

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE BIOLÓGICA**

THAYSA NOGUEIRA DE MOURA

**ANÁLISE ESPACIAL E TEMPORAL DOS CARACTERES FLORAIS E DO
SISTEMA DE POLINIZAÇÃO EM POPULAÇÕES DE *Calathea altissima* (Poepp.
& Endl.) Korn. (MARANTACEAE) AO LONGO DE UM GRADIENTE
LONGITUDINAL NA BACIA AMAZÔNICA.**

**MANAUS, AMAZONAS
2017**

THAYSA NOGUEIRA DE MOURA

ANÁLISE ESPACIAL E TEMPORAL DOS CARACTERES FLORAIS E DO SISTEMA DE POLINIZAÇÃO EM POPULAÇÕES DE *Calathea altissima* (Poepp. & Endl.) Korn. (MARANTACEAE) AO LONGO DE UM GRADIENTE LONGITUDINAL NA BACIA AMAZÔNICA.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Diversidade Biológica como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Diversidade Biológica, sob orientação do Prof. Dr. Antonio Carlos Webber.

**MANAUS, AMAZONAS
2017**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M929a Moura, Thaysa Nogueira de
Análise espacial e temporal dos caracteres florais e do sistema de polinização em populações de *Calathea altissima* (Poepp. & Endl.) Korn. (Marantaceae) ao longo de um gradiente longitudinal na Bacia Amazônica / Thaysa Nogueira de Moura. 2017
44 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Antonio Carlos Webber
Tese (Doutorado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas.

1. interações planta-polinizador. 2. especialização. 3. variação espacial. 4. variação temporal. I. Webber, Antonio Carlos II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço muito especialmente às seguintes pessoas cujo suporte, direto ou indireto, tornou possível a presente tese: Prof. Dr. Antonio Carlos Webber (UFAM), Profa. Dra. Maria Gracimar Pacheco (UFAM), Prof. Dr. Agno Nonato Serrão Acioli (UFAM), Profa. Dra. Liliane Noemia Torres de Melo, Dr. Márcio Oliveira (INPA), Profa. Dra. Favízia Freitas de Oliveira (UFBA), Érica Inês Almeida de Souza, Jean Paulo de Jesus Tello, Caris dos Santos Viana, Nazilene Oliveira da Silva, José Carlos Soares Carneiro, Henrique Oliveira Lima, e a todos os docentes do curso de pós-graduação em Diversidade Biológica – UFAM. Agradeço ainda aos seguintes revisores da versão final da tese pela valiosa contribuição através de suas críticas e sugestões: Dra. Eliana Storti (INPA), Prof. Dr. Jefferson da Cruz (UFAM), Profa. Dra. Maria Silvia de Mendonça (UFAM), Dra. Maria Teresa Fernandez Piedade (INPA) e Profa. Dra. Veridiana Scudeller (UFAM). A pesquisa foi contemplada com uma bolsa de pós-graduação pela FAPEAM – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas.

RESUMO GERAL

As interações planta-polinizador têm sido usadas extensivamente como sistemas modelo para explorar aspectos básicos da evolução. Uma ideia comumente aceita no estudo da polinização é a de que as plantas tendem a se especializar em certas espécies polinizadoras e, possivelmente, a recíproca também ocorra. Dois princípios fundamentais vêm norteando o entendimento acerca da evolução das interações planta-polinizador específicas: conceito das síndromes de polinização, que constituem categorias de traços florais e recursos associados à atração de polinizadores especializados, e o princípio do polinizador mais importante que estabelece que plantas podem ser polinizadas por diferentes espécies polinizadoras, mas que na verdade apenas o agente polinizador mais importante seria responsável por influenciar a evolução dos traços florais. Paralelamente ao crescente interesse científico sobre o nível de especialização/generalização das interações planta-polinizador, está a constatação empírica de que tais interações sofrem considerável efeito de variação espacial e/ou temporal. Os polinizadores de uma dada espécie podem variar entre diferentes populações, criando um regime de pressão seletiva divergente ao longo da área de distribuição da espécie, levando ao surgimento de um mosaico geográfico de coevolução. Com a variação espacial e/ou temporal dos polinizadores, estes podem ser um importante fator no surgimento de variações geográficas nos traços florais por meio de adaptações locais e o estudo destes sistemas pode ajudar no maior entendimento acerca dos mecanismos promotores de especiação e da evolução. De acordo com as bases teóricas apresentadas, o estudo teve como objetivo principal investigar o sistema de polinização de *Calathea altissima* (Marantaceae) em três regiões ao longo de um gradiente longitudinal na Amazônia Brasileira distantes entre si 500 km. Especificamente, buscamos responder as seguintes questões: (1) existe variação espacial

nas características florais de *C. altissima* entre as regiões estudadas? (2) existe variação espacial e/ou temporal no sistema de polinização da espécie entre populações e/ou regiões do estudo? A análise geográfica do sistema de polinização revelou a ausência de variação espacial dos traços florais e ausência de variação espacial e temporal dos agentes polinizadores, indicando que o nível de especialização de *C. altissima* com relação às abelhas Euglossini seria um atributo próprio da espécie e não uma característica variável entre populações.

GENERAL ABSTRACT

Plant-pollinator interactions have been used extensively as model systems to explore basic aspects of evolution. A common idea accepted in the study of pollination is that plants tend to specialize in certain pollinators species, and possibly the contrary also occurs. Two fundamental principles have been guiding the understanding of the evolution of specific plant-pollinator interactions: the pollination syndromes concept, which constitute categories of floral traits and resources associated with the attraction of specialized pollinators, and the most important pollinator principle that establishes that plants can be pollinated by different pollinator species, but that in fact only the most important pollinator agent would be responsible for influencing the evolution of floral traits. Parallel to the growing scientific interest in the level of specialization/generalization of plant-pollinator interactions, there is the empirical observation that such interactions undergo a considerable spatial and/or temporal variation effect. The pollinators of a given species may vary among different populations, creating a regime of divergent selective pressure along the distribution area of the species, leading to the emergence of a geographic mosaic of coevolution. With the spatial and/or temporal variation of pollinators, that can be an important factor in the emergence of geographical variations in floral traits through local adaptations, and the study of these systems may help in a better understanding of the mechanisms promoting speciation and evolution. According to the theoretical basis presented, the main objective of this study was to investigate the pollination system of *Calathea altissima* (Marantaceae) in three regions along a longitudinal gradient 500 km apart in the Brazilian Amazon. We explored the following questions: (1) Is there a spatial variation

in the floral characteristics of *C. altissima* among the studied regions? (2) Is there a spatial and/or temporal variation in the pollination system of the species among populations and/or regions of the study? The geographic analysis of the pollination system revealed the absence of spatial variation of floral traits and absence of spatial and temporal variation of pollinator agents, indicating that the level of specialization of *C. altissima* in relation to Euglossini bees would be a characteristic of the species and not a variable characteristic between populations.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	09
2. CAPÍTULO 1.....	16
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
RESULTADOS.....	25
DISCUSSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	35
4. CONCLUSÕES.....	41
5. REFERÊNCIAS.....	42

1. INTRODUÇÃO

As interações planta-polinizador são componentes funcionais da biodiversidade, sendo consideradas como promotoras de muitos eventos de especiação, criando diversidade taxonômica e genética (Ollerton et al. 2006). As relações mutualísticas entre as plantas e seus animais polinizadores têm sido frequentemente usadas como modelo para o estudo de aspectos fundamentais de ecologia e de evolução (Mayer et al. 2011).

Darwin (1869) foi o responsável por colocar o estudo científico da polinização em um moderno contexto evolutivo, despertando o interesse quanto ao estudo do significado adaptativo dos traços florais em relação aos polinizadores. Um exemplo clássico da abordagem evolutiva de Darwin foi a previsão feita sobre a identidade do polinizador da orquídea *Angraecum sesquipedale* Thouars (1822) de Madagascar a qual apresenta tubos florais com mais de 10 cm de comprimento. Darwin previu que o polinizador da orquídea deveria ser um inseto com probóscide longa adaptada a exploração de néctar no interior do longo tubo floral da orquídea. Quase cem anos mais tarde, a previsão de Darwin foi comprovada a partir da observação de campo da polinização feita pela mariposa, *Xanthopan morgani praedicta* Rothschild & Jordan (1903), com probóscide tão longa quanto os tubos florais da orquídea.

As interações das plantas com seus agentes polinizadores ocupam um espectro contínuo que vai desde a especialização obrigatória (uma única espécie de polinizador atua na polinização de uma espécie de planta) à generalização extrema, onde uma espécie de planta pode ter suas flores polinizadas por uma diversa gama taxonômica de visitantes florais (Ollerton et al. 2007).

A ideia convencional compartilhada por muitos estudiosos da polinização tem sido a de que a especialização planta-polinizador seria muito vantajosa para as plantas, sendo, portanto, o destino final evolutivo dos sistemas de polinização (Aigner 2001; Aigner

2006; Gomez e Zamora 2006; Johnson e Steiner 2000). Além disso, assume-se que a especialização mediada pelo polinizador promoveria a divergência floral e o isolamento reprodutivo, explicando desta maneira a diversidade das plantas com flores (Ollerton 1996).

Muitos dos exemplos mais elaborados de extrema especialização adaptativa podem ser encontrados nos sistemas de polinização e muitos biólogos evolutivos consideram a especialização extrema o resultado comum da seleção natural, sendo a generalização raridade (Aigner 2001; Faegri e Pijl 1979; Fenster et al. 2004; Ollerton et al. 2007). Contrariamente, pesquisadores em campo reportam casos de generalização substancial nos padrões de visitação de animais às flores, além de considerável variação espacial e temporal nesses mesmos padrões (Herrera 1989; Horvitz e Schemske 1990; Ollerton *et al.* 2007; Waser *et al.* 1996). A variabilidade espaço-temporal na abundância e composição na assembléia de visitantes florais é a causa mais citada para explicar a existência de sistemas de polinização generalistas (Herrera 1989; Herrera 1995; Horvitz e Schemske 1990; Waser *et al.* 1996).

Em interações mutualísticas planta-animal, a constância das pressões seletivas exercidas pelos integrantes é crucial para o encaminhamento evolutivo da relação. Quanto maior for a previsibilidade espacial e temporal da natureza e da força da pressão seletiva exercida pelos mutualistas sobre uma espécie, maior será a probabilidade de seleção de uma modificação evolutiva em resposta a essa pressão (Herrera 1989; Horvitz e Schemske 1990). Acessar a magnitude da variação espacial e/ou temporal das interações mutualísticas representa um passo fundamental para o entendimento de sua evolução (Herrera 1989; Herrera 2005).

Sendo a seleção natural um fenômeno populacional, a variação espacial dos polinizadores pode também diluir a intensidade da seleção exercida no geral (Schemske

e Horvitz 1989). A seleção é diluída quando duas populações conectadas por fluxo gênico estão sob diferentes regimes de seleção (Gómez e Zamora 2006). A variação espacial da identidade dos polinizadores é uma observação comum em espécies de plantas estudadas em diferentes escalas espaciais, podendo aparecer também em populações separadas por curtas distâncias (Herrera 1995; Herrera 2005; Horvitz e Schemske 1990).

A variação espacial na identidade do polinizador de uma espécie de planta resulta na diluição no processo da seleção apenas quando existe fluxo gênico entre as populações de plantas (Gómez e Zamora 2006). Porém, com o isolamento gênico das populações, a ocorrência de adaptações a polinizadores locais torna-se possível. Neste cenário, um mosaico geográfico de especialização seria criado, com uma planta sendo generalista no nível da espécie, mas especialista no nível populacional ou regional (Gómez e Zamora 2006).

Estudos abordando as relações de plantas e seus polinizadores em escala geográfica ainda são escassos na ecologia da polinização, muito embora sejam de fundamental importância para testar hipóteses como a de que o nível de especialização de uma planta com relação a seu polinizador seria um atributo variável dentro de cada população ao invés de uma característica da espécie ao longo de sua área de distribuição (Gomez e Zamora 2006; Herrera 2005).

Calathea altissima (Poepp. & Endl.) Korn., uma erva pertencente à Marantaceae e apenas encontrada em área de mata primária, constitui um bom modelo de estudo dentro das bases teóricas apresentadas, em parte devido a sua ampla distribuição geográfica dentro do Estado do Amazonas e principalmente por suas características florais que sugerem uma interação especializada com agentes polinizadores bastante específicos

(Costa et al. 2008). Além da Amazônia Brasileira, a espécie também é encontrada no Suriname, Venezuela, Colômbia, Peru, Equador e Panamá (Costa et al. 2008).

A estrutura floral apresentada pelas espécies de Marantaceae é bastante distinta da encontrada em outros grupos de plantas, com suas flores apresentando um mecanismo interno de polinização explosivo e que atua de maneira irreversível mediante a visita do polinizador (Kennedy 2000). A complexa morfologia das flores de marantáceas sugere uma coevolução com polinizadores especializados. De fato, a morfologia floral de espécies de Marantaceae polinizadas por abelhas Euglossini apresenta características fenotípicas comuns, que poderiam ser interpretadas como resultado da seleção exercida por esses polinizadores, como longos tubos florais (Borrell 2005; Costa et al. 2008).

Os poucos estudos de polinização conduzidos na região neotropical e observações ocasionais de campo na Amazônia envolvendo espécies de Marantaceae apontam que os principais polinizadores da família sejam abelhas e beija-flores (Costa et al. 2008).

A diversificação das Angiospermas polinizadas por animais é relacionada com a divergência nas características florais promovidas a partir de adaptações a diferentes polinizadores (Herrera et al. 2006; Stebbins 1970). De acordo com a teoria evolutiva prevalente, este padrão macroevolutivo resulta da adaptação local ou diferenciação regional de características relacionadas à polinização em resposta a divergência espacial dos polinizadores (Herrera et al. 2006). Várias linhas de evidência mostram a conexão entre os animais polinizadores e a diversificação das plantas com flores, incluindo o fato de que traços taxonômicos importantes de famílias botânicas do grupo das Angiospermas envolvem primariamente os caracteres reprodutivos, o mesmo não valendo para as espécies não polinizadas por animais (polinização abiótica); a correspondência no tempo geológico entre as radiações das Angiospermas e os principais grupos de animais polinizadores; a frequente associação entre traços florais

específicos e grupos de polinizadores e evidência de uma diversificação mais rápida e/ou mais extensa em linhagens de plantas polinizadas por animais (Fenster et al. 2004; Herrera et al. 2006; Ollerton 1996).

Mesmo com a importância e o significado evolutivo do tema, Herrera et al. (2006), após uma revisão de estudos de polinização publicados em revistas internacionais das áreas ecológica e botânica no período de 1995-2005, concluíram que os biólogos da polinização na maioria das vezes não consideram a variação geográfica em seus estudos, como exemplificado pela escassez de trabalhos publicados envolvendo sistemas planta-polinizador que tenham sido conduzidos em mais de um local. Segundo os autores, o conhecimento acerca da interação da maioria das plantas e de seus polinizadores está baseado em observações restritas a um único local de um processo que frequentemente varia entre as populações de uma mesma espécie.

Mayer et al. (2011) definiram com a ajuda de pesquisadores da polinização de diversas partes do mundo as questões chave que ainda não foram resolvidas e que precisam ser investigadas em futuros estudos de polinização. Dentre estas questões, os pesquisadores destacaram a necessidade de investigações acerca da variação geográfica dos sistemas de polinização, especialmente em partes do mundo onde a disponibilidade de dados desta natureza virtualmente não existe ou, no melhor dos casos, é escassa.

A proposta do presente estudo envolveu uma investigação acerca da interação de *C. altissima* (Marantaceae) e de seus visitantes florais, de modo a identificar quais destes efetivamente podem ser considerados polinizadores legítimos. Tal procedimento foi conduzido em nove populações da espécie nas regiões de Benjamin Constant, Tefé, Manaus e Novo Airão de modo a permitir a documentação de variação geográfica dos polinizadores. Concomitantemente ao registro de variação espacial ou não na composição dos polinizadores, houve a medição das partes florais (largura e

comprimento das peças florais) e o registro de volume e porcentagem de açúcar no néctar e coloração das flores, dados esses que também foram coletados de forma replicada em diferentes populações da espécie nas três regiões supracitadas.

A ausência de variação na composição dos polinizadores indicaria uma alta especificidade na interação planta-polinizador, confirmando a hipótese preliminar de que *C. altissima* é especializada com relação a seu(s) polinizador(es) (Costa et al. 2008). Porém, a detecção de variação geográfica na composição dos polinizadores combinada com a variação espacial nos traços florais, implicaria na existência de um possível processo de divergência floral (Herrera 2005; Herrera et al. 2006). Deste modo, um mosaico geográfico de especialização estaria descrito, no qual a espécie seria generalista em nível de espécie, mas uma especialista em nível populacional ou regional (Gómez e Zamora 2006).

A escolha das regiões dos municípios de Benjamin Constant, Tefé, Manaus e Novo Airão como sítios para o desenvolvimento do presente estudo foi estratégica, pois possibilitou a investigação dos sistemas de polinização de populações de *C. altissima* distantes geograficamente. Deste modo, ao invés de concentrar as observações da polinização em poucas populações próximas entre si, foram incluídas populações de três regiões distantes pelo menos 500 km entre si, gerando dados empíricos mais consistentes. Além disso, as regiões de estudo estão localizadas em áreas onde praticamente não existe nem mesmo informação básica acerca da biologia da polinização, seja de Marantaceae bem como de outras espécies, especialmente com relação à região do Alto Solimões (Costa et al. 2008).

Baseado nisso, o estudo teve como principal objetivo analisar se o sistema de polinização e/ou as características florais de *Calathea altissima* variam

geograficamente em populações localizadas nos municípios de Benjamin Constant – AM, Tefé – AM e em Manaus e Novo Airão – AM.

Como objetivos específicos, o estudo visou: 1. examinar o nível de especificidade da interação de *C. altissima* e seu(s) polinizador(es) em cada população investigada; 2. avaliar a existência de variação espacial na morfologia das flores e nos atrativos florais, através da medição das partes florais, volume e porcentagem de açúcar no néctar e registro da coloração das flores nas populações de *C. altissima* das três regiões investigadas; 3. detectar a existência de variação espacial na identidade do(s) polinizador(es) nas populações de *C. altissima* das três regiões do estudo.

As hipóteses propostas foram:

1. Devido ao complexo mecanismo floral de polinização presente em Marantaceae (Ley e Classen-Bockhoff, 2009; Kennedy, 2000), *Calathea altissima* apresenta alta especificidade em suas interações com seus agentes polinizadores em todas as populações investigadas.
2. Considerando o alto grau de especialização das interações planta-polinizador em *C. altissima*, não há variação espacial na identidade dos polinizadores entre as populações das três regiões investigadas, sendo a especialização planta-polinizador uma característica dessa espécie e não um atributo variável entre populações.

2. CAPÍTULO 1

ANÁLISE DOS PADRÕES ESPAÇO-TEMPORAIS DO SISTEMA DE
POLINIZAÇÃO DE *CALATHEA ALTISSIMA* (MARANTACEAE) EM UM
GRADIENTE LONGITUDINAL NA AMAZÔNIA BRASILEIRA.

Manuscrito a ser submetido à revista Biotropica

LRH: Moura, T.N., Webber, A.C.

RRH: Padrões espaço-temporais do sistema de polinização

**ANÁLISE DOS PADRÕES ESPAÇO-TEMPORAIS DO SISTEMA DE
POLINIZAÇÃO DE *CALATHEA ALTISSIMA* (MARANTACEAE) EM UM
GRADIENTE LONGITUDINAL NA AMAZÔNIA BRASILEIRA.**

THAYSA NOGUEIRA DE MOURA¹, ANTONIO CARLOS WEBBER

1. Programa de Pós-graduação em Diversidade Biológica, Universidade Federal do Amazonas. Manaus, AM, Brasil. thaysamoura@gmail.com

Resumo

A diversificação das plantas polinizadas por animais está relacionada à divergência nas características florais causada por adaptações a diferentes polinizadores. De acordo com a teoria evolutiva mais aceita, este padrão macroevolutivo resulta da adaptação local ou diferenciação regional de caracteres relacionados à polinização em resposta a divergência espacial dos agentes polinizadores. O estudo investigou o sistema de polinização de *Calathea altissima*, erva de sub-bosque de floresta primária, ao longo de um gradiente longitudinal em três pontos distintos do Estado do Amazonas: Benjamin Constant (Região A – três populações), Tefé (Região B – três populações), Novo Airão e Manaus (Região C – três populações), que distam 500 km entre si, abrangendo três períodos de floração consecutivos (2013-2016). A pesquisa buscou responder às seguintes questões: (1). Qual o nível de especificidade da interação de *C. altissima* e seus polinizadores? (2) Existe variação espacial nos caracteres florais dentro de cada região ou entre populações das três regiões do estudo? (3) Existe variação espacial e/ou temporal na especificidade da interação planta-polinizador entre populações e/ou regiões investigadas? Não houve variação espacial nos caracteres florais, bem como não foi identificada variação espaço-temporal na fenologia de floração e na identidade dos polinizadores. O sistema de polinização de *C. altissima* é altamente especializado em abelhas Euglossini em todas as populações investigadas, conservando as mesmas características reprodutivas ao longo da área de distribuição da espécie investigada, provavelmente devido a fatores tais como alto fluxo gênico e/ou pressões seletivas similares exercidas pelos agentes polinizadores.

Palavras chave: especialização; interações planta-polinizador; variação espacial; variação temporal.

Abstract

The diversification of pollinated plants by animals is related to divergence in floral characteristics caused by adaptations to different pollinators. According to the most accepted evolutionary theory, this macroevolutionary pattern results from the local adaptation or regional differentiation of characters related to pollination in response to the spatial divergence of pollinating agents. The study investigated the pollination system of *Calathea altissima*, an understory herb of primary forest, along a longitudinal gradient in three different sites of Brazilian Amazonia: Benjamin Constant (Site A – three populations), Tefé (Site B – three populations), Novo Airão e Manaus (Site C – three populations), covering three consecutive flowering periods (2013-2016). Our study aimed to answer the following questions: (1) What is the level of specificity of the interaction of *C. altissima* and its pollinators? (2) Is there a spatial variation in floral characters within each region or between populations of the three study regions? (3) Is there spatial and/or temporal variation in the specificity of plant-pollinator interaction between populations and / or regions investigated? Any spatial variation could be detected in relation to the floral characters, and no spatial-temporal variation was observed in the flowering phenology and the identity of the pollinator species. The pollination system of *C. altissima* is highly specialized in Euglossini bees in all the investigated populations, retaining the same reproductive characteristics throughout the area of distribution of the species investigated, probably due to factors such as high gene flow and /or similar selective pressures exerted by the pollination agents.

Key words: plant-pollinator interactions; spatial variation; specialization; temporal variation.

A ideia convencional aceita por muitos estudiosos da polinização é a de que as interações evoluídas entre as plantas e seus polinizadores definiram a diversificação das Angiospermas (Herrera et al. 2006). De fato, plantas polinizadas pelo mesmo grupo de polinizadores apresentam traços florais convergentes tais como, tamanho e coloração floral, odor, recurso floral, o que levou a elaboração do conceito das síndromes de polinização (Faegri e Van Der Pijl 1979). Os polinizadores de uma dada espécie de planta podem variar entre diferentes populações, fazendo com que as interações planta-polinizador ocorram sob diferentes pressões seletivas, resultando no que foi chamado por Thompson (2005) de o mosaico geográfico da coevolução. O fluxo gênico controla o grau de diferenciação entre essas populações, porém se houver divergência suficiente em uma ou mais populações abre-se a oportunidade para o processo de especiação (Thompson 2005). Tal processo pode acontecer através da atividade dos polinizadores os quais podem por meio da preferência de visitas isolar determinado genótipo da planta (Herrera et al. 2006). Com a variação espacial dos agentes polinizadores, estes podem atuar como importante fator no surgimento de variação espacial dos traços florais por meio de adaptação local. Estudos sobre os padrões espaço-temporais em interações planta-polinizador são de fundamental importância para um maior entendimento acerca dos mecanismos que levam a especiação e a evolução (Herrera et al. 2006, Chartier et al. 2013).

Um aspecto crítico no estudo dos sistemas de polinização está relacionado com o tema mais abrangente referente a se a especialização ecológica seria uma propriedade da espécie, um atributo das populações ou uma característica dos organismos individualmente (Herrera 2005). Espécies de plantas com sistemas de polinização especializados podem apresentar populações com diferentes níveis de especialização com relação a seus polinizadores ou mesmo indivíduos dentro de populações poderiam

apresentar diferenças quanto à especificidade de suas interações. O conhecimento sobre a evolução das interações planta-polinizador se beneficiaria com o aumento de estudos acerca de como a especialização das plantas com relação a seus polinizadores varia entre indivíduos de uma mesma população e entre populações de uma mesma espécie ao longo de sua distribuição geográfica (Herrera 2005).

As espécies de Marantaceae são caracterizadas por um complexo mecanismo de polinização que envolve apresentação secundária de pólen e movimento irreversível do estilete (Kennedy 2000). Ainda no botão floral, o pólen é depositado em uma região conhecida como depressão estilar e o estilete é então mantido sob tensão pelo estaminódio cuculado, formando uma espécie de gatilho (Ley e Classen-Bockhoff 2009). Para que ocorra a polinização é necessário que o visitante floral seja capaz de desengatilhar este mecanismo, liberando o estilete de sua posição inicial, em um processo irreversível (Ley e Classen-Bockhoff 2009). Cada flor de Marantaceae se abre por apenas um dia, tendo apenas uma chance para ser polinizada e dispersar seu pólen (Kennedy 2000). A alta taxa de diversificação em Marantaceae, com cerca de 550 spp. em 31 gêneros, comparada com o baixo número de espécies de seu grupo irmão, Cannaceae com oito spp. em um gênero, indica que o elaborado mecanismo de polinização das marantáceas teve papel preponderante no processo de especiação exibido pela família (Kennedy 2000, Ley e Classen-Bockhoff 2009).

A proposta do presente estudo envolveu uma investigação em escala geográfica acerca da interação de *Calathea altissima* (Marantaceae) e seus visitantes florais, de modo a identificar quais destes podem efetivamente ser considerados polinizadores legítimos. Tal procedimento foi conduzido em diferentes populações da espécie em áreas distantes entre si 500 km no Estado do Amazonas, de modo a permitir o registro de variação geográfica e/ou temporal dos polinizadores. Concomitantemente ao registro de variação

espaço-temporal na composição dos polinizadores, houve a investigação sobre a existência de variação nas características florais entre as populações estudadas. As perguntas foram: 1. O sistema de polinização e/ou as características florais de *C. altissima* variam geograficamente nas populações estudadas?; 2. Quem são os polinizadores efetivos da espécie em cada população?; 3. Existe variação espacial na morfologia das flores e nos atrativos florais nas populações de *C. altissima*?; 4. Existe variação espacial na identidade do (s) polinizador (es) nas populações de *C. altissima*?

MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi conduzido em floresta primária de terra firme do Estado do Amazonas (Figura 1): no município de Benjamin Constant (Região A) na estrada BR-307 (04°24'967''S, 70°02'975''W); no município de Tefé (Região B) na estrada do Emade (03°19'14.62''S, 64°43'24.90''W) e nos municípios de Manaus (Região C), no Campus da Universidade Federal do Amazonas (03°04'S, 59°57'W) e na Reserva Ducke (02°55'40''S, 59°58'11''W), e de Novo Airão (Região C), em área próxima a sede do município (02°37'17''S, 60°56'39''W). A partir de Manaus, a capital do Estado do Amazonas, a distância com relação à Benjamin Constant corresponde a 1.000 km. Tefé e Novo Airão estão distantes da capital 553 km e 115 km respectivamente. O clima na região é predominantemente quente e úmido, com a existência de estação seca mais pronunciada na parte leste da Amazônia (INMET – Instituto Nacional de Meteorologia).

Em Benjamin Constant (Região A) foram marcadas três populações de dez indivíduos cada, sendo a distância mínima entre populações de 01 km. O mesmo procedimento foi realizado em Tefé (Região B). Em Novo Airão (Região C), foi marcada uma população com dez indivíduos e em Manaus (Região C) duas populações com dez indivíduos cada.

O estudo abrangeu toda a época de floração de *Calathea altissima*, a qual ocorre entre os meses de novembro e março, nos períodos de floração 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2016. Para monitorar os efeitos da variação temporal, o estudo foi conduzido de maneira simultânea nas três regiões investigadas por uma equipe seguindo rigorosamente o mesmo protocolo de coleta dos dados em campo.

Caracteres florais

Para detectar a existência de variação espacial na morfologia de flores e nos atributos florais de *C. altissima*, foram registrados nas nove populações de estudo os seguintes parâmetros: horário de abertura e a longevidade das flores em diferentes indivíduos (1 flor/indiv.), receptividade do estigma através da técnica da peroxidase (Kearns e Inouye 1993), o volume e porcentagem de açúcar no néctar extraído de 30 flores (uma flor/indivíduo) previamente ensacadas com auxílio de capilares e refratômetro digital (Kearns e Inouye 1993). A coloração das flores das populações foi determinada através de comparação com uma tabela de cores (Kuppers 1999). As medidas das flores (comprimento e largura) foram tomadas após a coleta de 90 flores de 90 indivíduos diferentes provenientes das três populações de cada região investigada. Foram feitos experimentos de polinização controlada (autopolinização manual, espontânea e polinização cruzada), além da marcação de botões em pré-antese sem serem previamente ensacados para testar a polinização em condições naturais. Para cada um dos tratamentos, foram marcados 30 botões florais de dez indivíduos em cada região estudada. Foram feitos experimentos de polinização controlada (autopolinização manual, espontânea e polinização cruzada) seguindo o método adaptado de Radford et al. (1974), além da marcação de botões em pré-antese sem serem previamente ensacados para testar a polinização em condições naturais. Na autopolinização manual botões foram ensacados e, após a abertura das flores, o pólen localizado na depressão

estilar foi transferido para o estigma com o auxílio de uma agulha de seringa. Na autopolinização espontânea, botões foram marcados e ensacados com sacos de “voile” e examinados para verificar posterior formação de frutos. Na polinização cruzada, botões em pré-antese foram ensacados e, no dia seguinte, após a abertura das flores, pólen de diferentes indivíduos foi transferido para o estigma das mesmas, isolando-as novamente com sacos de “voile”. Para cada um dos tratamentos, foram marcados 30 botões florais de dez indivíduos em cada região estudada.

Censos de observação de polinizadores efetivos

Para a coleta de dados acerca da composição e abundância dos visitantes florais, foi realizado um total de 90 censos ao longo do período de floração da espécie em cada região estudada, seguindo em linhas gerais os métodos descritos por Herrera (1995, 2005). Ao final do estudo, os noventa indivíduos marcados nas populações do Alto Solimões, do Médio Solimões e da Amazônia Central foram observados através dos censos. Os censos foram conduzidos através da observação dos visitantes florais nos indivíduos marcados nos sistemas de trilhas abertos para a pesquisa. O tempo de observação em cada indivíduo teve a mesma duração de cinco horas (06h-11h). Observações adicionais em dias alternados com os censos foram conduzidos no período de 11h-16h. Cada censo foi diário, já que as flores de *C. altissima* duram apenas um dia, e consistiu na observação dos visitantes florais em um único indivíduo, sendo este estabelecido através de sorteio, o qual envolveu todas as plantas marcadas e numeradas em campo, de modo a randomizar as observações.

Após a observação dos visitantes florais em atividade nas flores de *C. altissima*, as espécies de visitantes que acionaram o mecanismo de modo inequívoco e não esporádico foram consideradas os polinizadores efetivos para a espécie. Segundo Herrera (1989), a identificação do polinizador mais efetivo de uma planta deve levar em

consideração tanto os aspectos qualitativos como os quantitativos de sua interação com determinada espécie de planta. Consideramos os polinizadores mais efetivos de *C. altissima* aqueles que, além de conseguirem acionar o mecanismo de polinização de maneira eficiente, também foram frequentes na visitação às flores ao longo de todo o período de floração. Nos dias em que não foram conduzidos censos de observação, foram realizadas as coletas de indivíduos das espécies polinizadoras para posterior identificação taxonômica ao longo do período de floração, além do registro fotográfico e em vídeo da atividade destas durante as visitas às flores. As coletas ocorriam após a visita às flores e a comprovação de que o mecanismo de polinização havia sido acionado.

Os censos de observação dos visitantes florais foram conduzidos de forma padronizada nas nove populações do estudo, de modo que as análises entre regiões (inter-regional) e entre populações de cada região (intra-regional) pudessem ser conduzidas de modo a detectar variação espacial na identidade dos polinizadores. Com base nos dados coletados da morfologia floral e dos atrativos florais nas populações das três regiões estudadas, foram realizadas análises estatísticas utilizando-se o Mann-Whitney U Test para dados não paramétricos com nível de significância de $P \leq 0,05$ do programa R versão 3.0.3 (R Core Team 2014) para verificar se existe variação espacial nos caracteres reprodutivos das populações estudadas. Material testemunho foi depositado no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia com número de registro: INPA – n. 254.610.

RESULTADOS

Análise dos caracteres florais nas populações das regiões três regiões de estudo

O período de floração de *C. altissima* ocorreu entre os meses de novembro a março entre 2013-2016 nas três regiões estudadas, não sendo detectada variação quanto à

fenologia da floração. A frutificação ocorreu entre os meses de abril e maio, quando as sementes eram rapidamente dispersas.

Em todas as populações, a antese das flores iniciava-se às 6h, quando o estigma já se encontrava receptivo, e se estendia até por volta das 15h. As flores apresentam a mesma coloração amarelo-creme em todas as populações das três regiões (S00-C00-Y50 – Código Tabela de Cores Koppers 1999). O número de flores abertas por dia em cada indivíduo observado durante os censos de observação ao longo de todo o período do estudo nas três regiões variou de duas a oito (n=270).

Com relação à medida do comprimento do tubo floral, na região de Benjamin Constant a média (n=90) foi de 3,2 (\pm 0,10) cm; em Tefé a média (n=90) correspondeu a 3,4 (\pm 0,12) cm e nas populações de Manaus e Novo Airão a média (n=90) foi de 3,1 (\pm 0,13) cm. Quanto à medida do diâmetro do tubo floral na região de abertura, em Benjamin Constant a média (n=90) foi de 0,16 (\pm 0,01) cm; em Tefé a média (n=90) foi de 0,17 (\pm 0,02) cm e em Manaus e Novo Airão a média (n=90) correspondeu a 0,18 (\pm 0,01) cm.

Na análise de variação intrapopulacional, a medida do comprimento do tubo floral não diferiu entre as três populações de Benjamin Constant (Mann-Whitney U Test, P=0.13), assim como em Tefé (Mann-Whitney U Test, P=0.96) e Manaus e Novo Airão (Mann-Whitney U Test, P=0.81). A medida do diâmetro do tubo floral também não diferiu entre as três populações de Benjamin Constant (Mann-Whitney U Test, P=0.56), entre as três populações de Tefé (Mann-Whitney U Test, P=0.70) e entre as três populações de Manaus e Novo Airão (Mann-Whitney U Test, P=0.80).

Na análise de variação entre as três regiões investigadas, a medida do comprimento do tubo floral não diferiu entre as regiões (Mann-Whitney U Test, P=0.70). A medida do diâmetro do tubo floral na região de abertura também não diferiu entre as regiões (Mann-Whitney U Test, P=0.170).

A produção de néctar ocorre no início da antese, não ocorrendo nova produção ao longo do dia. A média do volume de néctar (n=30) em Benjamin Constant foi de 10,0 ($\pm 5,02$) μl ; em Tefé a média (n=30) foi de 12,3 ($\pm 4,85$) μl e em Manaus e Novo Airão a média foi de 11,7 ($\pm 5,35$) μl . A porcentagem de açúcares no néctar teve uma média (n=30) de 28% ($\pm 4,9$) em Benjamin Constant, média (n=30) de 30% ($\pm 2,9$) em Tefé, e média (n=30) de 27,8% ($\pm 3,4$) em Manaus e Novo Airão. Com relação ao néctar, não houve variação intrapopulacional quanto ao volume de néctar em Benjamin Constant (Mann-Whitney U Test, P=0.41), em Tefé (Mann-Whitney U Test, P=0.22) e em Manaus e Novo Airão (Mann-Whitney U Test, P=0,63). Com relação à concentração de açúcar no néctar, também não foi registrada variação entre populações de cada região: Benjamin Constant (Mann-Whitney U Test, P=0.82), Tefé (Mann-Whitney U Test, P=0.40) e Manaus e Novo Airão (Mann-Whitney U Test, P=0.71). Não houve diferença quanto ao volume de néctar (Mann-Whitney U Test, P=0.877) e concentração de açúcares no néctar (Mann-Whitney U Test, P=0.512) entre as populações das três regiões investigadas.

O estudo comprovou que a espécie é autocompatível em todas as populações estudadas. Na autopolinização manual foi observada a formação de frutos em todas as populações das três regiões. Em Benjamin Constant (n=30) foram formados quatro (04) frutos, em Tefé (n=30) seis (06) frutos e quatro (04) frutos em Manaus e Novo Airão (n=30). Não houve formação de frutos na autopolinização espontânea em nenhuma população estudada. Na polinização cruzada (n=30), houve produção de 14 frutos em Benjamin Constant, de 11 frutos em Tefé e de 12 frutos em Manaus e Novo Airão. No tratamento controle (n=30) foram produzidos oito (08) frutos em Benjamin Constant, 10 frutos em Tefé e sete (07) frutos em Manaus e Novo Airão. Não houve diferença significativa na

produção de frutos entre polinização cruzada, auto-cruzamento e flores livremente expostas aos polinizadores (Mann-Whitney U Test, $P=0.2044$).

Censos de observação dos polinizadores efetivos

Nos 90 censos de observação de visitantes florais conduzidos em cada uma das três regiões investigadas no período de 2013-2016, as abelhas Euglossini foram os únicos visitantes florais a serem considerados polinizadores efetivos devido a sua frequência de visita ao longo de todo o período de floração, bem como a capacidade de disparar o mecanismo de polinização especializado das flores de *C. altissima* (Tabela 1). Todas as espécies de Euglossini consideradas polinizadoras na pesquisa são classificadas como abelhas de grande porte, com tamanho médio superior à 21mm (medida da cabeça até o final do abdômen) e possuem probóscide considerada longa com comprimento médio superior à 20mm (informação pessoal Dr. Márcio Oliveira).

Nas populações da região de Benjamin Constant, foram observadas durante as florações do período 2013-2016 duas espécies de Euglossini: *Eulaema pseudocingulata* (Oliveira), 2006 e *Eulaema mocsaryi* (Friese), 1899. Ambas apresentaram o mesmo comportamento na visita às flores, utilizando o estaminóide petalóide como plataforma de pouso para que assim pudessem inserir a glossa no tubo floral para a exploração do néctar. Ao realizar tal ação, o mecanismo especializado de polinização era desencadeado, polinizando dessa forma as flores visitadas. Foi observado que uma mesma abelha visitava a mesma flor de duas a três vezes até que o desencadeamento ocorresse efetivamente.

Os polinizadores concentravam suas visitas na parte da manhã, sempre entre 6h30 e 11h, com média de duas visitas por censo. Logo após o acionamento do mecanismo de polinização, as abelhas não mais retornavam às flores. Dos 90 censos conduzidos em

Benjamin Constant, em 42 não foram observados visitantes florais, evidenciando a reduzida taxa de visitação floral em florestas tropicais.

Nas populações de Tefé, os polinizadores efetivos observados nas três florações do período 2013-2016 (n=90) foram *Eulaema pseudocingulata* (Oliveira), 2006 e *Eulaema bombiformis* (Packard), 1869. Ambas apresentaram o mesmo comportamento de visitas às flores descrito para os polinizadores de Benjamin Constant. As visitas foram concentradas também na parte da manhã, entre 7h00 e 11h, com média de duas visitas por censo. Dos 90 censos conduzidos, em 48 não foram observados visitantes florais.

Nas populações de Manaus e Novo Airão, foram registradas como polinizadores efetivos *Eulaema pseudocingulata* (Oliveira), 2006, *Eulaema bombiformis* (Packard), 1869, e *Eulaema mocsaryi* (Friese), 1899 ao longo de todo o período 2013-2016. Mesmo com a distância de 115 km entre as duas populações de Manaus e a população de Novo Airão, as três espécies de Euglossini foram registradas nas três populações desta região. As visitas se concentravam entre 06h30 e 12h, com média de duas visitas por censo. Dos 90 censos conduzidos no período, em 38 não foi observado visitante floral.

No ano de 2015 as regiões do estudo sofreram os efeitos do fenômeno climático “El Niño”, com a diminuição severa no regime de chuvas, especialmente na área de Manaus, entre os meses de junho a dezembro (INMET – Instituto Nacional de Meteorologia). Em Benjamin Constant e em Tefé, porém, os dados de pluviosidade indicam que os efeitos do fenômeno sobre o regime de chuvas tiveram menor impacto (INMET). Mesmo com a anomalia climática, não observamos influência na fenologia reprodutiva e na atividade dos polinizadores de *C. altissima* ao longo de 2015.

DISCUSSÃO

A variação espacial das características florais entre populações de uma espécie ao longo de sua área de distribuição pode dar margem a um possível processo de especiação quando esta é combinada com a variação espacial e/ou temporal na identidade do seu agente polinizador (Herrera et al. 2006; Thompson 2005). Em nosso estudo, no entanto, não foi detectada nenhuma variação geográfica nas medidas do tubo floral, coloração das flores, volume e concentração de néctar, sistema reprodutivo e fenologia da floração e frutificação. Nossos resultados sugerem que as populações investigadas, mesmo distantes entre si em média 500 km, conservam as mesmas características reprodutivas ao longo da área de distribuição da espécie, provavelmente devido a fatores tais como alto fluxo gênico e/ou pressões seletivas similares exercidas pelos agentes polinizadores (Chartier et al. 2013; Gómez e Zamora 2006; Herrera et al. 2006).

A presença dos mesmos agentes polinizadores nas três populações de Manaus e Novo Airão constitui um resultado importante devido o fato da maior distância entre as populações destas duas cidades (115km) do que a existente entre populações nas outras duas regiões do estudo, além do fato das populações de Manaus estarem localizadas em dois fragmentos florestais urbanos. A polinização é uma função ecológica crítica que vem sendo ameaçada pela perda de habitats e fragmentação de paisagens causadas principalmente pela intensificação da agricultura e da expansão urbana (Williams e Winfree 2013). Estudos mostram o impacto da fragmentação no processo de polinização e no sucesso reprodutivo das plantas através da redução de pólen depositado nos estigmas (Harris e Johnson 2004; Suarez-Gonzalez e Good 2013). Em um estudo sobre a dinâmica populacional de abelhas Euglossini na Amazônia, Powell e Powell (1987) indicaram que a taxa de visitação das abelhas declinou com o aumento da fragmentação, impactando a diversidade de abelhas e das plantas que dependem destas para polinização.

As flores de *C. altissima* possuem características típicas da síndrome de polinização por abelhas Euglossini, tais como longa floração com baixa produção diária de flores, coloração clara, tubo floral longo com oferta de néctar através de acesso restrito, onde apenas visitantes florais adaptados conseguem alcançar a recompensa floral (Kay e Schemske 2003, Borrell 2005). De fato, nossos resultados indicam que as abelhas Euglossini foram os únicos visitantes florais capazes de desencadear o mecanismo de polinização presente em *C. altissima*, sendo consideradas polinizadoras legítimas da espécie. Além disso, as abelhas Euglossini mantiveram frequência de visitas constante ao longo de todo o período de floração da espécie nos três anos do estudo em todas as populações.

Os resultados corroboram nossa hipótese inicial de que a morfologia floral complexa e o mecanismo de polinização altamente elaborado indicariam a existência de interação especializada de *C. altissima* com seus agentes polinizadores. De fato, as abelhas Euglossini, em especial representantes dos gêneros *Eulaema* e *Euglossa*, são frequentemente reportadas como os principais polinizadores de espécies de Marantaceae em florestas Neotropicais (Kennedy 2000, Ley e Classen-Bockhoff 2013). Kennedy (2000) afirma que as espécies de Marantaceae da região Neotropical são primariamente adaptadas à polinização por abelhas Euglossini, sendo a distribuição destas correlacionada a do grupo de abelhas. A autora cita que em altitudes superiores a 1500m são encontradas poucas espécies de Marantaceae polinizadas por outros grupos de polinizadores uma vez que as abelhas Euglossini não são encontradas em tais altitudes, embora espécies de Marantaceae polinizadas por Euglossini sejam cultivadas em jardins botânicos em áreas de grande altitude. A autora cita o exemplo de *Calathea crotalifera* S. Watson que ocorre do México à Bolívia e que ao longo de sua distribuição apresenta interação com 18 espécies de três gêneros de abelhas Euglossini e argumenta que a

definição de quantos polinizadores Euglossini uma espécie de Marantaceae pode ter está relacionada com o comprimento do tubo floral, quantidade de néctar, número de flores por indivíduo, densidade populacional e variação espacial na presença destas abelhas.

As Euglossini se destacam de outras abelhas por suas longas probóscides variando de 15-42 mm de comprimento as quais lhes permitem acesso ao néctar ofertado no interior de longos tubos florais (Roubik e Hanson 2004). Apresentam comportamento especializado do tipo “traplining” em plantas de sub-bosque que produzem poucas flores por dia e reduzido volume de néctar, o que faz com que as abelhas Euglossini tenham que visitar diversas populações em busca do recurso floral, podendo percorrer longas distâncias de mais de 20 km (Roubik e Hanson 2004; Borrell 2005). Euglossini já foram registradas coletando néctar de espécies de 51 famílias botânicas, no entanto a especificidade desta interação não foi examinada em detalhes (Roubik e Hanson 2004).

As espécies Euglossini polinizadoras registradas possuem tamanho corporal, comportamento de forrageamento e padrão de visitas a flores idênticos. *Calathea altissima* pode ser considerada uma espécie fenotipicamente especializada com relação aos seus polinizadores já que suas flores possuem morfologia complexa adaptada a estes, além de ser funcionalmente especializada, ou seja, seus polinizadores pertencem a um mesmo grupo taxonômico com características morfológicas e de comportamento similares (Ollerton et al. 2007). Zamora (2000) afirma que a principal consequência da similaridade entre espécies polinizadoras como agentes de seleção é que qualquer variabilidade espaço-temporal seria neutralizada e a seleção seria similar em diferentes locais e temporadas de floração. Na ausência de alguma espécie de Euglossini, *C. altissima* ainda poderia manter o sucesso reprodutivo através das visitas de outras espécies de abelhas do grupo. Em um cenário de ausência completa de polinizadores do grupo das Euglossini, a espécie ainda poderia recorrer a dois fatores: à sua

autocompatibilidade na forma de geitonogamia, o que segundo Ley e Classen-Bockhoff (2013) seria possível em todas as espécies de Marantaceae autocompatíveis pelo comportamento frequentemente observado em campo dos polinizadores ao visitar várias flores de um mesmo indivíduo em sequência; e à reprodução vegetativa, comum em Marantaceae (Kennedy 2000).

As Euglossini registradas em nosso estudo não são especializadas nas flores de *C. altissima*, tendo sido consideradas polinizadoras de outras espécies de Marantaceae e de outras famílias na Amazônia e em outros pontos do Brasil. Storck-Tonon et al. (2013) afirmam que machos e fêmeas de Euglossini polinizam e coletam alimento de pelo menos 23 famílias botânicas. Os machos de Euglossini são conhecidos como polinizadores especializados de Orchidaceae, das quais coletam fragrâncias florais. Os autores reportam em seu estudo sobre abelhas polinizadoras de espécies de orquídeas em Rio Branco no Acre as espécies *Eulaema bombiformis*, *E. mocsary* e *E. pseudocingulata*. Moura et al. (2011) registram *E. bombiformis* como polinizadora de *Tabernaemontana undulata* (Apocynaceae) na região de Manaus, ressaltando que a mesma abelha também foi observada visitando ativamente uma espécie de Melastomataceae, além de *Bertholletia excelsa* na área de estudo. Giannini et al. (2014), em um levantamento de espécies de abelhas com importância para a polinização de plantas cultiváveis no Brasil, citam *E. bombiformis* como polinizadora efetiva do maracujá (*Passiflora* sp.) e *E. mocsary* como polinizadora da castanheira da Amazônia (*Bertholletia excelsa*). Tais dados indicam uma interação assimétrica entre *C. altissima* e seus agentes polinizadores no sentido de que suas flores tubulares longas e de morfologia complexa são especializadas nas Euglossini, porém as abelhas deste grupo com suas longas probóscides além de não serem especializadas em *C. altissima*, podem ainda ter acesso ao néctar de uma grande variedade de plantas da floresta quando

comparadas com abelhas com aparelho bucal menor. Vásquez e Aizen (2004) afirmam que apesar da extrema especialização ser comum em interações planta-polinizador, suas análises indicam que a especialização recíproca seria rara, uma vez que espécies especialistas exibem tendência de se especializar em espécies generalistas. Tais interações assimétricas seriam caracterizadas pela força da interação e representaria importante pressão seletiva sobre as espécies especialistas. Os mesmos autores afirmam que a especialização assimétrica não seria apenas um fenômeno local, mas algo que poderia se estender em escala geográfica. Nossos resultados confirmam tal hipótese.

Borrell (2005) sugere uma possível explicação para a especialização de espécies de plantas com relação às abelhas Euglossini. O autor afirma que a baixa densidade populacional e o número reduzido de flores produzidas diariamente ao longo do período de floração dessas espécies de plantas do sub-bosque da floresta tropical inviabilizariam a manutenção dos requerimentos energéticos de uma população de polinizadores. O aumento da produção de néctar teria um custo muito alto para estas espécies, porém a exclusão de abelhas com aparelho bucal menor e potenciais consumidores de néctar através da morfologia dos tubos florais garantiria a oferta deste recurso a polinizadores individuais os quais aprendem a incluir estas plantas na sua rota “traplining” todos os dias. Segundo esta hipótese, os longos tubos florais das plantas polinizadas por Euglossini seriam uma resposta a partir da competição entre espécies simpáticas pela inclusão na rota de forrageamento destas abelhas.

Mesmo com sua especialização assimétrica em abelhas generalistas, nosso estudo mostra que as Euglossini foram agentes polinizadores constantes durante os períodos de floração de *C. altissima* nas três regiões investigadas. Tais exemplos de interações difusas e assimétricas como as registradas aqui podem ser prevalentes na natureza,

gerando importantes questões sobre a evolução deste tipo de interação planta-polinizador.

AGRADECIMENTOS – Ao Dr. Márcio Oliveira e Dra. Favizia Freitas de Oliveira que gentilmente identificaram as abelhas e a Dra. Eliana Storti, Dra. Maria Silvia Mendonça, Dra. Maria Teresa Piedade, Dra. Veridiana Scudeller e Dr. Jefferson da Cruz pelas críticas e sugestões. A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM que concedeu bolsa de pesquisa.

LITERATURA CITADA

BARRETO, A.A.; FREITAS, L. 2007. Atributos florais em um sistema de polinização especializado: *Calathea cylindrica* (Roscoe) K. Schum. (Marantaceae) e abelhas Euglossini. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(3): 421-431.

BORRELL, B.J. 2005. Long tongues and loose niches: evolution of Euglossine bees and their nectar flowers. *Biotropica*, 37 (4): 664-669.

CHARTIER, M.; PELOZUELO, L.; BUATOIS, B.; BESSIERE, J.; GIBERNAU, M. 2013. *Functional Biology*, 27: 1367-1381.

FAEGRI, K.; Van Der PIJL, L. 1979. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, Oxford.

GIANNINI, T.C., Boff, S.; CORDEIRO, G.D.; CARTOLANO, E.A.; VEIGA, A.K.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L.; SARAIVA, A.M. 2014. Crop pollinators in Brazil: a review of reported interactions. *Apidologie*, 46: 209-223.

HARRIS, F.L.; JOHNSON, S.D. 2004. The consequences of habitat fragmentation for plant-pollinator mutualism. *Journal of Tropical Insect Science*, 24: 29-43.

HERRERA, C.M. 1989. Pollinator abundance, morphology, and flower visitation rate: analysis of the “quantity” component in a plant-pollinator system. *Oecologia*, 80: 241-248.

HERRERA, C.M. 1995. Microclimate and individual variation in pollinators: flowering plants are more than their flowers. *Ecology*, 76(5): 1516-1524.

HERRERA, C.M. 2005. Plant generalization on pollinators: species property or local phenomenon? *American Journal of Botany*, 92 (1): 13-20.

HERRERA, C.M.; CASTELLANOS, M.C.; MEDRANO, M. 2006. Geographical context of floral evolution: towards an improved research programme in floral diversification. *In*: Harder, L.D.; Barrett, S.C.H. (Eds.). *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press. p. 278-294.

INMET – INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Disponível em www.inmet.gov.br < Acesso em 24 maio 2017.

LEY, A.C.; CLASSEN-BOCKHOFF, R. 2009. Pollination syndromes in African Marantaceae. *Annals of Botany*, 104: 41-56.

LEY, A.C.; CLASSEN-BOCKHOFF, R. 2012. Diversity in floral synorganization affects pollen deposition and breeding system in Marantaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 168: 300-322.

LEY, A.C.; CLASSEN-BOCKHOFF, R. 2013. Breeding systems and fruit set in African Marantaceae. *Flora*, 208: 532-537.

KAY, K.M.; SCHEMSKE, D.W. 2003. Pollinator assemblages and visitation rates for 11 species of Neotropical *Costus* (Costaceae). *Biotropica*, 35 (2): 198-207.

KENNEDY, H. 2000. Diversification in pollination mechanisms in the Marantaceae. *In*: Wilson, K.L.; Morrison, D.A. (Eds.). *Monocots: Systematics and evolution*. Csiro, Melbourne. p. 335-344.

KUPPERS, H. 1999. *Dumont's Farbenatlas*. Du Mont Buchverlag, Koln.

MOURA, T.N.; WEBBER, A.C., MELO, L.N.T. 2011. Floral biology and a pollinator effectiveness test of the diurnal floral visitors of *Tabernaemontana undulata* Vahl. (Apocynaceae) in the understory of Amazon Rainforest, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 25(2).

OLLERTON, J.; KILLICK, A.; LAMBORN, E.; WATTS, S.; WHISTON, M. 2007. Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. *Taxon*, 56(3): 717-728.

POWELL, A.; POWELL, N.V. 1987. Population dynamics of male euglossini bees in Amazonian forest fragments. *Biotropica*, 19: 176-179.

ROUBIK, D.W.; HANSON, P.E. 2004. Orchids bees of tropical America: Biology and field guide. Editorial InBio, San Jose, Costa Rica.

SUAREZ-GONZALEZ, A.; GOOD, S.V. 2013. Pollen limitation and reduced reproductive successes are associated with local genetic effects in *Prunus virginiana*, a widely distributed self-incompatible shrub. *Annals of Botany*, 1: 1-11.

STORCK-TONON, D.; MORATO, E.F.; MELO, A.W.F.; OLIVEIRA, M.L. 2013. Orchid bees of forest fragments in Southwestern Amazonia. *Biota Neotropica*, 13: 133-141.

THOMPSON, J.N. 2005. The geographic mosaic of coevolution. University Chicago Press, Chicago, IL.

WILLIAMS, N.M.; WINFREE R. 2013. Local habitat characteristics but not landscape urbanization drive pollinator visitation and native pollination in forest remnants. *Biological Conservation*, 160: 10-18.

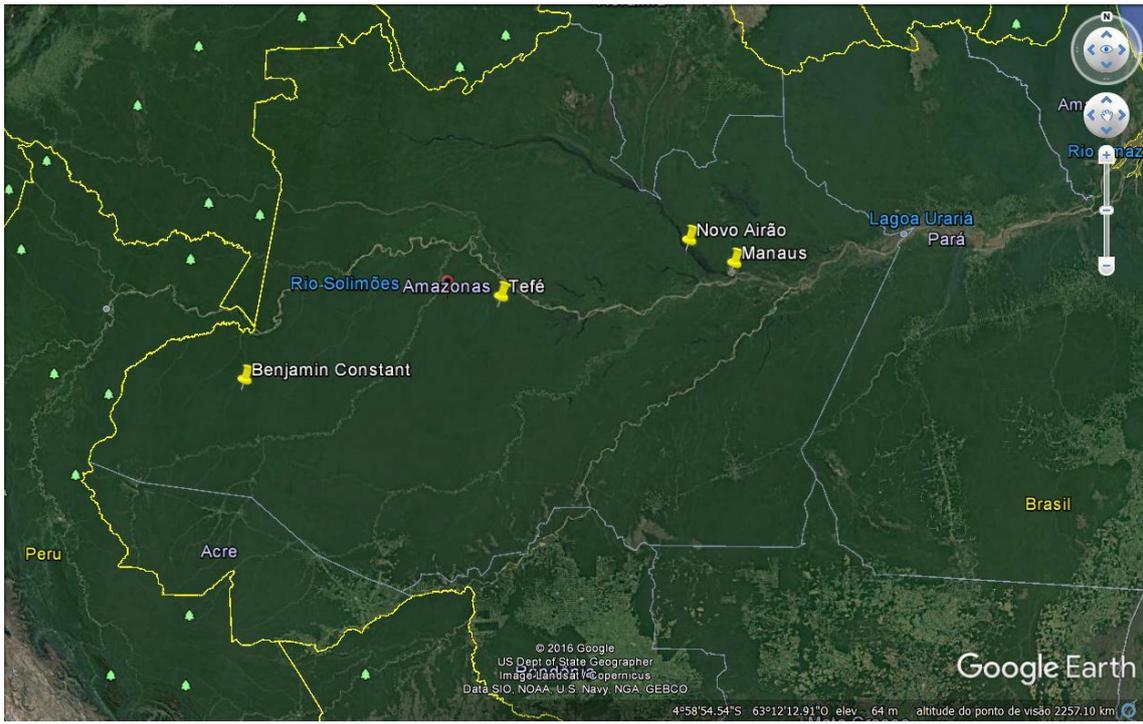
VAZQUEZ, D.P.; AIZEN, M.A. 2004. Asymmetric specialization: a pervasive feature of plant-pollinator interactions. *Ecology*, 85(5): 1251-1257.

ZAMORA, R. 2000. Functional equivalence in plant-animal interactions: ecological and evolutionary consequences. *Oikos*, 88(2): 442-447.

Tabela 1. Presença dos polinizadores de *C. altissima* nos censos de observação conduzidos no período de estudo nas três regiões investigadas. Pop. 1, 2 e 3= populações investigadas em cada região. NT= número total de censos conduzidos por temporada de floração. NO= número de censos em que polinizadores foram observados em campo. X= presença do polinizador.

	Censos de polinizadores de <i>Calathea altissima</i>																	
	Benjamin Constant – Região A			Tefé – Região B			Novo Airão e Manaus – Região C											
	Pop.1	Pop. 2	Pop. 3	Pop.1	Pop. 2	Pop. 3	Pop.1	Pop. 2	Pop. 3									
2013/14	NT= 30 censos			NO= 14 censos			NT= 30 censos			NO= 17 censos			NT= 30 censos			NO= 18 censos		
<i>Eulaema bombiformis</i>				x	x	x				x	x	x						
<i>Eulaema mocsary</i>	x	x	x							x	x	x						
<i>Eualema pseudocingulata</i>	x	x	x	x	x	x				x	x	x						
2014/15	NT= 30 censos			NO= 16 censos			NT= 30 censos			NO= 11 censos			NT= 30 censos			NO= 19 censos		
<i>Eulaema bombiformis</i>				x	x	x				x	x	x						
<i>Eulaema mocsary</i>	x	x	x							x	x	x						
<i>Eualema pseudocingulata</i>	x	x	x	x	x	x				x	x	x						
2015/16	NT= 30 censos			NO= 18 censos			NT= 30 censos			NO= 14 censos			NT= 30 censos			NO= 15 censos		
<i>Eulaema bombiformis</i>				x	x	x				x	x	x						
<i>Eulaema mocsary</i>	x	x	x							x	x	x						
<i>Eualema pseudocingulata</i>	x	x	x	x	x	x				x	x	x						

Figura 1. Imagem de satélite do Estado do Amazonas com as áreas de estudo em destaque: Benjamin Constant, Tefé, Novo Airão e Manaus. Fonte: Google Earth.



CONCLUSÕES

1. Nossos resultados corroboraram nossas hipóteses iniciais de que, devido ao complexo mecanismo floral de polinização presentes em Marantaceae, *Calathea altissima* apresenta alta especificidade em suas interações com seus agentes polinizadores do grupo taxonômico de abelhas Euglossini em todas as populações investigadas;
2. Considerando o alto grau de especialização das interações planta-polinizador em *C. altissima*, não há variação espacial na identidade dos polinizadores entre as populações de Benjamin Constant, Tefé e Manaus e de Novo Airão, sendo a especialização planta-polinizador uma característica dessa espécie e não um atributo variável entre populações.

REFERÊNCIAS

- Aigner, P.A. 2001. Optimality modeling and fitness trade-offs: when should plants become pollinator specialists? *Oikos*, 95(1): 177-184.
- Aigner, P.A. 2006. The evolution of specialized floral phenotypes in a fine-grained pollination environment. *In*: Waser, N.M.; Ollerton, J. (Eds). *Plant-pollinator interactions – from specialization to generalization*. The University of Chicago Press. p. 23-46.
- Borrell, B.J. 2005. Long tongues and loose niches: evolution of Euglossine bees and their nectar flowers. *Biotropica*, 37 (4): 664-669.
- Costa, F.R.C; Espinelli, F.P.; Figueiredo, F.O.G. 2008. *Guia de Marantaceas da Reserva Ducke e da Rebio Uatuma – Amazonia Central*. Inpa, Manaus.
- Darwin, C. 1869. Notes on the fertilization of orchids. *Annals and Magazine of Natural History (Series IV)*, 4: 141-158.
- Fenster, C.B.; Armbruster, W.S.; Wilson, P.; Dudash, M.R.; Thomson, J.D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 35: 375-403.
- Gómez, J.M.; Zamora, R. 2006. Ecological factors that promote the evolution of generalization in pollination systems. *In*: Waser, N.M.; Ollerton, J. (Eds). *Plant-pollinator interactions – from specialization to generalization*. The University of Chicago Press. p. 145-166.
- Herrera, C.M. 1989. Pollinator abundance, morphology, and flower visitation rate: analysis of the “quantity” component in a plant-pollinator system. *Oecologia*, 80: 241-248.
- Herrera, C.M. 1995. Microclimate and individual variation in pollinators: flowering plants are more than their flowers. *Ecology*, 76(5): 1516-1524.
- Herrera, C.M. 2005. Plant generalization on pollinators: species property or local phenomenon? *American Journal of Botany*, 92 (1): 13-20.
- Herrera, C.M.; Castellanos, M.C.; Medrano, M. 2006. Geographical context of floral evolution: towards an improved research programme in floral diversification. *In*: Harder, L.D.; Barrett, S.C.H. (Eds.). *Ecology and evolution of flowers*. Oxford University Press. p. 278-294.
- Horvitz, C.C.; Schemske, D. W. 1990. Spatiotemporal variation in insect mutualists of a Neotropical herb. *Ecology*, 71 (3): 1085-1097).
- Johnson, S.D.; Steiner, K.E. 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Tree*, 15(4): 140-143.
- Kay, K.M.; Schemske, D.W. 2003. Pollinator assemblages and visitation rates for 11 species of Neotropical *Costus* (Costaceae). *Biotropica*, 35 (2): 198-207.

Kearns, C.A.; Inouye, D.W. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press Colorado, Niwot.

Kearns, C.A.; Inouye, D.W.; Waser, N.M. 1998. Endangered mutualisms: The conservation of plant-pollinator interactions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29:83-112.

Kennedy, H. 2000. Diversification in pollination mechanisms in the Marantaceae. *In: Wilson, K.L.; Morrison, D.A. (Eds.). Monocots: Systematics and evolution*. Csiro, Melbourne. p. 335-344.

Kuppers, H. 1999. *Dumont's Farbenatlas*. Du Mont Buchverlag, Koln.

Mayer, C.; Adler, L.; Armbruster, W.S.; Dafni, A.; Eardley, C.; Huang, S.; Kevan, P.; Ollerton, J.; Packer, L.; Ssymank, A.; Stoutt, J.C. e Potts, S.G. 2011. Pollination ecology in the 21 century: key questions for future research. *Journal of Pollination Ecology*, 3(2): 8-23.

Ollerton, J. 1996. Reconciling ecological processes with phylogenetic patterns: the apparent paradox of plant-pollinator systems. *Journal of Ecology*, 84: 767-769.

Ollerton, J.; Johnson, S.D.; Hingston, A.B. 2006. Geographical variation in diversity and specificity of pollination systems. *In: Waser, N.M.; Ollerton, J. (Eds). Plant-pollinator interactions – from specialization to generalization*. The University of Chicago Press. p. 283-308.

Ollerton, J.; Killick, A.; Lamborn, E.; Watts, S.; Whiston, M. 2007. Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. *Taxon*, 56(3): 717-728.

Schemske, D.W.; Horvitz, C.C. 1989. Temporal variation in selection on a floral character. *Evolution*, 43 (2): 461-465.

Waser, N.M; Chittka, L.; Price, M.V.; Williams, N.M.; Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, 77(4): 1043-1060.

Waser, N.M. 1998. Pollination, Angiosperms speciation and the nature of species boundaries. *Oikos*, 82: 198-201.

Waser, N.M. 2006. Specialization and generalization in plant-pollinator interactions: a historical perspective. *In: Waser, N.M.; Ollerton, J. (Eds). Plant-pollinator interactions – from specialization to generalization*. The University of Chicago Press. p. 3-17.

