

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal
Rodrigo Santiago

**BIOLOGIA DA POLINIZAÇÃO DE *CALLIANDRA FASCICULATA* BENTH.: A
CONTRIBUIÇÃO RELATIVA DE POLINIZADORES DIURNOS E NOTURNOS**

DIAMANTINA
2024

Rodrigo Santiago

**BIOLOGIA DA POLINIZAÇÃO DE *CALLIANDRA FASCICULATA* BENTH.: A
CONTRIBUIÇÃO RELATIVA DE POLINIZADORES DIURNOS E NOTURNOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. André Rodrigo Rech

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Joaquim Bergamo

DIAMANTINA

2024

Catálogo na fonte - Sisbi/UFVJM

S235b Santiago, Rodrigo
2024 Biologia da Polinização de *Calliandra fasciculata* Benth.:
[manuscrito] : A contribuição relativa de Polinizadores diurnos
e noturnos / Rodrigo Santiago. -- Diamantina, 2024.
51 p.

Orientador: Prof. André Rodrigo Rech.
Coorientador: Prof. Pedro Joaquim Bergamo.

Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) -- Universidade
Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Programa de Pós-
Graduação em Biologia Animal, Diamantina, 2024.

1. Ecologia. 2. Biologia Floral. 3. Interações mutualísticas.
4. Polinização. 5. Visão em cores. I. Rech, André Rodrigo. II.
Bergamo, Pedro Joaquim. III. Universidade Federal dos Vales do
Jequitinhonha e Mucuri. IV. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFVJM com os dados
fornecidos pelo(a) autor(a).

Este produto é resultado do trabalho conjunto entre o bibliotecário Rodrigo Martins Cruz/CRB6-2886
e a equipe do setor Portal/Diretoria de Comunicação Social da UFVJM

Rodrigo Santiago

**BIOLOGIA DA POLINIZAÇÃO DE *CALLIANDRA FASCICULATA* BENTH.: A
CONTRIBUIÇÃO RELATIVA DE POLINIZADORES DIURNOS E NOTURNOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. André Rodrigo Rech

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro Joaquim Bergamo

Data da aprovação: 27/05/2024.

Documento assinado digitalmente
 **ANDRÉ RODRIGO RECH**
Data: 25/07/2024 22:15:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. André Rodrigo Rech – Orientador

Documento assinado digitalmente
 **PEDRO JOAQUIM BERGAMO**
Data: 06/06/2024 18:36:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Pedro Joaquim Bergamo – Universidade Estadual de São Paulo

Documento assinado digitalmente
 **RUBEM SAMUEL DE AVILA JUNIOR**
Data: 31/05/2024 09:27:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rubem Samuel de Avila Jr. – Universidade Federal do Pampa

Documento assinado digitalmente
 **SINZINANDO ALBUQUERQUE DE LIMA**
Data: 02/06/2024 22:43:46-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Sinzinando Albuquerque de Lima – Kunming Institute of Botany

DIAMANTINA

2024

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, por todas as condições disponibilizadas, longe de serem as ideias, mas que são fundamentais para a formação de centenas de jovens de regiões diversas, muitas historicamente marginalizadas.

Agradeço ao professor orientador André Rech, com quem aprendi muito sobre Biologia da Polinização, e mais ainda como ser leve, atencioso e prático. Também aprendi algo importante sobre o fazer ciência para além da coleta, análise e discussão de dados, sobre o quanto ciência é uma atividade política que tem o dever de levar o conhecimento que liberta, aos filhos dos trabalhadores. Obrigado por essa etapa André!

Agradeço ao Professor Vinícius Brito pelos ensinamentos, teóricos e práticos, de como deve se portar um cientista sagaz, que lê muito e faz campo, só o necessário.

Minha gratidão ao Professor Pedro Bergamo, também por toda a teoria a que me apresentou, mas também por toda a generosidade e paciência ao ensinar.

Aos meus colegas colaboradores: Marsal, Lucas, Luis, Bernardo, Ilmara, Cinthia, Sabrina, Carol, João Paulo, Kelly, Danila, Larissa, Gizele, Letícia e outros mais. Agradeço por toda a força nesse trabalho, por aqueles que participaram ativamente dele, e por aqueles que ficaram de fora, agradeço pela parceria no dia a dia no laboratório. Foram dias memoráveis de trabalho. Todas essas conquistas, de conhecimento, relacionamentos e experiências que mencionei só foram possíveis graças ao apoio de minha família. Minha mãe, Ana Ieda e meu Pai Nilton, agradeço por sempre me apoiarem a estudar e terem me oferecido a estrutura para isso. Agradeço a minha companheira, Michellia, que desde quando nos conhecemos sempre foi só força e incentivo para eu correr atrás dos sonhos. Atualmente já são quase uma década juntos. Ela foi, e é, a maior colaboradora para que eu tenha feito parte dessa equipe do CAFESIN. Agradeço aos meus filhos Arielle e Samir, por serem fontes de aprendizado, e motivos de orgulho e alegria.

Agradeço ao divino, que me trouxe e me leva daqui!

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código do financiamento 001, por isso agradeço ao Programa de pós-graduação em Biologia Animal da UFVJM, e ao CAFESIN-MULTIFLOR que são canais por onde o financiamento alcança os pesquisadores. Agradeço aos projetos de financiamento que mantêm as pesquisas no CAFESIN-MULTIFLOR: FAPEMIG APQ-00932-21, APQ-03100-21, RED-00253-16, APQ-02806-22, APQ-03364-21, APQ-01151-22, APQ-01822-21 CNPq 311665/2022-5, 400904/2019-5, 423939/2021-1 CAPES Finantial Code 001.

RESUMO

A generalização é uma estratégia de segurança reprodutiva que compensa as flutuações na disponibilidade de polinizadores. A antese diurna e noturna complementa esta estratégia ampliando a gama de contribuintes para a aptidão da planta. O número de visitantes florais ao qual o conjunto de características da flor se adequam, sugere o grau de especialização na polinização por uma planta. Espera-se então, que as características de plantas generalistas sejam pouco restritivas e que a planta receba a contribuição assimétrica e multidirecional para a sua reprodução. Mensuramos a reflectância espectral da cor da flor e a produção de néctar e relacionamos com os resultados de fluxo de póliades, de frutificação e de produção de sementes de experimentos de exclusão de polinizadores. Nossa amostragem avançou por períodos diurnos e noturnos. As variações nos traços da flor induzem a frequência de visitas e colabora para o resultado equilibrado da aptidão entre turnos. *Calliandra fasciculata* é uma espécie generalista que recebe contribuição de múltiplos grupos de polinizadores.

Palavras-chave: Polinização em Mimosoidea; néctar em Mimosoidea; Reflectância da cor floral; Sistema misto de polinização; fluxo de póliades.

ABSTRACT

The generalization is a strategy of reproductive security that compensates for fluctuations in availability of pollinators. Diurnal and nocturnal anthesis complements this strategy by expanding the range of contributors to plant fitness. It is then expected that characteristics of generalist plants are not very restrictive, and that plant receives an asymmetric and multidirectional contribution for its reproduction. We measured the spectral reflectance of flower color and nectar production and related them to the results of polyad flow, fruit set, and seed production from pollinator exclusion experiments. Our sampling progressed through diurnal and nocturnal periods. Variations in flower traits influence the frequency of visits and contribute to the balanced fitness outcome between shifts. *Calliandra fasciculata* is a generalist species that receives contributions from multiple pollinator groups.

Key words: Pollination in Mimosoidea; nectar in Mimosoidea; reflectance color flower; mixed pollination system; movement of polyads.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Fenologia quinzenal da floração de *Calliandra fasciculata* Benth. entre dezembro de 2022 e novembro de 2023. Registro da intensidade em cinco indivíduos em um Campo Rupestre, no Campus da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – Diamantina – M.G. - Brasil. 18
- Figura 2. (A) Inflorescências e Visitantes florais (B-F) de *Calliandra fasciculata* Benth. (B) Noctuidae sp1.: (C) Phyllostomidae sp.; (D) *Colibri serrirrostris*; (E) *Apis mellifera*; (F) Hesperidae sp..... 21
- Figura 3. Frequência das interações dos visitantes florais com *Calliandra fasciculata* Benth obtida a partir do número de interações dividido pelo número de flores e pelo tempo de observação em cada turno. Houve diferença entre os turnos ($P < 0,01$). 22
- Figura 4. Variação das características do néctar de *Calliandra fasciculata* Benth. (A): volume ($P < 0,05$); (B): concentração de açúcar ($P < 0,05$); e (C): massa de açúcar em cada flor ($P < 0,05$). 24
- Figura 5. Variação do contraste das flores com o fundo verde das folhas (padrão do pacote “Pavo” (Maia *et al.* 2019)) de *Calliandra fasciculata* Benth. (A) Na visão subjetiva de abelhas ($P < 0,05$). (B) Na visão subjetiva de aves ($P < 0,05$). 25
- Figura 6. Políades encontradas nas anteras de *Calliandra fascicula* Benth nos turnos de polinização. Mais políades foram encontradas no turno da manhã ($P < 0,05$). 27
- Figura 7. Deposição de políades sobre estigmas de *Calliandra fasciculata* Benth nos turnos de polinização. Houve maior deposição à tarde ($P < 0,01$). 28
- Figura 8. Deposição de pólen heteroespecífico sobre os estigmas de *Calliandra fasciculata* Benth entre turnos. Não houve variação entre turnos ($P > 0,05$). 28

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Total e porcentagem de interações entre os grupos funcionais de visitantes florais e *Calliandra fasciculata* Benth. no Campo Rupestre de uma área natural do Campus da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – Diamantina – M.G. - Brasil. ..21
- Tabela 2. Dinâmica de produção do néctar de *Calliandra fasciculata* Benth.. Os valores representam o número de flores amostradas em cada horário e as médias e desvios padrão para volume (µl), concentração de açúcar (%) em todo o néctar produzido por horário, e a massa de açúcar (mg) em cada flor.24
- Tabela 3. Tratamentos de polinização controlada em *Calliandra fasciculata* Benth. descrevendo o total de flores usadas em cada experimento, a média e o desvio padrão de frutos e sementes produzidas em cada experimento. Sem diferença entre polinização cruzada manual e polinização natural ($P > 0,05$).26
- Tabela 4. Número de flores, porcentagens, médias, desvios padrão e total de frutos e sementes dos experimentos de exclusão de visitantes florais em diferentes turnos de polinização de *Calliandra fasciculata* Benth. Não houve variação entre os grupos: no conjunto de frutos: Anova, ($P = 0,1$); e conjunto de sementes: Kruskal-test, ($P = 0,2$).29
- Tabela complementar 1. Resultados dos valores de P e da estatística Z para as comparações de características do néctar entre diferentes horários. 50
- Continuação da tabela complementar 1. Resultados dos valores de P e da estatística Z para as comparações de características do néctar entre diferentes horários. 51
- Tabela complementar: 2. Comparações das distâncias espectrais da cor de flores de diferentes idades sob a visão subjetiva de abelhas através do modelo hexagonal de cores (Chittka, 1992). Descrevendo os resultados para o valor de P e as diferenças de cada medida até uma distribuição normal em cada comparação, representadas pelos horários de coleta. 51

Tabela complementar: 3. Comparações das distâncias espectrais da cor de flores de diferentes idades sob a visão subjetiva de beija-flores no modelo tetraédrico de cores (Vorobyev *et al.* 1998). Descrevendo o P valor de cada comparação e o valor da estatística Z para cada uma delas..... 52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	METODOLOGIA.....	12
2.1	Local.....	12
2.2	Modelo de estudo	12
2.3	Biologia Floral.....	12
2.4	Visitantes florais	13
2.5	Néctar.....	14
2.6	Reflectância espectral e contraste com o plano de fundo.....	14
2.7	Dependência de polinizadores e limitação polínica	15
2.8	Fluxo de pólen	15
2.9	Produção de frutos e sementes por turno de polinização.....	16
3	RESULTADOS	18
3.1	Fenologia e biologia floral.....	18
3.2	Visitantes florais e frequência de visitas	18
3.3	Dinâmica do néctar	23
3.4	Contraste da flor em relação ao fundo verde.....	25
3.5	Dependência de polinizadores e limitação polínica	26
3.6	Fluxo de pólen	26
3.6.1	Remoção de políades	26
3.6.2	Deposição de políades e de pólen heteroespecífico.....	27
3.7	Sucesso reprodutivo entre turnos de polinização	29
4	DISCUSSÃO	30
5	CONCLUSÃO GERAL	35
6	REFERÊNCIAS	38
7	ANEXOS	50

1 INTRODUÇÃO

Cerca de 90% das plantas com flores dependem de animais polinizadores para a reprodução (Ollerton *et al.* 2012, Tong *et al.* 2023). Esses animais interagem com as flores porque estão buscando recursos florais. Os diferentes grupos de animais têm diferentes preferências sobre a qualidade e quantidade dos recursos, baseadas nas suas necessidades (Ferreira *et al.* 2016; Leimberger *et al.* 2022). Existem atrativos nas flores que sinalizam a presença do recurso e podem incitar os polinizadores a realizarem visitas (Faegri & Pijl, 1979). Essa é uma função importante na mediação do processo de polinização, uma vez que a atração antecede a visita e pode influenciar na efetivação ou não da deposição de pólen em uma flor (Chittka & Raine, 2006; Farré-Armengol *et al.* 2013).

A cor da flor é ecologicamente relevante para polinizadores que são visualmente guiados (Lunau *et al.* 1996). Há uma diversidade de cores de flores que abrangem todo espectro de cores da visão humana e de polinizadores, variando enormemente em uma gama de escalas geográficas e temporais (Menzel & Shimida, 1993). A variação temporal na cor da flor em um indivíduo pode acontecer intrinsecamente como resultado do envelhecimento, ou extrinsecamente em resposta à polinização (Weiss, 1995). Nas flores que mudam de cor, o estado da cor oferece informações para polinizadores a curtas distâncias. Na flor pré-mudança, geralmente há néctar, pólen e os estigmas receptivos, e na flor pós-mudança não há recursos e as funções sexuais já estão inativas (Weiss, 1995). Animais que visitam flores que mudam de cor, aprendem a associar o estado da cor floral à recompensa (Weiss, 1995). Nesse contexto, a cor floral tem o potencial de influenciar o movimento dos polinizadores sinalizando a presença do recurso.

O néctar talvez seja o alimento floral mais onipresente do planeta (Nicolson, 2007), e há uma diversidade enorme de animais consumidores de néctar das flores (Proctor *et al.* 1996). Por ter um papel central na mediação das interações planta-polinizador, a compreensão da dinâmica do néctar ajuda a explicar a relação evolutiva entre plantas e animais (Galletto & Bernardello 2005). A produção de néctar está associada a possíveis custos para as plantas, que provavelmente afetam a evolução dos atributos do néctar, que co-evoluem com os atributos dos polinizadores, modulando as síndromes de polinização (Pyke & Ren, 2023). Mudanças temporais nas características do néctar como, volume, concentração, viscosidade e composição garantem a atratividade para uma sucessão de diferentes polinizadores ao longo do dia, favorecendo a generalização dos sistemas de polinização (Corbet *et al.* 1979; Amorim *et al.* 2013). Devem então existir ajustes mútuos em múltiplas características que permitam a

interação de um determinado animal com uma flor. Na perspectiva da planta, um conjunto de características podem favorecer um ou muitos grupos funcionais de polinizadores. Esse conjunto de características correlacionadas definem as síndromes de polinização (Ollerton *et al.* 2009; Dellinger 2020; Faegri & Pijl, 1979).

Os sistemas de polinização estão distribuídos ao longo de um continuum que varia desde especialistas extremos, altamente dependente de uma espécie polinizadora (Muchhala 2006) até generalistas polinizados por muitas espécies de animais (Queiroz *et al.* 2016). Dentro deste gradiente, o que predomina na natureza são plantas generalistas (Waser *et al.* 1996; Hargreaves *et al.* 2004). Então a maioria das plantas recebe contribuições relativas de cada um de seus polinizadores, menores do que aquelas especializadas recebem de um grupo funcional específico (Ohashi *et al.* 2021). “Especializar-se” em ser generalista, no entanto, pode assegurar um maior saldo líquido do que a especialização na polinização (Aigner, 2001). Para o caso de plantas que dependem de polinizadores, a generalização pode ser uma estratégia de “garantia” reprodutiva tamponando as flutuações na disponibilidade dos serviços de polinização para cada polinizador em específico (Tur *et al.* 2013; Watts *et al.* 2016; Lázaro *et al.* 2020).

A garantia para a reprodução de espécies generalistas também é favorecida por estratégias que incluem polinizadores diurnos e noturnos (Muchhala 2003; Queiroz *et al.* 2016; Razanajatovo *et al.* 2024) que aumentaria o número de vetores de pólen e a flexibilidade de produção de sementes (Muchhala, 2003). Nas comunidades essa estratégia é entendida como uma complementaridade funcional e ambiental entre os serviços de polinização diurna e noturna (Rozanajatovo *et al.* 2024). Nos trópicos, a polinização diurna realizada por beija-flores e noturna por morcegos é bem documentada (Buzato *et al.* 1994; Sazima *et al.* 1994; Muchhala *et al.* 2009; Cruz-Neto *et al.* 2015, Amorim *et al.* 2023), com casos excepcionais de mescla entre vertebrados, aves, mamíferos voadores e marsupiais (Queiroz *et al.* 2016). Existem visões distintas sobre os pontos evolutivos em que situam os sistemas generalistas envolvendo beija-flores e morcegos. De um lado, há argumentos que descrevem estes casos como instáveis, de plantas ornitófilas transicionando para quiropterofilia (Buzato *et al.* 1994; Sazima *et al.* 1994), e de outro, uma visão de que se trata de sistemas estáveis, que contam com a contribuição de ambos os grupos (Muchhala, 2003).

O gênero *Calliandra* tem características florais que se adequam a sistemas generalizados de polinização, com inflorescências do tipo glomérulos ou umbelas expostas acima das folhas (estiloflora). A flor do tipo pincel possui corola campanulada, androceu polistêmone (mais de 10 estames por estigma) fundidos na base formando um tubo onde é retido o néctar, que é o

principal recurso. Os filetes são vistosos, brancos, róseos, vermelhos ou bicolors (brancos na base e róseos no ápice) (REFLORA, 2020; Mcqueen & Hernández, 1997). Há registros de variados grupos polinizadores interagindo com espécies de *Calliandra*, como esfingídeos (Haber & Frankie, 1989), morcegos, beija-flores, abelhas e borboletas (Hernández, 1991; Conrique-Hernandez, 2007). O principal centro de diversidade do gênero está nos Campos Rupestres das Cadeias do Espinhaço, onde há um predomínio de espécies da seção *Monticola*, em sua maioria endêmicas, e que provavelmente se diversificaram recentemente (Souza *et al.* 2013). Ocorre na porção meridional desta cadeia de montanhas, *Calliandra fasciculata*, que é endêmica, e apresenta flores que ficam expostas durante períodos do dia e da noite e que mudam de cor, de branco para vermelho.

Nosso objetivo foi diferenciar a contribuição de polinizadores diurnos e noturnos para a reprodução de *Calliandra fasciculata* e entender quais são as variações na cor da flor e na dinâmica do néctar em resposta aos diferentes turnos de polinização. Para isso, nós estudamos a biologia reprodutiva, a dependência do polinizador e a limitação polínica. Fizemos observações dos visitantes florais, mensuramos a cor e a quantidade de néctar durante vários períodos ao longo da floração, mensuramos a remoção de póliades das anteras e a deposição delas nos estigmas e o sucesso feminino em cada turno de polinização.

2 METODOLOGIA

2.1 Local

Este estudo foi realizado entre dezembro de 2022 e setembro de 2023, em uma reserva natural de Campo Rupestre no campus da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Brasil (18°15'S; 43°36'W). Esta área está situada na porção meridional da Cadeia do Espinhaço a uma altitude média de 1.250 m acima do nível do mar. O clima é caracterizado como mesotérmico do tipo Cwd de Koppen, com a estação chuvosa de outubro a abril e estação seca entre maio e setembro (Alvares *et al.* 2013). A precipitação média anual está entre 1250 e 1550 milímetros e a temperatura média anual varia entre 18° e 19°C. O Campo Rupestre é uma fitofisionomia megadiversa que abriga mais de 5.000 espécies vegetais, cerca de 15% da diversidade de plantas do Brasil, em uma área que corresponde a 0,78% do seu território (Silveira *et al.* 2015). A alta diversidade florística tem sido relacionada a fatores como posição geográfica, alta diversidade geológica e heterogeneidade ambiental (Giulietti *et al.* 1997).

2.2 Modelo de estudo

Calliandra fasciculata é um arbusto que ocorre sobre solos arenosos entre afloramentos de rochas em áreas ciliares de rios e córregos (Oliveira-Silveira *et al.* 2005). Suas flores são homomórficas, reunidas em inflorescências do tipo glomérulo, que reunidas formam pseudoracemos (REFLORA, 2020). A unidade de dispersão de pólen é uma mássula composta por oito grãos de pólen altamente aglutinados e assimétricos. A partir daqui, chamaremos esse aglomerado de pólen por políade. Essas políades têm formato elipsóide e apresentam um corpo de viscina que é um apêndice pegajoso, resultado de adaptação para a polinização (Greissl, 2006).

2.3 Biologia Floral

Para entender a biologia floral de *C. fasciculata* nós observamos a fenologia da espécie com enfoque na fase reprodutiva, antese e longevidade floral. Para a fenologia nós realizamos o acompanhamento quinzenal da floração em cinco indivíduos, entre dezembro de 2022 e novembro de 2023. Utilizamos o índice de intensidade de Fournier (1974) para categorizar os níveis de intensidade da floração da população. Em cinco níveis possíveis, a cada observação em cada indivíduo, foi atribuído uma categoria que varia de 0 a 4, representando cada uma delas: 0 = ausência de flores sexualmente ativas; “1” = presença de 1 a 25% de flores

sexualmente ativas; “2” = presença de 26 a 50% de flores viáveis; “3” = entre 51 e 75% de flores sexualmente ativas; e “4” = presença 76 e 100% de flores sexualmente viáveis (Fournier, 1976).

Para longevidade e antese (fases reprodutivas) nós usamos 20 inflorescências de cinco indivíduos. A longevidade floral foi definida a partir do início da antese até a senescência, que é caracterizada quando os estames ficam murchos e mudam de cor, de brancos para vermelhos. A cada seis horas realizamos amostragens para definir as fases reprodutivas da flor. Para avaliar a fase feminina, usamos solução aquosa de peróxido de hidrogênio a 20% sobre os estigmas para conferir a formação de bolhas, que é indicativo da receptividade estigmática (Kearns & Inouye, 1993). Para avaliar a fase masculina observamos as anteras para acompanhar a abertura e exposição das políades.

Estimamos o número médio de flores por inflorescência realizando a contagem das flores em 30 inflorescências de 15 indivíduos. A média de anteras por flor foi obtida a partir da contagem de estames de cinco flores em cinco indivíduos. Uma vez caracterizada a longevidade floral delimitamos os turnos de atividade das flores, da seguinte forma: “Tarde”, início da antese até o crepúsculo (14:00 hs às 18:00 hs); “Noite”, do crepúsculo ao amanhecer (18:00 hs às 06:00 hs da manhã); e “Manhã”, do amanhecer até o início da senescência das flores (06:00 hs às 10:00 hs).

2.4 Visitantes florais

Registramos o número e a qualidade das visitas realizadas por cada grupo funcional de visitantes florais fazendo observações focais e com câmeras filmadoras por períodos de 30 minutos em indivíduos durante o dia e a noite. A partir dessas observações, fizemos o reconhecimento dos potenciais polinizadores de *C. fasciculata* atribuindo a um visitante a classificação de polinizador efetivo quando tocava as partes reprodutivas das flores. Em todas as observações, o total de inflorescências na planta observada foi registrado. Estimamos a frequência relativa de interações em cada turno a partir da divisão do número de interações pela quantidade de tempo de observação, e pelo número de inflorescências. Usamos esta frequência de visitas para construir um modelo linear generalizado com uma distribuição Gamma, utilizando os indivíduos de planta como fator aleatório. Testamos se houve diferenças entre turnos nas médias da frequência de visitas (ANOVA).

2.5 Néctar

Para descrever a dinâmica de produção do néctar, realizamos um experimento para estimar o acúmulo, a concentração e a produção de açúcar em cada flor ao longo da antese. Ensacamos duas inflorescências em 10 plantas (n = 20 inflorescências) na fase de botão, e fizemos as medidas em flores individuais a cada quatro horas, iniciando após a antese floral às 14:00 horas até as 10:00 horas da manhã seguinte (n = 06 coletas/seis conjuntos de flores). Para cada horário, selecionamos duas flores novas em cada planta e extraímos o néctar acumulado. Para extração do néctar usamos microseringas graduadas (μl) para obter o volume do néctar e refratômetro de bolso para a concentração de açúcar ($^{\circ}\text{Brix}$). Relacionamos os valores desses parâmetros para obter a massa de açúcar em miligramas com a seguinte equação: $Y = 0.00226 + (0,00937 * x) + (0,0000585 * x^2)$. Aqui, X é a média da concentração em brix. O Y foi multiplicado pelo volume médio de néctar, assim chegamos à quantidade média de açúcar produzido em cada flor (Galletto & Bernardello, 2005). Usamos os três parâmetros observados para construir modelos não paramétricos (Kruskal & Wallis, 1952) e realizamos comparações entre os horários.

2.6 Reflectância espectral e contraste com o plano de fundo

Coletamos dados de reflectância espectral das flores de *C. fasciculata* para calcular o contraste entre a cor das flores e o plano de fundo na visão subjetiva de abelhas e beija-flores. Para isso, ensacamos seis conjuntos de flores, cada um contendo 10 inflorescências em pré-antese em 10 plantas. A partir das 14hs, a cada quatro horas coletamos uma flor em cada inflorescência até alcançar 60 flores, às 10hs da manhã seguinte. Levamos as flores para o laboratório onde realizamos as coletas da reflectância espectral da cor dos estames. Consideramos os estames porque no gênero *Calliandra* eles desempenham função de atração de polinizadores. Usamos um espectrofotômetro USB 4000 (OceanOptics, Inc., Dunedin, FL, EUA) acoplado a uma fonte de luz deutério-halogênio (DH-2000; OceanOptics. Inc., Alemanha), com faixa de emissão de luz entre 215 e 1700 nm para as medições. A sonda de fibra óptica foi mantida a uma distância fixa de 6 mm e ângulo de 45° em relação ao plano de apoio sob o feixe de estames, e na mesma direção em relação à estrutura da flor. Para calibração do espectrofotômetro o padrão branco foi uma pastilha de sulfato de bário, e para o padrão negro, a ausência de luz a partir da obstrução da entrada do módulo do aparelho (Lunau *et al.* 2011).

Usamos a função vismodel do pacote Pavo para análise espacial e espectral de padrões de cores (Maia *et al.* 2019) e calculamos os loci de cores das flores nos respectivos modelos de espaço de cores: o hexágono de cores para abelhas (Chittka 1992), e o tetraedro de cores para aves (beija-flor aqui) (Vorobyev *et al.* 1998). Nos dois modelos utilizamos iluminação diurna padrão (D65) (Wyszecki & Stiles, 1982) e o argumento “green” como plano de fundo na função. Usamos a sensibilidade dos fotorreceptores de *Bombus terrestris* com os seguintes valores de entrada: 328, 428 e 536 no modelo de abelha para os fotorreceptores UV, azul e verde, respectivamente (Peitsch *et al.* 1992). Para o modelo de visão de aves os valores de entrada foram 371, 444, 508 e 560, respectivamente para as sensibilidades espectrais dos seguintes fotorreceptores de beija-flores: SWS1, SWS2, MWS e LWS (Herrera *et al.* 2008). Construímos um modelo linear (ANOVA) para testar se havia variação no contraste entre a flor e o fundo em função do tempo para as distâncias do modelo hexagonal de abelha e um modelo com distribuição beta com a função “betareg()” para as distâncias do modelo tetraédrico para aves, referentes aos contrastes de flores de diferentes idades.

2.7 Dependência de polinizadores e limitação polínica

Montamos três experimentos para avaliar a dependência de polinizadores e a limitação polínica. Usamos 45 inflorescências ($n = 367$ flores) de 15 indivíduos, que foram previamente ensacadas enquanto ainda botões, da seguinte maneira: autopolinização espontânea ($n = 108$ flores), que consistiu no isolamento das inflorescências dentro de sacos de organza; polinização natural ($n = 135$ flores), na qual apenas marcamos as inflorescências e as deixamos expostas ao ambiente de polinização e após a senescência das flores, as ensacamos para acompanhar o desempenho; e polinização cruzada manual ($n = 124$ flores), nas quais realizamos a deposição de pólen xenogâmico, que coletamos em plantas distantes a mais de 10 metros. Na determinação do efeito de limitação polínica, usamos o conjunto de sementes produzidas por fruto dos tratamentos de polinização natural e polinização cruzada manual. Comparamos essas contagens utilizando um teste T.

2.8 Fluxo de pólen

Usamos experimentos de exclusão de visitantes florais para medir a remoção de políades das anteras e a deposição de políades nos estigmas em cada turno de polinização. Para medir essas variáveis no turno da tarde, em flores ensacadas na fase de pré-antese, após a abertura foram desensacadas às 14:00 hs e permaneceram expostas ao ambiente de polinização até o

término deste turno, às 18:00 hs. Coletamos as anteras e os estigmas das flores expostas e levamos para o preparo de lâminas em laboratório. O mesmo procedimento foi aplicado em cada um dos turnos subseqüentes.

Na estimativa da remoção de políades realizada pelos polinizadores, coletamos quatro anteras de 15 flores em 15 indivíduos por turno. Colocamos cada conjunto de anteras em frascos Eppendorf de fundo arredondado, contendo 100 µl de álcool 70%. Introduzimos em cada eppendorf uma esfera de aço de 0,09 g, fechamos e agitamos o recipiente durante 60 segundos em contato com um vórtex ajustado em sua frequência máxima. A esfera foi retirada com uma pinça, e com uma micropipeta graduada, retiramos duas alíquotas de 10 µl da solução de álcool e pólen, e as depositamos nas superfícies de uma câmara de Neubauer. No microscópio, na objetiva de 4x/0.10, contamos todos os grãos de pólen presentes nos nove quadrantes de cada amostra. Relacionamos na seguinte fórmula os valores de: (número de grãos de pólen em nove quadrantes/10 µl presente na câmara) * volume total da solução (100 µl). Fizemos um modelo linear generalizado misto, usando o número de grãos de pólen encontrados nas amostras em função das horas, e os indivíduos como fator aleatório. Usamos o número de políades produzidas por antera, descrito em Greissl (2005), para comparar com os valores de políades encontradas nas anteras expostas nos experimentos de exclusão.

Na contagem de políades depositadas sobre os estigmas, coletamos um estigma de 30 flores em 15 indivíduos e preparamos lâminas com gelatina glicerizada e corada com fucsina para destacar os grãos de pólen. Observamos e contabilizamos o pólen coespecífico e heteroespecífico encontrado nas lâminas usando um microscópio na objetiva de 4x/0.10. Com os dois tipos de pólen depositados, construímos modelos lineares generalizados mistos com distribuição binomial negativa, usando plantas como fatores aleatórios para testar se havia variação entre os turnos.

2.9 Produção de frutos e sementes por turno de polinização

Para obtermos a resposta sobre a produção de frutos e sementes a partir da contribuição de polinizadores em diferentes turnos, realizamos experimentos de exclusão de polinizadores, semelhantes aos descritos na seção 2.8. Deixamos 30 inflorescências ($n = 818$ flores) marcadas e expostas aos polinizadores, em 15 plantas. Ao término de cada turno, essas inflorescências foram ensacadas para não serem mais visitadas. Acompanhamos o desenvolvimento dos frutos até a maturação, e coletamos para contagem das sementes. Construímos um modelo misto generalizado para analisar o efeito do turno de polinização e de polinização natural (flores

livres) no conjunto de frutos, considerando o número de frutos produzidos e o número de falhas como uma resposta binomial. Usando os mesmos grupos, avaliamos o efeito dos turnos de polinização no conjunto de sementes, considerando a média de sementes produzidas por fruto usando um modelo estatístico não paramétrico (Kruskal & Wallis, 1952).

3 RESULTADOS

3.1 Fenologia e biologia floral

A floração de *C. fasciculata* foi concentrada entre agosto e setembro (Fig. 1). Suas flores duram aproximadamente 24 horas (14:00 - 14:00). Os botões florais começaram a abrir por volta das 08:00 horas da manhã, iniciando o desenvolvimento da abertura da flor com a extensão gradual dos estames e pistilos. Entre as 12:00 e 14:00 horas, os estames e pistilos estavam completamente eretos e brancos, marcando o início da antese floral. As flores no início da manhã seguinte encontram-se levemente rosadas, porém ainda eretas. A fase feminina da flor permanece ativa durante todo o período de antese, já a fase masculina é iniciada a partir das 16:00 hs com o início da deiscência das anteras e exposição das políades. Cada inflorescência produz em média oito flores com numerosos estames ($62 \pm 17,5$). Em cada estame existe uma antera com duas tecas, em cada teca são produzidas quatro políades. No total são oito políades (Geirssl, 2005).

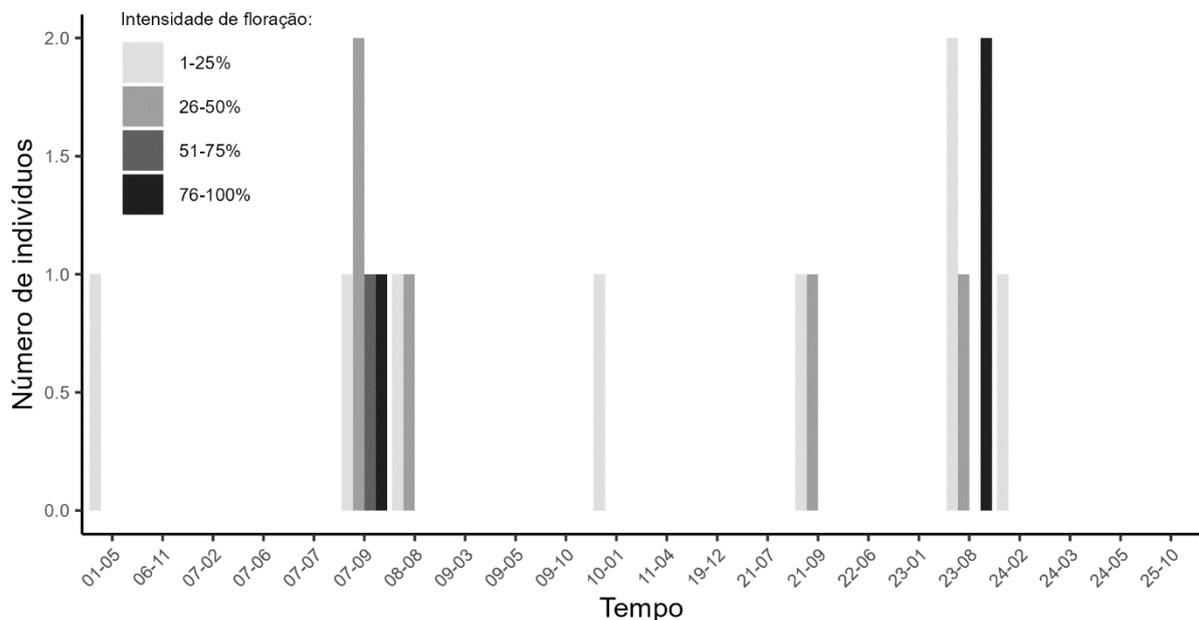


Figura 1 Fenologia quinzenal da floração de *Calliandra fasciculata* Benth. entre dezembro de 2022 e novembro de 2023. Registro da intensidade em cinco indivíduos em um Campo Rupestre, no Campus da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – Diamantina – M.G. - Brasil.

3.2 Visitantes florais e frequência de visitas

Registramos 508 interações em 48 horas de observações. Os grupos funcionais que visitaram as flores de *C. fasciculata* foram: abelhas, vespas, beija-flores e borboletas durante o dia e mariposas e morcegos durante a noite (Fig. 2: Tabela 1). As borboletas ao visitarem essas

flores tocaram com as asas, tórax, abdômen e pernas nas anteras e nos estigmas (Fig. 2, F), mas sua frequência foi baixa. Representantes das abelhas foram observados nos turnos da tarde e da manhã. Registramos *Centris* sp. e *Apis mellifera* (Fig. 2, E), sendo a última a mais frequente de toda a amostragem, com 54% das interações realizadas. Fora do período das amostragens avistamos *Xylocopa* sp. coletando recursos nas flores. Para extrair néctar as abelhas têm de encontrar brechas entre os estames ou, para extrair o pólen têm de se manter sobre eles e abraçá-los em feixes, tocando nas anteras e estigmas em ambos os casos (Fig. 2,E). Nas visitas em busca de néctar quando chegavam pela base das flores, não tocavam anteras e estigmas, porém esse comportamento foi relativamente, pouco visto. As vespas também realizam visitas à tarde e de manhã, sempre pela base das flores em busca de néctar e poucas vezes tocaram os órgãos reprodutivos das flores. Os beija-flores registrados nas amostragens foram *Colibri serrirostris* e *Augastes scutatus*, que são territorialistas. Fora das amostragens avistamos *Eupetomena macroura* que é territorialista, e *Calliphlox amethystina*, um *trapliner*. Visitas de aves foram observadas à tarde. Porém, ao amanhecer até às 08:00 hs, fora das amostragens, presenciamos visitas exclusivamente de *C. serrirostris* (Fig. 2, D). Em cada forrageio por néctar, os beija-flores pairam em frente às inflorescências e colocam seu bico e parte da cabeça na brecha dos estames de cada flor para lamber a gota de néctar, contactando anteras e estigmas. Principalmente os beija-flores menores (*A. scutatus* e *C. amethystina*) foram vistos introduzindo o bico nas bases das flores e não tocavam anteras e estigmas. Os morcegos visitaram as flores ao longo de toda a noite, intercalando “longos” horários de não atividade com breves períodos de “intensa” atividade. Eles também pairavam em frente às flores por brevíssimos períodos, colocando o focinho no emaranhado de estames e pistilos, tocando anteras e estigmas (Fig. 2, C). As mariposas realizaram a maior parte das visitas no início da noite, embora em alguns momentos no início da madrugada elas também foram observadas voando por entre as plantas. Poucos esfingídeos (Sphingidae - Lepidoptera) foram observados visitando essas flores, a maior parte dos casos foram de mariposas que pousam para extrair o néctar (Noctuidae - Lepidoptera) (Fig. 2, B). Na maioria das visitas elas tocaram as estruturas reprodutivas das flores, mas algumas vezes pousavam nos ramos abaixo das inflorescências e dali introduziram o aparelho bucal no tubo das flores.

Encontramos diferenças nas frequências das interações nas comparações entre todos os turnos de polinização (ANOVA: $\chi^2 = 25,760$; Df = 2, $P < 0,01$) (Fig. 3). A maior frequência foi no período noturno, em relação à tarde ($Z=113,4$; $P < 0,01$) e em relação à frequência observada na manhã ($Z=160,5$; $P < 0,01$). A frequência de visitas realizadas à tarde foi superior à

registrada na manhã ($Z=113,6$; $P < 0,01$).

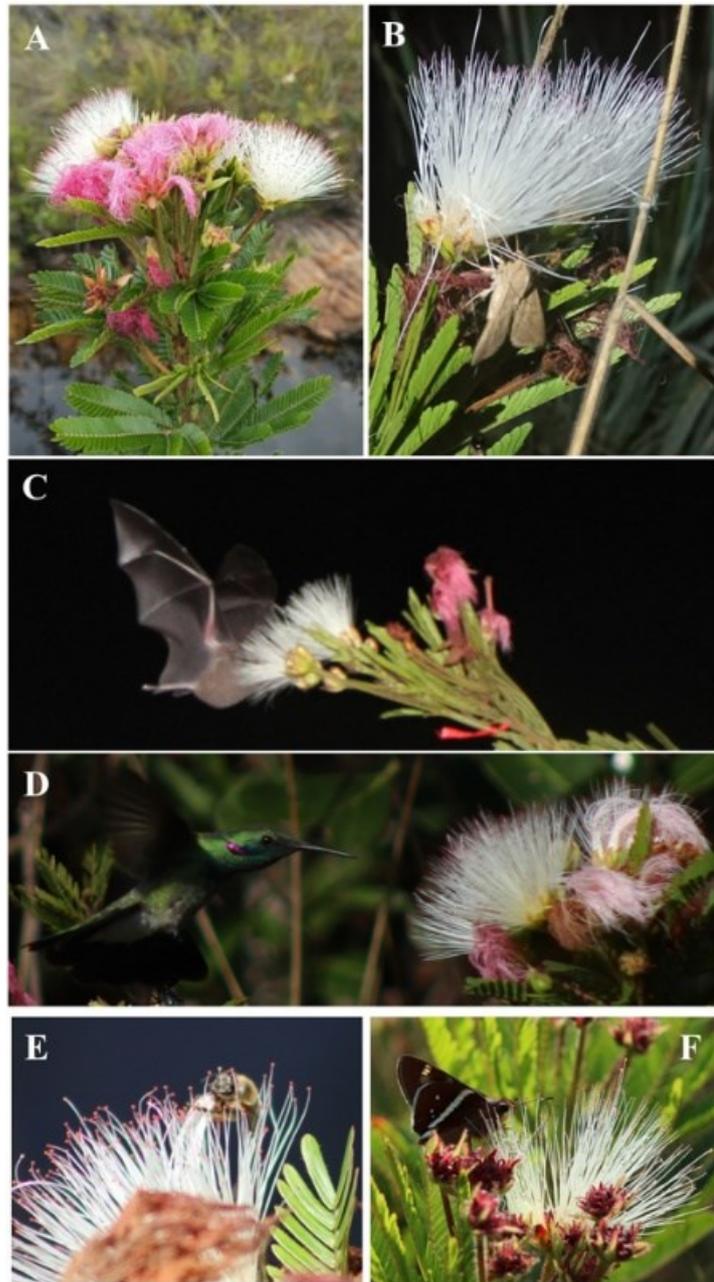


Figura 2. (A) Inflorescências e Visitantes florais (B-F) de *Calliandra fasciculata* Benth. (B) Noctuidae sp1.; (C) Phyllostomidae sp.; (D) *Collibri serrirrostris*; (E) *Apis mellifera*; (F) Hesperidae sp.

Tabela 1. Total e porcentagem de interações entre os grupos funcionais de visitantes florais e *Calliandra fasciculata* Benth. no Campo Rupestre de uma área natural do Campus da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – Diamantina – M.G. - Brasil.

<i>Grupos funcionais</i>	<i>Total</i>	<i>%</i>
Morcegos	66	13
Abelhas	273	54
Beija-flores	11	2,2
Borboletas	4	0,8
Mariposas	6	1,2
Vespas	148	29,1

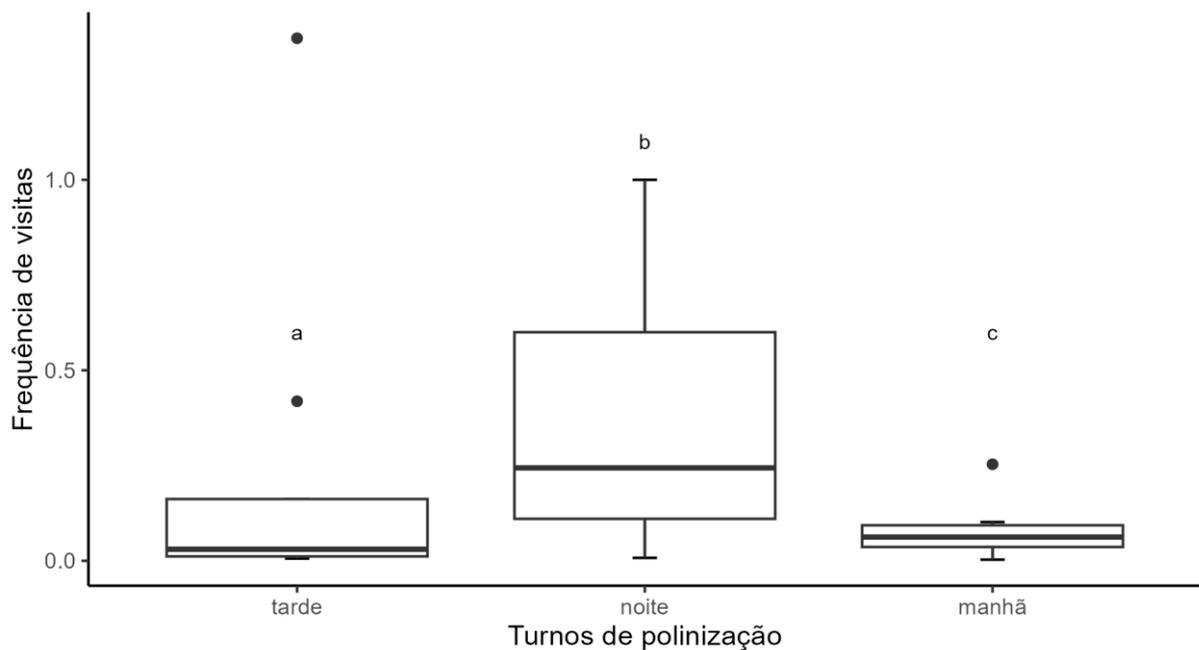


Figura 3. Frequência das interações dos visitantes florais com *Calliandra fasciculata* Benth obtida a partir do número de interações dividido pelo número de flores e pelo tempo de observação em cada turno. Houve diferença entre os turnos ($P < 0,01$).

3.3 Dinâmica do néctar

O néctar esteve disponível por aproximadamente 20 horas e apresentou três fases. A secreção seguida da estagnação e reabsorção do volume produzido, que variou ao longo da antese floral (KRUSKAL-WALLIS: $\chi^2 = 72,2$; $df = 5$; $P < 0,01$; Fig 4, A). As flores recém-abertas, às 14:00 hs já continham néctar ($7,69 \mu l \pm 7,93$; Tab. 2). Houve um aumento do volume até às 22:00 hs ($27,9 \mu l \pm 14,6$), período que caracteriza a fase de secreção do recurso, com duração de 10 horas (entre 14:00-22:00 hs). Entre 22:00 hs e 06:00 hs da manhã houve a estagnação da secreção, que durou 08 horas. Do amanhecer, às 06:00 hs até às 10:00 hs o néctar foi reabsorvido ($12 \mu l \pm 8,2$) (Fig. 4, A). Nos horários do crepúsculo (18:00 hs), da noite (22:00 e 02:00hs) e do amanhecer (06:00 hs), houve mais néctar nas flores do que no início da antese às 14:00 hs ($P < 0,05$ para todas as comparações; Tabela suplementar 1), e no final da antese, às 10:00 hs ($P < 0,05$ para todas as comparações; Tabela suplementar 1). Entre o início da antese e a manhã (14:00 e 10:00 hs) não houve diferença ($Z = 1,6$; $P > 1$). Não houve diferença no volume produzido entre os horários do crepúsculo até o amanhecer (18:00 até às 06:00 hs) ($P > 0,05$; ver Tabela suplementar 1 para estas comparações).

Houve variação na concentração de açúcar no néctar ao longo do tempo (KRUSKAL-WALLIS: $\chi^2 = 23,37$; $df = 5$; $P < 0,05$; Fig. 4,B), que ficou entre 13,1% e 17,2% (Tab. 02). A menor concentração de açúcar foi no momento de abertura da flor (14:00 hs) em relação ao crepúsculo (18:00 hs: $P < 0,05$), às 22:00 hs ($P < 0,05$) e à manhã seguinte (10:00 hs: $P < 0,05$). Não houve diferença entre as demais comparações (Tabela suplementar 1).

A produção média em miligramas de açúcar por flor apresentou variação semelhante àquela observada no volume (KRUSKAL-WALLIS: $\chi^2 = 53,80$; $df = 5$; $P < 0,01$; Fig. 4, C). Nos horários a partir do crepúsculo (18:00 hs) até o amanhecer (06:00 hs), houve maior produção de açúcar em relação ao início da antese (14:00 hs: $P < 0,01$ para todas as comparações). Exceto o horário das 18:00 hs ($P > 0,01$) (Fig. 4, C), no decorrer da noite até de manhã (06:00 hs) a produção de açúcar foi maior do que às 10:00 ($P < 0,01$ para todas as comparações; Tabela suplementar 1). Não houve diferença entre o início e final da antese (14:00 hs - 10:00 hs) na produção de açúcar ($Z = 2,10$; $P > 0,01$).

Tabela 2. Dinâmica de produção do néctar de *Calliandra fasciculata* Benth.. Os valores representam o número de flores amostradas em cada horário e as médias e desvios padrão para volume (μl), concentração de açúcar (%) em todo o néctar produzido por horário, e a massa de açúcar (mg) em cada flor.

Grupos (tempo)	Flores (n)	Volume - μl		Concentração (%)		Açúcar - mg	
		Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
14	20	3,6	6,01	6,28	8,15	0,57	1,24
18	20	20	7,15	15,18	3,15	3,28	1,48
22	20	27,85	14,58	17,18	6,15	5,35	3,93
2	20	36,95	16,12	13,55	4,32	5,16	2,71
6	20	33,95	11,92	13,1	3,09	4,81	2,31
10	20	9,55	8,35	15,2	11,39	1,98	1,94

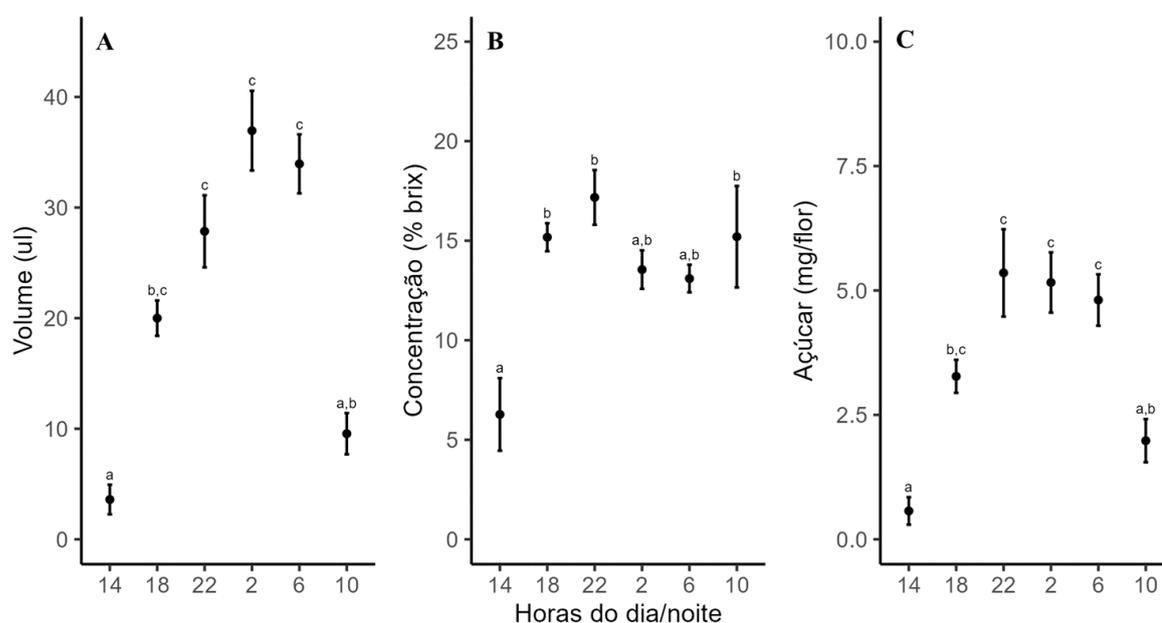


Figura 4. Variação das características do néctar de *Calliandra fasciculata* Benth. (A): volume ($P < 0,05$); (B): concentração de açúcar ($P < 0,05$); e (C): massa de açúcar em cada flor ($P < 0,05$).

3.4 Contraste da flor em relação ao fundo verde

Ao longo da antese floral encontramos diferenças no contraste da cor com o plano de fundo, tanto para a visão subjetiva de abelhas (ANOVA: $\chi^2 = 13,35$; Df = 5; $P < 0,05$) quanto para a visão subjetiva de beija-flores (ANOVA: $\chi^2 = 62,52$; Df = 5; $P < 0,05$). Após a abertura das flores, às 14:00 hs até às 06:00 hs da manhã, o contraste entre flores e o fundo verde permaneceu constante, deste momento em diante as distâncias hexagonais e tetraédricas de cor reduziram significativamente. No modelo para as abelhas os menores contrastes foram nos horários das 06:00 e 10:00 hs da manhã em relação aos contrastes nas flores das 14:00 hs, 18:00 hs, 22:00 hs e 02:00 hs (com valor de $P < 0,05$ para todas as comparações ver tabela suplementar 2) (Fig. 5, A). Entre 06:00 e 10:00 hs não houve diferença ($P > 0,05$), e entre os grupos da tarde e noite, 14:00, 18:00, 22:00 e 02:00hs, todos com ausência de diferença entre eles ($P > 0,05$). Um padrão na variação do contraste semelhante a este foi encontrado no modelo de distâncias tetraédricas entre grupos (Fig. 5, B). Foram observadas diferenças entre os grupos de flores da manhã (06:00 e 10:00 hs), que apresentaram menores contrastes quando comparadas com os grupos de flores da tarde e da noite (14:00, 18:00, 22:00 e 02:00) (os valores ajustados para todas as comparações, $P < 0,05$). Entre 06:00 e 10:00 não houve diferença ($P > 0,05$). Entre os grupos da tarde e noite também não houve diferença (todos os valores ajustados de $P > 0,05$).

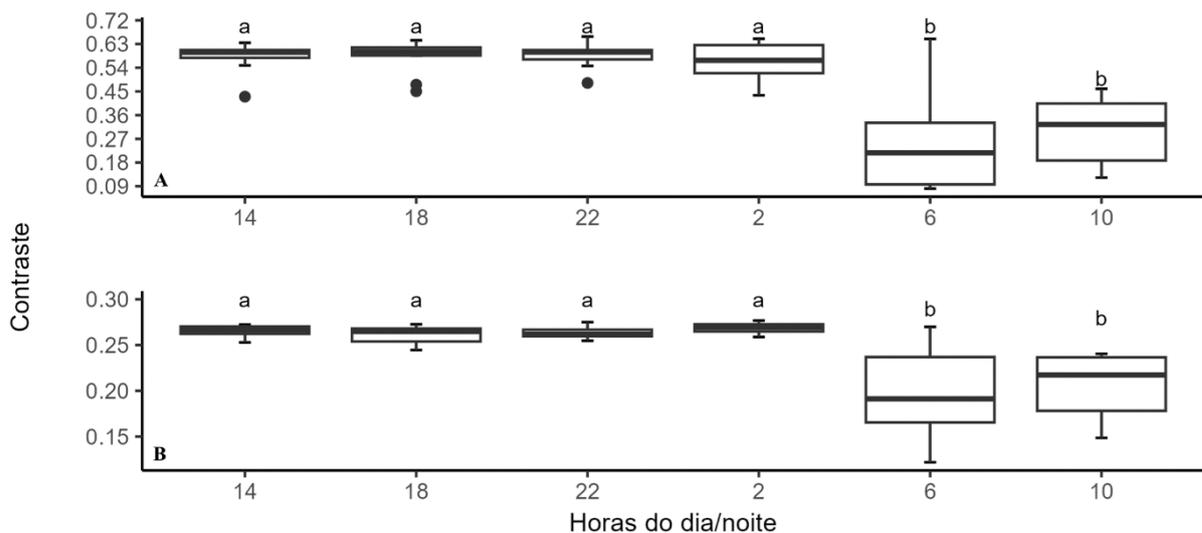


Figura 5. Variação do contraste das flores com o fundo verde das folhas (padrão do pacote “Pavo” (Maia *et al.* 2019)) de *Calliandra fasciculata* Benth. (A) Na visão subjetiva de abelhas ($P < 0,05$). (B) Na visão subjetiva de aves ($P < 0,05$).

3.5 Dependência de polinizadores e limitação polínica

Dentre as 108 flores testadas para a autopolinização espontânea, nenhuma delas produziu fruto ou semente. Das 135 flores testadas para polinização natural nove (6%) formaram frutos com uma média de $2,2 \pm 4,38$ sementes (Tab. 3). Nas 124 flores testadas para polinização cruzada manual registramos quatro frutos (3%) com média de $1 \pm 2,64$ sementes. Nas comparações dos tamanhos dos conjuntos de sementes dos tratamentos de polinização natural e cruzada manual para testar a limitação polínica, não houve evidência de diferença entre os tratamentos ($T = 0.10333$, $Df = 3.97$, $P = 0.9$).

Tabela 3. Tratamentos de polinização controlada em *Calliandra fasciculata* Benth. descrevendo o total de flores usadas em cada experimento, a média e o desvio padrão de frutos e sementes produzidas em cada experimento. Sem diferença entre polinização cruzada manual e polinização natural ($P > 0,05$).

Tratamentos	Flores		Frutos		Sementes		
	Total	Total	Média	Desvio padrão	Total	Média	Desvio padrão
Auto polinização espontânea	108	0	0	0	0	0	0
Polinização cruzada manual	124	4	0,27	0,6	15	1	2,65
Polinização natural	135	9	0,6	1,24	33	2,2	4,38

3.6 Fluxo de pólen

3.6.1 Remoção de políades

Houve diferença na quantidade de políades encontradas nas anteras de flores expostas pelos turnos de polinização ($\chi^2 = 6.0685$; $df = 2$; $P < 0.05$) (Fig. 6). Anteras da manhã apresentaram maior número de políades, com média de $19,6 \pm 22,2$ por antera, que foi maior do que a quantidade encontrada nas anteras da tarde ($Z = 2,42$; $P = 0,03$), que em média continham $10,7 \pm 16,7$ políades. Observamos em cada uma das anteras da noite uma média de $14,3 \pm 19,9$ políades, sendo intermediária e não diferente das contagens da manhã ($Z = 1,26$; $P = 0,41$) e da tarde ($Z = 1,15$; $P = 0,47$).

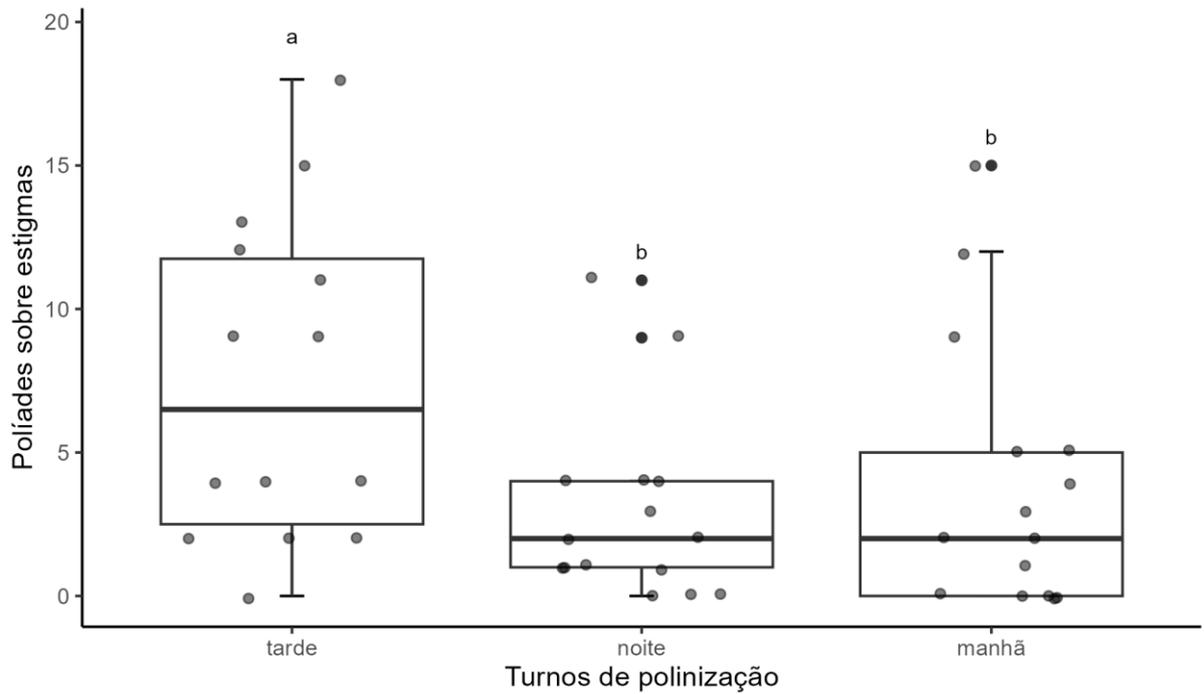


Figura 7. Deposição de póliades sobre estigmas de *Calliandra fasciculata* Benth nos turnos de polinização. Houve maior deposição à tarde ($P < 0,01$).

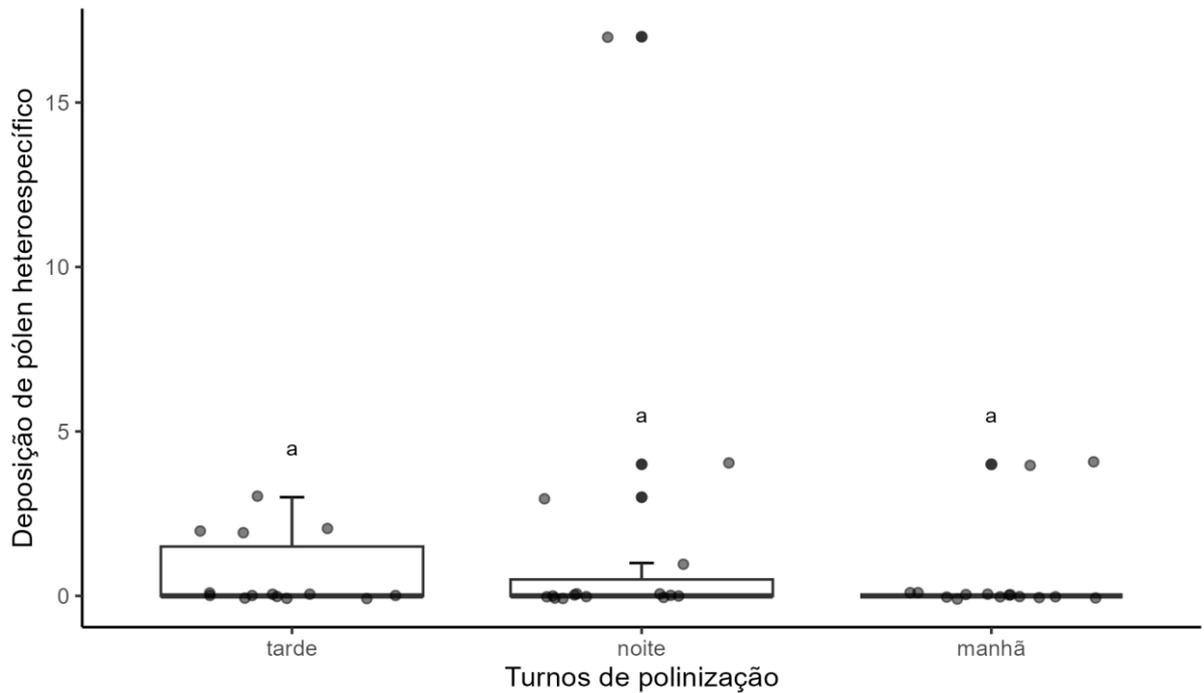


Figura 8. Deposição de pólen heteroespecífico sobre os estigmas de *Calliandra fasciculata* Benth entre turnos. Não houve variação entre turnos ($P > 0,05$).

3.7 Sucesso reprodutivo entre turnos de polinização

O sucesso na produção de frutos e a média de sementes por fruto a partir da contribuição de polinizadores em cada turno não apresentaram diferenças, respectivamente, (ANOVA: $\chi^2 = 6,04$; $df = 3$; $P = 0,1$) e (KRUSKAL-WALLIS: $\chi^2 = 39,345$; $df = 3$; $P = 0,2$) (Tab. 4).

Tabela 4. Número de flores, porcentagens, médias, desvios padrão e total de frutos e sementes dos experimentos de exclusão de visitantes florais em diferentes turnos de polinização de *Calliandra fasciculata* Benth. Não houve variação entre os grupos: no conjunto de frutos: Anova, ($P = 0,1$); e conjunto de sementes: Kruskal-test, ($P = 0,2$).

<i>Tratamentos</i>	<i>Flores</i>			<i>Frutos</i>		<i>Sementes</i>		
	<i>Total</i>	<i>Total (%)</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio padrão</i>	<i>Total</i>	<i>Média</i>	<i>Desvio padrão</i>	
Noite	264	8	3,03	0,53	0,92	27	1,8	2,96
Tarde	276	7	2,54	0,47	0,83	23	1,53	3,02
Manhã	278	3	1,08	0,25	0,45	16	1,33	2,57
Polinização natural	135	9	6,67	0,6	1,24	33	2,2	4,38

4 DISCUSSÃO

Calliandra fasciculata é uma espécie xenogâmica e generalista. Dentre os grupos diurnos e noturnos de visitantes florais, abelhas, beija-flores, morcegos e mariposas são seus potenciais polinizadores. Durante boa parte da antese as flores brancas absorventes de UV mantêm-se detectáveis pelos seus polinizadores, e oferecem néctar, em maior volume à noite. Já ao amanhecer o néctar é reabsorvido e ocorre a alteração da cor da flor, marcando o último turno da antese floral. Além disso, a frequência das visitas florais acompanhou a dinâmica da cor e do néctar. A deposição de pólen e produção de frutos ocorrem em todos os turnos de polinização. Sendo assim, essa dinâmica integrada de cor, néctar, visitas florais e fluxo de póliades durante o dia e a noite, apoiam a natureza generalista adaptativa (Muchhala, 2009) do sistema de polinização em *Calliandra fasciculata*.

A morfologia, a qualidade da cor e a fenologia da flor são aspectos que sustentam a variedade de grupos funcionais de polinizadores que interagem com *C. fasciculata*. A flor do tipo pincel é presente em plantas de diversas famílias (Endress, 1994), sendo classificada como extremamente generalista do ponto de vista morfológico, pois é pouco restritiva, permitindo acesso livre ao néctar, e por isso é associada a uma ampla gama de visitantes florais (Koptur 1983; Stone *et al.* 2003; Queiroz *et al.* 2016). Ao longo dos primeiros turnos da antese floral, à tarde até o amanhecer, a cor da flor de *C. fasciculata* apresenta qualidades espectrais médias perceptíveis por seus polinizadores. Flores brancas absorventes de UV são facilmente detectáveis e visitadas por abelhas e beija-flores (Bergamo *et al.* 2016), por mariposas em uma extensa faixa geográfica (Goyret *et al.* 2008), e por morcegos em uma floresta seca com alta incidência de flores quiropterófilas (Domingos-Melo *et al.* 2021b). A duração da antese presumivelmente reflete os *trade-offs* entre o tempo necessário para alcançar o máximo sucesso reprodutivo (masculino e feminino) e os custos envolvidos com o período de exposição das flores (Blair & Wolfe, 2007).

O investimento na produção de néctar em termos de volume e massa de açúcar é iniciado no final do dia com alta à noite. Padrões similares são recorrentes em espécies que recebem visitantes diurnos e noturnos como *Calliandra longipedicellata* (Hernández-Conrique *et al.* 2007b), *Inga subnuda* (Avila *et al.* 2015) e *Encholirium spectabile* (Queiroz *et al.* 2016). Em *C. fasciculata* a dinâmica do néctar coincide com a atividade de abelhas, beija-flores, morcegos e mariposas. Nos turnos em que esses grupos estão ativos, em cada flor são produzidos em média entre 20 a 37 μ l de néctar com aproximadamente 3 a 5 mg de açúcar. Por isso essa planta deve representar uma importante fonte de energia para esses grupos, especialmente para aqueles

com altas demandas energéticas devido ao tamanho corporal, a endotermia e ao voo pairado (Baker 1975; Winter & Von Helversen 1998; Raguso & Willis 2003).

A concentração de açúcar verificada foi sempre baixa e está de acordo com as preferências de beija-flores e morcegos (Baker & Baker 1983). Néctares diluídos parecem ser mais bem ingeridos pelos beija-flores, além de servir como fonte de água para eles (Baker, 1975). Essa característica de baixa concentração de açúcar no néctar deve ser também sustentada pelas condições ambientais. Sabe-se que sob a alta umidade da noite a evaporação da água contida nos néctares é inibida, mantendo-os diluídos, dentro das preferências dos morcegos (Borges *et al.* 2016). As mariposas parecem apresentar preferência por néctares com concentrações intermediárias, mas também consumiram néctar de *C. fasciculata* e frequentemente consomem néctares diluídos de espécies relacionadas (Hernández-Conrique *et al.* 2007; Amorim *et al.*, 2013; Cruz-Neto *et al.* 2015). Existe uma evidência de mecanismo de adaptação comportamental de uma mariposa Noctuidae para se alimentar de solução diluída (Wei *et al.* 1998), que pode ajudar a entender essas não raras interações mariposa-planta. Abelhas também consumiram o néctar diluído de *C. fasciculata*. Embora acreditava-se que néctares diluídos pudessem excluir abelhas (Bolten & Feinsinger 1978b) hoje há evidências de que elas se adaptam constantemente no modo de alimentação de acordo com a concentração de açúcar no néctar disponível (Wei *et al.* 2022). Pouco néctar diluído em cada flor, para todos os casos aqui de polinizadores com grandes demandas energéticas, deve influenciar os seus movimentos entre as flores.

Ao amanhecer, a cor da flor e o néctar variaram conjuntamente, e influenciaram a frequência de visitas. Nesse horário, a flor que era branca muda para rosa na visão humana. Essa alteração é baseada na síntese de pigmentos que são energeticamente “caros” (Weiss, 1995), e ocorre no mesmo momento que a flor inicia a reabsorção de néctar, que é um recurso também “caro” para a planta (Pyke & Ren, 2023). Pode haver aí um realocamento de recursos dentro da flor, o que precisaria ser testado (Shuel, 1961). O efeito resultante desse processo na visão dos polinizadores diurnos é a redução do contraste entre as inflorescências e o plano de fundo verde das folhas. Para a planta, isso leva à redução da frequência de visitas, porque essas flores devem ficar menos perceptíveis para abelhas a curtas distâncias (Brito *et al.* 2015). Flores rosas absorventes de UV são pouco cromáticas para as abelhas (Bergamo *et al.* 2015). Para beija-flores, o efeito dessa alteração na cor deve ser menos intenso do que para as abelhas, já que são capazes de detectar a longas distâncias cores não espectrais como o rosa ou o roxo (Stoddard *et al.* 2020; Bergamo *et al.* 2015). Embora a frequência geral de visitas tenha reduzido

pela manhã, beija-flores foram vistos visitando as flores de *C. fasciculata* neste turno, fora das amostragens. As abelhas também mantiveram uma constância relevante nessas flores nas primeiras horas do dia. Isso deve ocorrer devido à capacidade que os beija-flores e as abelhas possuem, de associar o sinal da cor com as recompensas (Lunau *et al.* 1996). No início do dia ainda há néctar nas flores, embora o processo de reabsorção já tenha sido iniciado. Em si, a redução da frequência de visitas nesse caso deve representar uma vantagem para a planta. Visitas pela manhã podem remover as políades depositadas nos estigmas nos turnos de polinização anteriores. Para essa morfologia de flor, parece haver um limite de frequência de visitas até onde pode-se ter ganhos para a aptidão (Avila *et al.* 2015). Evitando então a remoção de políades dos estigmas, pode-se evitar uma provável limitação polínica.

C. fasciculata é uma espécie que depende do polinizador para a reprodução pois não é autógama. Baseamos essa afirmação no fato de que nenhum fruto e semente foram produzidos por autopolinização espontânea. A probabilidade de que ocorra a limitação polínica em espécies autógamas é reduzida (Burd, 2004). Do contrário, em espécies não autógamas como *C. fasciculata*, as chances de limitação pelo pólen aumentam (Bennett *et al.*, 2020). Mas esse não é o caso aqui. Nosso resultado de indiferença entre as produções de frutos e sementes dos tratamentos de polinização cruzada manual e polinização natural revelou a ausência de limitação polínica nesta população. Nos Campos Rupestres, os níveis de limitação polínica são baixos devido à oferta suficiente de polinizadores (Lopes *et al.*, 2023). Mas embora o resultado do teste não tenha apontado diferença, não podemos afirmar que os serviços de polinização resultam na máxima aptidão nesse caso. Isso porque a frutificação foi em geral baixa, apenas 2,2% de frutos formados, e a deposição de políades nos estigmas foi de 80%. Isso revela uma alta proporção flor-fruto, recorrente em alguns membros de Mimosoideae (Koptur, 1983; Amorim *et al.*, 2013; Cruz-Neto *et al.* 2015; Hernández-Conrique *et al.* 2007; Avila *et al.* 2015). Para esse caso, mecanismos de autoincompatibilidade (Cruden, 1977) podem estar atuando e gerando esse padrão, influenciados pela origem do pólen. Quando uma auto políade ou de parentes próximos fecundar óvulos de uma flor esses óvulos devem ser abortados seletivamente (Burd, 2004). Neste cenário, as características intrínsecas do forrageamento dos polinizadores têm forte influência sobre a baixa frutificação.

O comportamento diferencial dos polinizadores influenciou também os resultados de remoção e deposição de políades e de frutificação e formação de sementes dos experimentos de exclusão. Com maior produção de néctar à noite e com a frequência de visitas acompanhando essa tendência, era de se esperar maior fluxo de pólen e maior aptidão feminina neste turno. No

entanto, esses resultados não ficaram em acordo com a frequência e dinâmica do néctar. A começar pelos resultados de fluxo de pólen que foram maiores à tarde. As abelhas, principalmente a *Apis mellifera*, contribuem com essa alta quando coletam políades ou quando buscam por néctar, tocando nas anteras. A morfologia da flor nesse caso também deve contribuir para aumentar o tempo de manuseio pela abelha (Cakmak *et al.* 2009) que pode aumentar a quantidade de pólen colocada no seu corpo (Harder & Thomson, 1989). A ausência de restrição morfológica dessa flor para beija-flores, morcegos e mariposas, permite visitas mais rápidas, que possivelmente resultam em menos políades carregadas por vez. Por isso, o resultado de remoção e deposição está sob forte influência das abelhas à tarde. Como as abelhas realizam geitonogamia (Wei *et al.* 2021), a quantidade superior de políades movimentadas nesse turno deve ser compensada negativamente pela sua baixa qualidade. No turno da noite, com mais visitas e polinizadores maiores, embora tenham sido movimentadas menos políades, elas devem possuir uma qualidade melhor.

Sem diferenças entre a produção de frutos e sementes nos tratamentos de exclusão e de polinização natural, a qualidade das políades é o que pode explicar esse equilíbrio na produção entre os turnos. Polinizadores que se limitam a circular dentro de uma mancha de flores restringem o fluxo gênico a esta mancha, enquanto deslocamentos a longas distâncias promovem a coesão genética (Gamba & Muchhala 2023). Plantas que recebem muitas visitas possuem certa “garantia” de serem fecundadas, e evitam a autopolinização, um mecanismo de segurança reprodutiva (Devaux *et al.*, 2014). Essas plantas rejeitam o pólen delas mesmas ou de parentes próximos, evitando-se a endogamia (Waser & Price, 1993). O forrageamento de morcegos nectarívoros é baseado em grandes deslocamentos (Horner *et al.* 1998) que promove o fluxo gênico entre populações com políades de melhor qualidade (Wanderley *et al.* 2020). Beija-flores territorialistas provavelmente levam cargas polínicas mais puras nos seus corpos, mas restritas a uma mancha de flores relativamente pequena onde eles se limitam a cultivar e proteger o néctar das flores (Jacobi & Antonini, 2008). Em contraste, beija-flores *trapliners* realizam rotas que extrapolam essas manchas e podem trazer políades de melhor qualidade para a reprodução da população (Wanderley *et al.* 2020). O efeito negativo promovido pelos territorialistas deve superar a vantagem da atuação do único *trapliner*, o *C. amethystina*, que nesse caso é pouco abundante. De acordo com as nossas observações, as aves territorialistas grandes, *C. serrirostris* e *E. macroura* realizaram a maioria das interações e inibiram a atuação dos beija-flores pequenos, *A. scutatus* e *C. amethystina* por meio de ataques e do canto (Jacobi & Antonini, 2008).

Os aspectos da biologia e da cor floral mais a dinâmica de néctar, e a contribuição para a reprodução pela polinização de abelhas, beija-flores, mariposas e morcegos, revelam a generalização na polinização de *Calliandra fasciculata*. A generalização funciona como uma estratégia de segurança reprodutiva, que assim como nos inúmeros casos documentados, aqui, mostra ser eficiente, pois está associada à contribuição de polinizadores em três diferentes turnos do dia. Essa extensão da exposição floral por três turnos deve contornar problemas decorrentes da eventual ausência de algum grupo de polinizador, especialmente neste caso de dependência total deles para a reprodução da planta. A contribuição em igual nível entre polinizadores nos três turnos de polinização é uma evidência de generalização adaptativa (Waser *et al.* 1996). Para avaliar essa evidência, sugerimos estudos que quantifiquem nesta espécie e em outros táxons, os componentes qualitativos da contribuição de cada um dos grupos de polinizadores e associem esses resultados a traços florais, como cor (Bergamo *et al.* 2015; Brito *et al.* 2015), tamanho e abertura do tubo floral (Maruyama *et al.* 2013; Cruz-Neto *et al.* 2015), a altura de estames e pistilos (Amorim *et al.* 2013), e a dinâmica de néctar (Primo *et al.* 2022). Desta maneira, seria possível clarificar os agentes de seleção e o valor adaptativo desses traços florais, ampliando assim o entendimento sobre a evolução da especialização nesse gênero. Assim como, esclarecendo melhor em qual posição no caminho evolutivo as espécies de *Calliandra* sp. encontram-se quanto a seus sistemas de polinização: se a generalização é um ponto de transição da ornitofilia para a quiropterofilia (Buzato *et al.* 1994; Sazima *et al.* 1994), ou em estabilidade (Muchhala, 2003), se equilibrando entre as compensações das diferenças de eficácia de seus diferentes polinizadores (Aigner, 2003).

5 CONCLUSÃO GERAL

Com os estudos que realizei nesta etapa de formação sobre biologia e ecologia da polinização, adquiri um melhor entendimento sobre qual é a real importância de se estudar o processo de polinização mediado por animais. Para além de ser uma disciplina que envolve sistemas quase sempre coloridos e belos, esse processo e as consequências dele, parece ser um dos motores que impulsionam a vida nos ecossistemas terrestres. Em primeiro plano, a polinização está diretamente envolvida no resultado da montagem das comunidades de plantas. A função e a contribuição para o *status* das comunidades naturais ainda é um assunto não esgotado em ecologia de comunidades, mas aparentemente, apresenta diferentes níveis a depender da escala. Em segundo plano, mas não menos importante, é a contribuição da polinização para a produção de alimentos fundamentais a diversas espécies, inclusive para a espécie humana. Polinizadores são consumidores primários e agentes diretos da transferência de energia, do nível trófico dos produtores para os níveis tróficos superiores dos consumidores. De fato, essa é uma função tão relevante para o funcionamento dos ecossistemas que as interações planta-polinizador são uma das mais recorrentes no planeta. Entender como ocorre este processo em diferentes escalas e em comunidades diversas é essencial para a preservação dos polinizadores e para a manutenção dos serviços ecossistêmicos.

O estudo e a compreensão do processo de polinização em muitos biomas, no entanto, ainda são incipientes. Isso vale para os Campos Rupestres do Leste Sulamericano, um ecossistema antigo, de topo de montanhas, repletas de linhagens antigas e em constante diversificação de linhagens endêmicas. A composição, estrutura e distribuição florística dos Campos Rupestres, são pautadas pelas condições fisiográficas encontradas em poucos lugares do planeta. A mescla de solos arenosos e pobres em nutrientes com afloramentos rochosos quartzíticos, e um clima predominantemente estável resulta em um ambiente altamente heterogêneo. Essas características constituem barreiras ao fluxo gênico e à coesão genética, e historicamente impulsionaram as plantas com flores a adquirirem adaptações que definiram padrões interessantes nos modos de polinização que quebram essas barreiras. Até onde se sabe, no Campo Rupestre há um predomínio de sistemas de polinização relacionados a polinizadores de longo alcance, que podem conectar populações isoladas ao longo da paisagem arquipélago. Há o predomínio de sistemas de polinização por abelhas, seguido de vento e por beija-flor. A polinização pelo vento, pequenas abelhas e moscas aumentam com a elevação, e os sistemas de polinização por abelhas pequenas e vento predominam nas pastagens. Os sistemas de polinização de grandes abelhas e beija-flores são constantes com a elevação e mais frequentes

nos afloramentos rochosos isolados. Além das adaptações para contornar as barreiras geográficas, as comunidades de plantas do Campo Rupestre adquiriram estratégias reprodutivas baseadas em características fenotípicas, os sistemas de polinização.

Entre as estratégias reprodutivas das plantas existe um gradiente entre especialização e generalização, e na natureza, especialmente em ambientes megadiversos, são mais comuns casos de generalização. O posicionamento de uma espécie vegetal nesse gradiente é balizado pelas suas características florais. É notável e amplamente aceito que há uma enorme diversidade de traços florais, e tradicionalmente essa grande variedade foi entendida como o resultado de processos coevolutivos entre flores e polinizadores. Esse entendimento é baseado na ideia de que a seleção natural favorece a especialização das plantas ao seu polinizador mais eficaz. Desse modo, os polinizadores são agentes naturais de seleção de características nas flores e por isso impulsionam a diversidade floral provocando isolamentos reprodutivos podendo gerar especiações. Esses isolamentos ocorrem em casos de restrição morfológica por parte das plantas, e pode “permitir” o acesso de apenas um grupo polinizador. Mas, não são raros os casos de plantas com estruturas morfológicas que se imagina ser adequados a um grupo polinizador, mas que na prática recebe visitas e contribuições pela polinização de diversos grupos. Também há casos de espécies de flores que agregam características pouco restritivas, que recebem muitas visitas de muitos grupos e contribuições para a aptidão de boa parte deles. Em uma visão contrária àquela que mira a especialização no sistema de polinização como alvo de seleção, está a ideia de que as plantas generalistas, ou boa parte delas adquiriram adaptações permissivas a múltiplos polinizadores, sendo este então um sistema “estável”. Entre as vantagens da generalização está a garantia reprodutiva, já que os serviços de polinização sofrem flutuações em decorrência de inúmeras causas. Na ausência de um polinizador, outro ou outros podem contribuir com serviços efetivos de polinização.

A antese diurna e noturna se enquadra nesses sistemas generalistas. Com flores sem barreiras restritivas e expondo seus recursos em períodos do dia a da noite, a gama de polinizadores tende a ser extensa. Em Mimosoideae essa estratégia é bem comum e foi já relativamente bem documentada em espécies de *Inga* sp. Para espécies de *Calliandra* sp, no entanto que se tem notícias existe apenas um trabalho com um táxon endêmico do México. O gênero *Calliandra* spp. é composto por 132 espécies exclusivamente neotropicais. Algumas espécies podem apresentar elasticidade fenotípica intraespecífica como flores homomórficas e heteromórficas. Também há casos de espécies com mudança de cor, como *Calliandra fasciculata*. Em nossa investigação sobre seu sistema de polinização, descobrimos que suas

características de cor e néctar são adequadas aos seus polinizadores diurnos e noturnos. Esses, contribuem em igual nível para o sucesso reprodutivo dessa espécie. O resultado final sugere que a confluência dos padrões de forrageamento e de comportamento de manuseio das flores na extração dos recursos pelos polinizadores, e a morfologia pouco restritiva juntamente com mecanismos pós-polinização, devem ser os fatores que levam a essa evidencia de generalização adaptativa. Por isso a importância de estudar a polinização, por ser um processo que tem influência em múltiplas escalas nos ecossistemas.

6 REFERÊNCIAS

AIGNER, P. A. Optimality modeling and fitness trade-offs: when should plants become pollinator specialists? **Oikos**, v. 95, n. 1, p. 177–184, 1 out. 2001.

ALVARES, C. A. *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 1 dez. 2013.

AMORIM, F. W.; GALETTO, L.; SAZIMA, M. Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). **Plant Biology**, v. 15, n. 2, p. 317–327, 1 mar. 2013.

AVILA, R.; PINHEIRO, M.; SAZIMA, M. The generalist *Inga subnuda* subsp. *luschnathiana* (Fabaceae): negative effect of floral visitors on reproductive success? **Plant Biology**, v. 17, n. 3, p. 728–733, 1 maio 2015.

BAKER, H. G. Sugar Concentrations in Nectars from Hummingbird Flowers. **Biotropica**, v. 7, n. 1, p. 41, abr. 1975.

BAKER, H. G.; BAKER, I. **Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type**. 1983. Disponível em: <<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:81011539>>

BENCKE, C. S. C.; MORELLATO, L. P. C. Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de plantas, sua interpretação e representação. **Brazilian Journal of Botany**, v. 25, n. 3, p. 269–275, set. 2002.

BERGAMO, P. J. *et al.* Flower colour and visitation rates of *Costus arabicus* support the 'bee avoidance' hypothesis for red-reflecting hummingbird-pollinated flowers. **Functional Ecology**, v. 30, n. 5, p. 710–720, 1 maio 2016.

BLAIR, A. C.; WOLFE, L. M. The association between floral longevity and pollen removal, pollen receipt, and fruit production in flame azalea (*Rhododendron calendulaceum*). <https://doi.org/10.1139/B07-025>, v. 85, n. 4, p. 414–419, abr. 2007.

BOBROWIEC, P. E. D.; OLIVEIRA, P. E. Removal Effects on Nectar Production in Bat-pollinated Flowers of the Brazilian Cerrado. **Biotropica**, v. 44, n. 1, p. 1–5, 1 jan. 2012.

BOLTEN, A. B.; FEINSINGER, P. Why Do Hummingbird Flowers Secrete Dilute Nectar? **Biotropica**, v. 10, n. 4, p. 307, dez. 1978a.

BOLTEN, A. B.; FEINSINGER, P. Why Do Hummingbird Flowers Secrete Dilute Nectar? **Biotropica**, v. 10, n. 4, p. 309, dez. 1978b.

BORGES, R. M.; SOMANATHAN, H.; KELBER, A. Patterns and Processes in Nocturnal and Crepuscular Pollination Services. <https://doi.org/10.1086/689481>, v. 91, n. 4, p. 389–418, 1 dez. 2016.

BRITO, V. L. G. *et al.* Trees as huge flowers and flowers as oversized floral guides: the role of floral color change and retention of old flowers in *Tibouchina pulchra*. **Frontiers in plant science**, v. 6, n. MAY, p. 1–10, 22 maio 2015.

BURD; CALLAHAN. What does the male function hypothesis claim? **Journal of Evolutionary Biology**, v. 13, n. 5, p. 735–742, 1 set. 2000a.

BURD; CALLAHAN. What does the male function hypothesis claim? **Journal of Evolutionary Biology**, v. 13, n. 5, p. 735–742, 1 set. 2000b.

BURD, M. OFFSPRING QUALITY IN RELATION TO EXCESS FLOWERS IN *PULTENAEA GUNNII* (FABACEAE). **Evolution**, v. 58, n. 10, p. 2371–2376, 1 out. 2004.

BUZATO, S.; SAZIMA, M.; SAZAMA, I. Pollination of three species of *Abutilon* (Malvaceae) intermediate between bat and hummingbird flower syndromes. **Flora**, v. 189, n. 4, p. 327–334, 1 dez. 1994.

CAKMAK, I. *et al.* Different solutions by bees to a foraging problem. **Animal Behaviour**, v. 77, n. 5, p. 1273–1280, 1 maio 2009.

CHITTKA, L. The colour hexagon: a chromaticity diagram based on photoreceptor excitations as a generalized representation of colour opponency. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 170, n. 5, 1992.

CHITTKA, L.; RAINE, N. E. Recognition of flowers by pollinators. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 9, n. 4, p. 428–435, 1 ago. 2006.

COLLI-SILVA, M.; VASCONCELOS, T. N. C.; PIRANI, J. R. Outstanding plant endemism levels strongly support the recognition of campo rupestre provinces in mountaintops of eastern South America. **Journal of Biogeography**, v. 46, n. 8, p. 1723–1733, 1 ago. 2019.

CORBET, S. A.; UNWIN, D. M.; PRŶS-JONES, O. E. Humidity, nectar and insect visits to flowers, with special reference to *Crataegus*, *Tilia* and *Echium*. **Ecological Entomology**, v. 4, n. 1, p. 9–22, 1 fev. 1979.

CRUZ-NETO, O. *et al.* The influence of nectar production and floral visitors on the female reproductive success of *Inga* (Fabaceae): a field experiment. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 2, p. 230–245, 1 fev. 2015.

CUTLER, D. E. *et al.* Feeding Behavior in the Nocturnal Moth *Manduca Sexta* is Mediated Mainly by Blue Receptors, but where are they Located in the Retina? **Journal of Experimental Biology**, v. 198, n. 9, p. 1909–1917, 1 set. 1995.

DE SOUZA, É. R. *et al.* Phylogeny of *Calliandra* (Leguminosae: Mimosoideae) based on nuclear and plastid molecular markers. **TAXON**, v. 62, n. 6, p. 1200–1219, 1 dez. 2013.

DELLINGER, A. S. Tansley review Pollination syndromes in the 21 st century: where do we stand and where may we go? **New Phitologist**, v. 228, n. 4, p. 1193–1213, 2020.

DEVAUX, C.; LEPERS, C.; PORCHER, E. Constraints imposed by pollinator behaviour on the ecology and evolution of plant mating systems. **Journal of evolutionary biology**, v. 27, n. 7, p. 1413–1430, 2014.

DOMINGOS-MELO, A. *et al.* Shining bright in the dusk: How do bat-pollinated flowers reflect light? **Ecology**, v. 102, n. 9, p. e03416, 1 set. 2021a.

DOMINGOS-MELO, A. *et al.* Shining bright in the dusk: How do bat-pollinated flowers reflect light? **Ecology**, v. 102, n. 9, p. e03416, 1 set. 2021b.

DYER AE, A. G. *et al.* Mutations perturbing petal cell shape and anthocyanin synthesis influence bumblebee perception of *Antirrhinum majus* flower colour. **Arthropod-Plant Interactions** 2007 1:1, v. 1, n. 1, p. 45–55, 3 mar. 2007.

FARRÉ-ARMENGOL, G. *et al.* Floral volatile organic compounds: Between attraction and deterrence of visitors under global change. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 15, n. 1, p. 56–67, 20 fev. 2013.

FERREIRA, C.; MARUYAMA, P. K.; OLIVEIRA, P. E. Convergence beyond flower morphology? Reproductive biology of hummingbird-pollinated plants in the Brazilian Cerrado. **Plant Biology**, v. 18, n. 2, p. 316–324, 1 mar. 2016.

FOURNIER, L. A. Observaciones fenológicas en el bosque humedo premontano de San Pedro de Montes Oca, Costa Rica. *Turrialba*, v. 26, p. 54-59, 1976.

FREITAS, L.; GALETTO, L.; SAZIMA, M. Pollination by hummingbirds and bees in eight syntopic species and a putative hybrid of Ericaceae in Southeastern Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, v. 258, n. 1–2, p. 49–61, 8 abr. 2006.

GAMBA, D.; MUCHHALA, N. Pollinator type strongly impacts gene flow within and among plant populations for six Neotropical species. **Ecology**, v. 104, n. 1, p. e3845, 1 jan. 2023.

GIULIETTI, A.; PIRANI, J. R.; HARLEY, R. Espinhaço range region eastern Brazil. 1997.

GONZALEZ-TERRAZAS, T. P. *et al.* Finding flowers in the dark: nectar-feeding bats integrate olfaction and echolocation while foraging for nectar. **Royal Society Open Science**, v.

3, n. 8, 10 ago. 2016.

GOYRET, J. *et al.* Why do *Manduca sexta* feed from white flowers? Innate and learnt colour preferences in a hawkmoth. **Naturwissenschaften**, v. 95, n. 6, p. 569–576, 21 jun. 2008.

GREISSL, R. Ontogeny of the *Calliandra – massulae* (Mimosaceae: Ingeae), and the associated viscin body. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 201, n. 7, p. 570–587, 12 out. 2006.

HARDER, L. D.; THOMSON, J. D. Evolutionary Options for Maximizing Pollen Dispersal of Animal-Pollinated Plants. <https://doi.org/10.1086/284922>, v. 133, n. 3, p. 323–344, 1989.

HARGREAVES, A. L.; JOHNSON, S. D.; NOL, E. Do floral syndromes predict specialization in plant pollination systems? An experimental test in an “ornithophilous” African *Protea*. **Oecologia**, v. 140, n. 2, p. 295–301, 28 maio 2004.

HART, N. S.; HUNT, D. M. Avian Visual Pigments: Characteristics, Spectral Tuning, and Evolution. <https://doi.org/10.1086/510141>, v. 169, n. SUPPL., jan. 2007.

HEIL, M. Nectar: generation, regulation and ecological functions. **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 4, p. 191–200, 1 abr. 2011.

HERNÁNDEZ-CONRIQUE, D. *et al.* Nectar production of *Calliandra longipedicellata* (Fabaceae: Mimosoideae), an endemic Mexican shrub with multiple potential pollinators. **Biotropica**, v. 39, n. 4, p. 459–467, jul. 2007a.

HERNÁNDEZ-CONRIQUE, D. *et al.* Nectar Production of *Calliandra longipedicellata* (Fabaceae: Mimosoideae), an Endemic Mexican Shrub with Multiple Potential Pollinators. **Biotropica**, v. 39, n. 4, p. 459–467, 1 jul. 2007b.

HÖGLUND, G.; HAMDORF, K.; ROSNER, G. Trichromatic visual system in an insect and its sensitivity control by blue light. **Journal of Comparative Physiology**, v. 86, n. 3, p. 265–279, set. 1973.

HORNER, M. A.; FLEMING, T. H.; SAHEY, C. T. Foraging behaviour and energetics of a nectar-feeding bat, *Leptonycteris curasoae* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Journal of Zoology**, v. 244, n. 4, p. 575–586, 1 abr. 1998.

HUGHES, C. E.; PENNINGTON, R. T.; ANTONELLI, A. Neotropical Plant Evolution: Assembling the Big Picture. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 1, p. 1–18, 1 jan. 2013.

JACOBI, C. M.; ANTONINI, Y. Pollinators and defence of *Stachytarpheta glabra* (Verbenaceae) nectar resources by the hummingbird *Colibri serrirostris* (Trochilidae) on ironstone outcrops in south-east Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v. 24, n. 3, p. 301–308, maio 2008.

KELBER, A.; BALKENIUS, A.; WARRANT, E. J. Colour Vision in Diurnal and Nocturnal Hawkmoths. **Integrative and Comparative Biology**, v. 43, n. 4, p. 571–579, 1 ago. 2003.

KOPTUR, S. Flowering phenology and floral biology of *Inga* (Fabaceae : Mimosoideae). **Systematic botany.**, v. 8, n. 4, p. 354–368, 1 dez. 1983.

LÁZARO, A. *et al.* Linking species-level network metrics to flower traits and plant fitness. **Journal of Ecology**, v. 108, n. 4, p. 1287–1298, 1 jul. 2020.

LEIMBERGER, K. G. *et al.* The evolution, ecology, and conservation of hummingbirds and their interactions with flowering plants. **Biological Reviews**, v. 97, n. 3, p. 923–959, 1 jun. 2022.

LELES, B. *et al.* Genetic Structure Is Associated with Phenotypic Divergence in Floral Traits and Reproductive Investment in a High-Altitude Orchid from the Iron Quadrangle, Southeastern Brazil. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0120645, 10 mar. 2015.

LOPES, S. A.; BERGAMO, P. J.; RECH, A. R. Effect of plant traits and network metrics on pollen limitation in hummingbird-pollinated plants from the Brazilian Campos Rupestres. **Flora**, v. 309, p. 152404, 1 dez. 2023.

LUNAU, K. *et al.* Avoidance of achromatic colours by bees provides a private niche for hummingbirds. **Journal of Experimental Biology**, v. 214, n. 9, p. 1607–1612, 1 maio 2011.

LUNAU, K.; WACHT, S.; CHITTKA, L. Colour choices of naive bumble bees and their implications for colour perception. **Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v. 178, n. 4, p. 477–489, 1996.

KRUSKAL, W. H.; WALLIS, W. A. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v. 47, n. 260, p. 583–621, 1952.

MAIA, R. *et al.* pavo 2: New tools for the spectral and spatial analysis of colour in r. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 10, n. 7, p. 1097–1107, 1 jul. 2019.

MARUYAMA, P. K. *et al.* Pollination syndromes ignored: importance of non-ornithophilous flowers to Neotropical savanna hummingbirds. **Die Naturwissenschaften**, v. 100, n. 11, p. 1061–1068, nov. 2013.

MENZEL, R.; SHIMIDA, A. The ecology of flower colours and natural colour vision of insect pollinators: the Israel flora as a study case. **Biological Reviews**, v. 68, n. 1, p. 81–120, 1 fev. 1993.

MONTEIRO, B. L. *et al.* Pollination in the campo rupestre: a test of hypothesis for an ancient tropical mountain vegetation. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 133, n. 2, p. 512–530, 1 jun. 2021.

MUCHHALA, N. Exploring the boundary between pollination syndromes: Bats and hummingbirds as pollinators of *Burmeistera cyclostigmata* and *B. tenuiflora* (Campanulaceae). **Oecologia**, v. 134, n. 3, p. 373–380, 11 jan. 2003.

MUCHHALA, N. Nectar bat stows huge tongue in its rib cage. **Nature** 2006 444:7120, v. 444, n. 7120, p. 701–702, 6 dez. 2006.

MUCHHALA, N. *et al.* A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*. **Annals of Botany**, v. 103, n. 9, p. 1481–1487, 1 jun. 2009.

MÜLLER, B. *et al.* Bat Eyes Have Ultraviolet-Sensitive Cone Photoreceptors. **PLOS ONE**, v. 4, n. 7, p. e6390, 28 jul. 2009.

NEPI, M.; GRASSO, D. A.; MANCUSO, S. Nectar in plant–insect mutualistic relationships: From food reward to partner manipulation. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 376995, 19 jul. 2018.

NICOLSON, S. W. Nectar consumers. Em: NICOLSON, S. W.; NEPI, M.; PACINI, E. (Eds.). **Nectaries and Nectar**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. p. 289–342.

OHASHI, K.; JÜRGENS, A.; THOMSON, J. D. Trade-off mitigation: a conceptual framework for understanding floral adaptation in multispecies interactions. 2021.

OLIVEIRA-SILVEIRA, F. A.; FERNANDES, F.; FERNANDES, G. W. Light and temperature influence on seed germination of *Calliandra fasciculata* Benth. (Leguminosae). **Lundiana**, v. 6, n. 2, p. 95–97, jul. 2005.

OLLERTON, J. *et al.* A global test of the pollination syndrome hypothesis. **Annals of Botany**, v. 103, n. 9, p. 1471–1480, 1 jun. 2009.

PETER, C. I.; VENTER, N. Generalist, settling moth pollination in the endemic South African twig epiphyte, *Mystacidium pusillum* Harv. (Orchidaceae). **Flora**, v. 232, p. 16–21, 1 jul. 2017.

PIRANI, J. R.; MELLO-SILVA, R.; GIULIETTI, A. M. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais, Brasil. **Boletim de Botânica**, v. 21, n. 1, p. 1, 1 jun. 2003.

PRIMO, L. M. *et al.* Nectar secretion patterns are associated to nectar accessibility in a guild of crepuscular-nocturnal flowering plants. **Plant Ecology**, v. 223, n. 8, p. 951–964, 1 ago. 2022.
Principles of Pollination Ecology - K. Faegri, L. Van Der Pijl - Google Books. Disponível em:

<https://books.google.com.br/books?hl=en&lr=&id=3zfLBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=3uzOeE2xEu&sig=C9uUp1rZhc4ICCYOnzQkvDEDmM4&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 16 abr. 2024.

PROCTOR, M.; YEO, P.; LACK, A. **The natural history of pollination**. London: Harper Collins , 1996.

QUEIROZ, J. A. *et al.* Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: A bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest. **Journal of Arid Environments**, v. 125, p. 21–30, 1 fev. 2016.

RAGUSO, R. A. Electroantennogram responses of *Hyles lineata* (sphingidae: lepidoptera) to volatile compounds from *Clarkia breweri* (onagraceae) and other moth-pollinated flowers. **Journal of Chemical Ecology**, v. 22, n. 10, p. 1735–1766, 1996.

RAGUSO, R. A.; WILLIS, M. A. Hawkmoth Pollination in Arizona’s Sonoran Desert: Behavioral Responses to Floral Traits. Em: BOGGS, C. L.; WATT, W. B.; EHRLICH, P. R. (Eds.). **Ecology and Evolution Taking Flight**. [s.l.] University of Chicago Press, 2003. p. 43–66.

RAPINI, A. *et al.* **A flora dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço**. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/265507982_A_flora_dos_campos_rupestres_da_Cadeia_do_Espinhaco>. Acesso em: 15 maio. 2024.

RAZANAJATOVO, M. *et al.* Pollen load, pollen species diversity and conspecific pollen carried by pollinators across 24-hour cycles. **Basic and Applied Ecology**, v. 78, p. 23–27, 1 ago. 2024.

REFLORA, 2020. **Flora e Funga do Brasil**. Disponível em: <<https://reflora.jbrj.gov.br/consulta/?grupo=6&familia=115&genero=Calliandra&especie=fasciculata&autor=&nomeVernaculo=&nomeCompleto=&formaVida=null&substrato=null&ocorreBrasil=QUALQUER&ocorrencia=OCORRE&endemismo=TODOS&origem=TODOS®iao=QUALQUER&ilhaOceanica=32767&estado=QUALQUER&domFitogeograficos=QU>>

ALQUER&vegetacao=TODO&mostrarAte=SUBESP_VAR&opcoesBusca=TODO_OS_NOMES&loginUsuario=Visitante&senhaUsuario=&contexto=consulta-publica&pagina=1>.

Acesso em: 12 maio. 2024.

SAZIMA, M.; BUZATO, S.; SAZIMA, I. Bat-pollinated Flower Assemblages and Bat Visitors at Two Atlantic Forest Sites in Brazil. **Annals of Botany**, v. 83, n. 6, p. 705–712, 1 jun. 1999.

SAZIMA, M.; SAZIMA, I.; BUZATO, S. Nectar by day and night: *Siphocampylus sulfureus* (Lobeliaceae) pollinated by hummingbirds and bats. **Plant Systematics and Evolution**, v. 191, n. 3–4, p. 237–246, set. 1994.

SHUEL, R. W. INFLUENCE OF REPRODUCTIVE ORGANS ON SECRETION OF SUGARS IN FLOWERS OF *STREPTOSOLEN JAMESONII*, MIERS 1,2. [s.d.].

SILVEIRA, F. A. O. *et al.* Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. **Plant and Soil** **2015 403:1**, v. 403, n. 1, p. 129–152, 18 ago. 2015.

STODDARD, M. C. *et al.* Wild hummingbirds discriminate nonspectral colors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 117, n. 26, p. 15112–15122, 30 jun. 2020.

STONE, G. N. *et al.* Pollination ecology of acacias (Fabaceae, Mimosoideae). **Australian Systematic Botany**, v. 16, n. 1, p. 103–118, 25 mar. 2003.

TONG, Z. Y. *et al.* New calculations indicate that 90% of flowering plant species are animal-pollinated. **National Science Review**, v. 10, n. 10, 1 out. 2023.

TUR, C.; CASTRO-URGAL, R.; TRAVESET, A. Linking Plant Specialization to Dependence in Interactions for Seed Set in Pollination Networks. **PLOS ONE**, v. 8, n. 10, p. e78294, 30 out. 2013.

V. HELVERSEN, O.; REYER, H. U. Nectar intake and energy expenditure in a flower visiting

bat. **Oecologia**, v. 63, n. 2, p. 178–184, 1984.

VOROBYEYEV, M.; OSORIO, D. Receptor noise as a determinant of colour thresholds. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 265, n. 1394, p. 351–358, 7 mar. 1998.

WANDERLEY, A. M. *et al.* Pollen flow within and among isolated populations of two rare, self-compatible plant species from inselbergs of Northeast Brazil. **Plant Ecology**, v. 221, n. 4, p. 229–240, 1 abr. 2020.

WASER, N. M. *et al.* Generalization in pollination systems, and why it matters. **Ecology**, v. 77, n. 4, p. 1043–1060, 1996.

WATTS, S. *et al.* The influence of floral traits on specialization and modularity of plant–pollinator networks in a biodiversity hotspot in the Peruvian Andes. **Annals of Botany**, v. 118, n. 3, p. 415–429, 1 set. 2016.

WEI, J. *et al.* Trade-off mechanism of honey bee sucking and lapping. **Soft Matter**, v. 18, n. 30, p. 5568–5574, 3 ago. 2022.

WEI, N. *et al.* Pollinators contribute to the maintenance of flowering plant diversity. **Nature** **2021 597:7878**, v. 597, n. 7878, p. 688–692, 8 set. 2021.

WEI, X.; JOHNSON, S. J.; HAMMOND, A. M. Sugar-Feeding Strategy of Adult Velvetbean Caterpillar (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Entomology**, v. 27, n. 5, p. 1235–1241, 1 out. 1998.

WHITE, R. H. *et al.* Wavelength Discrimination and the Role of Ultraviolet Vision in the Feeding Behavior of Hawkmoths. **Biotropica**, v. 26, n. 4, p. 427, dez. 1994.

WILLSON, M. F.; RATHCKE, B. J. Adaptive Design of the Floral Display in *Asclepias syriaca* L. **American Midland Naturalist**, v. 92, n. 1, p. 47, jul. 1974.

WINTER, Y.; VON HELVERSEN, O. The energy cost of flight: do small bats fly more cheaply than birds? **Journal of comparative physiology. B, Biochemical, systemic, and environmental physiology**, v. 168, n. 2, p. 105–111, mar. 1998.

ZHANG, H. P. *et al.* Floral nectar reabsorption and a sugar concentration gradient in two long-spurred *Habenaria* species (Orchidaceae). **BMC Plant Biology**, v. 23, n. 1, p. 1–12, 1 dez. 2023.

7 ANEXOS

Tabela suplementar 1. Resultados dos valores de P e da estatística Z para as comparações de características do néctar entre diferentes horários.

<i>Parâmetro</i>	<i>Comparações</i>	<i>Z</i>	<i>P valor</i>
Volume	10 - 14	1,6	1
	10 - 18	-2,3	0.32
	14 - 18	-3,9	0.00
	10 - 2	-5,05	0.00
	14 - 2	-6,65	0.00
	18 - 2	-2,75	0.09
	10 - 22	-3,55	0.01
	14 - 22	-5,15	0.00
	18 - 22	-1,25	1
	2 - 22	1,5	1
	10 - 6	-4,85	0.00
	14 - 6	-6,45	0.00
	18 - 6	-2,55	0.16
	2 - 6	0,2	1
	22 - 6	-1,31	1
Concentração	10 - 14	3,02	0.04
	10 - 18	-0,24	1
	14 - 18	-3,26	0.02
	10 - 2	0,64	1
	14 - 2	-2,38	0.26
	18 - 2	0,87	1
	10 - 22	-1,53	1
	14 - 22	-4,56	0.00
	18 - 22	-1,3	1
	2 - 22	-2,17	0.45
	10 - 6	1,1	1
	14 - 6	-1,92	0.83
	18 - 6	1,34	1
	2 - 6	0,47	1
	22 - 6	2,64	0.12

Continua

Continuação da tabela complementar 2. Resultados dos valores de P e da estatística Z para as comparações de características do néctar entre diferentes horários.

<i>Parâmetro</i>	<i>Comparações</i>	<i>Z</i>	<i>P valor</i>
	10 - 14	2,11	0.53
	10 - 18	-1,65	1
	14 - 18	-3,76	0.00
	10 - 2	-3,57	0.01
	14 - 2	-5,67	0.00
	18 - 2	-1,91	0.83
	10 - 22	-3,35	0.01
Massa de açúcar	14 - 22	-5,46	0.00
	18 - 22	-1,7	1
	2 - 22	0,21	1
	10 - 6	-3,52	0.01
	14 - 6	-5,62	0.00
	18 - 6	-1,86	0.94
	2 - 6	0,05	1
	22 - 6	-0,16	1

Tabela complementar: 3. Comparações das distâncias espectrais da cor de flores de diferentes idades sob a visão subjetiva de abelhas através do modelo hexagonal de cores (Chittka, 1992). Descrevendo os resultados para o valor de P e as diferenças de cada medida até uma distribuição normal em cada comparação, representadas pelos horários de coleta.

<i>Comparação</i>	<i>Diff</i>	<i>P Valor</i>
14-10	0,28	0
18-10	0,28	0
2-10	0,26	0
22-10	0,28	0
6-10	-0,04	0,99
18-14	0	1
2-14	-0,02	1
22-14	0,01	1
6-14	-0,32	0
2-18	-0,02	1
22-18	0,01	1
6-18	-0,31	0
22-2	0,02	1
6-2	-0,3	0
6-22	-0,32	0

Tabela complementar: 4. Comparações das distâncias espectrais da cor de flores de diferentes idades sob a visão subjetiva de beija-flores no modelo tetraédrico de cores (Vorobyev *et al.* 1998). Descrevendo o P valor de cada comparação e o valor da estatística Z para cada uma delas.

<i>Comparações</i>	<i>Z</i>	<i>P valor</i>
10-14	-4,8	0
10-18	-4,47	0
10-2	-4,94	0
10-22	-4,58	0
10-6	0,8	0,97
14-18	0,36	1
14-2	-0,3	1
14-22	0,1	1
14-6	5,69	0
18-2	-0,65	0,99
18-22	-0,25	1
18-6	5,36	0
2-22	0,39	1
2-6	5,81	0
22-6	5,44	0