



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



**INTERFERÊNCIA DA AGREGAÇÃO INTERESPECÍFICA E EFICIÊNCIA
DOS POLINIZADORES NO SUCESSO REPRODUTIVO DE DUAS ESPÉCIES
VEGETAIS NO PANTANAL SUL**

Karen Cristine Bezerra Da Silva Santos

Campo Grande – MS

2019



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



**INTERFERÊNCIA DA AGREGAÇÃO INTERESPECÍFICA E EFICIÊNCIA
DOS POLINIZADORES NO SUCESSO REPRODUTIVO DE DUAS ESPÉCIES
VEGETAIS NO PANTANAL SUL**

Karen Cristine Bezerra Da Silva Santos

Dissertação apresentada como um dos requisitos
para a obtenção do título de Mestre em Biologia
Vegetal pelo Programa de Pós-Graduação em
Biologia Vegetal da Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul.

Orientador: Dr. Rafael Soares de Arruda

Co-orientadora: Dr. Andréa Cardoso de Araujo

Campo Grande – MS

2019

Introdução Geral

As espécies que compõe uma comunidade vegetal podem ocorrer em agregados mono ou heteroespecíficos. Em ambos os casos elas compartilham não só o espaço, mas também os recursos disponíveis, como nutrientes do solo, luz e água (Coley et al. 1985). Além disso, quando florescem no mesmo espaço e tempo, há também a possibilidade de competirem pelos serviços dos polinizadores (Levin & Anderson 1970; Phillips et al. 2013), o que pode afetar o seu sucesso reprodutivo.

Os componentes principais do serviço de polinização são a frequência de visitação e a eficácia da transferência de pólen em cada visita (Zych et al. 2013, Freitas 2013). Em agregados heteroespecíficos os polinizadores podem se tornar limitantes havendo redução da deposição de pólen co-específico nos estigmas, e subsequente diminuição do sucesso reprodutivo (Delmas et al. 2016). Pode ainda haver deposição de pólen heteroespecífico, com consequente redução na deposição de pólen co-específico e fecundação (Arceo-Gómez & Ashman 2011). Adicionalmente, em flores ocorrendo em agregados heteroespecíficos pode ocorrer perda de pólen co-específico nas flores (Larson et al. 2006). Dessa forma, é preciso analisar quem são os polinizadores associados a essas espécies de plantas e seus respectivos comportamentos.

Nos últimos anos diversos estudos têm buscado entender o papel de *Apis mellifera* L. na polinização de espécies nativas. Tem sido demonstrados impactos devido a competição com abelhas nativas pelas mesmas fontes de recurso, mudanças na composição da comunidade de plantas e até transmissão de patógenos (Mallinger et al. 2017). Isso ocorre pois *A. mellifera* apresenta comportamento diferente do das abelhas

nativas quanto ao modo de coleta e transporte de pólen, bem como da quantidade de pólen dispersado e consumido (Freitas 1997; García-García et al. 2001).

Portanto, nesse estudo buscamos entender como a ocorrência em agregados heteroespecíficos afeta o sucesso reprodutivo de *Richardia grandiflora* (Rubiaceae) e de *Ludwigia lagunae* (Onagraceae), duas espécies de plantas nativas no Pantanal sul, e qual a eficiência de *Apis mellifera*, comparativamente à de espécies de abelhas nativas, na polinização dessas espécies que funcionaram como dois modelos experimentais. No capítulo 1, avaliamos as diferenças no sucesso reprodutivo dessas espécies de plantas em duas situações: em agregados hetero e monoespecíficos. A riqueza e a abundância da carga polínica depositada nos estigmas, bem como o número de frutos viáveis e o peso dos frutos produzidos foram utilizados como indicadores de sucesso reprodutivo. No capítulo 2 selecionamos os visitantes nativos mais frequentes e comparamos sua eficiência de polinização em relação à da abelha *Apis mellifera* analisando qual desses grupos (nativa x exótica) é capaz de depositar maior quantidade de grãos de pólen co-específico no estigma das flores.

Referências

- Arceo-Gómez G, Ashman TL (2011) Heterospecific pollen deposition: does diversity alter the consequences? *New Phytologist*, 192(3), 738–746.
- Coley PD, Bryant JP, Chapin III FS (1985) Resource availability and plant anti herbivore defense. *Science* 230, 895-899.
- Delmas CEL, Fort TLC, Escaravage N, Pornon A (2016) Pollen transfer in fragmented plant populations: insight from the pollen loads of pollinators and stigmas in a mass-flowering species. *Ecology and Evolution*, 6(16), 5663–5673.
- Freitas BM (1997) Number and distribution of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains on the bodies of its pollinators, *Apis mellifera* and *Centris tarsata*. *Journal of Apicultural Research & Bee World*, 36(1), 15–22.
- Freitas L (2013) Concepts of pollinator performance: is a simple approach necessary to achieve a standardized terminology? *Brazilian Journal of Botany*, 36(1), 3–8.
- García-García MC, Ortiz PL, Díez Dapena MJ (2001) Pollen collecting behaviour of *Apis mellifera* during one day. *Grana*, 40(4-5), 205–209.
- Larson DL, Royer RA, Royer MR (2006) Insect visitation and pollen deposition in an invaded prairie plant community. *Biological Conservation*, 130(1), 148–159.
- Levin DA, Anderson WW (1970) Competition for Pollinators between Simultaneously Flowering Species. *The American Naturalist*, 104(939), 455–467.

Mallinger RE, Gaines-Day HR, Gratton C (2017) Do managed bees have negative effects on wild bees?: A systematic review of the literature. PLoS ONE 12(12), e0189268.

Phillips RD, Xu T, Hutchinson MF, Dixon KW, Peakall R (2013) Convergent specialization - the sharing of pollinators by sympatric genera of sexually deceptive orchids. Journal of Ecology 101(3), 826–835.

Zych M, Goldstein J, Roguz K, Stpiczyńska M (2013) The most effective pollinator revisited: pollen dynamics in a spring-flowering herb. Arthropod-Plant Interactions, 7(3), 315–322.

A agregação heteroespecífica afeta negativamente o sucesso reprodutivo de duas espécies vegetais do Pantanal Sul

Karen Cristine B. S. Santos¹, Camila S. Souza², Rafael Arruda^{1,3}, Andréa C. Araujo⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária, Av. Costa e Silva, s/n - Pioneiros, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. karenbsantos.bio@gmail.com / +55 67 99104-5722

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária, Av. Costa e Silva, s/n - Pioneiros, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³ Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso. Av. Alexandre Ferronato, 1200 - St. Industrial, Sinop - MT, Brasil.

⁴ Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária, Av. Costa e Silva, s/n - Pioneiros, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Resumo: Em uma comunidade com diferentes espécies vegetais co-ocorrendo no espaço, e cujos períodos de floração se sobrepõem, a ocorrência em agregados pode ser negativa, devido a potencial competição pelos recursos abióticos necessários para a produção de sementes ou pelos serviços dos polinizadores. Assim, de modo a avaliar como a agregação heteroespecífica afeta o sucesso reprodutivo (i.e. o número de frutos viáveis formados e seu peso) estudamos duas espécies auto incompatíveis no Pantanal Sul. A coleta de dados foi realizada na Base de Estudos do Pantanal (BEP-UFMS) em Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil, onde estabelecemos 60 parcelas, 30 para cada espécie focal (*Richardia grandiflora* e *Ludwigia lagunae*), sendo 15 parcelas em manchas monoespecíficas e 15 em heteroespecíficas. Avaliamos a carga polínica depositada nos estigmas pelos visitantes florais e também a formação de frutos e sementes. Nossos resultados mostraram que *L. lagunae* tem maior riqueza e abundância de carga polínica nos estigmas quando em manchas heteroespecíficas, e nessa condição houve uma redução significativa no peso dos frutos. Em *Richardia grandiflora* também foi detectada maior riqueza e abundância de carga polínica em manchas heteroespecíficas, tendo havido formação de maior número de frutos viáveis (i.e. com mais sementes) em manchas monoespecíficas. Dessa forma, concluímos que para ambas as espécies, os indivíduos em parcelas monoespecíficas apresentaram maior sucesso

reprodutivo, pois conseguiram produzir frutos de maior peso; ou maior quantidade de frutos viáveis, o que pode garantir maior sucesso reprodutivo.

Palavras-chave: densidade floral, polinização cruzada, eficiência de polinização, limitação de pólen, autoincompatibilidade.

Introdução

A polinização é uma relação de mutualismo (Rech & Brito 2012) em que as plantas produzem recursos, como néctar e pólen, os quais atraem animais polinizadores que fazem a dispersão de pólen entre indivíduos co-específicos, facilitando assim sua reprodução (Mitchell et al. 2009). As plantas que florescem no mesmo espaço e tempo podem interagir de duas maneiras: a primeira é afetando a taxa de visitação uma da outra. Quando há grande quantidade de recursos disponíveis ao visitante, uma determinada flor tem menores chances de receber uma visita devido à competição pelos serviços dos polinizadores (Caruso 1999; 2000; Brown et al. 2002), caracterizando assim um efeito no estágio de pré-polinização. A segunda forma de interação ocorre no estágio pós-polinização, através da transferência do pólen heteroespecífico (PH) e /ou interações pólen-pistilo (Ashman & Arceo-Gómez 2013). Muitos estudos apontam que a deposição do PH pode interferir na polinização e, em alguns casos comprometer a aderência do grão de pólen co-específico (PC) (Morales & Traveset 2008; Duffy & Stout 2011; Montgomery & Rathcke 2011; Briggs et al. 2015; Carvallo & Medel 2016; Arceo-Gómez et al. 2018). As plantas podem receber PH devido ao comportamento de visitantes florais oportunistas, que acabam não depositando pólen compatível (Murphy 2000; Brown et al. 2002), ou podem perder os grãos de PC durante o transporte (Thomson & Eisenhart 2003).

Diante disso, seria esperado que plantas em estandes monoespecíficos teriam maior sucesso reprodutivo, pois a disposição de indivíduos da mesma espécie próximos uns aos outros, facilitaria o transporte desses grãos de pólen compatíveis e aumenta a atratividade. De fato, para algumas espécies vegetais, apenas o fato de os grãos de pólen viáveis e co-específicos chegarem ao estigma pode ser suficiente para a formação de sementes (Ashman et al. 2004). No entanto, em espécies auto incompatíveis, se a carga polínica de PC contiver muitos grãos de pólen do próprio indivíduo, a planta pode enfrentar um problema adicional, que é a diminuição das chances de germinação do pólen advindo da polinização cruzada (Duncan et al. 2004). Este fato pode ser intensificado em espécies zoófilas, pois é comum que os polinizadores visitem sequencialmente diversas flores em um mesmo indivíduo ou em indivíduos próximos, que podem ser aparentados (Snow 1982; Eckert 2000).

Em condições naturais, os estigmas podem receber uma mistura de grãos de pólen compatíveis, incompatíveis e heteroespecíficos (Shore & Barrett 1984). A composição dessa carga polínica pode ser determinada pelas espécies de plantas florescendo nas proximidades das flores em questão (Aizen & Harder 2007; Brosi 2016). Exibições florais abundantes (p.ex. em espécies que ocorrem em manchas de grande tamanho), muitas vezes levam os polinizadores a forragearem na mesma planta e em indivíduos próximos entre si, o que, para indivíduos auto incompatíveis diminui a chance de receber uma carga polínica compatível (Jacobi & del Sarto 2007).

Portanto, entender as relações quantitativas entre o número de grãos de pólen compatíveis depositados sobre um estigma e o nível de fertilização dos óvulos em uma dada espécie de planta é importante para avaliar a importância da limitação do pólen na produção de sementes e frutos (Aizen & Harder 2007; Harder & Aizen 2010). Além

disso, a compreensão dos efeitos da distribuição espacial dos indivíduos, em agregados mono ou heteroespecíficos, sobre o sucesso reprodutivo é um importante passo para entender as estratégias reprodutivas e de sobrevivência dessas espécies.

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar como a agregação heteroespecífica afeta o sucesso reprodutivo de duas espécies auto incompatíveis no Pantanal Sul. Nossa hipótese é que, devido à maior mistura de pólen nos estigmas, plantas em agregados heteroespecíficos terão menor sucesso reprodutivo que aquelas ocorrendo em estandes monoespecíficos.

Material e Métodos

Local de estudo

A coleta de dados foi realizada no período de setembro a novembro de 2017 na Base de Estudos do Pantanal, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, em Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil. A área localiza-se nas sub-regiões do Miranda e Abobral (57°02'22"W; 19°34'52"S), no Pantanal sul mato grossense. O clima é Tropical Chuvoso de Savana, subtipo Aw (Kottek et al. 2006), com duas estações bem definidas, uma chuvosa (outubro a março) e outra seca (abril a setembro), com temperatura média anual de 26°C (Silva et al. 2000). A pluviosidade oscila entre 800 e 1400 mm/ano, sendo que 80% das chuvas ocorre entre os meses de novembro e março (Silva et al. 2000).

Espécies selecionadas

As duas espécies focais foram escolhidas durante estudos prévios em campo, onde constatamos sua ampla distribuição, abundância na área de estudo e ocorrência em diferentes tipos de agregados (mono e heteroespecíficos) com densidades variáveis, fatores fundamentais para a condução desse estudo. Além disso, foram selecionadas por serem espécies auto incompatíveis, de modo que não produzem frutos por autopolinização, assegurando assim que o pólen germinado nos estigmas foi trazido por um visitante e evitando as possíveis diferenças nas taxas de formação e peso dos frutos provenientes de autopolinização e polinização cruzada.

Richardia grandiflora (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae) é uma espécie herbácea perene de distribuição neotropical. É muito abundante na área de estudo, ocorrendo em manchas de tamanhos variados. Seu hábito de crescimento é rasteiro, com altura média de 15 a 20 cm. Cada indivíduo apresenta em média 5 ± 2 inflorescências, do tipo glomérulo capituliforme, localizadas na posição terminal dos ramos (Cruz & Martins 2015). Uma inflorescência produz em média de três a cinco flores por dia, com antese diurna a partir das 8h30 e tem longevidade curta, estando com suas estruturas reprodutivas receptivas até as 14h00. As flores de *R. grandiflora* são andróginas, diperiantadas, heteroclamídeas. Possui cálice hexâmero, soldado na base, e corola infundibuliforme, branca e lilás, hexâmera, com um anel de tricomas na porção inferior interna. O androceu tem seis estames, homodínamos, exsertos, presos na fauce; anteras ditecas, dorsifixas, com deiscência longitudinal, e o estigma é trifido (Cruz & Martins 2015). Os frutos são esquizocarpos, separando-se em três mericarpos indeiscentes após a maturação.

Ludwigia lagunae (Morong) H. Hara (Onagraceae) é uma espécie herbácea anfíbia emergente (Pott & Pott 1997) de ampla distribuição. Floresce o ano todo e, assim como *R. grandiflora*, ocorre em manchas naturais de tamanhos variados. Os indivíduos medem entre 180 e 200 cm de altura. O padrão geral das flores dessa espécie é de quatro pétalas amarelas livres, com oito estames também livres. Os estigmas possuem aspecto úmido por conta da presença de células papiladas, com secreção estigmática (Heslop-Harrison 1990). As sépalas e o fruto apresentam coloração avermelhada. O ovário é ínfero com muitos óvulos que, ao serem fecundados, originam cápsulas deiscentes com muitas sementes. As flores são tetrâmeras, solitárias, geralmente planas e eretas. A antese ocorre no início da manhã, com a maioria das pétalas caindo até o meio da tarde (Vieira 2002).

Principais procedimentos de coleta e análise de dados

Para avaliar o efeito do tipo de agregação no sucesso reprodutivo de *R. grandiflora* e *L. lagunae*, foram estabelecidas 15 parcelas de 2m² em agregados monoespecíficos (compostos apenas de indivíduos de *R. grandiflora* ou de *L. lagunae*) e 15 parcelas de 2m² em agregados heteroespecíficos (compostos por *R. grandiflora* ou *L. lagunae* e por outras espécies floridas que ocorriam naturalmente próximas a elas). Dessa forma, foram 30 parcelas para cada uma das espécies focais, totalizando 60 parcelas no estudo. De modo a padronizar as proporções, as espécies focais representaram 20% de cobertura nas parcelas heteroespecíficas.

Em cada uma das 60 parcelas foram coletadas 10 flores para a contagem e identificação dos tipos polínicos encontrados nos estigmas. Essas flores foram retiradas ao acaso, ao final do período de antese, procurando abranger toda a extensão da parcela.

Os estigmas foram montados em lâminas com gelatina fucsina, seguindo o método proposto por Dafni (1992), e em laboratório foi feita a identificação dos tipos polínicos encontrados. Pelo menos outras dez flores da espécie focal foram marcadas para que acompanhássemos a produção de frutos e sementes na parcela. Após 20 a 30 dias, os frutos marcados foram recolhidos e analisados quanto à presença de sementes. Esses frutos que produziram sementes (aqui definidos como “frutos viáveis”) foram secos em estufa (50°C por 48 horas) para posterior pesagem em balança de precisão. O número de frutos viáveis produzidos e o peso desses frutos foram as medidas de sucesso reprodutivo adotadas neste estudo.

A riqueza da carga polínica, o número de grãos de PH e PC, o número de frutos viáveis e o peso desses frutos foram avaliados em relação ao tipo de parcela (mono ou heteroespecífica) usando modelos lineares. Como o número de grãos de PH e PC apresentou um grande intervalo de valores, usamos a função $\log_{10}$ para padronizar e equalizar a variância (resíduos). A análise foi realizada usando o pacote “lme4” (Bates et al. 2014) no programa R (R Core Team 2018).

Resultados

A riqueza da carga polínica depositada nos estigmas de *Ludwigia lagunae* (LM: $p = 0,009$; R^2 ajustado: 0,189; Fig. 1c) e o número de grãos de PH foram maiores nas flores das parcelas heteroespecíficas (LM: $p = 0,003$; R^2 ajustado: 0,242; Fig. 1e). O número de grãos de PC diferiu significativamente entre os dois tipos de parcelas (LM: $p = 0,026$; R^2 ajustado: 0,133; Fig. 1d), sendo maior nas heteroespecíficas. Com relação aos frutos formados, o número de frutos viáveis não diferiu significativamente entre os dois tratamentos (LM: $p = 0,378$; R^2 ajustado: -0,006; Fig. 1a). Entretanto, flores em parcelas

monoespecíficas produziram frutos mais pesados (LM: $p < 0,009$; R^2 ajustado: 0,187; Fig. 1b).

Em *Richardia grandiflora*, a riqueza da carga polínica (LM: $p = 0,0006$; R^2 ajustado: 0,322; Fig. 2c) e o número de grãos de PH foram maiores em parcelas heteroespecíficas (LM: $p = 0,0001$; R^2 ajustado: 0,384; Fig. 2e). Já o número de grãos de PC nos estigmas e o peso dos frutos não diferiram significativamente entre as parcelas (LM: $p = 0,612$; R^2 ajustado: -0,029; Fig. 2d/ $p = 0,731$; R^2 ajustado: -0,031; Fig. 2b), mas houve produção de maior número de frutos viáveis nas parcelas monoespecíficas (LM: $p = 0,006$; R^2 ajustado: 0,210; Fig. 1a).

Discussão

Nossos resultados sugerem que para *R. grandiflora* e *L. lagunae* é mais vantajoso ocorrer em agregados monoespecíficos, já que mais frutos viáveis e frutos com maior peso, respectivamente, foram produzidos nessas condições. Em agregados heteroespecíficos houve maior mistura de pólen nos estigmas e consequente redução no peso de frutos e formação de sementes. De modo semelhante, outros estudos relacionaram a carga polínica depositada no estigma com o sucesso reprodutivo do indivíduo (Elliott e Irwin 2009; Ashman & Arceo-Gómez 2013; Tur et al. 2016), e reportaram os efeitos negativos da riqueza da carga de pólen sobre a produção de sementes e/ou frutos (Kwak 1991; Duncan et al. 2004; Bartomeus et al. 2008; Spigler & Chang 2008; Arceo-Gómez & Ashman 2011). Esses efeitos negativos da mistura de pólen sobre o sucesso reprodutivo podem ocorrer quando a deposição dos grãos de pólen vindos de outra espécie ocorre antes da chegada do PC. Nesse caso o estigma recebe um sinal químico e pode ser fechado (Brown & Mitchell 2001). De fato, em *L.*

lagunae e *R. grandiflora*, quando a abundância e a riqueza de grãos de PH foram maiores nos estigmas analisados, ocorreu a produção de frutos mais leves ou de frutos não viáveis.

Outro ponto importante a destacar é que para que ocorra a mistura de pólen é preciso que a planta esteja compartilhando polinizadores com espécies distintas (Fonseca et al. 2016), e que esses polinizadores sejam de certa forma generalistas. A abelha exótica *Apis mellifera* L. considerada uma espécie de hábito generalista (Giannini et al. 2015) foi o principal visitante de *R. grandiflora*, o que pode ter resultado em uma maior mistura da carga polínica presente nos estigmas, enquanto a carga co-específica encontrada não diferiu entre as duas classes de parcelas.

Ludwigia lagunae, também foi visitada com alta frequência por *A. mellifera*, mas seu principal visitante é uma abelha nativa da subfamília Megachilinae. Para essa espécie, a quantidade de PH foi maior em agrupamentos heteroespecíficos, mostrando que os visitantes florais que chegam em *L. lagunae* também visitam as outras espécies de plantas presentes no agrupamento. Mas quando analisamos o número de PC, ele foi maior em agrupamentos heteroespecíficos, o que sugere que essa abelha pode ser mais efetiva na deposição de pólen da própria espécie. Além disso, os estigmas de *L. lagunae* possuem uma espécie de muco gelatinoso que facilita a aderência da carga polínica, principalmente quando a flor é visitada pela abelha Megachilinae, que investe mais tempo na visita de cada flor e tem morfologia corporal adaptada à morfologia floral da espécie.

Apesar da abelha Megachilinae ser capaz de depositar grãos de PC, grande quantidade de PH foi encontrado nos estigmas das flores de *L. lagunae*, o que pode ser um fator que está influenciando seu sucesso reprodutivo, podendo causar a obstrução do

estigma (Holland & Chamberlain 2007) e resultando na fecundação de menor número de óvulos (Morales & Traveset 2008). Isso foi evidenciado nas parcelas heteroespecíficas, onde a quantidade de PH depositado nos estigmas foi maior e o sucesso reprodutivo diminuiu. De modo semelhante, em um estudo com a espécie *Decodon verticillatus* (L.) Elliott (Lythraceae), o número de sementes por fruto foi menor quando a carga polínica no estigma era heteroespecífica (Da Silva & Sargent 2011). Já em *R. grandiflora* o peso dos frutos não diferiu significativamente entre as parcelas mono e heteroespecíficas. Como o número de grãos de PC também não diferiu nos estigmas, tanto as parcelas monoespecíficas como as heteroespecíficas tiveram médias baixas de PC, isso pode estar refletindo no peso dos frutos.

Em algumas espécies parece não haver desvantagem em crescer fora de agregados com outras espécies, pois dessa maneira diminuem a competição e aumentam as chances de sucesso reprodutivo (Pettersson 1997). Porém, a ocorrência em agregados, mesmo que heteroespecíficos, resulta na atração de um maior número de polinizadores (Elliott & Irwin 2009) o que aumenta as chances de receberem visitas. Assim, os benefícios da ocorrência isolada ou em agregados hetero e monoespecíficos resulta de um balanço entre a atração dos visitantes e as consequências no sucesso reprodutivo.

Portanto, concluímos que indivíduos de *R. grandiflora* e *L. lagunae* em parcelas monoespecíficas apresentaram maior sucesso reprodutivo, pois produziram frutos mais pesados e/ ou com maior viabilidade, comparativamente àqueles ocorrendo em parcelas heteroespecíficas. Porém, o tipo de agrupamento em que essas espécies se encontram não é o único fator que pode estar determinando seu sucesso reprodutivo. Esse sucesso parece resultar de uma combinação entre o tipo e o tamanho dos agrupamentos, e a identidade dos polinizadores que visitam suas flores. Sugerimos que estudos futuros

avaliem a partir de qual proporção de cobertura das espécies focais as vantagens de ocorrer em agregados heteroespecíficos passam a ser maiores, sem que haja efeitos negativos sobre o sucesso reprodutivo dessas espécies.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Referências

- Aizen M.A., Harder L.D. (2007) Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology*, **88**(2), 271–281
- Arceo-Gómez G., Ashman T.L. (2011) Heterospecific pollen deposition: does diversity alter the consequences? *New Phytologist*, **192**(3), 738–746
- Arceo-Gómez G., Jameel M.I., Ashman T.L. (2018) Effects of heterospecific pollen from a wind-pollinated and pesticide-treated plant on reproductive success of an insect-pollinated species. *American Journal of Botany*, **105**(5), 836–841.
- Ashman T.L., Arceo-Gómez G. (2013) Toward a predictive understanding of the fitness costs of heterospecific pollen receipt and its importance in co-flowering communities. *American Journal of Botany*, **100**(6), 1061–1070
- Ashman T.L., Knight T.M., Steets J.A., Amarasekare P., Burd M., Campbell D.R., Wilson W.G. (2004) Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, **85**(9), 2408–2421

- Bartomeus I., Bosch J., Vilà M. (2008) High Invasive Pollen Transfer, Yet Low Deposition on Native Stigmas in a *Carpobrotus*-invaded Community. *Annals of Botany*, **102**(3), 417–424
- Bates D., Mächler M., Bolker B., Walker S. (2014) Fitting linear mixed-effects models using lme4. arXiv:1406.5823v1 [stat.CO] (publicação do pacote “lme4”)
- Briggs H.M., Anderson L.M., Atalla L.M., Delva A.M., Dobbs E.K., Brosi B.J. (2015) Heterospecific pollen deposition in *Delphinium barbeyi*: linking stigmatic pollen loads to reproductive output in the field. *Annals of Botany*, **117**, 341–347
- Brosi B.J. (2016) Pollinator specialization: from the individual to the community. *New Phytologist*, **210**, 1190–1194
- Brown B.J., Mitchell R.J. (2001) Competition for pollination: effects of pollen of an invasive plant on seed set of a native congener. *Oecologia*, **129**, 43–49
- Brown B.J., Mitchell R.J., Graham S.A. (2002) Competition for pollination between an invasive species (purple loosestrife) and a native congener. *Ecology*, **83**, 2328–2336
- Caruso C.M. (1999) Pollination of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae): effects of intra- vs. interspecific competition. *American Journal of Botany*, **86**(5), 663–668
- Caruso C.M., Alfaro M. (2000) Interspecific pollen transfer as a mechanism of competition: effect of *Castilleja linariaefolia* pollen on seed set of *Ipomopsis aggregate*. *Canadian Journal of Botany*, **78**, 600–606

- Carvallo G.O., Medel R. (2016) Heterospecific pollen transfer from an exotic plant to native plants: assessing reproductive consequences in an Andean grassland. *Plant Ecology & Diversity*, **9**(2), 151–157
- Cruz R.M., Martins C.F. (2015) Pollinators of *Richardia grandiflora* (Rubiaceae): an Important Ruderal Species for Bees. *Neotropical Entomology*, **44**(1), 21–29
- Da Silva E.M., Sargent R.D. (2011) The effect of invasive *Lythrum salicaria* pollen deposition on seed set in the native species *Decodon verticillatus*. *Botany*, **89**(2), 141–146
- Dafni A. (1992) *Pollination Ecology*. Oxford Unit Press, New York.
- Duffy K.J., Stout J.C. (2011) Effects of conspecific and heterospecific floral density on the pollination of two related rewarding orchids. *Plant Ecology*, **212**, 1397–1406
- Duncan D.H., Nicotra A.B., Wood J.T., Cunningham S.A. (2004) Plant isolation reduces outcross pollen receipt in a partially self-compatible herb. *Journal of Ecology*, **92**(6), 977–985
- Eckert C.G. (2000) Contributions of autogamy and geitonogamy to self-fertilization in a mass-flowering, clonal plant. *Ecology*, **81**, 532–542
- Elliott S.E., Irwin R.E. (2009) Effects of flowering plant density on pollinator visitation, pollen receipt, and seed production in *Delphinium barbeyi* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, **96** (5), 912–919

- Fonseca L.C.N., Rech A.R., Bergamo P.J., Gonçalves-Esteves V., Sazima M. (2016) Heterospecific pollen deposition among plants sharing hummingbird pollinators in the Brazilian Atlantic Forest. *Rodriguésia*, **67**(2), 335–345
- Giannini T.C., Garibaldi L.A., Acosta A.L., Silva J.S., Maia K.P., Saraiva A.M. et al. (2015) Native and Non-Native Supergeneralist Bee Species Have Different Effects on Plant-Bee Networks. *Plos One*, **10**(9), e0137198
- Harder L.D., Aizen M.A. (2010) Floral adaptation and diversification under pollen limitation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 529–543
- Heslop-Harrison Y. (1990) Stigma form and surface in relation to self-incompatibility in the Onagraceae. *Nordic Journal of Botany*, **10**, 1-19
- Holland J.N., Chamberlain S.A. (2007) Ecological and evolutionary mechanisms for low seed : ovule ratios: need for a pluralistic approach? *Ecology*, **88**(3), 706–715
- Jacobi C.M., del Sarto M.C.L. (2007) Pollination of two species of *Vellozia* (Velloziaceae) from high-altitude quartzitic grasslands, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, **21**(2), 325–333
- Kottek M., Grieser J., Beck C., Rudolf B., Rubel F. (2006) World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, **15**, 259-263
- Kwak M.M., Jennersten O. (1991) Bumblebee visitation and seedset in *Melampyrum pratense* and *Viscaria vulgaris*: heterospecific pollen and pollen limitation. *Oecologia*, **86**(1), 99–104

- Maron J.L., Crone E. (2006) Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proc Biol Sci*, **273**(1601), 2575-2584
- Mitchell R.J., Flanagan R.J., Brown B.J., Waser N.M., Karron J.D. (2009) New frontiers in competition for pollination. *Annals of Botany*, **103**(9), 1403–1413
- Montgomery B.R., Rathcke B.J. (2011) Effects of floral restrictiveness and stigma size on heterospecific pollen receipt in a prairie community. *Oecologia*, **168**(2), 449–458
- Morales C.L., Traveset A. (2008) Interspecific Pollen Transfer: Magnitude, Prevalence and Consequences for Plant Fitness. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **27**(4), 221–238
- Murphy S.D. (2000) Field testing for pollen allelopathy: A Review. *Journal of Chemical Ecology*, **26**(9), 2155–2172
- Pettersson M.W. (1997) Solitary plants do as well as clumped ones in *Silene uniflora* (Caryophyllaceae). *Ecography*, **20**(4), 375–382
- Pott V.J., Pott A. (1997) Checklist das macrófitas aquáticas do Pantanal, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, **11**(2), 215–227
- R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.Rproject.org/>.
- Rech A.R., Brito V.L.G. (2012) Mutualismos extremos de polinização: história natural e tendências evolutivas. *Oecologia Australis*, **16**(2), 297-310
- Shore J.S., Barrett S.C.H. (1984) The effect of pollination intensity and incompatible pollen on seed set in *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Canadian Journal of Botany*, **62**(6), 1298–1303

- Silva M.P., Mauro R., Mourão G., Coutinho M. (2000) Distribuição e quantificação de classes de vegetação do Pantanal através de levantamento aéreo. *Revista Brasileira de Botânica*, **23**(2), 143-152
- Snow A.A. (1982) Pollination intensity and potential seed set in *Passiflora vitifolia*. *Oecologia*, **55**, 231-237
- Spigler R.B., Chang S.M. (2008) Effects of plant abundance on reproductive success in the biennial *Sabatia angularis* (Gentianaceae): spatial scale matters. *Journal of Ecology*, **96**(2), 323–333
- Thomson J.D., Eisenhart K.S. (2003) Rescue of stranded pollen grains by secondary transfer. *Plant Species Biology*, **18**(2-3), 67–74
- Tur C., Sáez A., Traveset A., Aizen M.A. (2016) Evaluating the effects of pollinator-mediated interactions using pollen transfer networks: evidence of widespread facilitation in south Andean plant communities. *Ecology Letters*, **19**(5), 576–586
- Vieira A.O.S. (2002) Biologia reprodutiva e hibridação em espécies sintópicas de *Ludwigia* (Onagraceae) no Sudeste do Brasil. Campinas: Universidade Estadual de Campinas. 154 p. [Tese de Doutorado]

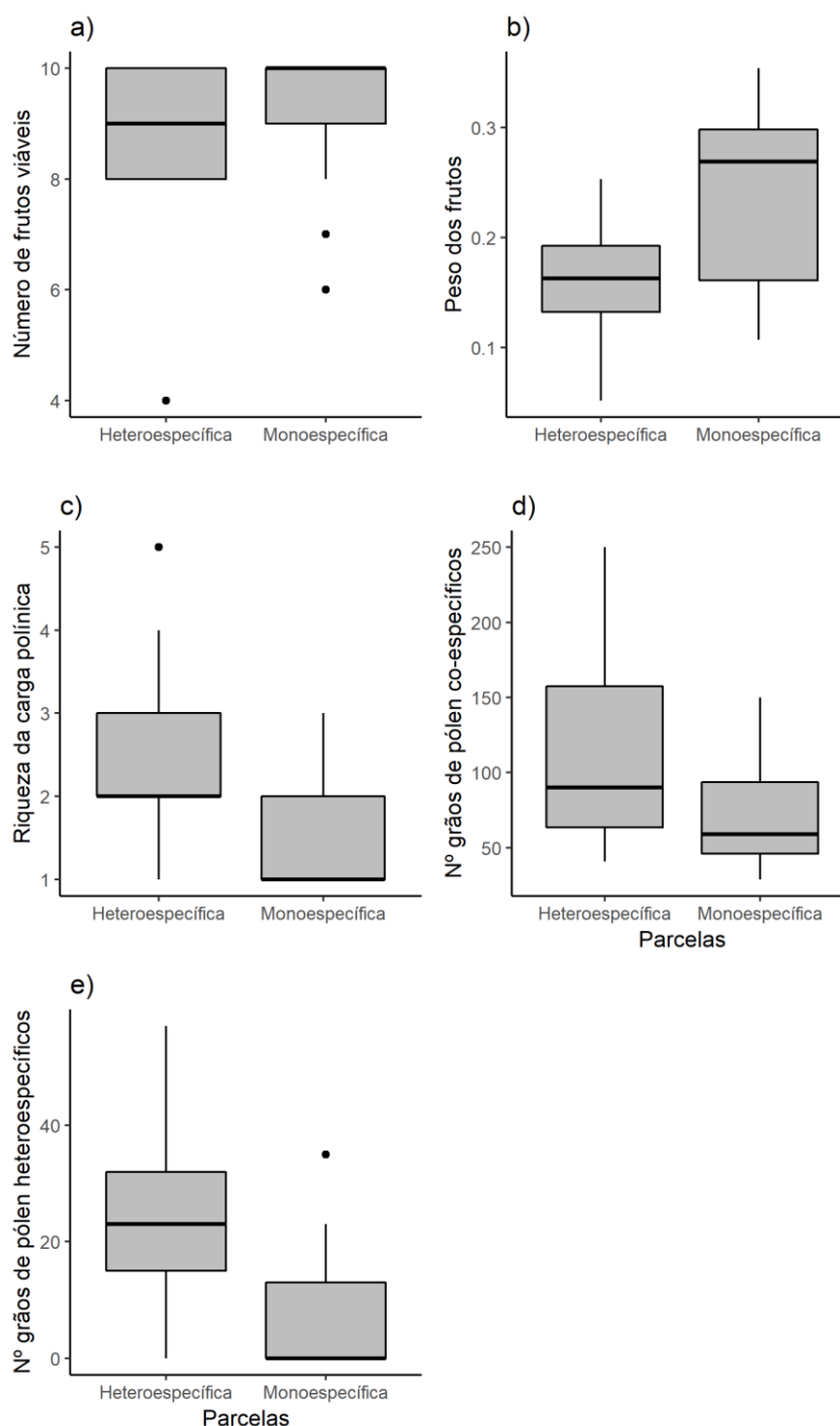


Figura 1. Relação entre as variáveis e o tipo de parcela (Heteroespecífica e Monoespecífica), a- número de frutos viáveis ($p = 0.378$), b- peso dos frutos ($p < 0.009$), riqueza da carga polínica ($p < 0.009$), d- número de grãos de pólen co-específicos ($p < 0.026$) e, e- número de grãos de pólen heteroespecíficos ($p < 0.003$) em parcelas mono e heteroespecíficas de *Ludwigia lagunae*. As variáveis representadas no eixo Y foram transformados para log10, de modo a melhorar o ajuste do modelo.

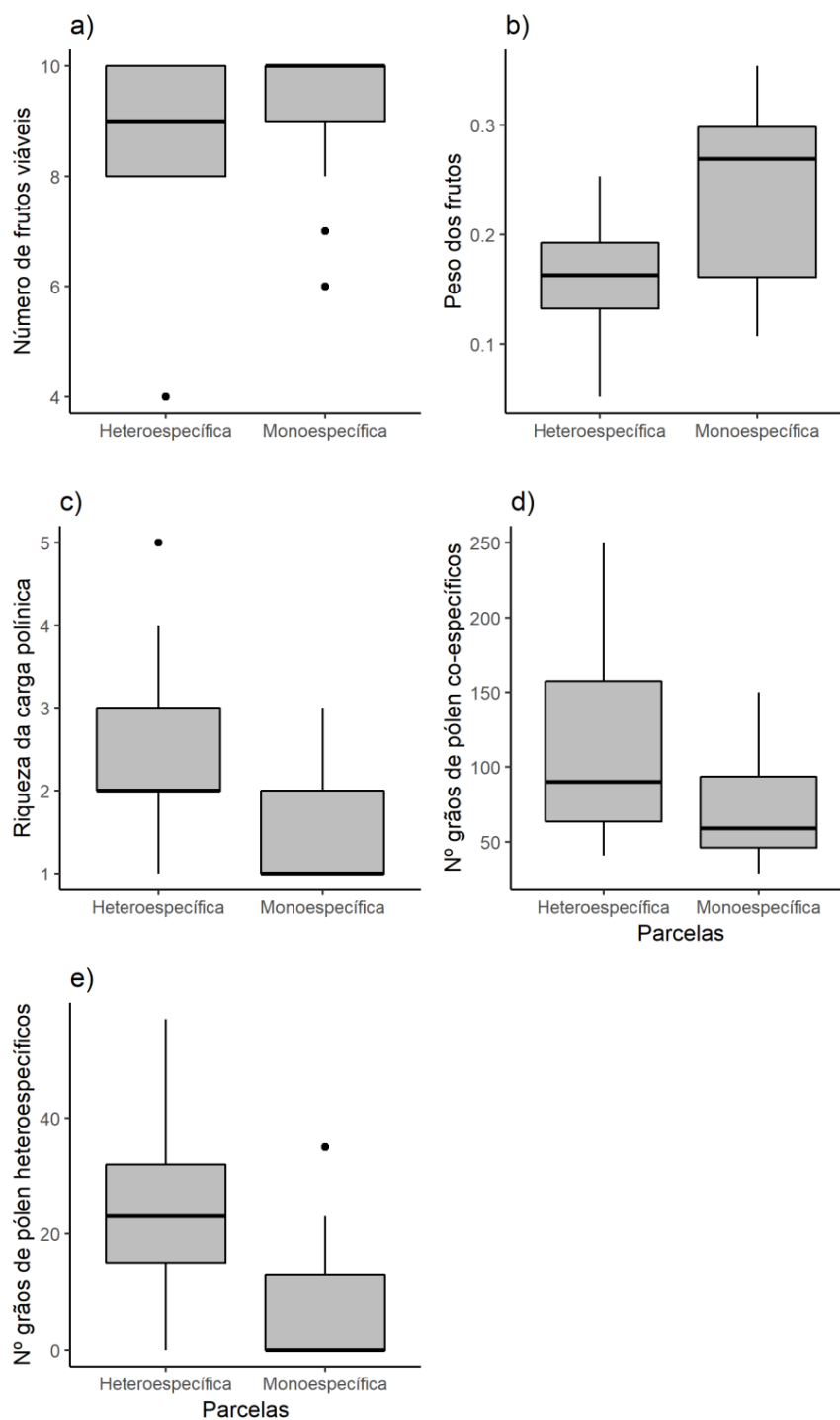


Figura 2. Relação entre as variáveis e o tipo de parcela (Heteroespecífica e Monoespecífica), a- número de frutos viáveis ($p < 0.006$), b- peso dos frutos ($p < 0.731$), riqueza da carga polínica ($p < 0.0006$), d- número de grãos de pólen co-específicos ($p < 0.612$) e, e- número de grãos de pólen heteroespecíficos ($p < 0.0001$) em parcelas mono e heteroespecíficas de *Richardia grandiflora*. As variáveis representadas no eixo Y foram transformados para $\log_{10}$, de modo a melhorar o ajuste do modelo.

Abelhas nativas são mais eficientes que *Apis mellifera* L. na polinização de duas espécies vegetais no Pantanal Sul

Karen Cristine B. S. Santos¹, Camila S. Souza², Rafael Arruda^{1,3}, Andréa C. Araujo⁴

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária, Av. Costa e Silva, s/n - Pioneiros, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. karenbsantos.bio@gmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária, Av. Costa e Silva, s/n - Pioneiros, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³ Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso. Av. Alexandre Ferronato, 1200 - St. Industrial, Sinop - MT, Brasil.

⁴ Instituto de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária, Av. Costa e Silva, s/n - Pioneiros, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Resumo: *Apis mellifera* L. é uma espécie exótica invasora que pode causar impactos negativos sobre abelhas nativas devido à competição pelos recursos florais compartilhados. Como consequência, pode haver a redução das populações de abelhas nativas, com efeitos sobre o serviço de polinização. Poucos estudos avaliaram o impacto de *Apis mellifera* na polinização de espécies nativas, e a maioria dos estudos existentes sob esse enfoque analisou os efeitos de apenas uma visita. Assim, nesse estudo comparamos a eficiência de polinização após uma, duas e três visitas de *A. mellifera* em relação a de abelhas nativas em *Richardia grandiflora* e *Ludwigia lagunae*, duas espécies vegetais nativas do Pantanal Sul. Para isso, selecionamos duas espécies de abelhas nativas de tamanhos similares ao de *A. mellifera*, sendo elas, *Trigona spinipes* e uma abelha da subfamília Megachilinae. Botões em pré-antese foram ensacados, e após a antese, estabelecemos tratamentos de flores que recebiam uma, duas ou três visitas de cada espécie de abelha. Repetimos esses tratamentos 15 vezes e, ao final, montamos

lâminas dos estigmas para a contagem dos grãos de pólen depositados. *Apis mellifera* depositou menos grãos de pólen em relação às abelhas nativas, porém em *Ludwigia lagunae* essa diferença foi significativa apenas no tratamento de três visitas e para *Richardia grandiflora*, no tratamento de duas visitas. Essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de as espécies de abelhas nativas investirem mais tempo na coleta de recursos em cada flor. Assim, a chance de contatarem as estruturas reprodutivas coletando e depositando o pólen é maior, sendo mais vantajoso para as plantas receber visitas dessas espécies. Uma vez que não detectamos diferenças na eficiência de polinização entre abelhas nativas e *A. mellifera* no tratamento de uma visita, destacamos que estudos futuros com o intuito de avaliar essas diferenças incluam tratamentos com maior número de visitas.

Palavras-chave: deposição de pólen / eficiência de polinização / competição / coleta de recurso / recurso floral / taxa de visitação

1. Introdução

Muitas espécies de angiospermas dependem dos serviços de polinização executados por animais para completar seu ciclo reprodutivo (Ollerton et al. 2011; Van der Niet & Johnson 2012). Em contrapartida, é produzida uma grande variedade de recursos florais (pólen, néctar, resinas, odores, tecidos florais). Porém, a qualidade dos serviços de polinização prestados difere entre esses visitantes (Garratt et al. 2014), já que muitos animais visitam as plantas e se alimentam dos recursos oferecidos sem, no entanto, efetivarem a polinização (Solís-Montero et al. 2015). Neste sentido diferenciar polinizadores daqueles animais que apenas subtraem o recurso sem polinizar é equivalente a identificar mutualistas e antagonistas dentro da mesma categoria, que é a de visitantes florais. Essa diferenciação tem impactos enormes, pois o saldo final das interações pode direcionar de forma contratante os mecanismos de seleção e o processo evolutivo das linhagens como um todo (Rech e Brito 2012).

Durante muito tempo as abelhas invasoras não despertaram preocupação devido à sua importância econômica associada ao serviço de polinização que prestavam (Goulson 2003), sendo geralmente consideradas positivas no sentido de aumentar a produtividade no setor agrícola (Witter & Blochtein 2003; Alves & Freitas 2007; Faria Júnior et al. 2008). Em meados do século passado, a abelha *Apis mellifera* L., uma espécie que ocorre naturalmente em grande parte da Europa, foi introduzida em muitos continentes incluindo a América do Sul, América do Norte e Austrália (Paini 2005). Essa abelha exótica se espalhou rapidamente, e os impactos que pode causar nas abelhas nativas, através do aumento de competição por exploração devido à sobreposição de uso de recursos como o néctar e pólen bem como por interferência são ainda pouco conhecidos (Paini 2004, Mallinger et al. 2017).

Apesar de *A. mellifera* ser reconhecida como polinizadora eficiente de algumas culturas agrícolas, uma análise mundial concluiu que as abelhas nativas são, em muitos casos, polinizadoras mais efetivas tanto em ambientes naturais como em agroecossistemas (Garibaldi et al. 2013). Essa diferença em eficiência pode ser relacionada ao comportamento de forrageio e ao ajuste morfológico da abelha com as flores. Muitos estudos também tentam entender a influência do comportamento de *A. mellifera* sobre as espécies de abelhas nativas (Paini 2004; Roubik 2009; Aizen & Harder 2009; Brittain et al. 2013; Howard & Barrows 2014). É reportado que algumas plantas polinizadas por abelhas nativas e aves, podem ter 90% do recurso floral removido quando visitadas por *A. mellifera* (Paton 1993). Isso confere uma vantagem dessa abelha sobre os demais visitantes com as quais sobrepõe no uso de recursos, conforme já reportado no Pantanal (Boff et al. 2013). Além disso, o hábito de iniciar o forrageamento nas primeiras horas do dia, e em grupos com grande número de indivíduos (Hung 2018), intensifica o efeito da competição por exploração, pois abelhas nativas dispõem energia e tempo para competir ou escolher flores sem a presença de *A. mellifera* (Minussi & Alves-dos-Santos 2007), que rapidamente exaurem os recursos florais das manchas que visitam (Paini 2004). Há também registros de alguns casos em que espécies dos gêneros *Bombus* e *Xylocopa* interagem agonisticamente com *A. mellifera* pelo acesso aos mesmos recursos florais. E, devido à competição por interferência, essas abelhas nativas são frequentemente deslocadas de fontes florais mais ricas (Schaffer et al. 1979; 1983; Ginsberg 1983; Thomson 2004). Resultado semelhante foi relatado em um estudo no Panamá, onde a presença de *A. mellifera* impediu o acesso das abelhas nativas da tribo Meliponini às suas fontes de recurso preferidas, resultando em um menor acúmulo de pólen no ninho (Roubik et al. 1986).

Assim, além dos possíveis impactos nas populações de abelhas nativas, *A. mellifera* pode ter também efeitos negativos nos serviços de polinização, visto que essas abelhas exóticas podem diferir das nativas quanto aos padrões espaciais e/ou temporais de transporte de pólen, ao recurso coletado, e à proporção de pólen que é dispersado para outras flores ou consumido (Mallinger et al. 2017). Esses impactos despertaram uma crescente preocupação com a conservação das espécies de abelhas nativas, tanto no meio científico quanto no político (Spivak et al. 2011, Wolowski et al. 2018). Sendo assim, o entendimento dos mecanismos de interação entre espécies exóticas e nativas pode contribuir para o melhor manejo de invasões biológicas e a compreensão sobre o papel da competição na estruturação de comunidades (Thomson 2004). E, no caso mais específico de *A. mellifera*, uma espécie exótica, entender seus efeitos no serviço de polinização de espécies nativas.

Uma das formas de verificar o impacto dessas interações na polinização é medindo a eficiência de polinização, que é diretamente afetada pela estratégia de forrageamento dos polinizadores (Borrell 2007), bem como pelo ajuste morfológico entre flor e polinizador (CaraDonna et al. 2017). Em geral as flores são visitadas por mais de uma espécie de polinizador, que apresentam diferentes eficiências (Goulson 2003). Um polinizador eficiente é aquele que contribui para o sucesso reprodutivo da planta, através do consumo de recursos florais, com baixo desperdício de pólen (Freitas 2013).

Uma das métricas mais utilizadas nos estudos que medem a eficiência de um polinizador é o número de grãos de pólen depositados no estigma (Freitas 2013; Maruyama et al. 2018). Sendo assim, neste estudo comparamos a eficiência de polinização de *Apis mellifera* em relação à das abelhas nativas em duas espécies vegetais nativas do Pantanal Sul. A nossa hipótese é que plantas visitadas por *Apis mellifera* terão menor número de grãos de pólen depositados no estigma e, portanto, menor sucesso reprodutivo quando

comparadas àquelas visitadas por abelhas nativas. A previsão é baseada no comportamento de visitas de *Apis mellifera*, caracterizado por ser generalista e com pouco tempo investido por flor na coleta de recursos.

2. Material e Métodos

2.1 Local de estudo

O estudo foi conduzido na Base de Estudos do Pantanal, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, (57°02'22"W; 19°34'52"S), em Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil. A área de estudo localiza-se nas sub-regiões do Miranda e Abobral, no Pantanal Sul. A coleta de dados foi feita entre os meses de setembro e novembro de 2017, contemplando o período de transição da época seca (abril a setembro), para a época chuvosa (outubro a março) (Silva et al. 2000; Kottek et al. 2006).

2.2 Espécies selecionadas

As espécies vegetais escolhidas foram *Richardia grandiflora* (Cham. & Schltdl.) Steud. (Rubiaceae) e *Ludwigia lagunae* (Morong) H. Hara (Onagraceae) (Figura 1), ambas muito abundantes na área de estudo, ocorrendo em manchas de tamanhos variados. Alguns fatores que levaram à escolha dessas espécies foram o fato de ambas terem seu pico de floração entre setembro e novembro e serem auto-incompatíveis, ou seja, não produzem frutos e sementes quando suas flores são fertilizadas por seu próprio pólen, o que determina a dependência exclusiva de polinizadores. Também observamos que ambas são visitadas por *Apis mellifera* (Figura 1a, 1b) e espécies de abelhas nativas de tamanho similar ao dela. A escolha das abelhas nativas para os experimentos levou

em conta dois critérios: 1) terem tamanho similar à *Apis mellifera* e, 2) apresentarem alta frequência de visitas.

Assim, para o experimento com *Richardia grandiflora* foi escolhida a abelha nativa *Trigona spinipes* (Figura 1c), uma espécie comum em regiões tropicais pertencente à subtribo Meliponina. Essa abelha tem tamanho médio, medindo no mínimo 5 mm. É eussocial, embora algumas espécies vivam de alimento roubado de colônias de outras espécies (Rech et al. 2013). Seus ninhos são, em geral, construídos em cavidades pré-existentes (ocos de árvores, ninhos abandonados de cupins e formigas etc.), mas algumas espécies constroem ninhos expostos (Silveira et al. 2002).

A abelha nativa escolhida para conduzir o experimento em *Ludwigia lagunae* pertence à subfamília Megachilinae (Figura 1d), da família Megachilidae, de abelhas solitárias. As abelhas desta subfamília possuem duas características distintivas: as fêmeas de todas as suas espécies não parasitas carregam pólen apenas no abdome, em uma escopa ventral, e utilizam-se de material coletado fora dos ninhos, principalmente pedaços de folhas e resinas vegetais, para a construção de suas células de cria (Silveira et al. 2002).

2.3 Coleta e análise de dados

Para os testes de eficiência de polinização, botões foram ensacados, sendo desensacados por ocasião da antese para o experimento. O experimento foi dividido em dois grupos (*A. mellifera* e abelha nativa), com três tratamentos relacionados ao número de visitas. Os tratamentos foram: flores que receberam uma visita, flores que receberam duas visitas e flores que receberam três visitas (Figura 2). O experimento foi realizado para ambas as espécies de plantas. Para evitar que outros visitantes contatassem as flores

enquanto estávamos conduzindo o experimento, uma pessoa observava a flor após ser desensacada e impedia as visitas indesejadas com o auxílio de um puçá. Após as visitas, os estigmas eram retirados das flores e montados imediatamente em lâminas com gelatina fucsina, conforme o método descrito por Dafni (1992). Para cada tratamento fizemos 15 repetições, totalizando 45 lâminas para cada grupo. Em laboratório, fizemos a contagem dos grãos de pólen co-específicos presentes em cada lâmina. Para a análise dos grupos e tratamentos construímos um modelo, utilizando a análise de variância multifatorial (ANOVA), e posteriormente fizemos a comparação das médias pelo Teste de Tukey, ambos realizados no programa R (R Core Team 2018). Definimos como sucesso de polinização, a deposição de grãos de pólen co-específicos nos estigmas das flores visitadas.

3. Resultados

O número de grãos de pólen co-específicos depositados por *A. mellifera* nos estigmas foi menor que o depositado por abelhas nativas, tanto em *L. lagunae* (ANOVA: $F_{1,87} = 31.372$, $P = 2.45e-07$) como em *R. grandiflora* (ANOVA: $F_{1,87} = 5.648$, $P = 0.0197$) (Figura 3). Porém, quando avaliada a diferença entre tratamentos, em *L. lagunae* houve diferença entre *A. mellifera* e a abelha nativa apenas com três visitas, e em *R. grandiflora* apenas no tratamento com duas visitas (Tabela 1).

4. Discussão

Abelhas nativas foram mais eficientes que *A. mellifera* na polinização de *L. lagunae* e *R. grandiflora*, uma vez que depositaram maior número de grãos de pólen co-específicos nos estigmas. Esse resultado pode ser explicado pelo comportamento das

abelhas nativas, que realizam visitas mais longas, contatando tanto anteras quanto estigmas (Winfrey et al. 2007). *Apis mellifera* normalmente inicia o forrageio mais cedo do que a maioria das demais espécies de abelhas diurnas (Hung 2018), o que lhe confere maior vantagem na exploração de certas fontes de néctar e pólen (Menezes et al. 2007). Entretanto, suas visitas rápidas (Goulson 2003) resultam na deposição de menor carga polínica nos estigmas a cada visita, conforme registrado aqui. Além disso, em muitas visitas essa espécie exótica atua somente como “ladra de pólen”, não contatando as estruturas reprodutivas (Freitas e Sazima 2006). Em nosso estudo, seria de se esperar que a quantidade de grãos de pólen nos estigmas aumentasse com mais visitas. Entretanto, para *R. grandiflora*, não houve diferença entre a segunda e terceira visita. Isso pode sugerir que *A. mellifera*, por apresentar comportamento menos especializado (Giannini et al. 2015), pode estar “limpando” o estigma depois de certa quantidade de grãos de pólen depositados.

Em *Ludwigia lagunae* o sucesso de polinização de *A. mellifera* após uma ou duas visitas não diferiu do das abelhas nativas. Porém, com mais visitas, essa abelha tende a diminuir o sucesso reprodutivo da planta, uma vez que ela diminui a quantidade de grãos de pólen co-específicos depositados no estigma. Já para *R. grandiflora* a eficácia de polinização de *A. mellifera* diminui em relação à da abelha nativa já com duas visitas. Ao contrário do registrado em *R. grandiflora*, em *L. lagunae* a quantidade de grãos de pólen depositado aumentou progressivamente com o número de visitas, conforme o esperado. Nesta espécie parece haver a influência de outro fator que não apenas o comportamento de visita de *A. mellifera*, mas também o seu ajuste morfológico à flor de *L. lagunae*. Em observações de campo constatamos que a abelha nativa investe mais tempo nas visitas e deposita grãos de pólen de maneira bem mais eficiente.

A menor eficiência da abelha *A. mellifera* em locais onde é considerada invasora é reportada por diversos autores, sendo observada a produção de menor número de sementes após uma visita dessa espécie exótica, quando comparado a uma visita de abelhas nativas (Spira 2001; Sun et al. 2013). Durante a polinização da planta nativa *Melastoma affine* (Melastomataceae) na Austrália, *A. mellifera* depositou menos pólen nos estigmas e removeu mais pólen das anteras, comparativamente às abelhas nativas (Gross & Mackay 1998). No Canadá, *Bombus* sp. depositou mais pólen em flores de *Lonicera caerulea* (Caprifoliaceae), tendo sido mais eficiente que *A. mellifera* para a polinização dessa espécie. Além disso, abelhas *A. mellifera* não eram ativas durante temperaturas mais frias, ao contrário de *Bombus* sp. que são mais tolerantes e realizam a polinização mesmo em situação de baixas temperaturas (Frier et al. 2016).

Resultado semelhante também tem sido encontrado em espécies de interesse econômico. Um estudo no México comparou a eficiência de polinização de *A. mellifera* e *Melipona beecheii* no urucum (*Bixa orellana* L. - Bixaceae), uma espécie de planta cultivada. *Apis mellifera* depositou significativamente menos pólen no estigma, o que resultou em menor produção de frutos, e frutos com menor número de sementes de menor peso, comparativamente às abelhas nativas (Caro et al. 2017). Isso pode ser explicado pelo fato de as flores de urucum possuírem anteras poricidas, que precisam ser vibradas para a liberação de pólen. Como *A. mellifera* não consegue realizar a coleta de pólen por vibração (“buzz pollination”), ela deposita nos estigmas quantidade de grãos bem inferior à depositada por abelhas nativas, que conseguem realizar esse tipo de comportamento. Entretanto, outros trabalhos reportam maior eficiência ou eficiência equivalente de *A. mellifera* em relação às abelhas nativas (Witter & Blochtein 2003, Alves & Freitas 2007, Neves & Viana 2011).

Assim, é sugerido que se polinizadores nativos forem perdidos (seja por competição com abelhas exóticas, perda de habitat ou uso de pesticidas), *A. mellifera* parece não ser capaz de fornecer serviço adequado de polinização para todas as plantas nativas (Roubik 1996), nem tampouco substituir o serviço ecossistêmico de polinização prestado por polinizadores nativos na produção de frutos (Garibaldi et al. 2013). Essas abelhas nativas são indispensáveis para a polinização de algumas culturas (Kremen et al. 2002; Winfree et al. 2007) e manutenção da diversidade biológica nos ambientes naturais (Johnson 2010).

Portanto, concluímos que as abelhas nativas são capazes de depositar maior quantidade de grãos de pólen co-específicos nos estigmas de *R. grandiflora* e *L. lagunae*, mostrando serem significativamente mais eficientes que *A. mellifera* após pelo menos duas visitas às flores. Nossos resultados também apontam a necessidade de experimentos que avaliem, além da eficiência de deposição de pólen com mais de uma visita, também a taxa de fecundação (formação de frutos) após os diferentes tratamentos (números de visitas).

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Contribuição dos Autores

KCBS Santos, CS Souza e AC Araujo desenvolveram o delineamento amostral. KCBS Santos e CS Souza realizaram as coletas de dados em campo. As análises estatísticas

foram feitas por KCBS Santos, CS Souza e R Arruda. Todos os autores forneceram feedback sobre análises, interpretação de resultados e escrita do manuscrito.

Conflito de Interesses

Os autores declaram não ter nenhum potencial conflito de interesses.

Referências

Aizen, M.A., Harder, L.D. (2009) The global stock of domesticated honey bees is growing slower than agricultural demand for pollination. *Curr. Biol.*,

DOI:10.1016/j.cub.2009.03.071

Alves, J.E., Freitas, B.M. (2007) Requerimentos de polinização da goiabeira. *Cienc.*

Rural, DOI: 10.1590/S0103-84782007000500010

Boff, S., Araujo, A.C., Pott, A. (2013) Bees (Hymenoptera: Apoidea) and flowers in natural forest patches of southern Pantanal. *Biota Neotrop.*, DOI:10.1590/s1676-

06032013000400005

Borrell, B.J. (2007) Scaling of nectar foraging in Orchid Bees. *Am. Nat.*,

DOI:10.1086/512689

Brittain, C., Williams, N., Kremen, C., Klein, A.M. (2013) Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*,

DOI:10.1098/rspb.2012.2767

- CaraDonna, P.J., Petry, W.K., Brennan, R.M., Cunningham, J.L., Bronstein, J.L., Waser, N.M., Sanders, N.J. (2017) Interaction rewiring and the rapid turnover of plant-pollinator networks. *Ecol. Lett.*, DOI:10.1111/ele.12740
- Caro, A., Moo-Valle, H., Alfaro, R., Quezada-Euán, J.J.G. (2017) Pollination services of africanized Honey Bees and native *Melipona Beecheii* to Buzz-Pollinated annatto (*Bixa Orellana* L.) in the Neotropics. *Agr. Forest Entol.* **19**(3), 274–80
- Dafni, A. (1992) *Pollination Ecology*. Oxford Unit Press, New York.
- Faria Júnior, L.R.R., Bendini, J. N., Barreto, L.M.R.C. (2008) Eficiência polinizadora de *Apis mellifera* L. e polinização entomófila em pimentão “*Cascadura ikeda*”. *Bragantia* **67**(2), 261-266
- Freitas, A.S., Arruda, V.A.S., Almeida-Muradian, L.B., Barth, O.M. (2013) The Botanical Profiles of Dried Bee Pollen Loads Collected by *Apis mellifera* (Linnaeus) in Brazil. *Sociobiology* **60**, 56-64
- Freitas, L., Sazima, M. (2006) Pollination biology in a tropical high-altitude grassland in Brazil: interações at the community level. *Ann. Mo. Bot. Gard.* **93**, 465–516.
- Frier, S.D., Somers, C.M., Sheffield, C.S. (2016) Comparing the performance of native and managed pollinators of haskap (*Lonicera caerulea*: Caprifoliaceae), an emerging fruit crop. *Agric. Ecosyst. Environ.* **219**, 42–48
- Garibaldi, L.A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aisen, M.R., Bommarco, R., et al. (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* **339**, 923–924

- Garratt, M.P.D., Breeze, T.D., Jenner, N., Polce, C., Biesmeijer, J.C., Potts, S.G. (2014) Avoiding a bad apple: Insect pollination enhances fruit quality and economic value. *Agric. Ecosyst. Environ.*, DOI:10.1016/j.agee.2013.10.032
- Giannini, T.C., Garibaldi, L.A., Acosta, A.L., Silva, J.S., Maia, K.P., Saraiva, A.M. et al. (2015) Native and Non-Native Supergeneralist Bee Species Have Different Effects on Plant-Bee Networks. *Plos One*, **10**(9), e0137198
- Ginsberg, H.S. (1983) Foraging Ecology of Bees in an Old Field. *Ecology* **64**(1), 165–175
- Goulson, D. (2003) Effects of introduced bees on native ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **34**, 1–26
- Gross, C.L., Mackay, D. (1998) Honeybees reduce fitness in the pioneer shrub *Melastoma affine* (Melastomataceae). *Biol. Cons.* DOI: 10.1016/S0006-3207(98)00010-X
- Howard, A.F., Barrows, E.M. (2014) Self-pollination rate and floral-display size in *Asclepias syriaca* (Common Milkweed) with regard to floral-visitor taxa. *BMC Evol. Biol.*, **14**(1), 144
- Hung, K.L.J., Kingston, J.M., Albrecht, M., Holway, D.A., Kohn, J.R. (2018) The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proc. R. Soc. B.* **285**(1870), 2017-2140

- Johnson, S.D. (2010) The pollination niche and its role in the diversification and maintenance of the southern African flora. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* DOI:10.1098/rstb.2009.0243
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F. (2006) World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorol. Z.* **15**, 259-263
- Kremen, C., Williams, N.M., Thorp, R.W. (2002) Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **99**(26), 16812–16816
- Mallinger, R.E., Gaines-Day, H.R., Gratton, C. (2017) Do managed bees have negative effects on wild bees?: A systematic review of the literature. *PLoS ONE* **12**(12): e0189268.
- Maruyama, P.K., Nunes, C.E.P., Vizentin-Bugoni, J., Gustafsson, S., Morellato, L.P.C. (2018) Are native bees and *Apis mellifera* equally efficient pollinators of the rupestrian grassland daisy *Aspilia jolyana* (Asteraceae)? *Acta Bot. Bras.* **32**(3), 386–391
- Menezes, C., Silva, C.I., Singer, R.B., Kerr, W. (2007) Competição entre abelhas durante forrageamento em *Schefflera arboricola* (Hayata) Merr. *Biosci. J.* **23**(1), 63–69
- Minussi, L.C., Alves-dos-Santos, I. (2007) Abelhas nativas versus *Apis mellifera* Linnaeus, espécie exótica (Hymenoptera, Apidae). *Biosci. J.* **23**(1), 58-62
- Neves, E.L., Viana, B.F. (2011) Pollination efficiency of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera, Apidae) on the monoecious plants *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. And *Jatropha mutabilis* (Pohl) Baill. (Euphorbiaceae) in a semi-arid Caatinga area, Northeastern Brazil. *Braz. J. Biol.* **71**, 107–13

- Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S. (2011) How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, DOI:10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x
- Paini, D.R. (2004) Impact of the introduced honey bee (*Apis mellifera*) (Hymenoptera: Apidae) on native bees: A review. *Austral Ecol.*, 29(4), DOI:10.1111/j.1442-9993.2004.01376.x
- Paini, D.R. (2005) Commercial Honey Bees (*Apis mellifera*) reduce the fecundity of an Australian native bee. *Biol. Cons.*, DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2004.01376.x>
- Paton, D.C. (1993) Honeybees in the Australian Environment. *BioScience*, DOI: 10.2307/1311970
- R Core Team (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/> (accessed on 30 August 2018)
- Rech, A.L., Brito, V.L.G. (2012) Mutualismos extremos de polinização: história natural e Tendências evolutivas. *Oecol. Aust.* **16**(2): 297-310
- Rech, A.R., Schwade, M.A., Schwade, M.R.M. (2013) Abelhas-sem-ferrão amazônicas defendem meliponários contra saques de outras abelhas. *Acta Amazonica*, **43**(3), 389–393
- Roubik, D.W. (2009) Ecological impact on native bees by the invasive Africanized honey bee. *Acta Biol. Colomb.* **14**: 115-124

- Roubik, D.W. (1996) African honey bees as exotic pollinators in French Guiana, in: Matheson, A., Buchmann, S.L., O'Toole, C., Westrich, P., Williams, I.H. (Eds.) The conservation of bees. London Academic Press Ltd, pp. 173-182.
- Roubik, D.W., Moreno, J.E., Vergara, C., Wittman, D. (1986) Sporadic food competition with the african Honey Bee: Projected impact on Neotropical social species. *J. Trop. Ecol.* **2**(2),97–111
- Schaffer, W.M., Jensen, D.B., Hobbs, D.E., Gurevitch, J., Todd, J.R., Schaffer, M.V. (1979) Competition, foraging energetics, and the cost of sociality in three species of bees. *Ecology* **60**(5), 976–87
- Schaffer, W.M., Zeh, D.W., Buchmann, S.L., Kleinhans, S., Schaffer, M.V., Antrim, J. (1983) Competition for nectar between introduced Honey Bees and native North American bees and ants. *Ecology* **64**(3), 564–77
- Silva, M.P., Mauro, R., Mourão, G., Coutinho, M. (2000) Distribuição e quantificação de classes de vegetação do Pantanal através de levantamento aéreo. *Ver. Bras. Bot.* **23**(2), 143-152
- Silveira, F.A., Melo, G.A.R., Almeida, E.A.B. (2002) Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. MMA e Fundação Araucária. Belo Horizonte, MG, Brasil. 253 p.
- Solís-Montero, L., Vergara, C.H., Vallejo-Marín, M. (2015) High incidence of pollen theft in natural populations of a buzz-pollinated plant. *Arthropod Plant Interact.*, DOI:10.1007/s11829-015-9397-5
- Spira, T.P. (2001) Plant-pollinator interactions: A threatened mutualism with implications for the ecology and management of rare plants. *Nat. Areas J.* **21**, 78-88.

- Spivak, M., Mader, E., Vaughan, M., Euliss, N.H. (2011) The plight of the bees. Environ. Sci. Technol. **45**(1):34–38
- Sun, S.G., Huang, S.Q., Guo, Y.H. (2013) Pollinator shift to managed Honeybees enhances reproductive output in a Bumblebee-Pollinated plant. Plant Syst. Evol. **299**(1), 139–50
- Thomson, D. (2004) Competitive interactions between the invasive European Honey Bee and native Bumble Bees. Ecology **85**, 458–70
- Van der Niet, T., Johnson, S.D. (2012) Phylogenetic evidence for pollinator-driven diversification of angiosperms. Trends Ecol. Evol., DOI:10.1016/j.tree.2012.02.002
- Winfree, R., Williams, N.M., Dushoff, J., Kremen, C. (2007) Native bees provide insurance against ongoing honey bee losses. Ecol. Lett. **10**(11), 1105–1113
- Witter, S., Blochtein, B. (2003) Efeito da polinização por abelhas e outros insetos na produção de sementes de cebola. Pesq. Agropec. Bras. **38**(12), 1399-1407

Tabela 1: Média e desvio padrão do numero de grãos de pólen co-específicos depositados nos estigmas de *Ludwigia lagunae* e *Richardia grandiflora* após uma, duas ou três visitas de abelhas nativas e *Apis mellifera*. Valores do teste de Tukey comparando as médias dos tratamentos de *A. mellifera* e abelha nativa.

	Tratamento (número de visitas)	Média ± Desvio Padrão do nº de grãos de pólen no estigma	Valor de P (Teste de Tukey)
<i>Ludwigia lagunae</i>			
<i>Apis mellifera</i>	1	21,27 ± 17,49	1-1: P < 0.97
	2	42,87 ± 29,41	
	3	42,27 ± 28,01	2-2: P < 0.84
Megachilinae	1	27,80 ± 10,76	3-3: P < 0.0007
	2	32,93 ± 9,14	

	3	78 ± 31,42	
<i>Richardia grandiflora</i>			
<i>Apis mellifera</i>	1	15,2 ± 10,58	1-1: P < 0.54
	2	23,33 ± 12,48	2-2: P < 0.02
	3	30,73 ± 22,35	3-3: P < 0.28
<i>Trigona spinipes</i>	1	28,53 ± 10,80	
	2	43,07 ± 23,12	
	3	49,6 ± 15,26	



Fig 1. *Richardia grandiflora* (A) e *Ludwigia lagunae* (B) sendo visitadas por *Apis mellifera*. Em (C) e (D) as mesmas espécies sendo visitadas pelas abelhas nativas *Trigona spinipes* e *Megachilinae*, respectivamente. Escala em 1cm.

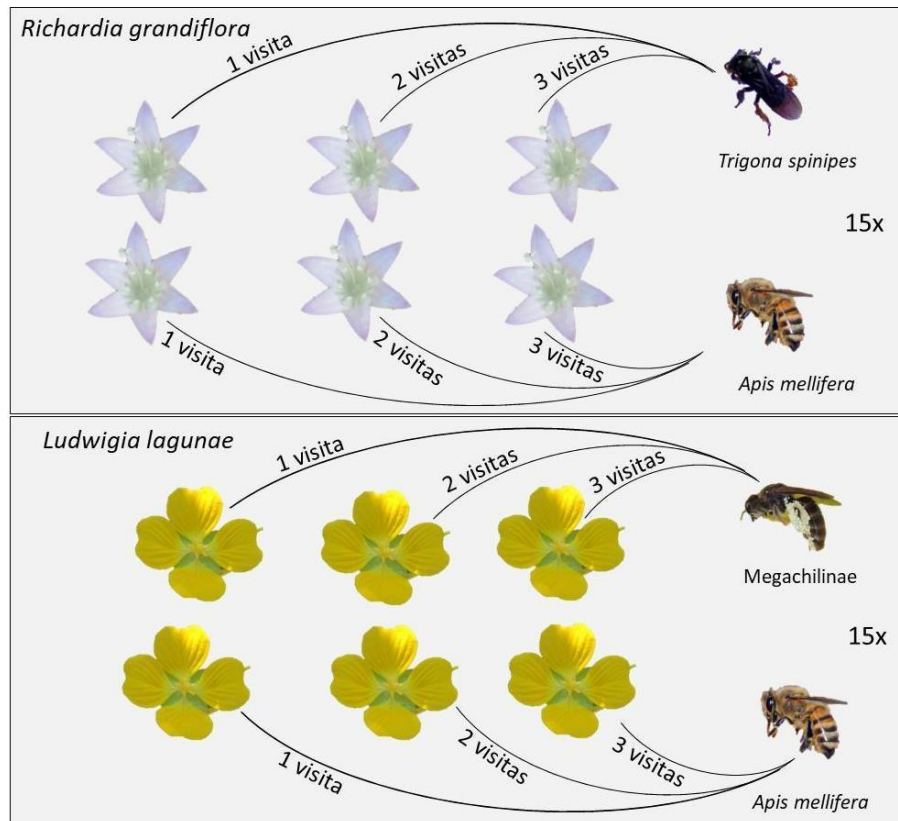


Fig 2. Esquema dos tratamentos adotados em cada grupo (abelhas nativas e *Apis mellifera*). *Richardia grandiflora* e *Ludwigia lagunae* recebendo uma, duas e três visitas de cada espécie de abelha. Os tratamentos foram repetidos 15 vezes para cada espécie de planta.

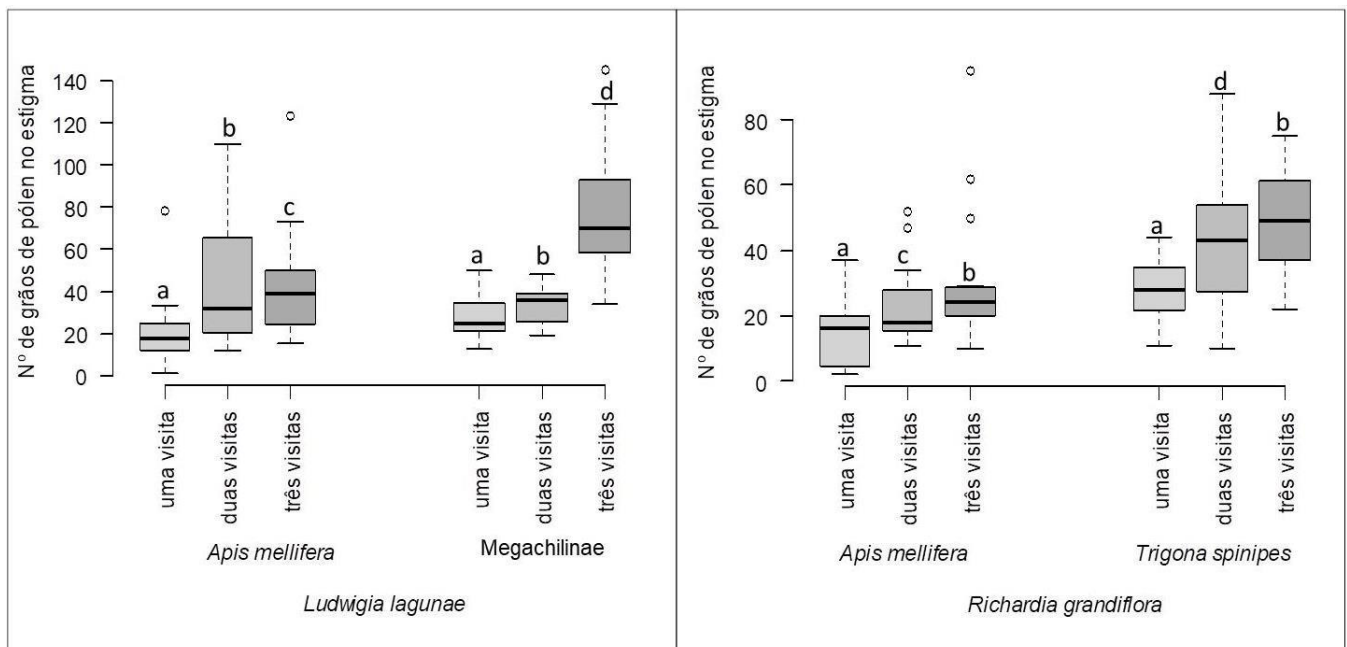


Fig 3. Quantidade de grãos de pólen depositados no estigma das flores de *Ludwigia lagunae* (gráfico à esquerda) e *Richardia grandiflora* (gráfico à direita) após uma, duas e três visitas de *Apis mellifera* e das abelhas nativas Megachilinae e *Trigona spinipes*. Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos. *Ludwigia lagunae* ($p = 0,0286$) e *Richardia grandiflora* ($p = 0,0001$).

Conclusão Geral

Indivíduos de *Richardia grandiflora* e *Ludwigia lagunae* ocorrendo em agregados monoespecíficas obtiveram maior sucesso reprodutivo. Em, *L. lagunae* devido à produção de frutos de maior peso, e em *R. grandiflora* devido à produção de mais frutos viáveis e de maior peso. Esses resultados podem ser explicados pelo papel dos visitantes florais, que efetuam a deposição de carga polínica nos estigmas, com maior deposição de grãos heterospecíficos em manchas onde a cobertura da espécie focal é baixa. Tendo em vista que ambas as espécies são visitadas pela abelha *Apis mellifera*, analisamos também a eficiência de polinização dessa espécie comparada à de abelhas nativas. As espécies nativas depositaram mais grãos de pólen co-específicos quando comparadas a *A. mellifera*. Porém, essa diferença só é detectada a partir de duas visitas em *Richardia grandiflora* e de três visitas em *Ludwigia lagunae*.

Dessa forma, sugerimos que estudos futuros avaliem a partir de qual proporção de cobertura de espécies focais, as recompensas de atração dos visitantes passam a ser maiores que as desvantagens na redução no sucesso reprodutivo de uma dada espécie. Concluimos ainda que diferenças na eficiência entre visitantes florais podem não ser detectadas quando analisado o resultado de apenas uma visita, e sugerimos que estudos com este enfoque avaliem o efeito de pelo menos duas visitas.