quantidade de recursos maternos permitisse que todas as flores se desenvolvessem em frutos. Já as plantas do tratamento PNP

produziram apenas 1.7 % de frutos, sendo então afetadas em 12.3 % pela limitação de pólen (Tabela 2).

Quando observamos a porcentagem fruto: flor, verificamos que plantas que produziram mais flores e foram totalmente polinizadas (Figura 1B), tiveram menor proporção de frutos formados em relação ao total de flores produzidas ($F_{(3,35)} = 153.8$, $p < 0.0001$). Por fim, plantas totalmente polinizadas (PTP) produziram maior número de sementes por planta ($F_{(3,35)} = 8.1$, $p = 0.0003$) e por fruto ($F_{(2,33)} = 4.9$, $p = 0.01$) (Figura 1C-D).

Tabela 1. Descritores de sucesso reprodutivo de *Jacaranda caroba* em vegetação de cerrado, Estação Ecológica de Santa Bárbara, SP, Brasil.

Descritores de sucesso reprodutivo	Tratamentos (média $\pm$ desvio padrão)	
	PTP*	PNP**
Nº de frutos/planta	20.9 $\pm$ 15.5	5.7 $\pm$ 7.3
Porcentagem de frutos/flores	20.2 $\pm$ 13.8	1.8 $\pm$ 2.4
Nº de sementes/planta	1455.6 $\pm$ 1371.9	227.2 $\pm$ 263.5
Nº médio de sementes/fruto	67.5 $\pm$ 19.4	46.6 $\pm$ 20.5

*PTP (plantas totalmente polinizadas); **PNP (plantas naturalmente polinizadas).

Tabela 2. Contribuição relativa da limitação de recursos maternos (LRM) e da limitação de pólen (LP) para o sucesso reprodutivo de *Jacaranda caroba* em vegetação de cerrado, Estação Ecológica de Santa Bárbara, SP, Brasil.

Tratamentos	Nº total de flores/planta	Nº total de frutos/planta	Frutos/flores (%)	LRM (%)	LP (%)
Polinização Manual	149.1	20.9	14.0	86.0	-
Polinização Natural	330.8	5.7	1.7	-	12.3

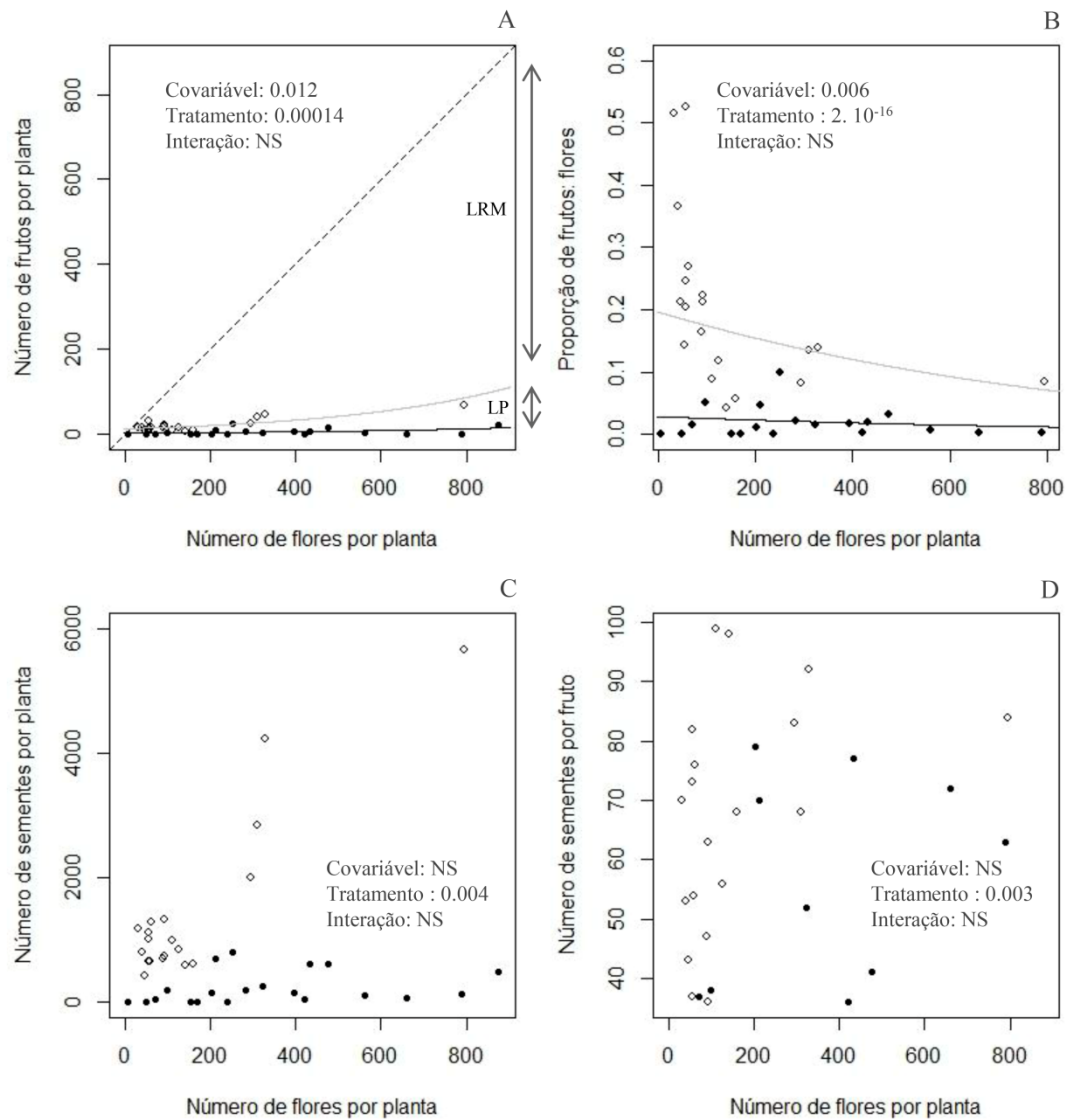


Figura 1. Descritores do sucesso reprodutivo de *Jacaranda caroba*. (A) Produção de frutos e contraste entre limitação de pólen (LP) e limitação por recurso da planta-mãe (LRM); linha tracejada: modelo esperado caso todas as flores formassem frutos. (B) Razão fruto: flor. (C) Número total de sementes produzidas por planta. (D) Número médio de sementes produzidas por fruto. Círculos vazios: plantas totalmente polinizadas; círculos preenchidos: plantas naturalmente polinizadas; Covariável = número de flores; NS = não significativo ($p > 0.05$).

4.2. Evidências da limitação de recursos maternos

4.2.1. Produção de flores e aborto de frutos

As plantas do tratamento PTP produziram, em média, menor quantidade de flores por planta ($t = 2.72$, $p = 0.009$) e de flores por inflorescência ($t = 3.16$, $p = 0.003$),

assim como maior proporção de frutos abortados ($t = -3.67$, $p = 0.001$) do que as plantas do tratamento PNP (Tabela 3).

Tabela 3. Descritores da limitação de recursos maternos em de *Jacaranda caroba* em plantas totalmente polinizadas (PTP) e em plantas naturalmente polinizadas (PNP), em vegetação de cerrado, Estação Ecológica de Santa Bárbara, SP, Brasil.

Descritores de limitação de recursos maternos	Tratamentos (média $\pm$ desvio padrão)	
	PTP	PNP
Nº total de flores/ planta	149.1 $\pm$ 177.7	330.8 $\pm$ 239.1
Nº de flores/ inflorescência	60.8 $\pm$ 36.0	107.5 $\pm$ 55.5
Proporção de frutos abortados	0.5 $\pm$ 0.3	0.17 $\pm$ 0.3

4.2.2. Produção de frutos no período reprodutivo subsequente

Quando avaliados em dois períodos reprodutivos consecutivos, o sucesso reprodutivo das plantas expostas à visitação natural em 2015 e que haviam sido totalmente polinizadas em 2014 (PTP-2014/ PNP-2015) foi reduzido. As plantas que haviam sido totalmente polinizadas em 2014 (PTP) produziram menor quantidade de frutos em 2015 (PTP-2014/ PNP-2015) do que as plantas polinizadas naturalmente nos dois períodos reprodutivos consecutivos (PNP-2014/2015) ($Z = -2.34$, $p = 0.02$). Enquanto os tratamentos PNP (2014) e PNP-2015 tiveram em média a mesma produção de frutos nas duas estações reprodutivas ($Z = 0.27$, $p = 0.25$) (Figura 2).

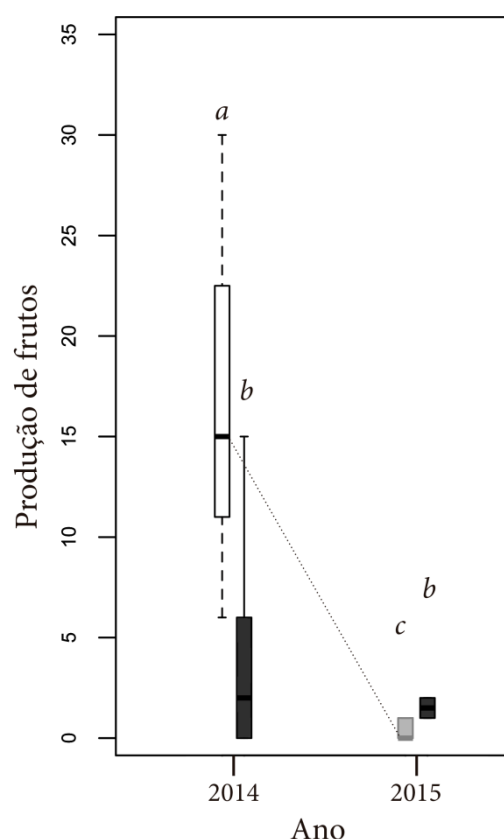


Figura 2. Frutificação de *Jacaranda caroba* em dois períodos reprodutivos consecutivos (2014 e 2015). ‘Boxplot’ branco = plantas totalmente polinizadas (PTP) em 2014. ‘Boxplot’ cinza escuro = plantas naturalmente polinizadas em 2014 (PNP) e em 2015 (PNP-2015). ‘Boxplot’ cinza claro = plantas totalmente polinizadas em 2014 e polinizadas naturalmente em 2015 (PTP-2014/PNP-2015). Linha tracejada = queda na frutificação no período reprodutivo seguinte, após alta produção de frutos no ano anterior. Os tratamentos acompanhados por letras distintas são significativamente diferentes ($p < 0.05$).

4.3. Evidências da limitação de pólen – Interações com abelhas mutualistas e antagonistas

4.3.1. Frequência e comportamento dos visitantes florais

As flores de *J. caroba* foram visitadas por abelhas de tamanho médio e pequeno pertencentes a diferentes grupos funcionais. Abelhas médias, que adentravam o tubo da flor, foram os visitantes menos frequentes, com pico de visitas entre oito e nove horas da manhã (Figura 3A).

Abelhas médias da espécie *Bombus morio*, ao acessarem internamente o tubo da corola, com a cabeça voltada para câmara nectarífera, (Figura 4A-B) contatavam as estruturas reprodutivas da flor devido às dimensões corporais compatíveis com o diâmetro e comprimento do tubo floral, possibilitando o contato com anteras e estigmas e assim podendo atuar como polinizadores. Em média, essas abelhas visitavam uma sequência de duas flores em um mesmo indivíduo, podendo variar de uma a quatro flores, e cada visita durava cerca de quatro segundos (Tabela 4).

Abelhas pequenas, do gênero *Plebeia*, coletavam pólen acessando diretamente as anteras, normalmente sem contatar a superfície receptiva do estigma. Entretanto, ocasionalmente, podia haver contato com o estigma durante as manobras para a retirada do pólen das anteras. Essas abelhas visitavam em média uma flor recém-aberta por indivíduo, e permaneciam por aproximadamente 20 segundos dentro do tubo da flor (Tabela 4). Também observamos abelhas do gênero *Trigona* (Figura 4C) coletando pólen das anteras de *J. caroba* com comportamento semelhante ao das abelhas do gênero *Plebeia*. Entretanto, as visitas das abelhas *Trigona* também ocorriam em botões ainda em desenvolvimento, nos quais elas recortavam pequenas porções da corola na altura das anteras criando orifícios de aproximadamente 5 mm de diâmetro. Estas abelhas pousavam externamente sobre o tubo floral e acessavam as anteras através dos orifícios, retirando o pólen e armazenando-o em suas corbículas (Figura 4D), caracterizando roubo de recurso, pelo fato de causarem danos à estrutura da flor. As abelhas *Trigona* visitavam em média uma flor por planta por cerca de 40 segundos (Tabela 4). De modo geral, as abelhas pequenas coletoras de pólen apresentaram pico de visitas entre nove e 11:00 horas da manhã (Figura 3B).

Abelhas pequenas dos gêneros *Ceratina* e *Epicharis* também acessavam internamente o tubo da flor, aparentemente para coleta de néctar. Essas abelhas

apresentaram maior frequência de visitas quando comparadas aos outros grupos funcionais (Figura 3C). As abelhas do gênero *Ceratina* foram mais frequentes e visitavam em média três flores por indivíduo por aproximadamente 12 segundos. Já as abelhas do gênero *Epicharis* foram bem menos frequentes e visitavam em média uma flor por indivíduo por cerca de seis segundos (Tabela 4). As abelhas de ambos os gêneros entravam geralmente pela lateral da corola e caminhavam até o fundo do tubo floral. No entanto, devido a esse comportamento e por apresentarem dimensões do corpo menores que as do tubo, essas abelhas normalmente não tocavam as estruturas reprodutivas da flor (Figura 4E).

Além das abelhas que entravam no tubo da flor, também registramos duas espécies que coletavam o recurso floral acessando externamente a corola. O pico de visitas dessas abelhas ocorreu entre 10:00 e 11:00 horas da manhã (Figura 3D). *Oxaea flavescens* roubava néctar por meio de uma fenda feita rapidamente na base da corola (Figura 4F). Essas abelhas apresentavam comportamento agressivo, defendiam o recurso floral de outros indivíduos e de outras espécies de abelhas, e visitavam em média cerca de quatro flores na planta por aproximadamente três segundos (Tabela 4). Abelhas do gênero *Trigona* também foram registradas roubando néctar (Figura 4G). Essas abelhas cortavam ativamente as bases do cálice e a corola para coleta de recurso e visitavam em média três flores no mesmo indivíduo (Tabela 4).

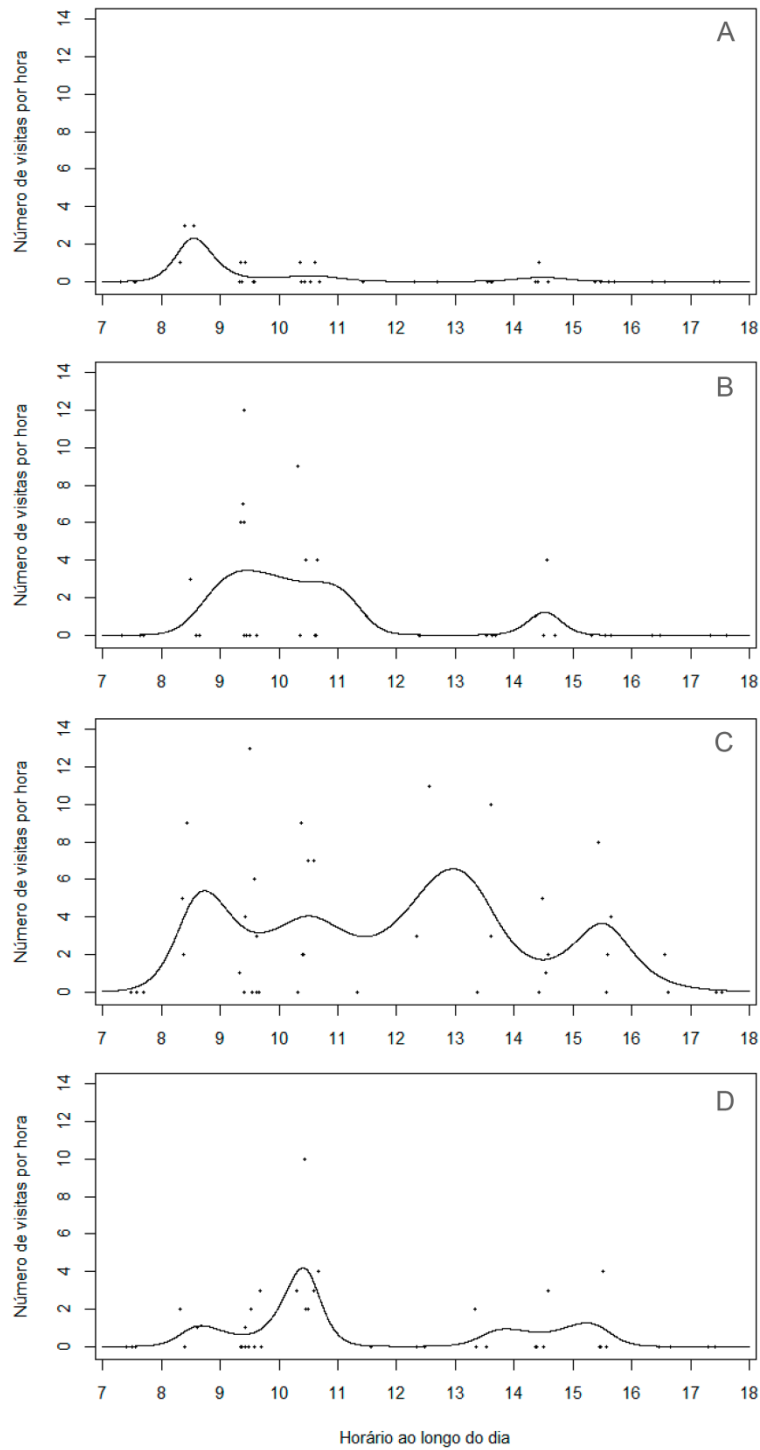


Figura 3. Número de visitas registradas em intervalos de uma hora às flores de *Jacaranda caroba* ao longo do período diurno, em vegetação de cerrado, Estação Ecológica de Santa Bárbara, SP, Brasil. As linhas contínuas representam os modelos aditivos generalizados descrevendo a variação na visitação das abelhas ao longo do dia. (A) Abelhas médias que entram no tubo da flor para coleta de néctar. (B) Abelhas pequenas que coletam pólen. (C) Abelhas pequenas que pilham néctar entrando no tubo da flor. (D) Abelhas que roubam néctar por meio de dano feito na base da corola.

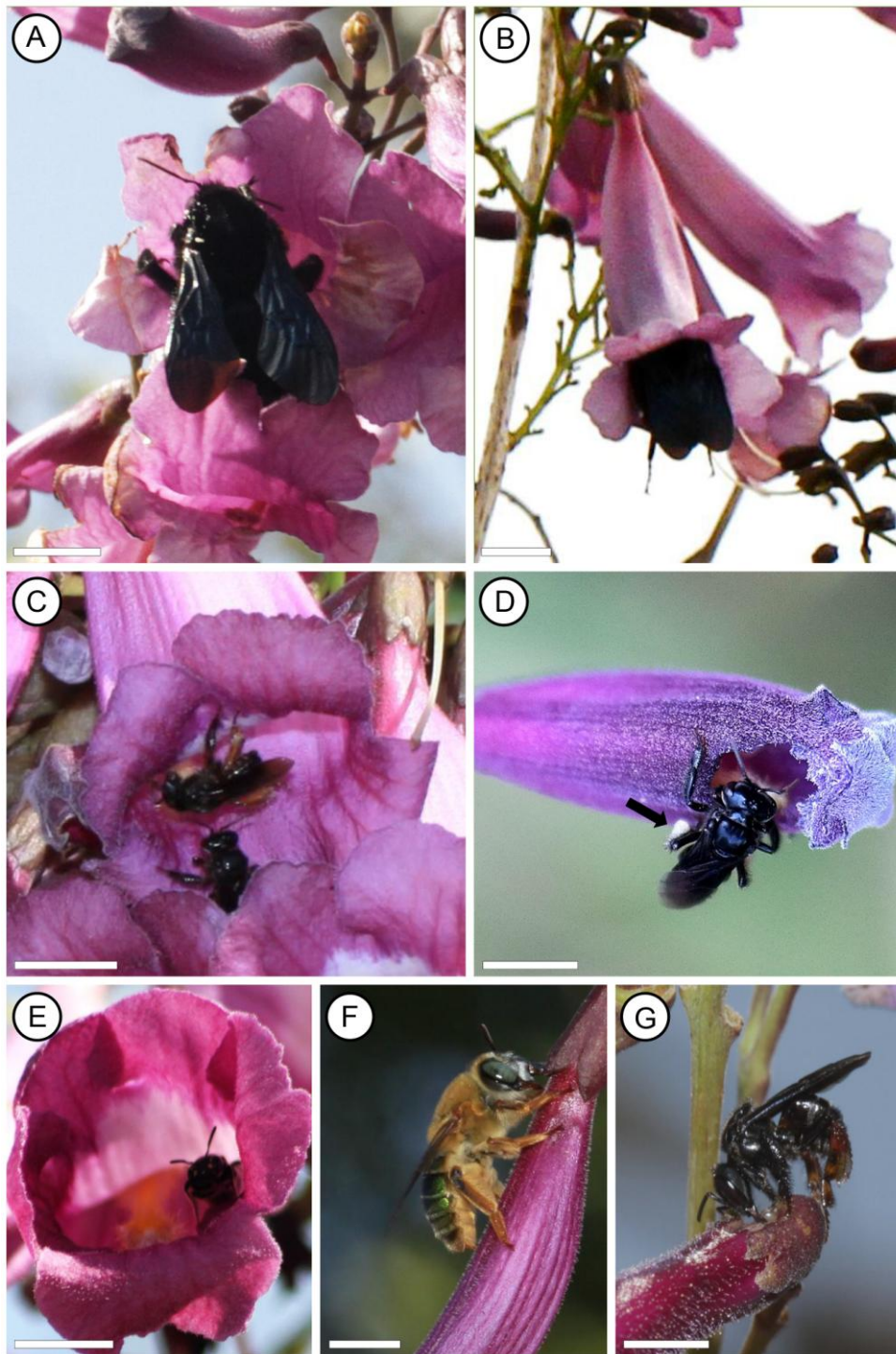


Figura 4. Visitantes florais de *Jacaranda caroba* em vegetação de cerrado, Estação Ecológica de Santa Bárbara, SP, Brasil. (A) *Bombus morio* chegando à flor. Escala = 10mm. (B) *Bombus morio* entrando no tubo floral para coleta de néctar. Escala = 10mm. (C) Abelhas do gênero *Trigona* pilhando pólen. Escala = 5mm. (D) Abelha do gênero *Trigona* perfurando a corola de um botão ainda em desenvolvimento para roubo de pólen. (seta = pólen armazenado nas corbículas). Escala = 4mm. (E) Abelha do gênero *Ceratina* saindo lateralmente do tubo da corola após coleta de néctar. Escala = 5mm. (F) *Oxaea flavescens* roubando néctar por meio de uma fenda feita na base da corola. Escala = 5mm. (G) Abelha do gênero *Trigona* fazendo recortes na base da corola para roubo de néctar. Escala = 3mm.

Tabela 4: Comportamento dos visitantes florais de *Jacaranda caroba* em vegetação de cerrado, Estação Ecológica de Santa Bárbara, SP, Brasil. (Q = Quartis).

Visitantes florais	N	Número de visitas dentro da mesma planta			Tempo da visita por flor (segundos)			Contato com as estruturas reprodutivas	
		Mediana	1Q	3Q	Mediana	1Q	3Q	Anteras	Estigma
		(Mín, Máx)			(Mín, Máx)				
<i>Bombus morio</i>	5	2 (1, 4)	2	3	4 (2, 7)	4	4	Sim	Sim
<i>Trigona sp1.</i>	8	1 (1, 5)	1	2.5	38 (2, 390)	6	51	Sim	Eventual
<i>Plebeia sp.</i>	10	1 (1, 4)	1	1	21 (4, 129)	9	31.5	Sim	Eventual
<i>Ceratina sp.</i>	43	3 (1, 10)	1.5	4	11.5 (1, 149)	5	23.7	Eventual	Eventual
<i>Epicharis sp.</i>	5	1 (1, 3)	1	1	6 (3, 20)	3.5	7.5	Eventual	Eventual
<i>Oxaea flavescens</i>	25	4 (1, 8)	2	4	3 (1, 10)	2	4	Não	Não
<i>Trigona sp2.</i>	7	3 (2, 3)	2	3	-	-	-	Não	Não

4.3.2. Eficiência dos visitantes florais na polinização

4.3.2.1. Sucesso reprodutivo após visitas de abelhas médias e pequenas

A simulação das visitas com os espécimes de abelhas médias (*Bombus morio* e *Eulaema nigrita*) mostrou que o número médio de sementes formadas por fruto, após uma única visita foi semelhante ao encontrado em condições naturais ($Z = -0.5$, $p = 0.87$). Já a contribuição das abelhas pequenas para a formação de sementes por fruto foi significativamente menor que a das abelhas médias ($Z = -4.9$, $p = 10^{-5}$) e do que ocorre em condições naturais quando todos visitantes estão atuando ($Z = 5.1$, $p = 10^{-5}$) (Figura 5).

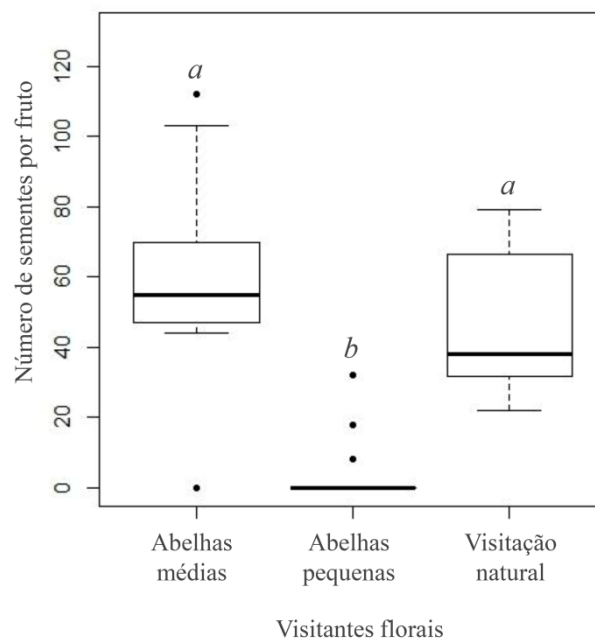


Figura 5: Número médio de sementes formadas por fruto no tratamento simulando a visita de abelhas médias, no tratamento em que apenas abelhas pequenas acessaram as flores (exclusão das abelhas médias), e no tratamento em que as flores estiveram expostas à visitação natural. Os tratamentos acompanhados por letras distintas são significativamente diferentes ($p < 0.05$).

4.3.2.2. Efeito da polinização com proporções variáveis de pólen da própria planta e de outras plantas (PP: POP) sobre o sucesso reprodutivo

Verificamos que quanto maior a porcentagem de PP recebida pelas flores, menor a probabilidade de formação de frutos ($F_{(1,43)} = 9.8$, $p = 0.001$). Flores polinizadas apenas com pólen proveniente de outros indivíduos (POP) tiveram aproximadamente 80% de chance de formar frutos, enquanto flores que receberam apenas PP tiveram probabilidade de formação de fruto próxima de 0% (Figura 6A). O aumento da quantidade de PP também teve um efeito negativo sobre o número de sementes formadas por fruto ($F_{(1,43)} = 7.9$, $p = 0.006$) (Figura 6B).

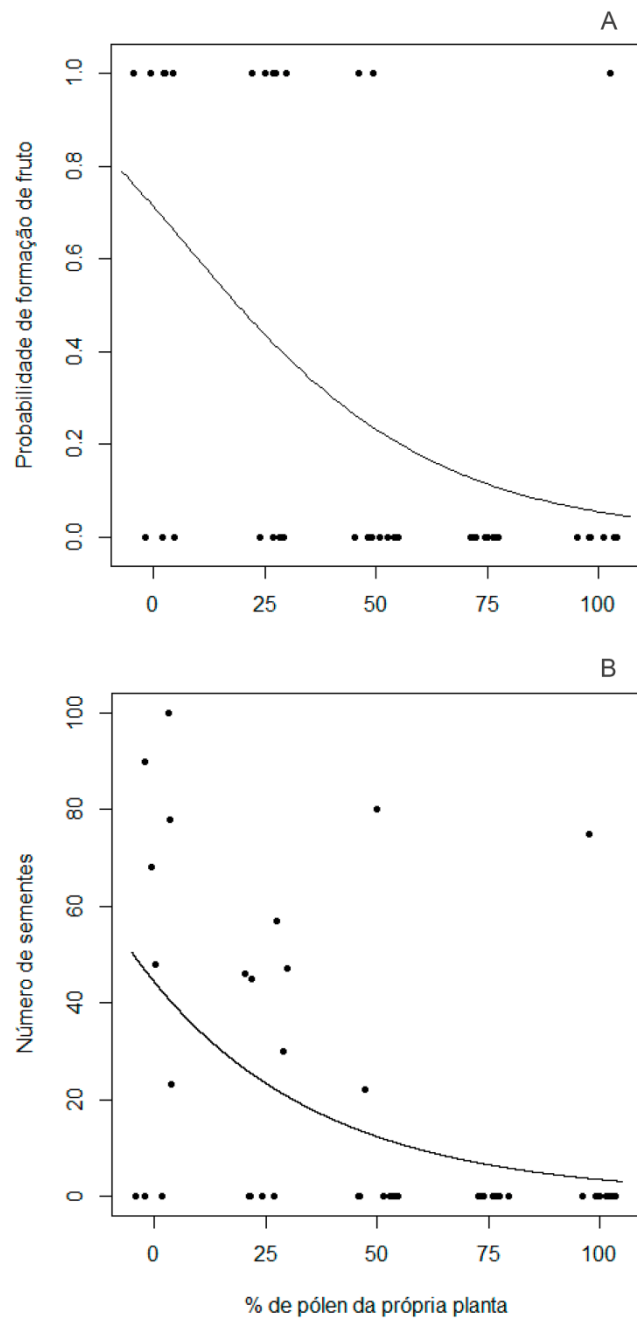


Figura 6. Efeito de diferentes proporções do pólen da própria planta (PP) em dois descritores do sucesso reprodutivo de *J. caroba*. (A) Probabilidade de formação de fruto com diferentes proporções de pólen da mesma planta (PP) e de pólen de outras plantas (POP). (B) Número médio de sementes formadas por frutos com diferentes proporções de pólen da mesma planta (PP) e de pólen de outras plantas (POP).

4.3.3. Efeito dos pilhadores de pólen sobre a quantidade total de pólen disponível por flor

Detectamos redução na quantidade de grãos de pólen nas anteras de flores expostas à visita dos pilhadores, quando comparadas com flores isoladas dos visitantes florais ($t_{(1,4)} = 7.3$, $p = 0.002$). Uma flor de *J. caroba* (4 anteras) produziu em média 28850.0 ± 7216.5 grãos de pólen, enquanto flores expostas aos pilhadores de pólen por 72 horas tiveram, em média, 13160.0 ± 6626.3 grãos de pólen restantes nas anteras. Assim, em média, os pilhadores de pólen retiraram cerca de 54 % do pólen produzido pelas flores.

3.4.4. Efeito das marcas de roubo de néctar sobre a polinização

Em média, em *Jacaranda caroba*, 6.8 ± 2.2 flores entram em antese por dia. Das 133 flores analisadas, apenas 9.7% tiveram marcas de roubo de néctar desde o primeiro horário avaliado, entre sete e oito horas da manhã. Entretanto, ao final do dia, entre 17:00 e 18:00 horas, 57.9% das flores continham marcas de danos causadas pelo roubo de néctar.

Nós não detectamos diferença significativa quando comparamos a quantidade de grãos de pólen depositados sobre os estigmas de flores com marcas de roubo de néctar e sem marcas de roubo de néctar ($Z = -1.57$, $p = 0.12$) (Figura 7). No entanto, quando avaliamos separadamente as flores, nenhuma das flores que continham marcas de roubo de néctar desde o início da manhã, apresentou grandes quantidades de grãos de pólen depositados sobre a superfície do estigma (acima de 100 grãos de pólen).

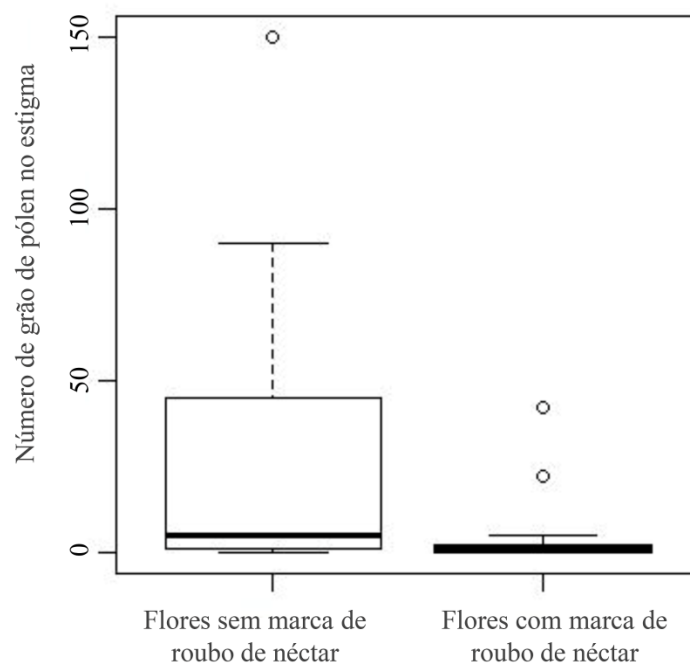


Figura 7. Número de grãos de pólen depositados no estigma em flores com e sem marcas de roubo de néctar durante o primeiro dia de antese.

5. Discussão

Neste trabalho nós quantificamos a contribuição relativa da limitação de recursos maternos e da limitação de pólen sobre o sucesso reprodutivo da espécie *Jacaranda caroba*. Verificamos que a limitação de pólen foi determinante para o baixo sucesso reprodutivo de *J. caroba*, dado que as plantas estudadas não atingem o potencial conferido pelos recursos maternos disponíveis. Essa distinção só foi possível porque, experimentalmente, nós polinizamos todas as flores produzidas ao longo de todo o período reprodutivo em um grupo de plantas, de modo a testar o limite dessas plantas para produção de frutos e sementes em uma dada estação reprodutiva. Plantas que foram totalmente polinizadas tiveram aumento na proporção de frutos abortados e diminuição no número médio de flores produzidas por planta e por inflorescência ao longo do período reprodutivo, evidenciando a limitação de recursos disponíveis para a reprodução quando eliminamos experimentalmente a limitação de pólen. Foi possível

ainda detectar os efeitos da polinização experimental massiva na estação reprodutiva seguinte, pois as plantas totalmente polinizadas na primeira estação reprodutiva quase não produziram frutos na estação reprodutiva subsequente, sugerindo que essas plantas experimentais exauriram suas reservas energéticas quando foram forçadas à sua capacidade reprodutiva máxima. A limitação de pólen foi expressiva quando comparada com outras espécies de angiospermas (Burd 1994). Neste contexto, a baixa frequência de polinizadores foi o principal responsável pela limitação quantitativa de pólen, embora aspectos como a limitação qualitativa do pólen devido a potencial transferência de pólen geneticamente autoincompatível (da mesma planta ou de plantas aparentadas) e o efeito dos antagonistas não possam ser totalmente descartados nesse sistema.

5.1. Contribuição relativa da limitação de recursos maternos e da limitação de pólen para o sucesso reprodutivo

Para compreender os fatores envolvidos no sucesso reprodutivo das plantas, primeiramente deve-se testar se a produção de sementes é determinada pela limitação de recursos maternos ou pela limitação de pólen (Dafni 1992). Embora ambas as limitações já tenham sido estudadas conjuntamente em outras espécies de plantas, como, por exemplo, em *Lophocereus schottii* (Holland et al. 2004), neste trabalho quantificamos pela primeira vez a contribuição relativa de ambas. Há um limite para a produção de frutos que é determinado pelos recursos maternos (Stephenson 1981) e também por variações na eficiência dos polinizadores na transferência do pólen até o estigma (Wilson e Thomson 1991). Sob condições experimentais, verificamos que a produção de frutos em *J. caroba* pode ser limitada em até 86% pelos recursos maternos, considerando que em média, das 149,1 flores produzidas nas plantas

totalmente polinizadas (PTP) apenas 20,9 flores formaram frutos. Dessa forma, as plantas dessa espécie têm capacidade de formar frutos em apenas cerca de 14% das flores produzidas, sendo que o restante das flores poderiam desempenhar diversas outras funções relacionadas à reprodução sexuada (Sutherland 1987; Willson e Schemske, 1980; Holland et al. 2004). Por exemplo, uma maior produção de flores pode proporcionar mais oportunidades de visitas e dessa maneira, desempenhar importante função na atração de polinizadores (Willson e Rathcke 1974; Ayre e Whelan 1989), contribuindo para o sucesso reprodutivo das plantas, além de incrementar a dispersão de pólen (Ayre e Whelan 1989) e favorecer a função masculina da flor. Além disso, uma baixa produção de frutos pode ser uma estratégia evolutiva relacionada ao escape de predadores de sementes (Ayre e Whelan 1989).

Apesar da baixa produção de frutos em relação à de flores ser devida parcialmente à limitação de recursos maternos, em condições naturais a produção de frutos em *J. caroba* foi de apenas 1.7%, ou seja, quase 90% menor do que a permitida pelos recursos maternos disponíveis (14%). Quando o número de flores polinizadas naturalmente é menor do que a quantidade de frutos que poderiam ser desenvolvidos considerando os recursos da planta-mãe (Holland et al. 2004), ou quando o sucesso reprodutivo de plantas polinizadas naturalmente é menor que o atingido em cruzamentos controlados (Ashman et al. 2004), é sinal de que a reprodução sexuada da planta está sendo afetada pela limitação de pólen. Assim, em *J. caroba* há uma limitação de pólen na população que impede que as plantas alcancem sua capacidade máxima de produção de frutos. Além da produção de frutos por planta, a menor porcentagem fruto: flor e a menor quantidade de sementes por planta e por fruto nas plantas polinizadas naturalmente também evidenciam limitação de pólen no sistema.

5.2. Evidências da limitação de recursos maternos

A menor quantidade de flores produzidas ao longo do florescimento nas plantas de *J. caroba* totalmente polinizadas (PTP), quando comparada à das plantas naturalmente polinizadas (PNP), é uma forte evidência da limitação de recursos maternos para a reprodução, sugerindo que frutos e flores competem pelos mesmos recursos maternos, especialmente fotoassimilados, como descrito por Lloyd (1980). De fato, quando flores estão continuamente sendo polinizadas e frutos jovens se desenvolvendo, pode ocorrer a inibição na produção de botões e, conseqüentemente, novas flores deixam de ser produzidas devido à escassez de recursos maternos (ver referências em Stephenson 1981).

A maior proporção de frutos abortados no grupo das plantas totalmente polinizadas (PTP) também evidencia limitação de recursos maternos em *J. caroba*. O aborto de frutos pode estar relacionado a fatores externos às plantas (Harper et al. 1970) e ser decorrente da falta de água e nutrientes (Larcher 2006), condições climáticas, herbivoria (Stephenson, 1980), doenças e predação de sementes (Boucher and Sork 1979). No entanto, em várias espécies vegetais o aborto de frutos não danificados ocorre como resposta à limitação de recursos da planta-mãe (Stephenson 1980; Stephenson 1981; Sutherland, 1987; Burd 1998), que parece corresponder ao observado em *J. caroba*, se considerarmos a alta proporção de frutos, aparentemente íntegros, que foram abortados nas plantas totalmente polinizadas (PTP).

Além disso, verificamos que os indivíduos de *J. caroba* que produziram grande quantidade de frutos em um dado período reprodutivo, produziram bem menos no seguinte. Um alto esforço reprodutivo com subsequente impacto negativo na floração seguinte também foi verificado por Janzen et al. (1980) e Primack e Stacy (1998). Os recursos necessários para a floração e produção de frutos são provenientes

da fotossíntese, da incorporação de minerais e da mobilização de reservas (Larcher 2006). A quantidade de nutrientes disponíveis, por exemplo, pode ser insuficiente para garantir a formação de todos os frutos iniciados a partir da polinização (Ayre e Whelan 1989; Mattila e Kuitunen, 2000). Considerando o solo oligotrófico característico de vegetação de cerrado (Gottsberger e Silberbauer-Gottsberger 2006) e que *J. caroba* não possui órgãos subterrâneos de reserva típicos, possivelmente os recursos energéticos disponíveis para a reprodução não são armazenados em grandes quantidades, necessitando serem adquiridos a cada ciclo reprodutivo. Além disso, *J. caroba* é uma espécie decídua, com rebrota e presença de folhas adultas praticamente simultâneas à fase de florescimento e frutificação (Guimarães 2008). Provavelmente, uma reserva é necessária para o início do florescimento, já que nessa fase *J. caroba* encontra-se áfila, semelhante ao observado por Stephenson (1980) para *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). Assim, considerando que os recursos maternos utilizados para a floração e produção de frutos são limitados em *J. caroba*, o alto esforço reprodutivo exigido devido à polinização de todas as flores em uma estação, afetou negativamente o investimento em estruturas reprodutivas no período seguinte, semelhante ao observado por Primack e Stacy (1998) em uma espécie de Orchidaceae.

5.3. Evidências da limitação de pólen – Interações com mutualistas

Se o número de flores polinizadas é ainda menor do que o máximo de frutificação permitido pelos recursos maternos disponíveis, então, o sucesso reprodutivo está sendo condicionado pela limitação de pólen (Knight 2005; Ashman et al. 2004; Aizen e Harder 2007) o que tem sido verificado para cerca de 40-60% das espécies de angiospermas (Burd 1994; Wolowski et al. 2014; Pellegrino 2015). Essa limitação pode ser qualitativa ou quantitativa, e no segundo caso está relacionada à

quantidade de pólen recebida nos estigmas (Aizen e Harder 2007). Assim, o sucesso reprodutivo das plantas vai depender da frequência de visitas dos polinizadores e da sua eficiência em transportar quantidades adequadas de pólen para fertilização dos óvulos (Ashman et al. 2004; Aizen e Harder 2007).

Dentre os visitantes florais de *J. caroba*, *Bombus morio* foi a única espécie de abelha registrada visitando legitimamente as flores na população em estudo (observada também por Guimarães et al. 2008). Segundo Wolowski et al (2014), o alto grau de especialização na polinização (uma espécie de polinizador) foi o principal preditor da limitação de pólen em plantas da Floresta Tropical Atlântica. Nos testes com visitas simuladas, *B. morio* se mostrou eficiente na transferência de pólen e na subsequente produção de sementes após uma única visita. Deste modo, se *B. morio* chega às flores carregando pólen compatível, ela contribui positivamente para o sucesso reprodutivo de *J. caroba*. Entretanto, apesar da alta eficiência na transferência de pólen conferida pelo polinizador, plantas especialistas podem estar mais susceptíveis a falhas na reprodução (Wolowski et al. 2014).

Além disso, dentre todos os visitantes que coletavam recursos nas flores de *J. caroba*, *B. morio* foi a espécie com a menor frequência de visitas ao longo do dia. No experimento em que contamos o número de grãos de pólen depositados sobre os estigmas ao longo do primeiro dia de antese, de todas as flores avaliadas, apenas 7.6 % receberam visitas que poderiam ser efetivas, com deposição de grande quantidade de pólen no estigma (mais de 100 grãos de pólen). Estudos com outra espécie de Bignoniaceae mostraram a necessidade da chegada de aproximadamente 800 grãos de pólen sobre o estigma da flor para a formação de frutos (Stephenson 1980). Assim, as poucas flores que receberam grandes quantidades de grãos de pólen no estigma

poderiam representar as raras visitas dos polinizadores e, de fato, este dado está de acordo com o padrão de frequência de visitas de *B. morio*.

Sabendo que a limitação de polinizadores é um importante componente da limitação quantitativa de pólen (Aizen e Harder 2007), a escassez desses visitantes pode afetar a produção de frutos (Honglian et al. 2013), bem como a quantidade de pólen recebido pelas flores e consequentemente o número de sementes formadas (Aizen e Harder 2007). Assim, a baixa frequência de visitas dessa espécie deve ter contribuído em grande parte para a menor quantidade de frutos e de sementes produzidos por planta de *J. caroba* em condições naturais (PNP).

De fato, diversas revisões sobre suplementação experimental de pólen indicam que a polinização natural normalmente não atinge o potencial reprodutivo das espécies vegetais, ocorrendo limitação quantitativa de pólen (Burd, 1994; Larson e Barret, 2000; Ashman et al., 2004; Knight et al., 2005). Entretanto, Aizen e Harder (2007) questionam se a suplementação experimental de pólen não superestima a severidade da limitação quantitativa quando a espécie também está sujeita à limitação qualitativa (espécie autoincompatível, por ex.), já que normalmente pólen de qualidade superior é depositado nos estigmas durante estes experimentos, quando comparado ao pólen depositado na polinização natural. Nós verificamos experimentalmente que, de fato, ocorre limitação quantitativa de pólen em *J. caroba*, já que só 7,6% das flores de primeiro dia receberam visitas efetivas (mais de 100 grãos de pólen por estigma). Essa porcentagem, de fato, é muito maior do que a frutificação natural (1,7%). Assim, consideramos que, embutida na limitação quantitativa, encontra-se uma limitação qualitativa, que parece ser ainda mais severa em *J. caroba*.

Segundo Ashman et al. (2004), a qualidade pode ser reduzida se pólen compatível não for transferido às flores durante as visitas. A relação mais proeminente

da história da vida de uma espécie é entre a autoincompatibilidade e a limitação de pólen (Wolowski et al. 2014). Em espécies autoincompatíveis a escassez de pólen geneticamente compatível na população pode afetar de maneira determinante e negativa o desempenho reprodutivo dessas plantas (Willmer 2011), já em espécies autocompatíveis a frutificação é menos afetada (Morales e Galetto 2003). As abelhas polinizadoras de *J. caroba*, foram registradas visitando diversas flores em sequência em uma mesma planta. Esse comportamento dos polinizadores é esperado, já que a energia final obtida após o forrageamento deve ser maior que o tempo e a energia gastos durante a atividade de busca, segundo a teoria do forrageamento ótimo (MacArthur e Pianka 1966). Assim, é vantajoso para o polinizador visitar uma maior quantidade de flores em um mesmo indivíduo. No entanto, para a planta esse comportamento dos visitantes legítimos pode ter consequências negativas. Considerando que o padrão de visitas dos polinizadores determina a dispersão do pólen na população (Ohashi e Thomson 2009), espera-se que polinizadores que visitam sequencialmente diferentes flores em uma mesma planta adquiram novas camadas de pólen sobre a região torácica, e que esse pólen, proveniente de flores do mesmo indivíduo, tenha maior probabilidade de chegar ao estigma da próxima flor. Dessa forma, em espécies predominantemente xenógamas, como *J. caroba* (Guimarães et. al. 2008), o comportamento do polinizador pode afetar negativamente o sucesso reprodutivo da espécie vegetal por meio da transferência de pólen não compatível entre flores de uma mesma planta.

Nossos resultados experimentais indicam que, de fato, há um efeito negativo do aumento da proporção de pólen da própria planta sobre o sucesso reprodutivo de *J. caroba*, em oposição ao efeito do aumento da proporção de pólen proveniente de outras plantas, evidenciando a importância da polinização cruzada nessa espécie.

Trabalhos realizados com espécies de *Jacaranda* mostram um efeito negativo da autopolinização sobre o sucesso reprodutivo dessas plantas (Bittencourt e Semir 2006; Guimarães et al. 2008; Milet-Pinheiro e Schlindwein 2009), entretanto nenhum deles testou o efeito de diferentes proporções de pólen da mesma planta na mistura de pólen de outras plantas. Normalmente, nos estudos de suplementação experimental de pólen é utilizada uma mistura produzida a partir de um conjunto de plantas doadoras, gerando um pólen de qualidade superior, segundo Aizen e Harder (2007) e os resultados dos descritores do sucesso reprodutivo são confrontados com o que ocorre na natureza. Entretanto, não sabemos exatamente o que significa essa limitação qualitativa. Até que ponto a adição de pólen incompatível na mistura que o polinizador transporta pode ser tolerada? Nós verificamos que com apenas 25% de pólen da própria planta adicionado à mistura, a probabilidade da flor ser convertida em fruto caiu pela metade, e nos frutos formados observamos redução no número de sementes. Com a adição de 50% registramos apenas um fruto formado com número de sementes semelhante ao da polinização cruzada. Já com 100% de pólen da própria planta todos os cruzamentos falharam, exceto em um único indivíduo que era auto compatível. Assim, nossos resultados indicam que mesmo pequenas quantidades de pólen da própria planta presentes na mistura do pólen oriundo da polinização cruzada já podem afetar negativamente o sucesso reprodutivo dessa espécie. Estudos ampliados para outras espécies zoófilas poderão indicar, caso estas porcentagens sejam semelhantes, que visitas sequenciais podem ser um dos principais fatores relacionados à limitação de pólen em angiospermas. Neste sentido, as considerações de Aizen e Harder (2007) poderão ser corroboradas e a interpretação de limitação quantitativa atribuída aos estudos com suplementação de pólen precisará ser revista.

Esse efeito, transferência do pólen entre flores de uma mesma planta, pode ser ainda mais pronunciado em indivíduos que investem mais no anúncio floral, pois pode levar a níveis mais elevados de autopolinização (Charlesworth e Charlesworth 1987; Eckert 2000). Mesmo espécies que não apresentam uma floração massiva (Gentry 1974), podem estar sujeitas à este tipo de efeito, já que em *J. caroba* em média 6 ± 2.2 novas flores se abrem por dia, e este efeito pode ser intensificado no pico do florescimento.

Além disso, mesmo em indivíduos autocompatíveis, que podem estar presentes nas populações de *J. caroba*, como demonstrado por Guimarães et al. (2008), a geitonogamia também pode afetar negativamente a produção de sementes (Eckert 2000). Por outro lado, indivíduos autoincompatíveis podem enfrentar uma problemática maior relacionada à transferência de pólen entre flores de um indivíduo (Snow 1982). Assim, podemos sugerir que ao visitar uma sequência de flores em uma dada planta de *J. caroba*, a eficiência de *B. morio*, que foi observada visitando até quatro flores em uma mesma planta, vá diminuindo da primeira flor visitada até a última. Diante disso, com esse comportamento, *B. morio*, pode causar oclusão do estigma, pela deposição de pólen não compatível, além de coletar recursos sem realizar transferência adequada do pólen, podendo ocasionar prejuízo para a planta, e nesse caso atuar como antagonista (Willmer 2011).

Além disso, a distribuição espacial de *J. caroba* em manchas pode interferir na qualidade do pólen que é transferido entre visitas a plantas sucessivas, já que indivíduos mais próximos tendem a ser mais aparentados nesta espécie (Guimarães comunicação pessoal) e que os polinizadores tendem a forragear plantas próximas (Guimarães et al. 2008) podendo levar prioritariamente à transferência de pólen geneticamente incompatível, mesmo em se tratando de plantas diferentes. Em

populações geneticamente estruturadas, dependendo do comportamento de visitas do polinizador, espécies autoincompatíveis podem sofrer limitação qualitativa devido à endogamia, como demonstrado por Alves et al (2003) e Brennan et al (2005). Espécies predominantemente xenógamas, como *J. caroba*, podem exibir forte depressão endogâmica quando cruzamentos ocorrem entre plantas próximas ou vizinhas aparentadas (Dobzhansky, 1970; Husband e Schemske, 1996). Dessa forma, a produção de frutos e sementes em *J. caroba* pode estar sendo afetada tanto pelo comportamento do polinizador em visitar uma sequência de flores na mesma planta, quanto pelo comportamento de visitar sequencialmente plantas próximas, potencialmente mais aparentadas, devido à estrutura genética espacial da população.

Além da contribuição das abelhas médias para o sucesso reprodutivo de *J. caroba*, nós também avaliamos a eficiência de abelhas pequenas como polinizadoras potenciais de *J. caroba*. Trabalhos com espécies de *Jacaranda* mostram que essas abelhas coletam ativamente pólen e néctar e que, apesar das dimensões reduzidas, ao coletarem o recurso, ocasionalmente, podem tocar a superfície do estigma (Maués et al. 2008, Milet-Pinheiro e Schlindwein 2009), mas, no entanto, não avaliam se de fato essas abelhas podem realizar polinização. Nesse trabalho, verificamos experimentalmente que as abelhas pequenas podem contribuir de maneira limitada para a produção de frutos e sementes em *J. caroba*, podendo atuar eventualmente como mutualistas. Pilhadores que contribuem para a polinização das flores também foram evidenciados por Valdivia e González-Gómez (2006) em *Lapageria rosea* e por Duffy e Johnson (2011) em *Aloe maculata*. Apesar das abelhas pequenas colaborarem para o sucesso reprodutivo de *J. caroba*, sua eficiência foi muito menor do que a das abelhas médias, ficando a limitação de pólen evidente devido a reduzida quantidade de sementes produzidas por fruto. Isso pode ser decorrente da menor quantidade de

pólen transferida aos estigmas das flores por essas abelhas quando comparada à quantidade depositada pelos visitantes legítimos (Valdivia e González-Gómez 2006, Ballantyne et al. 2015).

Nós avaliamos a eficiência das abelhas pequenas, através do experimento de exclusão das abelhas grandes, entretanto, sem discriminar se as que adentraram as caixas eram coletoras de pólen ou néctar. Quando comparados os dois grupos de abelhas pequenas, Ballantyne et al. (2015), verificaram que aquelas que pilham pólen estão mais ativamente em contato com as anteras e assim depositam maior quantidade de pólen no estigma do que as que coletam néctar que raramente tocam as anteras. Dessa forma, a produção de sementes resultante da polinização por abelhas pequenas em *J. caroba*, possivelmente decorre da atuação das abelhas coletoras de pólen. Por outro lado, a maior parte da deposição dos grãos de pólen sobre os estigmas deve ser proveniente da própria flor, ocorrendo prioritariamente durante a manipulação das anteras para a coleta do pólen. Assim, apesar das abelhas pequenas que coletam pólen poderem atuar como mutualistas, a produção de frutos e sementes, neste caso, possivelmente está sendo afetada tanto pela limitação quantitativa, quanto qualitativa de pólen. Além das coletoras de pólen, consideramos que as abelhas pequenas que pilham néctar também poderiam estar atuando como mutualistas e terem participado da produção de frutos registrada no experimento. Dada a alta frequência de visitas destas abelhas, elas também podem favorecer a função masculina da flor por aumentar a dispersão do pólen e a probabilidade de cruzamentos (Valdivia e González-Gómez 2006).

Entretanto, ambas as espécies de abelhas pequenas podem diminuir a quantidade e qualidade do recurso (pólen e néctar) e afetar indiretamente a reprodução de *J. caroba* por alterar o comportamento do polinizador, atuando adicionalmente

como antagonistas (Maloof 2001, González-Gómez e Valdivia 2005, Zhang et al. 2014).

5.4. Evidências da limitação de pólen – Interações com antagonistas

Nesse trabalho vimos que, ocasionalmente e com baixa eficiência, abelhas pequenas podem atuar como mutualistas e contribuir para a produção de frutos e sementes de *J. caroba*. Embora exista uma clara limitação de pólen, constatamos que essas abelhas não podem ser enquadradas exclusivamente como mutualistas ou como antagonistas, conforme discutido por Maloof e Inouye (2000) com base em diversos casos semelhantes descritos na literatura. De modo geral, abelhas pequenas que visitam flores de Bignoniaceae obtêm recursos florais sem realizar a transferência dos grãos de pólen, devido à discrepância entre suas dimensões e as das flores, atuando prioritariamente como pilhadores de pólen ou de néctar, dos termos em inglês “pollen and nectar thieves”(sensu Inouye 1980). A pilhagem e o roubo de recursos pode ter consequências sobre o sucesso reprodutivo da planta, seja pela diminuição da atratividade visual ou química da flor, seja pela menor quantidade de recurso oferecida, ou ainda pela diminuição da quantidade de pólen disponível para fecundação (Torezan-Silingardi 2012). As visitas das abelhas que coletam pólen nas flores de *J. caroba* foram mais frequentes que as dos polinizadores. Entretanto, o pico de visitas dessas abelhas ocorreu depois do pico de visitação dos polinizadores. Assim, a interferência dessas abelhas no comportamento ou na eficiência do polinizador pode ter pouca relevância para o sucesso reprodutivo de *J. caroba*.

Em *J. caroba*, as abelhas que coletam pólen removem aproximadamente 54% dos grãos de pólen disponíveis na flor, e isso poderia levar a uma diminuição da quantidade de pólen disponível para ser aderido ao corpo do polinizador durante a

visita (do Carmo et al. 2004), levando à limitação de pólen na população. No entanto, em outros sistemas essa pilhagem de pólen é muito mais intensa o que deixa em dúvida se a pilhagem registrada em *J. caroba* realmente contribuiria para a limitação de pólen. Por exemplo, Hargreaves et al. (2010) mostraram que em condições naturais, os pilhadores de pólen podem remover até 97 % dos grãos de pólen produzidos nas anteras. Assim, podemos sugerir que em nosso sistema, a pilhagem de pólen pode não ter grandes impactos sobre a disponibilidade de pólen para a polinização, pois mesmo havendo a redução em mais de 50% dos grãos de pólen, ainda restaria nas anteras pólen suficiente para fecundar os óvulos de uma flor, além do fato de as abelhas coletoras de pólen atuarem, prioritariamente, após o pico de visitas dos polinizadores.

Dentre os visitantes ilegítimos que buscam néctar existem aqueles que roubam néctar perfurando a base da corola de flores tubulares ou a base do nectário, causando danos à flor, sendo caracterizados como ladrões de néctar (Torezan-Silingardi, 2012), do termo em inglês “nectar robbers” (*sensu* Inouye 1980). Quando comparada à visita dos polinizadores de *J. caroba*, esses visitantes foram mais frequentes, o mesmo foi observado por Cuevas e Rosas-Guerrero (2016). O roubo de néctar pode ter diversos efeitos sobre o sucesso reprodutivo das plantas (Maloof e Inouye, 2000), podendo ser negativo, por exemplo, quando o dano causado na estrutura da flor inviabiliza a produção de frutos (Zang et al. 2007), ou positivos, induzindo ao aumento de visitas dos polinizadores, aumentando as chances de dispersão do pólen (Maloof 2001) e favorecendo a polinização cruzada (Singh et al. 2014).

Em *J. caroba* não detectamos efeito dos danos causados pelo roubo de néctar sobre a quantidade de grãos de pólen depositados sobre o estigma das flores. No entanto, as flores que apresentavam marcas de roubo de néctar desde o início da

antese não apresentaram indícios de visitas legítimas (estigma com 100 ou mais grãos de pólen). De fato, estudos referem que os polinizadores podem evitar flores e até mesmo plantas que foram exploradas por ladrões de néctar (Maloof e Inouye 2000, Irwin 2000). Algumas espécies de abelhas parecem ser especializadas no roubo de recursos, como, por exemplo, *Oxaea flavescens*, uma abelha altamente especializada em roubar néctar em flores de Bignoniaceae de cerrado (Gottsberger e Silberbauer-Gottsberger 2006). De fato, dentre as abelhas que roubavam néctar de *J. caroba*, *Oxaea flavescens* foi o visitante mais frequente e apresentou comportamento agressivo frente a outros visitantes florais. Com isso, o roubo de néctar poderia de alguma forma alterar o padrão de visitação dos polinizadores e impactar o sucesso reprodutivo das plantas. No entanto, o pico de visitação dos polinizadores foi anterior ao das abelhas que roubavam néctar. Assim, novos estudos utilizando abordagem experimental estão em andamento para melhor compreendermos o efeito dos ladrões de néctar sobre a polinização e o sucesso reprodutivo de *J. caroba*.

6. Referências Bibliográficas

- Aizen MA (2001) Flower sex ratio, pollinator abundance, and the seasonal pollination dynamics of a protandrous plant. *Ecology* 82: 127–144.
- Aizen MA, Harder LD (2007) Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology* 88: 271–281.
- Alves RM, Artero AS, Sebbenn AM, Figueira A (2003) Mating system in a natural population of *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum., by microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*, 26: 373-379.
- Ashman TL, Knight TM, Steets JA, Amarasekare P, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Mazer SJ, Mitchell RJ, Morgan MT, Wilson WG (2004) Pollen Limitation of Plant Reproduction: Ecological and Evolutionary Causes and

- Consequences. *Ecology* 85: 2408–2421.
- Ayre DJ, Whelan RJ (1989) Factors controlling fruit set in hermaphroditic plants: Studies with the Australian Proteaceae. *Tree* 4:267-272.
- Ballantyne G, Baldock KC, Willmer PG (2015) Constructing more informative plant–pollinator networks: visitation and pollen deposition networks in a heathland plant community. *The Royal Society* 282: 1-9.
- Bawa K S, Webb CJ (1984) Flower, fruit and seed abortion in tropical forest tree: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany* 71: 736– 751.
- Bittencourt NS, Semir J (2006) Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). *Australian Journal of Botany* 54: 315–324.
- Brennan AC, Harris SA, Hiscock S (2005) Modes and rates of selfing and associated inbreeding depression in the self-incompatible plant *Senecio squalidus* (Asteraceae): a successful colonizing species in the British Isles. *New Phytologist* 168: 475-486.
- Boucher DH, Sork VL (1979) Early Drop of Nuts in Response to Insect Infestation. *Oikos* 33: 440–443.
- Burd M (1994) Bateman’s principle and plant reproduction: The role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review* 60: 83–139.
- Burd M (1998) “Excess” flower production and selective fruit abortion: A model of potential benefits. *Ecology* 79: 2123–2132.
- Charlesworth D., Charlesworth B (1987) Inbreeding Depression and its Evolutionary Consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:237–268.
- Crawley MJ (2007) *The R book*. Chichester. UK: Wiley.942p.
- Cuevas E, Rosas-Guerrero V (2016) Spatio-temporal variation of nectar robbing in

Salvia gesneriflora and its effects on nectar production and legitimate visitors. *Plant Biology* 18: 9-14

do Carmo RMEVF, Silveira FA (2004) Introduced honeybees (*Apis mellifera*) reduce pollination success without affecting the floral resource taken by native pollinators. *Biotropica* 36:371–376.

Dafni A (1992) *Pollination Ecology a practical approach*. Oxford University Press, New York. 249p.

Dafni A, Kevan PG, Husband BC (2005) *Practical pollination biology*. Enrivoquest, Ltd., Cambridge, Ontario.

Darwin C (1841) Humble-Bees. In Barret PH (ed) *The collected papers of Charles Darwin*. University of Chicago, Illinois 1: 142-145.

Dobzhansky T (1970) *Genetics of the Evolutionary Process*. New York: Columbia University Press.

Duncan DH, Nicotra AB, Cunningham SA (2004) High self-pollen transfer and low fruit set in buzz-pollinated *Dianella revoluta* (Phormiaceae). *Australian Journal of Botany* 52: 185-193.

Duffy KJ, Johnson SD (2011) Effects of pollen reward removal on fecundity in a self-incompatible hermaphrodite plant. *Plant Biology* 13: 556–560.

Eckert CG (2000) Contributions of autogamy and geitonogamy to self-fertilization in a mass-flowering, clonal plant. *Ecology* 81: 532–542.

Gentry AH (1974) Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6: 64-68.

Gentry AH, Morawetz W (1992) Bignoniaceae. Tribe Tecomeae. *Flora Neotropica*. Monographs 25: 51-105.

- Genini J, Morellato LPC, Guimarães PR, Olesen JM (2010) Cheaters in mutualism networks. *Biology letters*. rsbl.2009.1021.
- González-Gómez PL, Valdivia CE (2005) Direct and Indirect Effects of Nectar Robbing on the Pollinating Behavior of *Patagona gigas* (Trochilidae). *Biotropica* 37: 693-696.
- Gottsberger G, Silberbauer-Gottsberger I (2006) Life in the Cerrado – Pollination and seed dispersal. Germany, Reta Verlag, 277p.
- Guimarães E, Di Stasi LC, Maimoni-Rodella RDCS (2008) Pollination biology of *Jacaranda oxyphylla* with an emphasis on staminode function. *Annals of Botany* 102: 699–711.
- Guimarães E (2008) Biologia reprodutiva de *Jacaranda oxyphylla* Cham. e *Zeyheria montana* Mart. (Bignoniaceae). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho. Botucatu, SP, Brasil. Tese de doutorado. 102p.
- Hargreaves AL (2007) The ecological effects of pollen-stealing insects on plant reproductive success, M.Sc. University of Calgary
- Hargreaves AL, Harder LD, Johnson SD (2009) Consumptive emasculation: the ecological and evolutionary consequences of pollen theft. *Biological Reviews* 84: 259-276.
- Hargreaves AL, Harder LD, Johnson SD (2010) Native pollen thieves reduce the reproductive success of a hermaphroditic plant, *Aloe maculata*. *Ecology* 91: 1693–1703.
- Harper JL, Lovell PH, Moore KG (1970) The Shapes and Sizes of Seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1: 327–356.
- Herlihy C, Eckert C (2004) Experimental dissection of inbreeding and its adaptive significance in a flowering plant, *Aquilegia canadensis* (Ranunculaceae). *Evolution* 58: 2693–703.

- Honglian Ai, Zhou W, Xu K, Wang H, Li D (2013) The reproductive strategy of a pollinator-limited Himalayan plant, *Incarvillea mairei* (Bignoniaceae). *BMC Plant Biology* 13: 195.
- Holland JN, Bronstein JL, Deangelis DL (2004) Testing hypotheses for excess ower production and low fruit-to- ower ratios in a pollinating seed-consuming mutualism. *Oikos* 3: 633–641.
- Husband BC, Schemske DW (1996) Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution*, 54-70.
- Inouye DW (1980) The terminology of floral larceny. *Ecology* 61: 1251– 1253.
- Irwin RE, Brody AK (1999) Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *Ecology* 80: 1703-1712.
- Irwin RE (2000) Hummingbird avoidance of nectar-robbed plants: spatial location or visual cues. *Oikos* 91: 499-506.
- iPlants - The world's plants online. Disponível em: <http://www.iplants.org>. Acesso em: 23 Jan. 2016.
- Janzen DH, Devries P, Gladstone DE, Higgins ML, Lewinsohn TM (1980) Self and cross pollination of *Encyclia cordigera* (Orchidaceae) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. *Biotropica* 12: 72-74.
- Knight TM, Steets JA, Vamosi JC, Mazer SJ, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnston MO, Mitchell RJ, Ashman T-L (2005) Pollen Limitation of Plant Reproduction: Pattern and Process. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36: 467–497.
- Larcher W (2006) *Ecofisiologia Vegetal*. Rima (editora), São Carlos. 550p.

- Larson BM, Barrett SC (2000) A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological journal of the Linnean Society* 69: 503-520.
- Lista de Espécies da Flora do Brasil (2016) Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>. Acesso em: 23 Jan. 2016
- Lloyd DG (1979) Parental strategies of angiosperms. *New Zealand Journal of Botany* 17:595–606.
- Lloyd DG (1980) Sexual strategies in plants. *New phytologist* 86: 69-79.
- Macarthur RH, Pianka ER (2013) The University of Chicago On Optimal Use of a Patchy Environment. 100: 603–609.
- Maloof JE, Inouye DW (2000) Are nectar robbers cheaters or mutualists? *Ecology* 81: 2651–2661.
- Maloof JE (2001) The effects of a bumble bee nectar robber on plant reproductive success and pollinator behavior. *American Journal of Botany* 88: 1960–1965.
- Mattila E, Kuitunen MT (2000) Nutrient versus pollination limitation in *Platanthera bifolia* and *Dactylorhiza incarnata* (Orchidaceae). *Oikos* 89: 360-366.
- Maués MM, Oliveira PEAM, Kanashiro M (2008) Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the “Floresta Nacional do Tapajós”, Central Amazon, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 31: 517–527.
- Milet-Pinheiro P, Schlindwein C (2009) Pollination in *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae): Euglossine pollinators, nectar robbers and low fruit set. *Plant Biology* 11: 131–141.
- Morales CL, Galetto L (2003) Influence of compatibility system and life form on plant reproductive success. *Plant biology*, 5: 567-573.

- Ohashi K, Thomson JD (2009) Trapline foraging by pollinators: its ontogeny, economics and possible consequences for plants. *Annals of botany* 103: 1365–1378.
- Pellegrino G (2015) Pollinator limitation on reproductive success in *Iris tuberosa*. *AoB plants* 7, plu089.
- Percival MS (1965) *Floral Biology*. Pergamon 243p.
- Primack R, Stacy E (1998) Cost of reproduction in the Pink lady's slipper orchid (*Cypripedium acaule*, Orchidaceae): an eleven-year experimental study of three populations. *American Journal of Botany* 85: 1672–1679.
- Reddy TB, Rangaiah K, Reddi EUB, Reddi CS (1992) Consequences of nectar robbing in the pollination ecology of *Vitex-negundo* (Verbenaceae). *Current Science* 62:690–691.
- Singh VK, Barman C, Tandon R (2014) Nectar Robbing Positively Influences the Reproductive Success of *Tecomella undulata* (Bignoniaceae). *Plos one* 9: 1-10.
- Snow AA (1982) Pollination intensity and seed set in *Passiflora vitifolia*. *Oecologia* 55: 231–216.
- Stephenson AG (1980) Fruit set , herbivory , fruit reduction , and the fruiting strategy of *Catalpa speciosa*. *Ecology* 61: 57–64.
- Stephenson AG (1981) Flower and Fruit Abortion: Proximate Causes and Ultimate Functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12: 253–279.
- Sutherland S, Delph LF (1984) On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit-set. *Ecology*, 1093-1104.
- Sutherland S (1986) Patterns of fruit set: what controls fruit-flower ratios in plants? *Evolution* 40: 177–128.

- Sutherland S (1987) Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental tests with *Agave mackelveyana*. *Evolution* 41: 750–759.
- Torezan-Sinlingard HM (2012) Flores e animais: uma introdução à história natural da polinização. In: Del-Claro K, Torezan-Sinlingard HM. (eds). *Ecologia das interações plantas-animais*. Technical Books, Rio de Janeiro, RJ p. 113-139.
- Valdivia CE, González-Gómez PL (2006) A trade-off between the amount and distance of pollen dispersal triggered by the mixed foraging behaviour of *Sephanoides sephaniodes* (Trochilidae) on *Lapageria rosea* (Philesiaceae). *Acta Oecologica*, 29: 324-327.
- Willmer P (2011) *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press, 778p.
- Willson MF, Rathcke BJ (1974) Adaptive design of the floral display in *Asclepias syriaca* L. *American Midland Naturalist* 92: 47–57.
- Willson MF, Schemske DW (1980) Pollinator limitation, fruit production, and floral display in pawpaw (*Asimina triloba*). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 401-408.
- Wilson P, Thomson JD (1991) Heterogeneity Among Floral Visitors Leads to Discordance Between Removal and Deposition of Pollen. *Ecology* 72: 1503.
- Wolowski M, Ashman TL, Freitas L (2014) Meta-analysis of pollen limitation reveals the relevance of pollination generalization in the Atlantic Forest of Brazil. *Plos one* 9: 1-8.
- Zhang YW, Robert GW, WangY, Guo YH (2007) Nectar robbing of a carpenter bee and its effects on the reproductive fitness of *Glechoma longituba* (Lamiaceae). *Plant Ecology*, 193: 1-13.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse trabalho buscou trazer uma abordagem ampla, discutindo os potenciais fatores que atuam simultaneamente e contribuem para o baixo sucesso reprodutivo comumente encontrado em espécies hermafroditas.

A partir dos resultados obtidos, podemos concluir que o sucesso reprodutivo de *J. caroba* se deve a diversos fatores (Figura 8), tais como:

(1) Limitação de recursos maternos: essa limitação foi importante em condições experimentais, pois explica grande parte da baixa relação entre o número total de flores e de frutos produzidos ao final da estação reprodutiva. Além disso, a falta de recursos maternos para a reprodução foi evidenciada pela menor produção de flores e maior proporção de frutos abortados em plantas que tiveram um alto esforço reprodutivo, bem como menor frutificação obtida após alto investimento energético no período reprodutivo anterior. No entanto, o que realmente afetou o sucesso reprodutivo em condições naturais foi a limitação de pólen.

(2) Limitação de pólen: nesse trabalho evidenciamos dois tipos de limitação de pólen, quantitativa e a qualitativa. Registramos a baixa frequência de visitas dos polinizadores como principal responsável pela limitação quantitativa de pólen na população. A ausência de evidências de visitas legítimas nas flores com danos provenientes da coleta de néctar, sugerem que as abelhas que roubam recursos podem ter um efeito indireto sobre o comportamento dos visitantes legítimos, no entanto, novos trabalhos estão conduzidos para compreender o real impacto dessa interação. Em relação à limitação qualitativa de pólen, temos evidências indiretas de que o comportamento do polinizador em visitar uma sequência de flores na mesma planta pode ocasionar uma diminuição na produção de frutos e sementes devido à transferência de pólen autoincompatível, já que esta espécie é predominantemente

xenógama. Nossos resultados indicam que a remoção dos grãos de pólen pelos pilhadores é pouco relevante para o sistema avaliado. Vimos também que esses visitantes, assim como as abelhas pequenas que coletam néctar, podem eventualmente realizar polinização, embora com eficiência inferior ao dos polinizadores, e também contribuir para o sucesso reprodutivo das plantas.

A limitação de pólen encontrada na população de *J. caroba* se deve às relações ecológicas estabelecidas dentro da comunidade. Os efeitos dessas relações sobre o sucesso reprodutivo de *J. caroba* são variáveis. Assim, o sistema avaliado nesse trabalho é complexo e mostra que o comportamento de um dado visitante floral durante a coleta de recursos pode ocasionar diferentes efeitos para a planta, podendo ser ora positivos, ora negativos. Assim, em condições naturais, o papel de grupo de visitantes sobre o sucesso reprodutivo não é bem definido, sendo determinado pelas combinações destes efeitos. Dessa forma, grupos descritos principalmente como mutualistas, por exemplo abelhas médias polinizadoras, podem eventualmente atuar como antagonistas, transferindo pólen incompatível ao visitar flores de uma mesma planta; assim como grupos que causam algum tipo de prejuízo para a planta, por exemplo abelhas pequenas pilhadoras e ladras de recursos, podem ocasionalmente contribuir para o sucesso reprodutivo atuando como mutualistas.

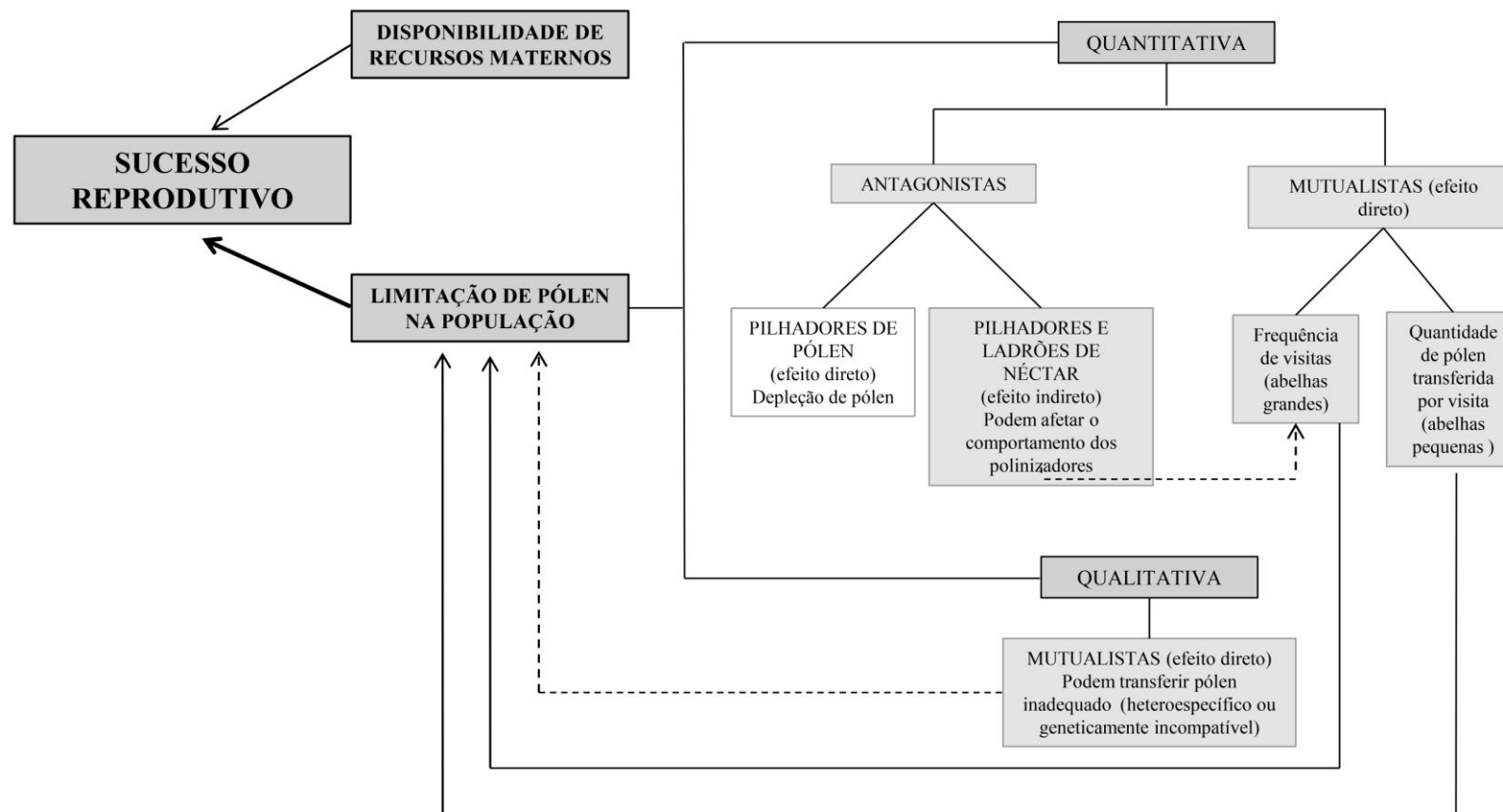


Figura 8: Caracterização esquemática do sistema avaliado nesse trabalho e os principais fatores associados ao baixo sucesso reprodutivo verificado em *J. caroba*. Caixa cinza: fatores que contribuem para o baixo sucesso reprodutivo; Caixa branca: fatores que não afetam o sucesso reprodutivo; Linha contínua: efeito direto; Linha tracejada: interferências possíveis.