

RECOMPENSAS FLORAIS E VISITANTES DE DUAS ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE
CLUSIA, *CLUSIA HILARIANA* SCHLTD E *CLUSIA SPIRITU-SANCTENSIS* MARIZ
MARIZ & WEINBERG (CLUSIACEAE), EM ÁREAS DE RESTINGA.

LORENA FARIZEL CESÁRIO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

SETEMBRO – 2007

RECOMPENSAS FLORAIS E VISITANTES DE DUAS ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE
CLUSIA, *CLUSIA HILARIANA* SCHLTD E *CLUSIA SPIRITU-SANCTENSIS* MARIZ
MARIZ & WEINBERG (CLUSIACEAE), EM ÁREAS DE RESTINGA.

LORENA FARIZEL CESÁRIO

“Dissertação apresentada ao Centro de
Biociências e Biotecnologia, da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Ecologia e Recursos
Naturais.”

Orientadora : Prof. Dra. Maria Cristina Gaglianone

Campos dos Goytacazes – RJ

Junho – 2007

RECOMPENSAS FLORAIS E VISITANTES DE DUAS ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE
CLUSIA, *CLUSIA HILARIANA* SCHLTD E *CLUSIA SPIRITU-SANCTENSIS* MARIZ &
WEINBERG (CLUSIACEAE), EM ÁREAS DE RESTINGA.

LORENA FARIZEL CESÁRIO

“Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.”

Aprovado em 22 de junho de 2007

Comissão examinadora

Prof. Ana Maria Matoso Viana Bailez (Doutora, Biologia do comportamento) UENF
(revisora)

Prof. Marcelo Trindade Nascimento (Doutor, Ecologia) UENF

Prof. Tânia Wendt (Doutora, Ecologia) UFRJ

Prof. Georgina Maria de Faria Mucci (Doutora, Biologia Vegetal) FIC

Prof. Maria Cristina Gaglianone (Doutora, Entomologia) UENF
(Orientadora)

Agradecimentos

A Deus, pela força e determinação necessárias para persistir e alcançar meus objetivos.

A minha família, pelo amor, confiança e apoio necessários para que minha jornada fosse menos difícil e mais vitoriosa.

À Professora Maria Cristina Gaglianone, pela orientação e paciência.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais/ Laboratório de Ciências Ambientais pela oportunidade de desenvolver este trabalho, pelo apoio logístico e pela concessão da Bolsa Faperj/UENF.

Aos técnicos Helmo e Gerson pela ajuda no trabalho de campo.

À Ana Moreira da Silva, encarregada da Estação Climatológica Principal de Campos dos Goytacazes por ter fornecido os dados climáticos.

Aos colegas de laboratório, pela ajuda no trabalho de campo, troca de informações, amizade e incentivo durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores membros do comitê de acompanhamento, Ana Maria Matoso Viana Bailez e Marcelo Trindade Nascimento, pelas sugestões durante o desenvolvimento deste trabalho.

A Professora Ana Maria Matoso Viana Bailez pelas sugestões e revisão da dissertação.

Ao Dr. João Maria Franco de Camargo (USP-Ribeirão Preto) pela identificação das espécies de *Plebeia* e Dr. Márcio Luiz Oliveira (INPA-Manaus) pela identificação das espécies de *Eufriesea*.

Ao José Francisco (J.F) por permitir o desenvolvimento deste estudo em sua propriedade particular em Praia das Neves.

Aos professores Marcelo Trindade, Tânia Wendt e Georgina Maria de Faria Mucci e por aceitarem participar de minha banca examinadora.

Aos amigos que fiz na Universidade e aos velhos amigos de sempre pelos momentos agradáveis no convívio acadêmico, no trabalho e no pessoal.

Índice

Lista de Tabelas	VII
Lista de Figuras	VIII
Resumo	X
Abstract	XII
1.0 Introdução	1
1.1 Resinas como recompensas florais e abelhas coletoras de resina	1
1.2 O gênero <i>Clusia</i> e as restingas do Norte Fluminense e Sul capixaba	2
2.0. Objetivos	5
3.0 Metodologia	6
3.1 Área de estudos	6
3.2 Biologia floral	11
3.3 Fenologia reprodutiva	12
3.4 Experimentos de polinização	13
3.5 Amostragem dos visitantes florais	14
3.6 Estudo do comportamento de forrageio e morfologia dos visitantes florais	15
4.0 Resultados	17
4.1 Biologia floral	17
4.2 Fenologia reprodutiva	23
4.3 Experimentos de polinização	26
4.4 Visitantes florais	27
4.5 Comportamento de forrageio dos visitantes florais	28
5.0 Discussão	42
6.0 Conclusões	50
7.0 Referências bibliográficas	51

Lista de Tabelas

- Tabela 1: Dimensões das flores (cm) de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis*. Mediana, valor mínimo e máximo são apresentados. na = não apresenta. Valores seguidos da mesma letra na mesma linha não são estatisticamente diferentes pelo teste T (nível de significância de 0,05%). 20
- Tabela 2: Porcentagem de frutos formados em diferentes experimentos de polinização de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis*. I= restinga de Iquipari (São João da Barra, RJ), PN= restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES). Os valores entre parênteses indicam número de frutos formados e o número de flores testadas, n= número de indivíduos. 26
- Tabela 3: Análise estatística (χ^2) dos resultados obtidos nos experimentos de polinização de *Clusia hilariana* na restinga de Iquipari (São João da Barra, RJ) e Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES). NS= diferença não significativa, S= diferença significativa. PC= polinização manual cruzada, FN= frutificação natural. I= restinga de Iquipari (São João da Barra, RJ), PN= restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES). 27
- Tabela 4: Visitantes florais de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis* Tamanho corporal, recursos coletados e freqüência de visitas em flores masculinas (M) e femininas (F). I= restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ), PN= restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES), P = pólen, Re = resina. C= comum, R= raro. ? = visitas rápidas em que não foi possível observar se houve coleta de recurso, N = não visitaram. --= visitas por engano, sem coleta de recursos 33
- Tabela 5: Locais de deposição do pólen e porcentagem dos visitantes florais capturados em flores de *Clusia hilariana* ou *Clusia spiritus-sanctensis*, com pólen da mesma planta. n= não visitaram, n=nº indivíduos analisados 40
- Tabela 6: Parâmetros do comportamento de forrageio dos visitantes florais de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis* na restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ) e Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES). min = valor mínimo observado, max = valor máximo observado. 41

Lista de figuras

- Figura 1: Áreas de estudo. A: Formação de *Clusia* na restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ), B-D: Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES), B: Formação de *Clusia* em área mais impactada, C: Fragmento de mata, D: Fragmento próximo a área de manguezal 8
- Figura 2: Indivíduos reprodutivos de *Clusia hilariana* amostrados na restinga de Grussaí/Iquipari mapeados sobre imagem de satélite. Os círculos representam indivíduos femininos, os quadrados indivíduos masculinos de *C.hilariana*, e as cruzes representam os indivíduos femininos de *Clusia spiritu-sanctensis*. 9
- Figura 3: Indivíduos reprodutivos de *Clusia* amostrados em Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES) mapeados sobre imagem de satélite. Os círculos representam indivíduos femininos (círculos brancos- *Clusia hilariana* e círculos verdes-*Clusia spiritu-sanctensis*) e os quadrados representam indivíduos masculinos (quadrados brancos-*Clusia hilariana* e quadrados azuis-*Clusia spiritu-sanctensis*). A: Visão geral mostrando os 3 pontos estudados; 1A :Ponto 1 - Formação de *Clusia* em área mais impactada, 2A :Ponto 2 - Fragmento de mata, 3A :Ponto 3 – Fragmento próximo a área de manguezal. 10
- Figura 4: Flores de *Clusia*. A: *Clusia hilariana* feminina, B: *Clusia hilariana* masculina, C: *Clusia spiritu-sanctensis* feminina, D: *Clusia spiritu-sanctensis* masculina. e= estigmas, es=estames, R=resina. Os traços em cada foto representam 1cm. 19
- Figura 5: Processo de antese em flores masculinas e femininas de *Clusia hilariana* na restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ), indicado pela abundância relativa de flores de primeiro dia (n=32 flores masculinas, n=24 flores femininas) nos diferentes estágios: I.A=flores em início de antese, S.A=flores semi-abertas, A=flores totalmente abertas. 21
- Figura 6: Processo de antese em flores masculinas e femininas de *Clusia spiritu-sanctensis* na restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES), indicado pela abundância relativa de flores de primeiro dia (n= 26 flores masculinas, n= 8 flores femininas) nos diferentes estágios: I.A=flores em início de antese, S.A=flores semi-abertas, A=flores totalmente abertas. 22
- Figura 7: Fenologia reprodutiva de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritu-sanctensis* expressa pela porcentagem de Fournier na restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ), e Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES). 24

- Figura 8: Diagramas Climáticos referentes ao período de setembro/2005 a fevereiro/2007. A: Precipitação (mm), B: Umidade Relativa (%) e Temperatura média (°C). Dados da Estação Climatológica Principal de Campos dos Goytacazes. 25
- Figura 9: Frequência relativa dos visitantes em flores masculinas e femininas de *Clusia hilariana* na restinga de Iquipari (A) e em Praia das Neves (B) e *Clusia spiritus-sanctensis* na restinga de Praia das Neves (C), no período de nov/2005-jan/2006 e out-nov/2006. 34
- Figura 10: Frequência absoluta dos visitantes em florais de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis* na restinga de Praia das Neves, em períodos sem e com sobreposição do florescimento das duas espécies. A: Período sem sobreposição – (nov/2005 e jan/2006), B: Período com sobreposição do florescimento (out/nov – 2006). 35
- Figura 11: Taxa de visitas (Nº visitas/flor/hora) em flores masculinas e femininas e taxa de visitas para coleta de pólen e resina ao longo do dia em flores de *C. hilariana* na restinga de Grussaí/Iquipari (A-B) e Praia das Neves (C-D) e *C. spiritus-sanctensis* na restinga de Praia das Neves. 36
- Figura 12: Visitantes florais de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis*. A: *Eufriesea surinamensis* em flor feminina de *C. hilariana*, B: *Euglossa cordata* em flor feminina de *C. hilariana*, C: *Plebeia sp.* em flor feminina de *C. spiritus-sanctensis*, D: *Augochloropsis notophos* em flor masculina de *C. hilariana*. 37
- Figura 13: Fluxograma dos atos comportamentais envolvidos na coleta de resina por Meliponina e Euglossina em *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis*. 38
- Figura 14: Fluxograma dos atos comportamentais envolvidos na coleta de pólen dos visitantes florais de *Clusia hilariana*. 39

Resumo

O gênero *Clusia* apresenta distribuição neotropical e reúne cerca de 250 espécies. A produção de resina como recompensa floral foi descrita para espécies deste gênero e é utilizada por abelhas na construção e proteção dos ninhos. Os objetivos deste trabalho foram identificar e comparar os potenciais polinizadores de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*, através de seu comportamento de forrageio relacionado a morfologia floral das espécies de *Clusia*; analisar a sobreposição nas guildas de polinizadores através da identificação dos recursos coletados pelos visitantes florais e do estudo da fenologia reprodutiva das plantas e analisar a importância dos polinizadores através da identificação do sistema reprodutivo destas espécies de *Clusia*. As observações foram conduzidas entre setembro/2005 e fevereiro/2007 em duas áreas de restinga, onde estas espécies de *Clusia* ocorrem em simpatria: restinga de Grussaí/Iquipari (RJ) e Praia das Neves (ES). A morfologia floral foi descrita para cada espécie vegetal e foram determinados os períodos os períodos de antese e disponibilidade de recursos (pólen e resina) e receptividade do estigma. A presença de glândulas de odor foi avaliada através do teste de vermelho neutro. A fenologia reprodutiva de ambas espécies de *Clusia* foi avaliada pela metodologia de Fournier. Análise de correlação de Spearman foi utilizada para verificar associação entre as fenofases reprodutivas e as variáveis climáticas e também entre o florescimento de plantas masculinas e femininas. Experimentos para detecção do tipo de sistema reprodutivo foram realizados para cada espécie de *Clusia* e avaliados pela taxa de frutificação. O comportamento de forrageio e frequência dos visitantes florais foi avaliado a partir de observações diretas e filmagens. Visitantes florais foram analisados em microscópio estereoscópio quanto a presença e localização de grãos de pólen no corpo. A morfologia floral e os experimentos de polinização confirmam que *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* são espécies dióicas e não apresentam agamospermia, sendo dependentes de polinizadores para sua reprodução. O processo de antese de *C. hilariana* é lento e assíncrono, já em *C. spiritu-sanctensis* este processo é rápido e síncrono. Flores de ambas espécies ficam abertas e receptivas durante todo o período de antese (2-3 dias). A produção e/ou exposição dos recursos inicia com a distensão das pétalas. *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* apresentaram picos de florescimento seqüenciais. Flores de *C. hilariana* foram visitadas para coleta de pólen e resina, exclusivamente por abelhas fêmeas das famílias Apidae, Halictidae e Megachilidae. Espécies

coletoras de pólen (*Xylocopa ordinaria*, *Apis mellifera*, *Augochloropsis spp.*) visitaram flores femininas por engano. Flores de *C. spiritu-sanctensis* foram visitadas apenas para coleta de resina, por fêmeas de Apidae e Megachilidae. Devido a frequência de visitas e comportamento de forrageio, porte corporal e presença de pólen no corpo *Eufriesea surinamensis*, *Eufriesea smaragdina*, *Euglossa cordata* e *Augochloropsis spp.* são considerados potenciais polinizadores de *C. hilariana*, e *Eufriesea surinamensis*, *Eufriesea smaragdina* e *Euglossa cordata* os principais polinizadores de *C. spiritu-sanctensis*. Os dados mostram sobreposição na guilda de polinizadores entre as duas espécies e confirmam as abelhas coletoras de resina como principais polinizadores das duas espécies de *Clusia* nas áreas estudadas.

Abstract

The genus *Clusia* presents neotropical distribution and comprises about 250 species. The resin production as floral reward was described for this genus and is used by bees in the construction and protection of their nests. The objectives of this study were: to identify and compare the potential pollinators of *Clusia hilariana* and *Clusia spiritu-sanctensis*, through their foraging behavior associated to the floral morphology of *C. hilariana* and *C. spiritu-sanctensis*, to analyse the overlapping in the guilds of pollinators through the identification of the resources gathered by floral visitors and the reproductive phenology of the plants and to analyse the importance of pollinators through the identification of the reproductive system of this *Clusia* species. The observations were conducted from September/2005 to February/2007 in two restinga areas, where this species occur in sympatry: restinga of Grussaí/Iquipari (RJ) and Praia das Neves (ES). The floral morphology was described for each plant species and the period of anthesis, availability of resources (pollen and resin) and stigma receptivity were determined. The presence of odour glands was observed through neutral-red test. The reproductive phenology of both *Clusia* species was evaluated through Fournier methodology. Spearman correlation was utilized for verifying association between reproductive phenophases and climatic variables, and also between flowering of male and female plants. Tests for detection of the reproductive system were carried out for each *Clusia* species and evaluated by the fruit set. The foraging behavior and frequency of these floral visitors were evaluated through observations and video recording. The presence and localization of pollen grains on the body of the floral visitors was analysed under stereomicroscope. The floral morphology and the experiments of pollination confirmed that *C. hilariana* and *C. spiritu-sanctensis* are dioecious species and do not present agamospermy, and depend of pollinators for their reproduction. The anthesis process of *C. hilariana* is slow and asynchronous, for *C. spiritu-sanctensis* this process is fast and synchronic. Flowers of both *Clusia* species stay open and receptive for all anthesis period (two-three days) and the production and/or exposition of resources begin with distension of petals. Peaks of flowering of *C. hilariana* and *C. spiritu-sanctensis* were sequential. Flowers of *C. hilariana* were visited for pollen and resin collection by bee females of Apidae, Halictidae and Megachilidae species. Pollen collectors (*Xylocopa ordinaria*, *Apis mellifera*, *Augochloropsis spp.*) visited

female flowers by deceit. Flowers of *C. spiritu-sanctensis* were visited only for resin collection by Apidae and Megachilidae females. Based on the frequency of visits, foraging behavior, corporal size and presence of pollen on the body, *Eufriesea surinamensis*, *Eufriesea smaragdina*, *Euglossa cordata* e *Augochloropsis* spp. were considered the potential pollinators of *C. hilariana* and *Eufriesea surinamensis*, *Eufriesea smaragdina* and *Euglossa cordata* the principal pollinators of *C. spiritu-sanctensis*. The results show overlap in the guilds of pollinators between the two plant species and confirm the resin bees among the main pollinators of the two *Clusia* species in the studied areas.

1. Introdução

1.1 Resinas como recompensas florais e abelhas coletoras de resinas

As abelhas são o único grupo conhecido de visitantes florais a apresentar espécies que coletam resinas florais. Fêmeas de abelhas das famílias Apidae (subtribos Meliponina e Euglossina da tribo Apini) e Megachilidae (tribos Megachilini e Anthidiini) dependem deste recurso para a construção de células dos ninhos (Dressler, 1982; Armbruster, 1984). Além da função estrutural, a resina desempenha função anti-microbiana, reduzindo os riscos de patogenias nos ninhos (Armbruster, 1984; Lokvam & Braddock, 1999), impermeabilizante e de auxílio na proteção contra invasores (Simpson & Neff, 1983).

Entre os agentes polinizadores, as abelhas se destacam devido, entre outros fatores, à diversidade do grupo e à dependência de recursos florais para sua sobrevivência (Percival, 1965; Crepet, 1983; Bawa 1990). Abelhas silvestres, incluindo espécies solitárias ou sociais, são os visitantes florais mais freqüentes, constituindo-se nos mais importantes polinizadores de plantas entomófilas tropicais (Roubik, 1989; Bawa 1990). Assim, plantas produtoras de resina floral são importantes por fornecerem matéria prima básica para a construção e proteção de ninhos de várias espécies de abelhas, que, por sua vez, podem realizar a polinização destas espécies, além de outras que lhes sirvam de fonte de recursos alimentares (Armbruster, 1984).

A produção de resina como recurso floral é registrada somente em três gêneros de Angiospermas, *Clusiella* Planch & Triana e *Clusia* L., ambas pertencentes à família Clusiaceae e *Dalechampia* L. (Euphorbiaceae) (Armbruster, 1984). Além destas, espécies de *Philodendron* (Araceae) podem secretar resina em diferentes partes de suas inflorescências; no entanto esta resina não é considerada um recurso floral, sua função é facilitar a aderência do pólen ao corpo dos visitantes, que são principalmente Coleoptera (Gottsberger & Amaral, 1984; Mayo, 1991).

Diferentemente das resinas secretadas por partes vegetativas das plantas, que são espessas e rapidamente tornam-se rígidas, as resinas florais são líquidas e permanecem neste estado por várias semanas podendo ser coletadas e utilizadas por um período relativamente longo (Roubik, 1989). Estudos sobre a constituição química das resinas de *Clusia* spp. revelam que estas são compostas principalmente

de benzofenonas isopreniladas, uma classe de compostos biologicamente ativos (Oliveira *et al.*, 1996; Nogueira *et al.*, 2001).

1.2 O gênero *Clusia* e as restingas do Norte Fluminense e Sul capixaba

O gênero *Clusia* apresenta distribuição neotropical (Maguire, 1976) e reúne cerca de 250 espécies hemi-epífitas, trepadeiras, arbustivas e arbóreas (Mariz, 1974), sendo a maioria das espécies dióica (Bittrich & Amaral 1996 e 1997). Embora ocorram algumas espécies que oferecem néctar ou pólen como recurso para o polinizador, a maioria das espécies do gênero secreta resina (Bittrich & Amaral 1996, 1997). A localização da resina em flores de *Clusia* ocorre de forma distinta em flores femininas e masculinas. Nas flores femininas, a resina é produzida por um anel de estaminódios que circunda o gineceu. Já nas flores masculinas, a resina é secretada pela expansão do tecido conectivo da antera ou por um aglomerado de estaminódios circundados por estames férteis (Armbruster, 1984).

Flores de *Clusia*, especialmente das espécies que secretam resina floral, são notáveis por apresentarem grande variabilidade morfológica, principalmente no androceu. Por outro lado, espécies deste gênero que oferecem apenas pólen e néctar aos polinizadores apresentam morfologia floral menos variável. Segundo Bittrich & Amaral (1996 e 1997), este fato sugere que a produção de resina como recurso floral é parcialmente responsável pela variabilidade de flores resiníferas de *Clusia*.

Devido ao fato de que resinas frescas são bastante aderentes, grãos de pólen que se misturam a ela podem tornar-se indisponíveis para a polinização. Características da morfologia floral que impeçam ou minimizem o contato do pólen com a resina podem ser vantajosas para a polinização e são observadas em várias espécies de *Clusia* (Bittrich & Amaral, 1996 e 1997). Entretanto, em espécies da seção *Cordylandra* é comum a mistura de pólen e resina e espécies com esta característica produzem substâncias oleosas na superfície dos estigmas que contribuem para diluir a resina e auxiliar na germinação dos grãos de pólen (Bittrich & Amaral, 1996).

Espécies de *Clusia* são consideradas facilitadoras, criando condições adequadas para o estabelecimento de várias espécies ao seu redor, sendo freqüentemente a espécie central em ilhas isoladas de vegetação. Por esta razão,

desempenham uma importante função na estrutura da comunidade de plantas em áreas de restinga (Zaluar & Scarano, 2000).

As restingas são ecossistemas recentes (origem Quaternária), característicos do bioma Mata Atlântica, localizados nas baixadas litorâneas e constituídos por dunas e cordões arenosos (Lacerda *et al.*, 1984). Devido a sua localização ao longo do litoral, as restingas são ecossistemas bastante alterados e explorados pelo homem (Soffiati, 2000). Atualmente as diferentes restingas continuam sujeitas a elevada degradação ambiental causada pela ação humana, sendo as principais ameaças: a expansão imobiliária (grilagem de terras), a deposição de lixo sobre a vegetação e a remoção clandestina de areia (Rocha *et al.*, 2003).

As restingas ao longo da costa brasileira apresentam variações em sua fisionomia, estrutura e composição florística, constituindo cada restinga um ecossistema de complexidade estrutural e heterogeneidade ambiental particulares (Lacerda *et al.*, 1984).

Informações sobre ecossistemas de restinga, em termos de biodiversidade e do grau de conservação dos remanescentes são escassas (Rocha *et al.* 2003). Existem poucos estudos abordando a ecologia de polinização em restingas, podendo-se, entretanto, destacar os trabalhos de Pinheiro (1995) e Vieira (1995), ambos na restinga de Maricá-RJ, Costa & Ramalho (2001) e Oliveira & Gimenes (2004), no Estado da Bahia, e Gaglianone *et al.* (2004) e Cesário (2005), na restinga de Grussaí/Iquipari.

Estudos abordando ecologia da polinização permitem avaliar as interações entre as plantas e seus polinizadores (Faegri & Pijl, 1979), e fornecem informações sobre a estrutura das comunidades. Além disso, tais trabalhos podem auxiliar futuros estudos em áreas de restinga, bem como o manejo adequado desses ecossistemas. Pesquisas dessa natureza em áreas de restinga são urgentes, pois além de nosso conhecimento sobre sua biodiversidade ainda ser fragmentado, esse habitat permanece sob forte pressão antrópica.

Clusia hilariana Schltdl (seção *Phloianthera*) e *Clusia spiritu-sanctensis* Mariz & Weinberg (seção *Cordylandra*) ocorrem em simpatria nas restingas do extremo norte fluminense e sul capixaba (Assumpção & Nascimento, 2000; Assis *et al.* 2004). *C. hilariana* é uma espécie abundante nas restingas dos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo (Assumpção & Nascimento, 2000). Diferentemente, o único registro de *C. spiritu-sanctensis* encontrado na literatura para o Estado do Rio de Janeiro é

na restinga de Grussaí/Iquipari, onde esta espécie apresenta baixa densidade (Assumpção e Nascimento, 2000). Em área de floresta de restinga no Parque Estadual Paulo César Vinha, Setiba, no município de Guarapari (ES), *C. spiritu-sanctensis* também apresenta baixa densidade, sendo considerada uma espécie rara (Assis *et al.*, 2004). Considerando a distribuição restrita de *C. spiritu-sanctensis* e sua ocorrência em baixas densidades, estudos sobre esta espécie são essenciais, assim como a proteção dos ambientes onde ocorre (Pereira & Araújo, 2000).

A diversidade de mecanismos de polinização registrados para *Clusia*, principalmente nas espécies resiníferas, torna os estudos sobre a biologia reprodutiva destas espécies de grande interesse. Informações disponíveis para outras espécies de *Clusia* indicam abelhas como os principais visitantes e polinizadores (Bittrich & Amaral, 1996 e 1997; Lopes & Machado, 1998; Correia *et al.* 1999; Carmo & Franceschinelli, 2002). Aspectos da biologia reprodutiva de *C. hilariana* foram investigados por Faria *et. al.* (2006), na restinga do Parque Nacional de Jurubatiba (RJ). Apesar da alta abundância de *C. hilariana*, estes autores observaram uma taxa de frutificação natural baixa, podendo ser consequência da ineficiência e/ou escassez dos visitantes florais. Desta forma, estudos mais detalhados sobre polinizadores são necessários para compreender melhor a biologia reprodutiva de *C. hilariana*. Nenhuma informação foi encontrada sobre biologia reprodutiva de *C. spiritu-sanctensis*.

Além disso, o estudo da polinização de espécies congêneres simpátricas é de grande interesse, tanto em aspectos ecológicos quanto evolutivos. Mecanismos de isolamento reprodutivo têm sido discutidos como responsáveis pela coexistência de espécies simpátricas. Segundo Levin (1971), o isolamento reprodutivo ocorre através de barreiras reprodutivas que podem atuar antes da polinização (isolamento temporal e floral), entre a polinização e fertilização (incompatibilidade) ou após a fertilização (híbridos inviáveis ou estéreis). Espécies simpátricas podem competir pelos mesmos recursos limitantes, dentre os quais a fauna de polinizadores pode ser incluída. Sendo assim, as barreiras reprodutivas em espécies simpátricas podem ser produto desta competição por polinizadores ou de evolução divergente, sendo selecionadas por reduzirem a hibridização e o fluxo interespecífico de pólen (Levin, 1971; Grant, 1994).

A polinização de espécies congêneres simpátricas foi estudada para alguns gêneros, como *Dalechampia*-Euphorbiaceae (Armbruster & Webster, 1979;

Armbruster & Webster 1981; Armbruster & Herzig, 1984), *Byrsonima*- Malpighiaceae (Barros, 1992), *Vriesea* - Bromeliaceae (Araújo *et al.*, 1994), *Pitcairnia*- Bromeliaceae (Wendt *et. al.*, 2002) e *Heliconia*-Musaceae (da Cruz *et. al.*, 2006). Estes trabalhos indicam que espécies congêneres simpátricas apresentam estratégias para evitar ou minimizar a competição por polinizadores, e desta forma reduzir o fluxo de pólen interespecífico e a hibridização.

Os dados obtidos neste trabalho poderão ajudar a responder as seguintes perguntas:

- *Clusia hilariana* e *Clusia spiritu-sanctensis* compartilham polinizadores em áreas onde ocorrem em simpatria?
- Ocorre sobreposição espacial e temporal dos visitantes florais no forrageamento entre estas duas espécies de *Clusia*?

2.0. Objetivos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Analisar a oferta e disponibilidade de recompensas florais através do estudo da biologia floral.
- Analisar a sobreposição nas guildas de polinizadores entre as duas espécies vegetais, através da identificação dos recursos coletados pelos visitantes florais em plantas masculinas e femininas e do estudo da fenologia reprodutiva das plantas
- Analisar a importância dos polinizadores para *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*, através da identificação de seu sistema reprodutivo
- Analisar padrões de forrageamento dos visitantes florais e identificar os potenciais polinizadores de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*, através do estudo da frequência de visitas, do comportamento de forrageio das abelhas e da morfologia floral destas espécies de *Clusia*

3.0 Metodologia

3.1 Área de estudos

O estudo foi desenvolvido em duas áreas de restinga: restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ) e restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES) (fig.1). Estas duas áreas de restinga encontram-se distantes cerca de 53 Km – em linha reta?pelo litoral.

A restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ- 21 44'S; 41 02'O), último remanescente de restinga da região do extremo norte fluminense, com aproximadamente 4.800ha (Assumpção e Nascimento, 2000) foi avaliada com um estado de conservação intermediário, sendo a especulação imobiliária e a destruição do habitat as maiores ameaças (Rocha *et al.*, 2003). O solo da região é caracterizado como areias quartzosas marinhas associadas a podzol hidromórfico de origem flúvio-marinha (RadamBrasil, 1983). A região apresenta clima tropical sub-úmido a semi-árido. A precipitação pluviométrica média anual varia de 800 a 1.200mm, com as maiores taxas de precipitação nos meses de verão, e as menores no inverno. O vento predominante tem a direção nordeste e atinge as maiores velocidades nos meses de agosto a dezembro (RadamBrasil, 1983).

Segundo Assumpção & Nascimento (1998), a restinga de Grussaí/Iquipari pode ser considerada um novo elemento dentro do mosaico formado pelas outras restingas descritas para o Estado do Rio de Janeiro, devido a ausência de dunas, grande extensão da formação de praia e baixa similaridade de espécies com outras restingas. A Formação de *Clusia* na restinga de Grussaí/Iquipari inicia entre 580-980 m na direção mar-interior, onde pode se observar uma drástica redução na cobertura das espécies psamófilas e um aumento na riqueza de espécies e porte da vegetação. *C. hilariana* aparece dominando o dossel de grande parte das moitas, e há uma redução na densidade de *Schinus terebinthifolius* (aroeira-vermelha) e aparecimento de espécies de Bromeliaceae como *Aechmea nudicaulis*, *Bromelia antiacantha* e *Neoregelia cruenta* (Assumpção & Nascimento, 1998).

A Restinga de Praia das Neves localiza-se no município de Presidente Kennedy (40° 48'W 21°16'S-Datum-SAD 69), região sul do Espírito Santo. Esta é considerada a restinga em melhor estado de preservação na região sul do Espírito Santo (Moreno, 2001), representando uma área de refúgio para a flora e fauna da região. Esta região apresenta grande diversidade de ecossistemas, com terrenos quaternários de origem predominantemente marinha, onde se destacam

ecossistemas de restinga e manguezal, sucedidos por formações terciárias. Muitos destes ecossistemas são pouco conhecidos do ponto de vista científico, e a região encontra-se bastante degradada, devido principalmente às atividades agrícola, pecuária e extrativismo (retirada de rochas calcárias) (Moreno, 2001), sendo necessários estudos e projetos que tenham objetivos de transformar esta restinga em área de preservação permanente (Hoffman *et al.*, 2002).

Na restinga de Grussaí/Iquipari o estudo foi desenvolvido na fitofisionomia denominada Formação de *Clusia* (Fig.1A). Em Praia das Neves o estudo foi realizado em três pontos distintos, descritos abaixo:

Ponto 1- Formação de *Clusia* da restinga de Praia das Neves. Área onde se pode observar um “antigo loteamento”, e que passou por um processo de retirada parcial da vegetação (fig.1D). Este ponto está distante cerca de 1, 20 Km do ponto 2 em linha reta.

Ponto 2- Fragmento de mata de restinga, com cerca de 70ha, em bom estado de conservação, mas sob forte influência antrópica (fig.1B). Este ponto está distante cerca de 1,70 Km do ponto 3 em linha reta.

Ponto 3- Fragmento de mata de restinga, próximo à área de manguezal, em bom estado de conservação, mas também sob forte influência antrópica (fig.1C). Este ponto está cerca de 3 Km distante do Ponto 1.

Nas duas áreas de restinga indivíduos adultos de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* foram marcados com placas numeradas e mapeados com GPS (Global Position System) (fig. 2 e fig. 3) e avaliados quanto à fenologia reprodutiva, biologia floral e ecologia da polinização. Foram marcados 40 indivíduos de *C. hilariana* em cada área de estudo (20 masculinos e 20 femininos). Na restinga de Grussaí/Iquipari foram localizados apenas dois indivíduos femininos de *C. spiritu-sanctensis*, já na restinga de Praia das Neves foram marcados 21 indivíduos (16 masculinos e 5 femininos). Foram consideradas adultas aquelas plantas que já haviam atingido a fase reprodutiva (plantas que floresceram no ano).



Figura 1: Áreas de estudo. A: Formação de *Clusia* na restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ), B-D: Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES), B: Formação de *Clusia* em área mais impactada, C: Fragmento de mata, D: Fragmento próximo a área de manguezal.



Figura 2: Indivíduos reprodutivos de *Clusia hilariana* amostrados na restinga de Grussaí/Iquipari mapeados sobre imagem de satélite. Os círculos representam indivíduos femininos, os quadrados indivíduos masculinos de *C. hilariana*, e as cruzes representam os indivíduos femininos de *Clusia spiritu-sanctensis*.



Figura 3: Indivíduos reprodutivos de *Clusia* amostrados em Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES) mapeados sobre imagem de satélite. Os círculos representam indivíduos femininos (círculos brancos- *Clusia hilariana* e círculos verdes-*Clusia spiritu-sanctensis*) e os quadrados representam indivíduos masculinos (quadrados brancos-*Clusia hilariana* e quadrados azuis-*Clusia spiritu-sanctensis*). A: Visão geral mostrando os três pontos estudados; 1A: Ponto 1 - Formação de *Clusia* em área mais impactada, 2A: Ponto 2 - Fragmento de mata, 3A: Ponto 3 - Fragmento próximo a área de manguezal.

3.2 Biologia floral

A morfologia floral de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* foi descrita a partir de flores frescas coletadas no campo. No laboratório mensurações foram feitas com paquímetro de aço. Nas flores masculinas de *C. hilariana* (n=40 flores) mediu-se: diâmetro da corola, diâmetro do sinandro (cone de estames) e espessura do anel de resina. Nas flores femininas de *C. hilariana* (n= 40 flores) foram medidos: diâmetro da corola, diâmetro do gineceu, diâmetro dos estigmas, espessura do anel de resina, e contou-se o número de estigmas. Nas flores masculinas de *C. spiritu-sanctensis* (n= 37 flores) foram medidos: diâmetro da corola e do sinandro e feita a contagem do número de estames. Nas flores femininas de *C. spiritu-sanctensis* (n= 5 flores) mediu-se: diâmetro da corola, diâmetro do gineceu, diâmetro dos estigmas e contou-se o número de estigmas.

Para verificar a presença de glândulas de odor, 10 flores de *C. hilariana* (5 flores de cada sexo) e 6 flores de *C. spiritu-sanctensis* (4 masculinas e 2 femininas) foram mergulhadas em solução de vermelho neutro durante 30 minutos (Dafni, 1992) e observada a existência e localização de pigmentação.

Lâminas de referência contendo pólen de botões florais em pré-antese das duas espécies de *Clusia* foram confeccionadas em gelatina glicerinada (segundo Dafni, 1992) para comparação em microscopia óptica com o pólen retirado do corpo dos visitantes florais.

Botões florais em pré-antese de *C. hilariana* (n= 32 botões masculinos e n= 24 botões femininos) e *C. spiritu-sanctensis* (n= 26 botões masculinos e n= 8 botões femininos) foram marcados com fita colorida e monitorados, em indivíduos masculinos e femininos, e observados quanto ao período de antese (horário de abertura e duração das flores) e disponibilidade de pólen e resina ao longo do dia (6-16h). Pólen foi considerado disponível aos visitantes florais a partir do momento em que os grãos estavam expostos nas anteras. Resina foi considerada disponível aos visitantes no momento em que era possível visualizar a secreção deste recurso pelas flores.

Botões florais masculinos em pré-antese de *C. hilariana* (n= 3 botões masculinos) foram coletados no campo e monitorados em laboratório quanto ao modo de exposição do pólen. As flores foram manipuladas, raspando-se periodicamente os grãos de pólen expostos pelas anteras abertas no sinandro, com auxílio de uma espátula, e monitoradas para verificar o padrão de abertura das

anteras e exposição do pólen, anotando-se o intervalo de tempo em que cada nova exposição de pólen ocorria. Observações quanto ao modo de secreção da resina foram feitas diretamente para *C. hilariana* (5 flores de cada sexo) e *C. spiritu-sanctensis* (5 flores masculinas e 3 flores femininas) diretamente no campo. Botões florais em início de antese foram marcados e após serem visitados para coleta de resina observou-se o intervalo de tempo para que a resina fosse secretada novamente pelas flores.

Solução de peróxido de hidrogênio foi utilizada para verificar a receptividade do estigma em flores femininas de *C. hilariana* (n=10) e *C. spiritu-sanctensis* (n=6) (Dafni, 1992). As flores utilizadas para este experimento foram encobertas com sacos de papel semi-permeável em estágio de pré-antese, e durante 3 dias consecutivos foi aplicado peróxido de hidrogênio em porções estigmáticas diferentes de cada flor, no período da manhã (8h) e à tarde (16h).

3.3 Estudo da fenologia reprodutiva

Observações fenológicas foram realizadas de setembro/2005 a fevereiro/2007, em indivíduos de *Clusia* marcados na restinga de Grussaí/IQUIPARI e em Praia das Neves. Foi determinado o período de ocorrência das fenofases floração, compreendendo período com produção de botões e flores abertas, e frutificação. As observações fenológicas foram realizadas a cada 15 dias, durante o período de floração, e mensalmente fora deste período.

A intensidade de floração e frutificação foi avaliada em 40 indivíduos de *C. hilariana* (20 masculinos e 20 femininos) em cada área de restinga estudada. Para *C. spiritu-sanctensis* foram avaliados dois indivíduos femininos na restinga de Grussaí/IQUIPARI e 21 indivíduos (16 masculinos e 5 femininos) na restinga de Praia das Neves.

A intensidade destas fenofases foi quantificada pela metodologia proposta por Fournier (1974), a qual avalia individualmente as fenofases, considerando cinco categorias de intensidade, listadas abaixo:

0-Ausência da fenofase (floração ou frutificação)

1-Presença da fenofase entre 1 e 25%

2-Presença da fenofase entre 26 e 50%

3-Presença da fenofase entre 51 e 75%

4-Presença da fenofase entre 76 e 100%

A intensidade das fenofases foi calculada para cada indivíduo dividindo-se visualmente a área da copa em quatro quadrantes (25% cada) e estimando quanto dessa área estava coberto com botões florais, flores abertas ou frutos.

Considerando a intensidade de cada fenofase foi calculada a porcentagem de Fournier através da seguinte fórmula:

$$\% \text{ de Fournier} = (\sum \text{ Fournier} / 4 N) \times 100$$

Onde \sum Fournier =somatório das categorias de Fournier para cada indivíduo e N= número de indivíduos da amostra.

A normalidade da distribuição dos dados fenológicos foi testada utilizando o teste de Shapiro Wilk (Zar 1996). Como os dados não apresentaram distribuição normal foi realizada a análise de correlação de Spearman (r_s) entre a porcentagem de Fournier de cada fenofase e as variáveis climáticas (temperatura média, precipitação e umidade relativa) para cada espécie de *Clusia*. Análise de correlação Spearman (r_s) foi utilizada também para verificar a associação da floração entre plantas masculinas e femininas de cada espécie de *Clusia*. A análise estatística foi realizada através do programa R-system, versão 2.2.1 (2005).

Os dados meteorológicos apresentados neste trabalho foram obtidos da Estação Climatológica Principal de Campos dos Goytacazes.

3.4 Experimentos de polinização

A taxa de frutificação natural (controle) foi acompanhada para *C. hilariana* nas duas áreas de restinga estudadas e para *C. spiritu-sanctensis* na restinga de Praia das Neves, durante dois períodos reprodutivos consecutivos – 2005/2006 e 2006/2007. Botões florais de plantas femininas foram marcados com fita colorida e monitorados mensalmente quanto à formação e desenvolvimento dos frutos.

Experimentos de polinização manual cruzada foram realizados em 2006/2007 para *C. hilariana* nas duas áreas de restinga e para *C. spiritu-sanctensis* na restinga de Praia das Neves. Botões florais femininos em pré-antese foram isolados com sacos de papel semi-permeável e os testes realizados no dia seguinte, por ocasião da antese. Pólen de flores masculinas recém-abertas foi transferido manualmente para os estigmas de flores femininas. Nos experimentos de polinização manual cruzada de *C. hilariana* o pólen foi depositado nos estigmas sem contato com a resina, já para *C. spiritu-sanctensis* o pólen foi depositado nos estigmas misturado com a resina.

Experimentos para verificar a produção de frutos em flores não fertilizadas (agamospermia) foram realizados para as duas espécies de *Clusia*, nas duas áreas de restinga estudadas. Botões florais femininos em pré-antese foram cobertos com sacos de papel semi-permeável e monitorados semanalmente até a senescência ou a formação de frutos.

Resultados obtidos nos experimentos do sistema reprodutivo foram submetidos à análise estatística através do teste do χ^2 (Zar, 1996).

3.5 Amostragem dos visitantes florais

Visitantes florais de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* foram capturados nas duas áreas de restinga, para criação de uma coleção de referência, identificação das espécies e estudo do material polínico aderido ao corpo. Estes exemplares-testemunho foram capturados com auxílio de rede entomológica e sacrificados em frascos mortíferos contendo acetato de etila e, em laboratório, montados em alfinetes entomológicos e etiquetados com dados relativos à área de estudo, data e hora da captura, identificação da espécie sobre a qual foi capturado e nome do coletor.

Na restinga de Praia das Neves, foi realizada uma coleta de machos de Euglossina com iscas aromáticas (Eucaliptol e Cinamato de metila) para identificar as espécies de abelhas desta tribo que ocorrem nesta restinga. A essência Cinamato de metila foi solubilizada em etanol 95%, na proporção de 10 ml de etanol para 1 g da essência sólida. O Eucaliptol foi utilizado como substância pura. Embora os machos não sejam visitantes florais, a identificação taxonômica de espécies da tribo Euglossina é realizada principalmente através dos machos. A coleta e identificação destes machos auxiliaram na confirmação da identificação taxonômica das fêmeas de *Euglossa* coletadas nas flores de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*. Na restinga de Grussaí/Iquipari este procedimento não foi necessário, pois para esta restinga há informações disponíveis sobre a fauna de abelhas (Gaglianone *et al.*, 2004).

A identificação das abelhas foi realizada com uso de chaves taxonômicas, comparação com o material da coleção entomológica e consulta a especialistas. Os visitantes florais foram depositados na coleção do Museu Entomológico do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) do Centro de Ciências de

Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

O índice de similaridade de Sorensen qualitativo (Magurran, 1988-indicar edição mais atual) foi utilizado para comparar as espécies visitantes florais entre as espécies de *Clusia* e entre as áreas de estudo.

3.6 Estudo do comportamento de forrageio e morfologia dos visitantes florais

Observações do comportamento de forrageio e frequência dos visitantes florais de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* foram realizadas nas duas áreas de estudos, no período de nov/2005-jan/2006 e out-nov/2006, em dias ensolarados, sob condições climáticas semelhantes, desconsiderando-se o horário de verão. Foram realizadas 56 horas de observação em flores de *C. hilariana* na restinga de Grussaí/Iquipari (26 horas em flores masculinas e 30 horas em flores femininas) e 64 horas de observação na restinga de Praia das Neves (24 horas em flores masculinas e 40 horas em flores femininas). Para *C. spiritu-sanctensis* foram realizadas 140 horas de observação em flores na restinga de Praia das Neves (76 horas em flores masculinas e 64 horas em flores femininas) e 36 horas de observação em flores dos indivíduos femininos localizados na restinga de Grussaí/Iquipari.

A frequência relativa de visitas em flores masculinas e femininas de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* foi estimada dividindo-se o número de visitas de cada espécie de abelha a um conjunto de flores pré-determinado, pelo número de visitas total às mesmas flores no período de observação (entre 5-17h). Foram realizados 40 minutos de observação a cada horário, em flores masculinas e femininas. De acordo com sua frequência, os visitantes foram classificados em: muito comuns (mais de 60% das visitas); comuns (20 a 60 % das visitas) ou raros (menos de 20% das visitas) (Lopes & Machado, 1996). Na restinga de Praia das Neves, as observações de frequência dos visitantes florais foram realizadas tanto no período com sobreposição da floração de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*, como em período em que somente uma destas espécies florescia. Estes dados foram analisados em conjunto e separadamente, a fim de investigar alguma preferência dos visitantes florais em relação às duas espécies de *Clusia* estudadas.

Flores femininas de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* utilizadas nas observações de frequência foram marcadas e acompanhadas quanto à formação de frutos. Para medir a associação entre a taxa de frutificação e a frequência de visitas a estas flores observadas foi realizada uma análise de correlação de Spearman (r_s). Avaliou-se também a correlação entre o número de flores observadas e o número de visitas a estas flores. A análise estatística foi realizada através do programa R-system, versão 2.2.1 (2005).

Para cada espécie visitante floral foi registrado:

- Tempo total das visitas- tempo de forrageio cronometrado desde a primeira visita floral observada em uma planta, até o visitante deixar aquela planta.
- Número de visitas em seqüência na mesma planta - número total de vezes em que o visitante pousa na flor e coleta recursos, independente se realizada na mesma flor.
- Número de flores visitadas em seqüência na mesma planta- registrado a partir da primeira visita floral observada em uma planta, até o visitante deixar aquela planta

Caracteres comportamentais, como local de pouso, recurso coletado, áreas de deposição de pólen ou resina no corpo dos visitantes e o comportamento intrafloral, foram analisados através de filmagens (Câmera Sony TRV 361) e observações diretas. Áreas de deposição de pólen e resina foram confirmadas no estereomicroscópio.

Visitantes florais capturados foram analisados em microscópio estereoscópio (Stemi SV 11) quanto a presença e localização de grãos de pólen no corpo. O pólen retirado do corpo dos visitantes florais foi montado em lâminas com gelatina glicerizada (Dafni, 1992), para análise e comparação em microscopia óptica com o laminário de referência de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*, e também para verificar a ocorrência de outros tipos polínicos.

A taxa de visitas [N° visitas/ (N° flores x tempo em horas)] foi calculada separadamente para flores masculinas e femininas de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*. Foi calculada também a taxa de visitas para coleta de pólen e resina ao longo do dia em flores de *C. hilariana* e para coleta de resina em flores de *C. spiritu-sanctensis*. A taxa de forrageio de pólen ou resina (N° flores visitadas / tempo em horas) foi calculada para cada espécie visitante floral. O tempo médio de uma visita

foi calculado para cada espécie visitante, dividindo-se o número de visitas observadas em seqüência pelo tempo total destas visitas (em segundos).

Mensurações de comprimento e largura do corpo dos visitantes florais foram feitas com paquímetro. Análise de correlação de Spearman (r_s) foi realizada entre o tempo médio de uma visita e o tamanho corporal de cada espécie visitante. A análise estatística foi realizada através do programa R-system, versão 2.2.1 (2005).

Os visitantes florais foram classificados em polinizadores principais (transferem pólen para o estigma das flores femininas com mais eficiência que os outros polinizadores) ou polinizadores ocasionais, de acordo com seu comportamento de forrageio, freqüência, porte corporal e presença de pólen no corpo.

4.0 Resultados

4.1 Biologia floral

C. hilariana e *C. spiritu-sanctensis* são plantas dióicas, de porte arbóreo. Suas flores são actinomorfas, pentâmeras, planas, com os órgãos sexuais totalmente expostos, possuem osmóforos na base das pétalas, e apresentam-se em inflorescências terminais do tipo umbela. Dados de morfologia floral de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* são apresentados na Tabela 1.

Flores de *C. hilariana* apresentam pétalas completamente brancas ou com a base das pétalas rósea. Nas flores femininas de *C. hilariana* (fig.4A) o gineceu é central, de formato arredondado e circundado pelo anel de estaminódios, que secreta resina. Os estigmas são sésseis, úmidos e não papilosos, localizam-se no ápice do gineceu, variam em número de seis a nove (Tab. 1). Nas flores masculinas de *C. hilariana* (fig.4B) os estames estão dispostos no centro da flor, formando um sinandro. Na base deste sinandro há um anel de estaminódios, responsável pela secreção de resina. As anteras são numerosas e pequenas, abrindo-se por pequenos poros. Flores masculinas e femininas de *C. hilariana* foram estatisticamente semelhantes em relação ao diâmetro da corola e espessura do anel de resina (Tab. 1).

Flores de *C. spiritu-sanctensis* possuem pétalas completamente brancas. Nas flores femininas de *C. spiritu-sanctensis* o gineceu localiza-se no centro da flor e é circundado por uma fileira de cinco estaminódios (fig. 4C e Tab.1). Estes estaminódios possuem forma colunar e apresentam anteras atrofiadas no ápice, que

são responsáveis pela secreção de resina nas flores femininas. Os cinco estigmas localizam-se no ápice do gineceu, formando um círculo, são sésseis, úmidos e não papilosos. Nas flores masculinas de *C. spiritu-sanctensis* (fig. 4D) o androceu apresenta formato de disco, localiza-se no centro da flor e possui vários estames (Tab.1), que são responsáveis pela secreção da resina. Cinco pistilóides foram observados no centro do androceu (Tab.1). Os estames são colunares e dispõem-se em círculos, com os estames maiores ocupando o centro do disco e os menores a periferia. As anteras localizam-se no ápice dos estames e abrem-se por fendas longitudinais. Flores masculinas e femininas de *C. spiritu-sanctensis* foram estatisticamente semelhantes em relação ao diâmetro da corola, mas a área de secreção de resina é maior em flores masculinas (Tab. 1).

O processo de antese de *C. hilariana* é lento e assincrônico. Flores em diferentes estágios de antese (determinadas pela distensão das pétalas) podiam ser observadas a partir das 6h (fig. 5). As flores de *C. hilariana* ficam abertas por 2-3 dias, sendo que no segundo dia de antese as pétalas encontram-se escurecidas, mas as flores ainda oferecem recursos e são visitadas. Flores femininas encontram-se receptivas durante todo o período de antese. A produção de resina inicia com o processo de distensão das pétalas. Botões em início de antese apresentam pouca resina, sinandro sem grãos de pólen expostos, e estruturas reprodutivas (estames e estigmas) não visíveis. Botões semi-abertos apresentam o anel de estaminódios coberto com resina, sinandro coberto por grãos de pólen e estruturas reprodutivas (estames e estigmas) visíveis. Flores de *C. hilariana* apresentam mais de um evento de exposição dos grãos de pólen (dois a três eventos), e também secretam resina de duas a três vezes após esta ser retirada pelos visitantes florais, em intervalos de aproximadamente duas horas.

C. spiritu-sanctensis apresenta um processo de antese rápido e sincrônico. As flores iniciam a antese a partir das 6h e por volta de 10h flores masculinas e femininas já estão com as pétalas completamente distendidas (fig. 6). As flores de *C. spiritu-sanctensis* ficam abertas cerca de 2-3 dias, sendo que no segundo dia de antese as pétalas encontram-se escurecidas, mas semelhante a *C. hilariana*, as flores ainda oferecem recursos e são visitadas. Flores femininas encontram-se receptivas durante todo o período de antese. Nas primeiras horas de antese (6-8h) ocorre o início da produção de resina em flores masculinas e femininas. Durante este intervalo, as anteras em flores masculinas ainda não estão totalmente cobertas

por resina, e os grãos de pólen são expostos sem se misturar com a resina. A partir de 10h a resina já cobre totalmente as anteras, misturando-se com os grãos de pólen. Flores masculinas e femininas de *C. spiritu-sanctensis* secretam resina cerca de duas a três vezes após esta ser retirada pelos visitantes florais, em intervalos de aproximadamente duas horas.

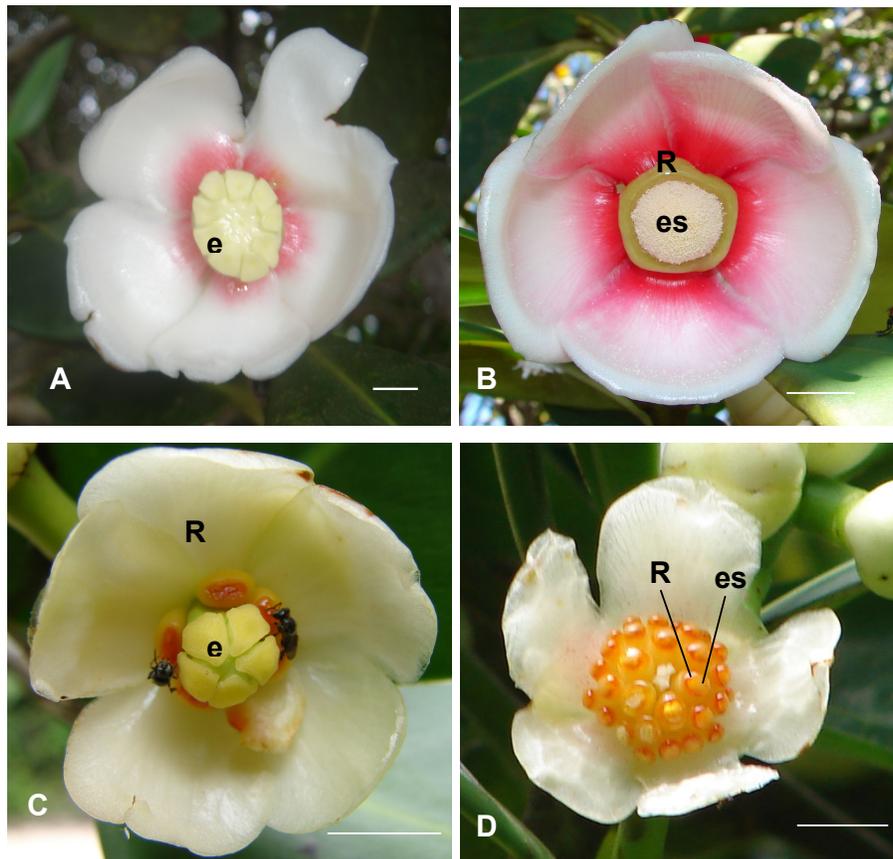


Figura 4: Flores de *Clusia*. A: *Clusia hilariana* feminina, B: *Clusia hilariana* masculina, C: *Clusia spiritu-sanctensis* feminina, D: *Clusia spiritu-sanctensis* masculina. e= estigmas, es=estames, R=resina. Os traços em cada foto representam 1cm.

Tabela 1: Dimensões das flores (cm) de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritu-sanctensis*. Mediana, valor mínimo e máximo são apresentados. na = não apresenta. Valores seguidos da mesma letra na mesma linha não são estatisticamente diferentes pelo teste T (nível de significância de 0,05%).

<i>Clusia hilariana</i>		
Mediana (Valores mínimo e máximo)		
	Flores Masculinas	Flores Femininas
Diâmetro corola	5,86 (4,60 - 6,95) a	6,15 (5,74 - 6,81) a
Espessura anel resina	0,48 (0,3 - 0,66) b	0,54 (0,41 - 0,68) b
Diâmetro sinandro	1,23 (0,81 - 1,80)	na
Diâmetro gineceu	na	1,47 (1,03 - 1,58)
Diâmetro estigmas	na	0,43 (0,34 - 0,50)
Nº estigmas	na	8,0 (6,0 - 9,0)
Nº flores (nº plantas)	40 (8)	40 (8)
<i>Clusia spiritu-sanctensis</i>		
Mediana (Valores mínimo e máximo)		
	Flores Masculinas	Flores Femininas
Diâmetro corola	4,1 (3,4 - 4,5) c	3,3 (2,5 - 3,6) c
Diâmetro sinandro	1,8 (1,5 - 2,3)	na
Diâmetro gineceu	na	0,89 (0,80 - 0,95)
Largura estaminódios	na	0,9 (0,8 - 1,2)
Altura gineceu	na	1,4 (1,0 - 1,9)
Nº estigmas	na	5,0 (5,0 - 5,0)
Nº estames	26 (24 - 43)	na
Nº estaminódios	na	5 (5-5)
Nº pistilóides	5,0 (5,0 - 5,0)	na
Nº flores (nº plantas)	37(5)	5 (2)

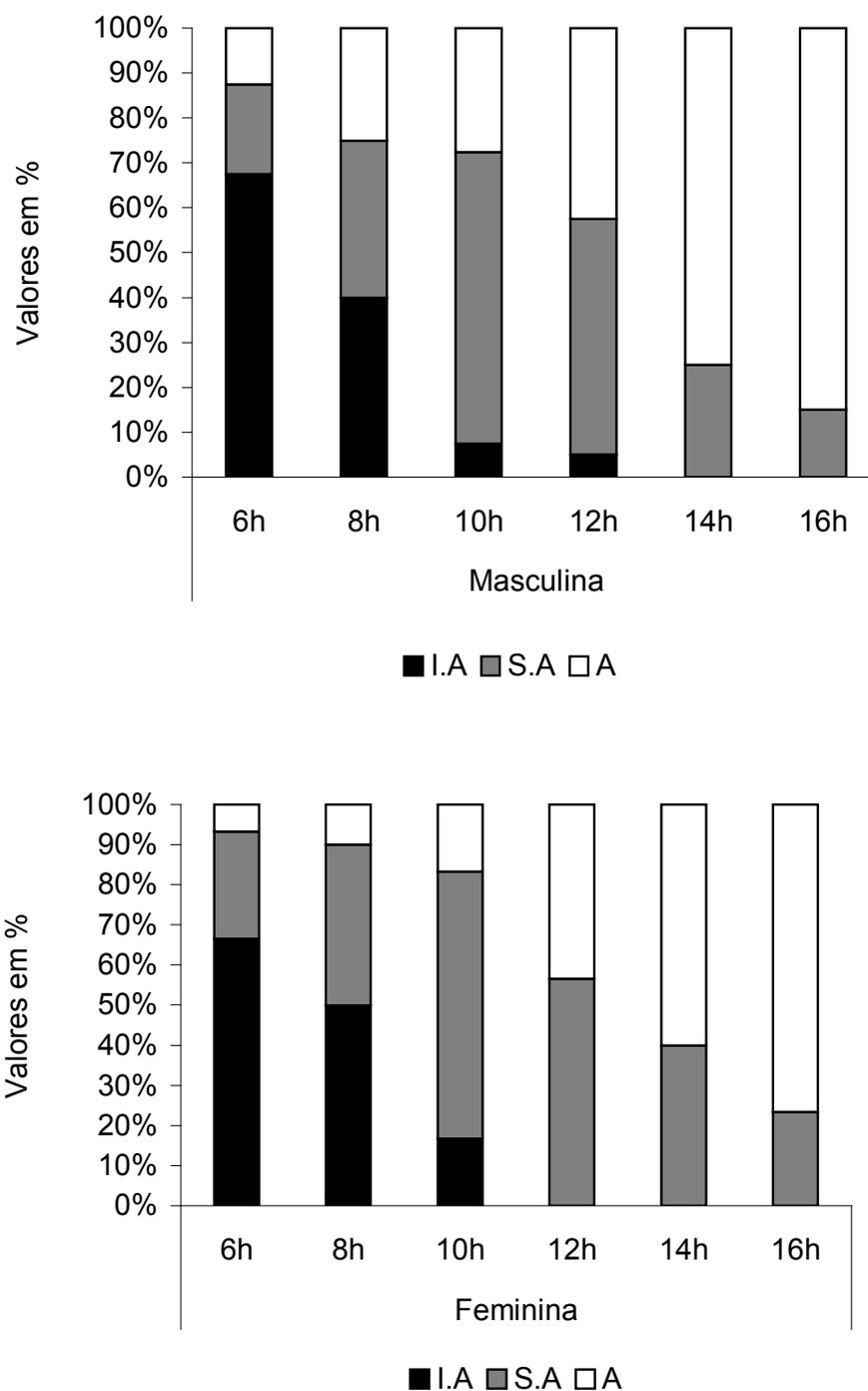


Figura 5: Processo de antese em flores masculinas e femininas de *Clusia hilariana* na restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ), indicado pela abundância relativa de flores de primeiro dia (n=32 flores masculinas, n=24 flores femininas) nos diferentes estágios: I.A=flores em início de antese, S.A=flores semi-abertas, A=flores totalmente abertas.

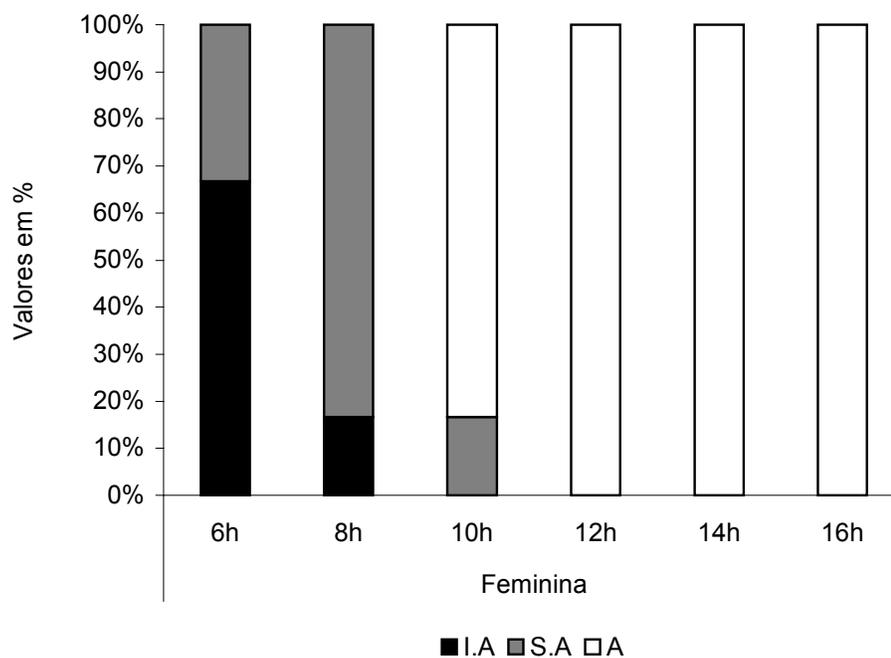
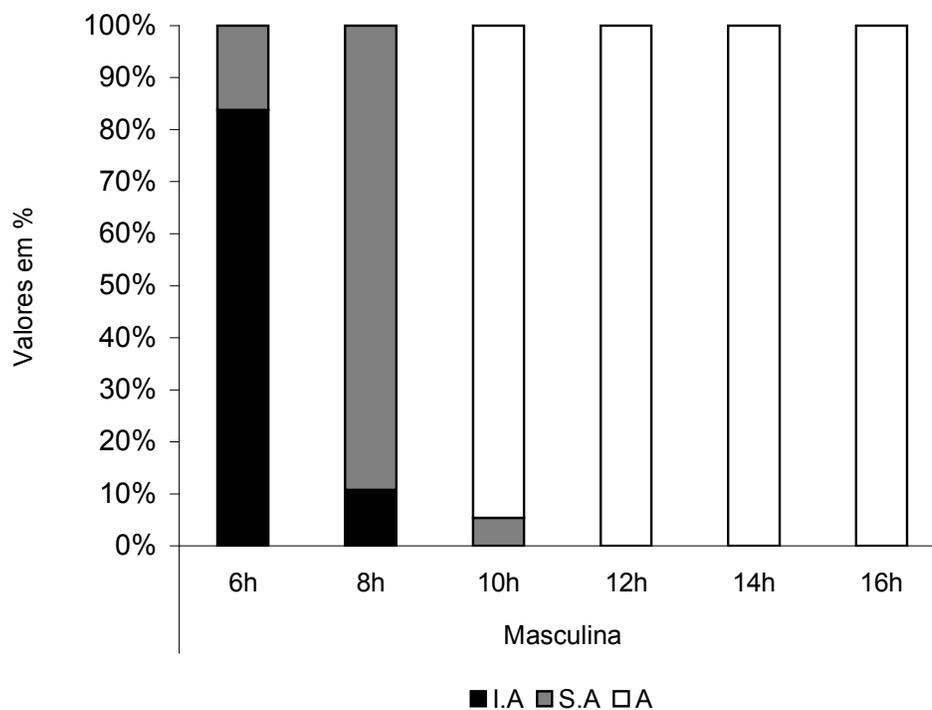


Figura 6: Processo de antese em flores masculinas e femininas de *Clusia spiritusanctensis* na restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES), indicado pela abundância relativa de flores de primeiro dia (n= 26 flores masculinas, n= 8 flores femininas) nos diferentes estágios: I.A=flores em início de antese, S.A=flores semi-abertas, A=flores totalmente abertas.

4.2 Fenologia reprodutiva

Nas duas áreas de estudo, *C. hilariana* floresceu nos meses de setembro a fevereiro, apresentando picos na produção de botões florais e flores nos meses de outubro e novembro, período quente e úmido. Os frutos de *C. hilariana*, assim como de *C. spiritu-sanctensis*, são do tipo cápsula, de coloração verde, com estigmas persistentes e câmaras onde se localizam as sementes; eles foram observados desde meados de outubro até março, com pico de frutificação nos meses de janeiro e fevereiro, período de menor precipitação (fig. 7: A e B e fig. 8). A floração de *C. hilariana* não apresentou correlação significativa com os fatores climáticos avaliados, já a intensidade de frutificação apresentou correlação positiva significativa com a temperatura média ($r_s=0,810$, $p<0,01$) e a precipitação ($r_s=0,667$, $p<0,01$). A floração entre plantas masculinas e femininas de *C. hilariana* apresentou correlação positiva significativa, tanto na restinga de Grussaí/Iquipari ($r_s=0,924$, $p<0,01$), quanto na restinga de Praia das Neves ($r_s=0,973$, $p<0,01$).

Em 2005/2006, *C. spiritu-sanctensis* floresceu nos meses de dezembro/janeiro, seqüencialmente ao pico de floração de *C. hilariana* na restinga de Praia das Neves. Em 2006, esta espécie floresceu nos meses de outubro a janeiro, apresentando pico de floração no mês de dezembro (fig.7). Nos dois períodos reprodutivos avaliados *C. spiritu-sanctensis* floresceu na estação quente e úmida, frutificando na estação seca (fig. 8). Frutos de *C. spiritu-sanctensis* foram observados a partir de dezembro e levaram cerca de 10 meses para alcançar a maturidade (fig.7D). Na restinga de Grussaí/Iquipari, os dois indivíduos observados de *C. spiritu-sanctensis* floresceram apenas em 2006, nos meses de novembro a janeiro, apresentando frutos a partir de dezembro (fig.7C). Não foi observada correlação significativa entre as fenofases de floração e frutificação de *C. spiritu-sanctensis* e as variáveis climáticas. A floração entre plantas masculinas e femininas de *C. spiritu-sanctensis* apresentou correlação positiva significativa ($r_s=0,936$, $p<0,01$).

O período de floração de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* foi maior e mais intenso no ano de 2006 do que no ano de 2005, nas duas áreas de estudo (fig. 7). A floração foi sincrônica entre plantas masculinas e femininas para cada espécie de *Clusia*, e durante todo o período reprodutivo, plantas masculinas apresentaram maior intensidade de floração do que plantas femininas (fig. 7).

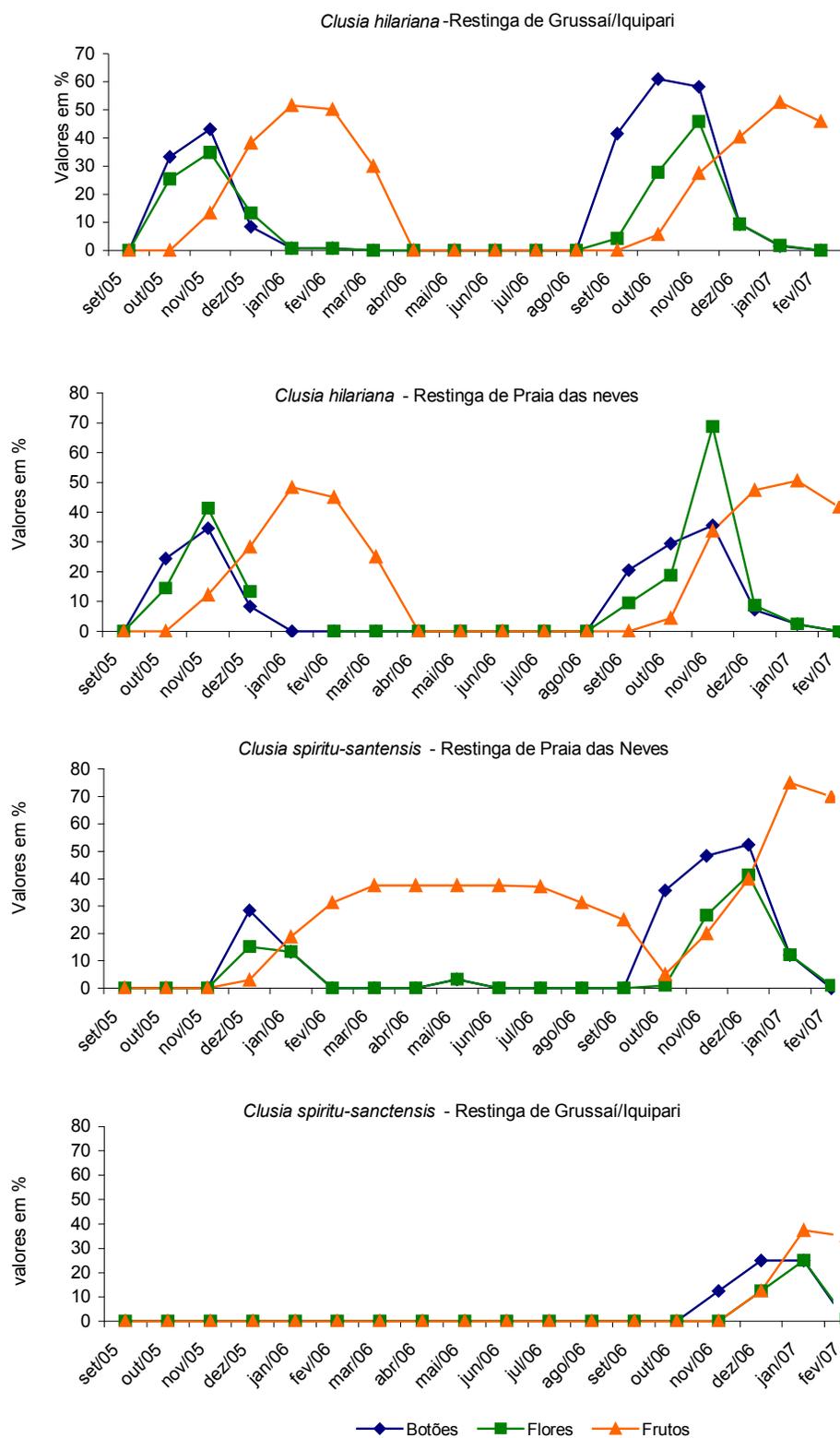
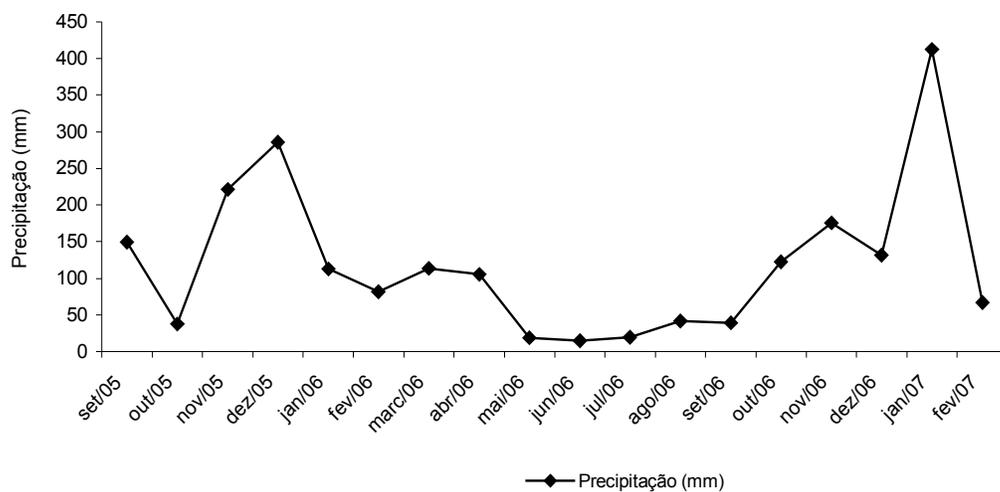
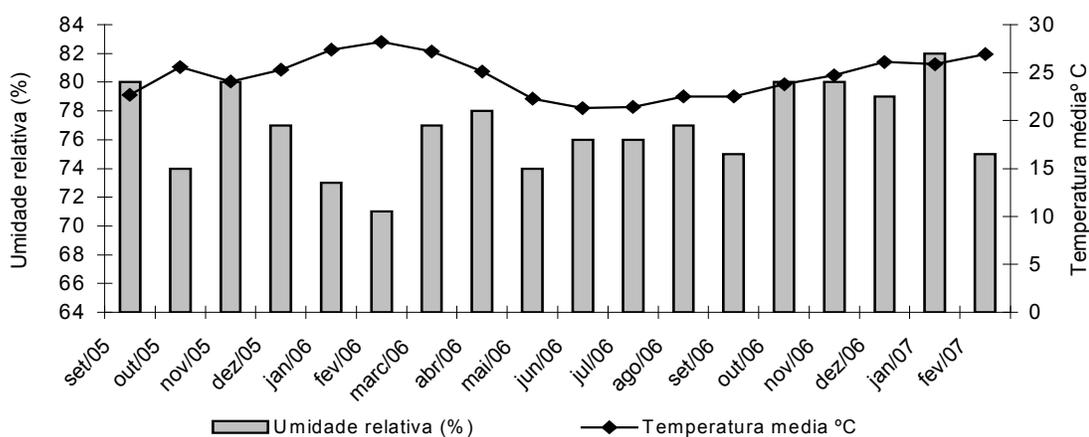


Figura 7: Fenologia reprodutiva de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritu-sanctensis* expressa pela porcentagem de Fournier na restinga de Grussaí/IQUIPARI (São João da Barra, RJ), e Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES).



A



B

Figura 8: Diagramas Climáticos referentes ao período de setembro/2005 a fevereiro/2007. A: Precipitação (mm), B: Umidade Relativa (%) e Temperatura média (°C). Dados da Estação Climatológica Principal de Campos dos Goytacazes.

4.3 Experimentos de polinização

C. hilariana e *C. spiritus-sanctensis* não apresentaram formação de frutos sem polinização (Tab. 2). A taxa de frutificação natural de *C. hilariana* em 2005/2006 foi menor do que em 2006/2007, nas duas áreas de estudo. A taxa de frutificação obtida nos experimentos de polinização manual cruzada foi maior que a taxa de frutificação natural de *C. hilariana*, nas duas áreas de estudo (Tab. 2 e 3).

A taxa de frutificação natural de *C. spiritus-sanctensis* não diferiu entre os dois períodos reprodutivos avaliados na restinga de restinga de Praia das Neves (2005/2006 e 2006/2007). Não foi detectada diferença estatística entre a taxa de frutificação natural e a taxa de frutificação obtida através dos experimentos de polinização manual cruzada de *C. spiritus-sanctensis* na restinga de Praia das Neves (Tab. 2 e 3). Na restinga de Grussaí/Iquipari, *C. spiritus-sanctensis* floresceu somente em 2006/2007, atingindo 75% de frutificação sob condições naturais (Tab. 2).

Plantas que pudessem ser híbridos não foram observadas nas áreas de estudo, apesar de não terem sido realizados experimentos para verificar a compatibilidade entre as espécies de *Clusia*.

Tabela 2: Porcentagem de frutos formados em diferentes experimentos de polinização de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis*. I= restinga de Iquipari (São João da Barra, RJ), PN= restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES). Os valores entre parênteses indicam número de frutos formados e o número de flores testadas, n= número de indivíduos.

	Agamospermia	Frutificação natural 2005	Frutificação natural 2006	Polinização manual cruzada-2006
<i>C. hilariana</i> ^{I n=10}	0 (0/50)	40 (24/60)	78 (78/100)	94 (47/50)
<i>C. hilariana</i> ^{PN n=10}	0 (0/45)	35 (11/54)	75 (89/118)	98 (51/52)
<i>C. spiritus-sanctensis</i> ^{I n=2}	0 (0/4)	---	75 (6/8)	---
<i>C. spiritus-sanctensis</i> ^{PN n=3}	0 (0/10)	82 (18/22)	84 (37/44)	70 (7/10)

Tabela 3: Análise estatística (χ^2) dos resultados obtidos nos experimentos de polinização de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis*. NS= diferença não significativa, S= diferença significativa. PC= polinização manual cruzada, FN= frutificação natural. I= restinga de Iquipari (São João da Barra, RJ), PN= restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES).

<i>Clusia hilariana</i>				
Comparação	Graus de liberdade	Valor calculado	Valor tabelado (1%)	Resultado
FN-2005 ^I X FN-2006 ^I	1	29,82	6,63	S
FN-2005 ^{PN} X FN-2006 ^{PN}	1	32,3	6,63	S
FN-2006 ^I X PC-2006 ^I	1	10,62	6,63	S
FN-2006 ^{PN} X PC-2006 ^{PN}	1	22,66	6,63	S
<i>Clusia spiritus-sanctensis</i>				
Comparação	Graus de liberdade	Valor calculado	Valor tabelado (1%)	Resultado
FN-2005 ^{PN} X FN-2006 ^{PN}	1	0,054	6,63	NS
PC-2006 ^{PN} X FN-2006 ^{PN}	1	1,08	6,63	NS

4.4 Visitantes florais

Flores de *C. hilariana* e *C. spiritus-sanctensis* foram visitadas exclusivamente por abelhas fêmeas, pertencentes a sete gêneros (Tab.4).

O índice de similaridade (Sorensen) observado entre os visitantes florais de *C. hilariana* na restinga de Grussaí e Praia das Neves foi 0,667. O número de espécies visitantes florais foi maior na restinga de Praia das Neves, devido à presença dos Meliponina (*Plebeia spp.*) que foram observados somente nesta restinga. Na restinga de Praia das Neves, *C. hilariana* e *C. spiritus-sanctensis* apresentaram espécies visitantes florais semelhantes (Tab. 4). O índice de similaridade (Sorensen) calculado para *C. hilariana* e *C. spiritus-sanctensis* nesta restinga foi 0,824.

Flores de *C. hilariana* foram visitadas para coleta de pólen e resina. Espécies coletoras de pólen (*Apis mellifera* Lapeletier, 1836; *Augochloropsis notophos* Vachal, 1903; *Augochloropsis sp. 1* e *Xylocopa ordinaria* Smith, 1874) visitaram flores femininas, mas não coletaram nenhum recurso, sendo estas visitas consideradas por engano (fig. 9). Flores de *C. spiritus-sanctensis* foram visitadas apenas para coleta de resina. Apesar do pólen ser exposto no início da antese, sem contaminação com a resina, não foi observada coleta ativa de pólen em *C. spiritus-sanctensis* (Tab.4).

4.5 Comportamento de forrageio dos visitantes florais

Espécies de *Augochloropsis* foram os únicos visitantes comuns (20% < frequência relativa < 60%) em flores masculinas e femininas de *C. hilariana* na restinga de Grussaí/Iquipari. Os demais visitantes de *C. hilariana* nesta restinga foram raros (frequência < 20%) em flores masculinas e femininas (exceto *Apis mellifera* que foi comum em flores masculinas e espécies de *Eufriesea* que foram comuns em flores femininas). Na restinga de Praia das Neves apenas *Plebeia spp.* foram visitantes comuns em flores masculinas e femininas de *C. hilariana*. *Euglossa cordata* (Linnaeus, 1758) foi comum em flores femininas, e rara em flores masculinas, já *A. mellifera* foi comum em flores masculinas, e rara em flores femininas. As outras abelhas visitantes, *Augochloropsis spp.*, *Eufriesea surinamensis* (Linnaeus, 1758), *Eufriesea smaragdina* (Perty, 1833), *Hypanthidium foveolatum* (Alfken, 1930) e *X. ordinaria* foram raras em flores masculinas e femininas de *C. hilariana* (fig. 9 e Tab. 4).

Na restinga de Grussaí/Iquipari flores de *C. spiritu-sanctensis* foram visitadas somente por *Eufriesea spp.* (Tab. 4), sendo registradas apenas duas visitas durante todo o período de observação (36 horas). Dentre os visitantes de *C. spiritu-sanctensis*, na restinga de Praia das Neves, *Euglossa cordata* e *Eufriesea surinamensis* e *Eufriesea smaragdina* foram raros em flores femininas, enquanto espécies de *Plebeia* foram comuns em flores femininas e raras em flores masculinas (fig. 9 e Tab. 4).

Tanto no período sem quanto no período com sobreposição de florescimento, espécies de Meliponina (*Plebeia spp.*) foram os visitantes mais frequentes em flores de *C. hilariana*, enquanto representantes dos Euglossina (*E. cordata*, *E. surinamensis* e *E. smaragdina*) foram os mais frequentes em flores de *C. spiritu-sanctensis*. Já *Hypanthidium foveolatum* foi observado nos dois períodos visitando somente flores de *C. hilariana*. (fig. 10).

A taxa de visitas foi maior no período da manhã e ao longo do dia flores masculinas foram mais visitadas que flores femininas, exceto para *C. spiritu-sanctensis*, onde espécies de *Plebeia* foram responsáveis pela alta taxa de visitas em flores femininas (fig. 9 e fig. 11).

O pico de atividade em flores de *C. hilariana* ocorreu a partir das 7h, horário em que flores em processo de antese (semi-abertas) já estão com recursos

disponíveis, e diminuiu a partir das 13h (fig. 5 e fig. 11). A maior taxa de visitas a flores de *C. hilariana* na restinga de Praia das Neves foi devida à presença de espécies de Meliponina, que foram os visitantes mais frequentes em flores masculinas e femininas desta espécie (fig. 9 e 11). Ao longo do dia a taxa de visitas para coleta de pólen foi maior que a taxa de visitas para coleta de resina em flores de *C. hilariana* (fig. 11). Em *C. spiritu-sanctensis* a taxa de visitas foi maior a partir das 9h, horário em que cerca de 90% das flores estavam em antese e os estames ou estaminódios já estavam cobertos de resina (fig. 11).

O tempo médio de uma visita apresentou correlação negativa significativa com o tamanho do corpo dos visitantes florais ($r_s = -0,889$, $p < 0,01$).

O comportamento de forrageio dos visitantes florais é descrito abaixo:

Apidae

Euglossina

Espécies de Euglossina pousavam sobre as estruturas reprodutivas (androceu e gineceu) e caminhavam até o recurso. Estas abelhas possuem porte corporal médio a grande, e tocavam grande área das estruturas reprodutivas durante o forrageio (fig. 12: A e B), sujando-se com grãos de pólen (Tab.4 e Tab.5).

O comportamento de coleta de resina foi semelhante em flores de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*. A resina era raspada dos estames ou estaminódios com as mandíbulas e em seguida modelada, formando um aglomerado que era transferido para a corbícula enquanto as abelhas sobrevoavam a flor (fig.13).

Coleta ativa de pólen foi observada somente em flores de *C. hilariana*. Quando coletavam pólen estas abelhas deslocavam-se sobre o sinandro, raspando e agregando os grãos de pólen com as pernas anteriores e médias. Em seguida estas abelhas sobrevoavam a flor e com as pernas anteriores modelavam a carga coletada, que era transferida para as pernas medianas e depois para a corbícula. As abelhas depositavam a carga coletada na corbícula, ainda em vôo, alternando entre o lado esquerdo e direito do corpo (fig.13).

As visitas para coleta de pólen e resina ocorreram em momentos diferentes. Quando coletavam pólen estas abelhas visitavam de uma a duas flores em seqüência na mesma planta, já para coleta de resina estas abelhas podiam visitar de uma a seis flores. O tempo total das visitas e também o tempo médio de cada visita foi maior para coleta de resina. A taxa de forrageio para pólen foi maior que a taxa

de forrageio para resina. O tempo de visitas para coleta de resina foi semelhante entre as espécies de Euglossina, em flores das duas espécies de *Clusia* (Tab.6).

Meliponina

Espécies de Meliponina pousavam sobre as estruturas reprodutivas (androceu e gineceu) e deslocavam-se até o recurso. Estas abelhas são pequenas em relação às estruturas reprodutivas (Tab.1, Tab.4 e fig. 12C) e deslocavam-se pouco durante o forrageio, de forma que nem sempre sujavam o corpo com grãos de pólen (Tab.5).

Estas abelhas forrageavam em grupos intra-específicos, tendo sido observados até cinco indivíduos forrageando na mesma flor. Algumas operárias coletavam pólen, enquanto outras se dedicavam à coleta de resina. Não foi observado nenhum indivíduo coletando pólen e resina simultaneamente.

Espécies de Meliponina visitavam cerca de uma a seis vezes na mesma flor, seja para coleta de pólen ou resina. Visitas para coleta de resina foram mais longas do que visitas para coleta de pólen. A taxa de forrageio por pólen e resina foi semelhante em flores de *C. hilariana*. Não foi observada diferença entre as taxas de forrageio por resina em flores de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* (Tab.6).

O comportamento de coleta de recursos (pólen ou resina) foi semelhante ao descrito para Euglossina. No entanto, diferentemente de Euglossina, estas abelhas permaneciam na flor enquanto transferiam o recurso coletado para a corbícula (fig.13 fig.14).

Apina

Apis mellifera

Esta espécie foi observada coletando pólen em flores masculinas de *C. hilariana*, onde visitavam várias flores em seqüência na mesma planta (Tab.6). Flores femininas foram visitadas rapidamente, possivelmente por engano. Quando visitavam flores femininas estas abelhas pousavam e deslocavam-se rapidamente sobre os estigmas e em seguida abandonavam a flor, sem coletar recurso.

A. mellifera possui porte corporal médio e durante o forrageio tocava as estruturas reprodutivas sujando-se com grãos de pólen (Tab.5). Estas abelhas pousavam diretamente sobre o sinandro e raspavam o pólen com as pernas anteriores. Sobrevoavam a flor, limpando o pólen do corpo e transferindo-o em seguida para a corbícula, alternando entre os lados direito e esquerdo do corpo.

Estas abelhas foram observadas coletando resina nas axilas das folhas de *C. spiritus-sanctensis*, tanto em plantas masculinas, quanto femininas.

Xylocopini

Xylocopa ordinaria

Esta espécie coletou pólen em flores masculinas de *C. hilariana*, mas visitou rapidamente flores femininas desta espécie, possivelmente por engano. Semelhante ao comportamento observado para *A. mellifera* quando visitava flores femininas, *X. ordinaria* pousava e deslocava-se sobre os estigmas e em seguida deixava a flor, sem coletar recurso.

X. ordinaria é uma abelha grande (Tab.4) e durante o forrageio pousava sobre o sinandro, segurando-o com as pernas e vibrava para coletar o pólen. Tocava as estruturas reprodutivas durante o forrageio, sujando-se de pólen principalmente nos esternos abdominais e torácicos (Tab.5). Visitava várias flores em seqüência na mesma planta (Tab.6). Esta espécie também foi observada visitando rapidamente flores masculinas de *C. spiritus-sanctensis* não sendo possível observar seu comportamento, nem o recurso coletado.

Halictidae

Augochlorini

Espécies de *Augochloropsis* visitaram apenas flores de *C. hilariana*. Estas abelhas são pequenas (Tab.4), e durante o forrageio caminhavam sobre as estruturas reprodutivas sujando-se com grãos de pólen nas cerdas das pernas e nos esternos abdominais e torácicos (Tab.5 e fig. 12D). *Augochloropsis spp* coletavam pólen em flores masculinas; deslocavam-se sobre o sinandro, raspando e agregando o pólen exposto pelas anteras com as pernas anteriores e médias. Podiam vibrar para retirar o pólen quando o sinandro não apresentava pólen exposto. Em seguida, ainda sobre a flor, limpavam o pólen do corpo e o transferiam para as escopas das pernas posteriores (fig. 14). Estas abelhas foram observadas também visitando flores femininas. As visitas de *Augochloropsis spp* a flores femininas foram rápidas, e estas abelhas pousavam e caminhavam sobre os estigmas, sendo observada em algumas visitas a vibração característica do comportamento de coleta de pólen, no entanto em nenhuma das visitas a flores femininas foi observada coleta de resina.

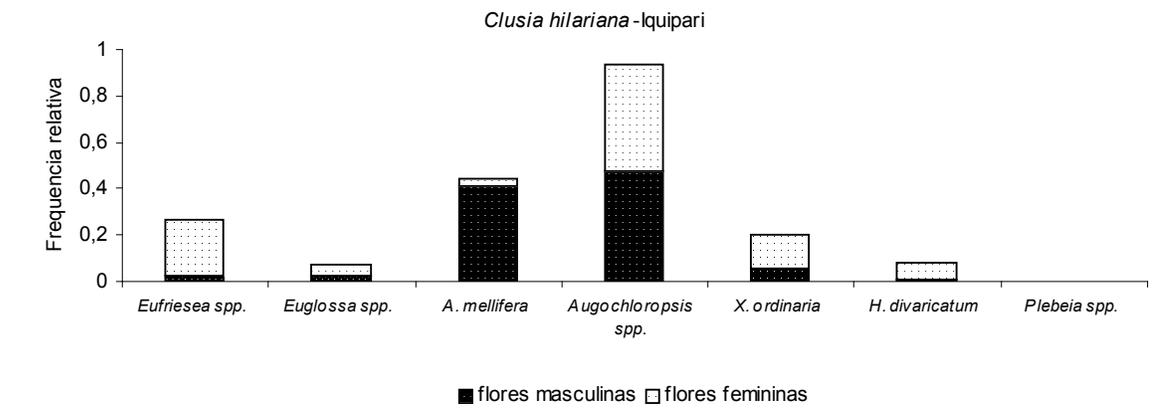
Megachilidae

Anthidiini

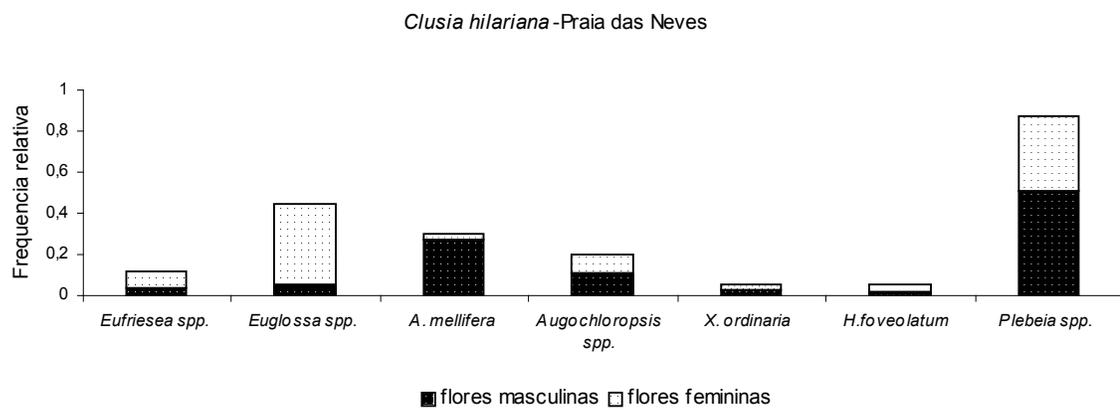
Estas abelhas são pequenas (Tab.4), e quando visitavam as flores pousavam sobre as estruturas reprodutivas (androceu e gineceu) e deslocavam-se até o recurso, sujando-se com grãos de pólen na parte ventral do corpo (Tab.5). Estas abelhas utilizavam as mandíbulas para coleta e transporte da resina. O pólen coletado era transportado na escopa ventral. Não foi observado comportamento de coleta de pólen, mas a análise em microscopia óptica das lâminas de pólen dos visitantes florais mostrou que estas abelhas coletavam pólen e resina.

Tabela 4: Visitantes florais de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis* Tamanho corporal, recursos coletados e frequência de visitas em flores masculinas (M) e femininas (F). I= restinga de Grussaí/IQUIPARI (São João da Barra, RJ), PN= restinga de Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES), P = pólen, Re = resina. C= comum, R= raro. ? = visitas rápidas em que não foi possível observar se houve coleta de recurso, N = não visitaram. --= visitas por engano, sem coleta de recursos

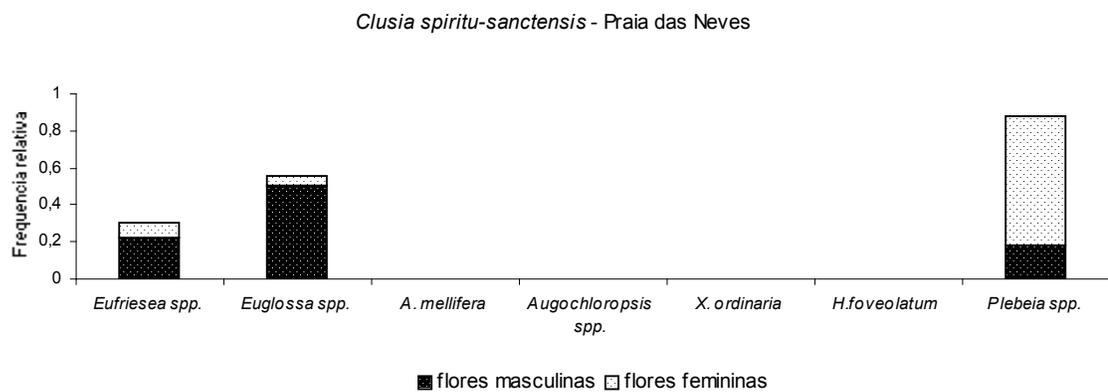
Visitantes	Tamanho corporal		Recursos coletados		Frequência em flores masculinas e femininas (M/F)		
	Comprimento / Largura	C. hilariana (M/F)	C. spiritus-sanctensis (M/F)	C. hilariana ¹	C. hilariana ^{PN}	C. spiritus-sanctensis ¹	C. spiritus-sanctensis ^{PN}
Apidae- Apini							
Apina							
<i>Apis mellifera</i> (Linnaeus, 1758)	1,23 / 0,56	(P/N)	(N/N)	(C/R)	(N/N)	(N/N)	(N/N)
Euglossina							
<i>Eufriesea surinamensis</i> (Linnaeus, 1758)	1,91 / 0,85	(P e Re /Re)	(Re/Re)	(R/C)	(N/R)	(C/R)	(C/R)
<i>Eufriesea smaragdina</i> (Perty, 1833)	1,95 / 0,91	(P e Re /Re)	(Re/Re)	(R/C)	(N/R)	(C/R)	(C/R)
<i>Euglossa cordata</i> (Linnaeus, 1758)	1,16 / 0,56	(P e Re /Re)	(Re/Re)	(R/R)	(N/N)	(C/R)	(C/R)
Meliponina							
<i>Plebeia lucii</i> Moure, 2004	0,36 / 0,2	(P e Re /Re)	(Re/Re)	(N/N)	(N/N)	(C/C)	(C/C)
<i>Plebeia poecilochroa</i> Moure, 1993	0,46 / 0,3	(P e Re /Re)	(Re/Re)	(N/N)	(N/N)	(C/C)	(C/C)
<i>Plebeia</i> sp.	0,45 / 0,22	(P e Re /Re)	(Re/Re)	(N/N)	(N/N)	(C/C)	(C/C)
Apidae-Xylocopini							
<i>Xylocopa ordinaria</i> Smith, 1874	2,26 / 1,35	(P/?)	(? / N)	(R/R)	(N/N)	(R/N)	(R/N)
Halictidae-Augochlorini							
<i>Augochloropsis notophos</i> (Vachal, 1903)	0,79 / 0,38	(P/ --)	(N/N)	(C/C)	(N/N)	(N/N)	(N/N)
<i>Augochloropsis</i> sp. 1.	1,07 / 0,45	(P/ --)	(N/N)	(C/C)	(N/N)	(N/N)	(N/N)
Megachilidae-Anthidiini							
<i>Hypanthidium divaricatum</i> (Smith, 1854)	0,83 / 0,4	(P e Re /Re)	(N/N)	(R/R)	(N/N)	(N/N)	(N/N)
<i>Hypanthidium foveolatum</i> (Alfken, 1930)	0,64 / 0,36	(P e Re /Re)	(N/N)	(R/R)	(N/N)	(N/N)	(N/N)



A

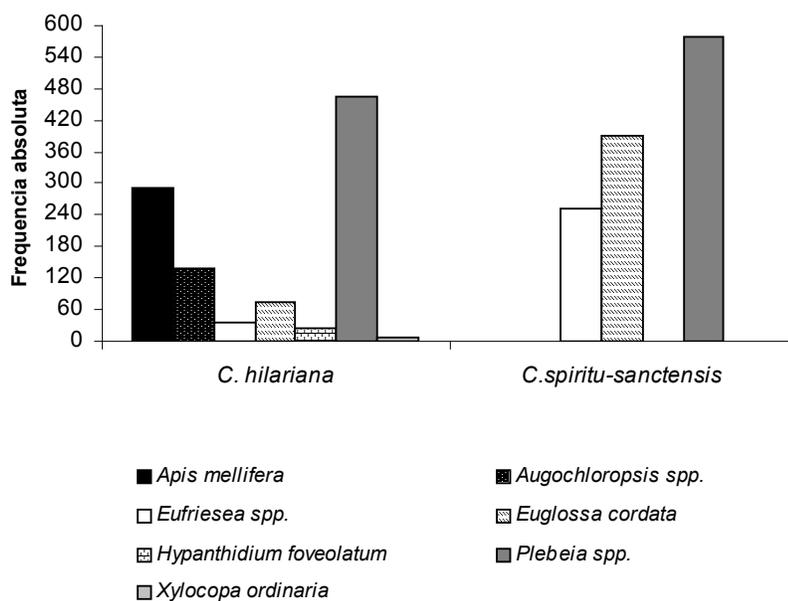


B

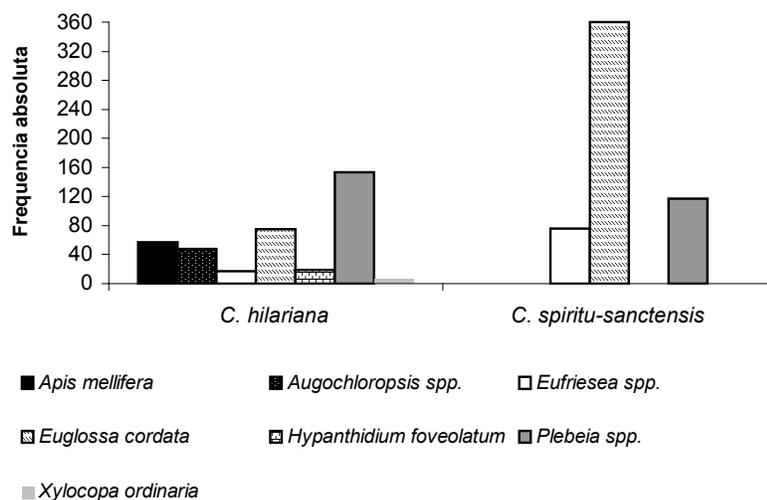


C

Figura 9: Frequência relativa dos visitantes em flores masculinas e femininas de *Clusia hilariana* na restinga de Iquipari (A) e em Praia das Neves (B) e *Clusia spiritu-sanctensis* na restinga de Praia das Neves (C), no período de nov/2005-jan/2006 e out-nov/2006.



A



B

Figura 10: Frequência absoluta dos visitantes florais de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritu-sanctensis* na restinga de Praia das Neves, em períodos sem e com sobreposição do florescimento das duas espécies. A : Período sem sobreposição – (nov/2005 e jan/2006), B: Período com sobreposição do florescimento (out/nov-2006).

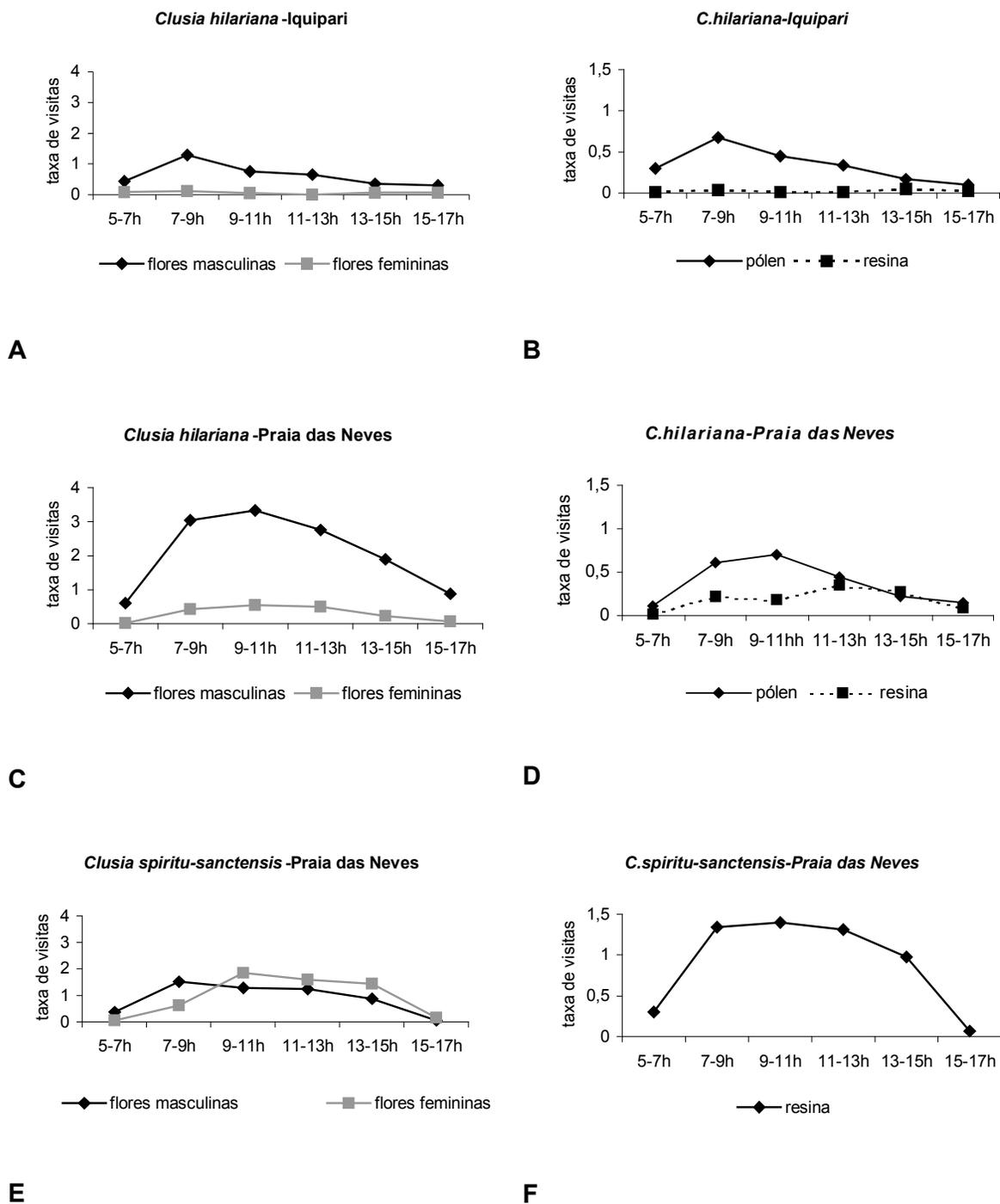


Figura 11: Taxa de visitas (Nº visitas/flor/hora) em flores masculinas e femininas e taxa de visitas para coleta de pólen e resina ao longo do dia em flores de *C. hilariana* na restinga de Grussaí/Iquipari (A-B) e Praia das Neves (C-D) e *C. spiritu-sanctensis* na Praia das Neves (E-F).



Figura 12 : Visitantes florais de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritu-sanctensis*. A: *Eufriesea surinamensis* em flor feminina de *C. hilariana*, B: *Euglossa cordata* em flor feminina de *C. hilariana*, C: *Plebeia sp.* em flor feminina de *C. spiritu-sanctensis*, D: *Augochloropsis notophos* em flor masculina de *C. hilariana*.

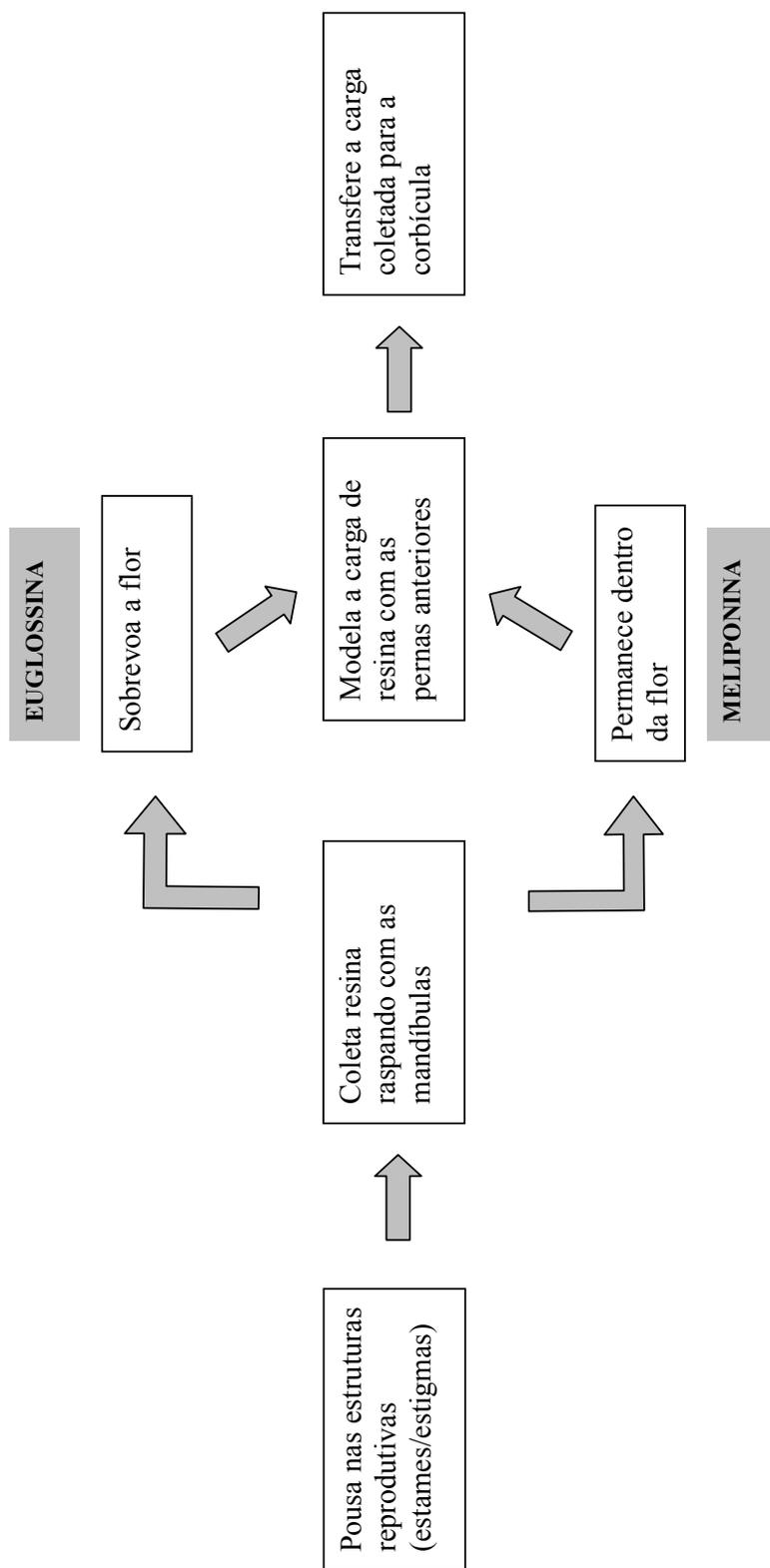


Figura 13: Fluxograma dos atos comportamentais envolvidos na coleta de resina por fêmeas de Meliponina e Euglossina em *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis*

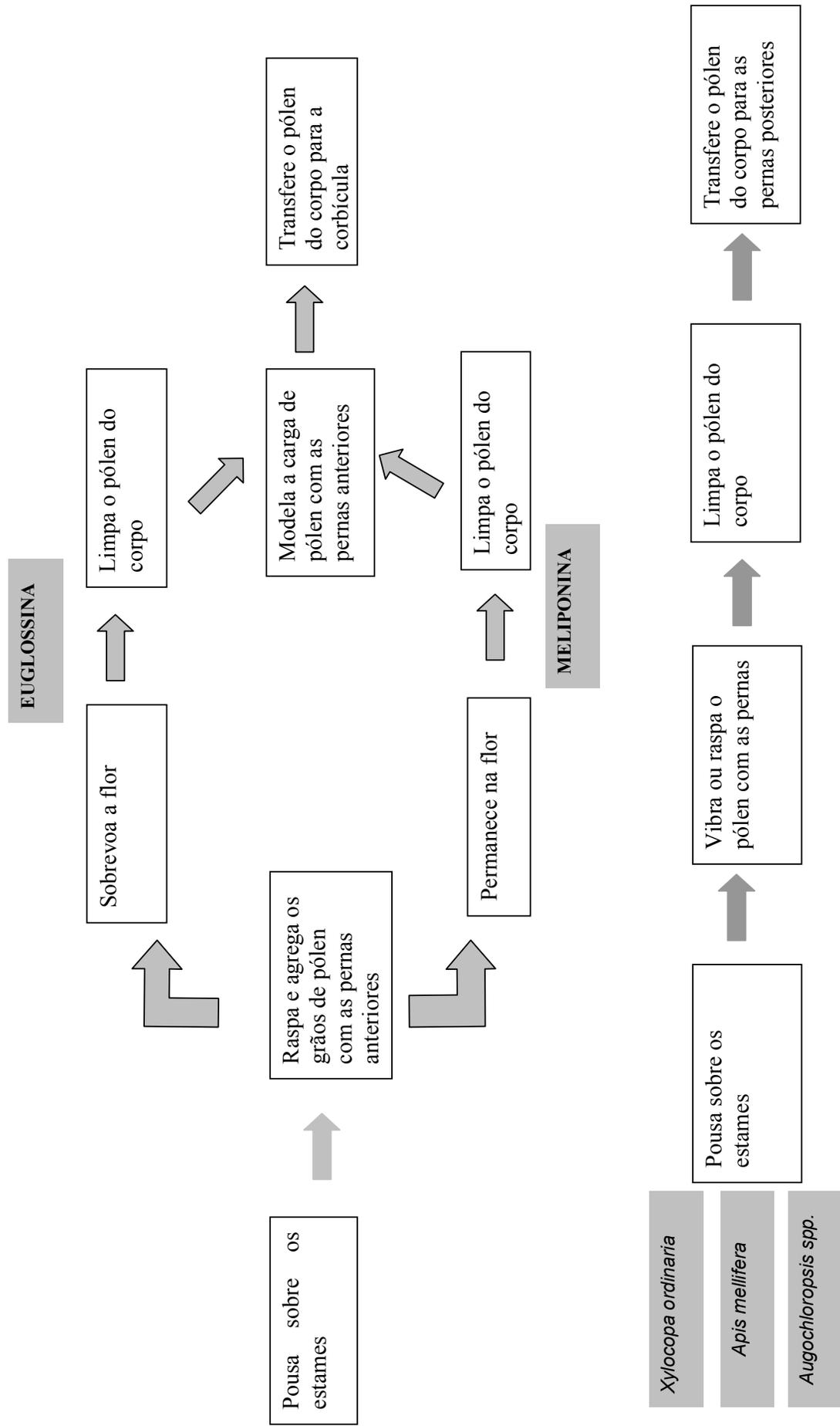


Figura 14: Fluxograma dos atos comportamentais envolvidos na coleta de pólen dos visitantes florais de *Clusia hilariana*.

Tabela 5: Locais de deposição do pólen e porcentagem dos visitantes florais capturados em flores de *Clusia hilariana* ou *Clusia spiritu-sanctensis*, com pólen da mesma planta. NV = não visitaram, n = nº indivíduos analisados.

Espécie	Locais de deposição de pólen/resina	% de abelhas com pólen de <i>Clusia hilariana</i>	% de abelhas com pólen de <i>Clusia spiritu-sanctensis</i>
<i>Apis mellifera</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	92,8 (n=14)	Nv
<i>Eufriesea smaragdina</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	50,0 (n=2)	80,0 (n=5)
<i>Eufriesea surinamensis</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	100,0 (n=3)	80,0 (n=5)
<i>Euglossa cordata</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	75,0 (n=4)	63,63 (n=11)
<i>Plebeia lucci</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	52,4 (n=19)	21,42 (n=14)
<i>Plebeia poecilochroa</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	60,0 (n=5)	16,66 (n=6)
<i>Plebeia</i> sp.	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	50,0 (n=2)	25,0 (n=4)
<i>Xylocopa ordinaria</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	100,0 (n=4)	Nv
<i>Augochloropsis notophos</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	96,5 (n=32)	Nv
<i>Augochloropsis</i> sp. 1	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	88,0 (n=25)	Nv
<i>Hypanthidium divaricatum</i>	Pernas (tíbias e basitarsos), esternos abdominais e torácicos	100,0 (n=4)	Nv

Tabela 6: Parâmetros do comportamento de forrageio dos visitantes florais de *Clusia hilariana* e *Clusia spiritus-sanctensis* na restinga de Grussaí/Iquipari (São João da Barra, RJ) e Praia das Neves (Presidente Kennedy, ES). min = valor mínimo observado, max = valor máximo observado.

Visitante	Espécie <i>Clusia</i>	Recurso	Nº flores visitadas em seqüência	min-max	Nº visitas	Tempo visitas total		Tempo médio de uma visita (s)	Taxa de forrageio (n flores/h)
						(s) min-max	min-max		
<i>Apis mellifera</i>	<i>C. hilariana</i>	Pólen	1-12	2-19	19-274	11,96	0,03		
<i>Eufriesea</i> spp.	<i>C. hilariana</i>	Resina	1-3	1-8	22-295	22,90	0,02		
		Pólen	1-7	1-8	15-87	13,60	0,06		
<i>Eufriesea</i> spp.	<i>C. spiritus-sanctensis</i>	Resina	1-6	1-11	5-256	26,42	0,02		
<i>Euglossa cordata</i>	<i>C. hilariana</i>	Resina	1-3	2-18	63-570	32,75	0,01		
		Pólen	1	1-3	47	15,60	0,02		
<i>Euglossa cordata</i>	<i>C. spiritus-sanctensis</i>	Resina	1-3	1-17	15-648	26,40	0,01		
<i>Plebeia lucii</i>	<i>C. hilariana</i>	Resina	1	1-5	63-294	60,90	0,001		
		Pólen	1	1-5	43-287	50,20	0,001		
	<i>C. spiritus-sanctensis</i>	Resina	1	1-6	51-326	52,66	0,004		
<i>Plebeia poecilochroa</i>	<i>C. hilariana</i>	Resina	1	2-3	141-295	84,41	0,001		
		Pólen	1	3-5	178-304	59,90	0,004		
	<i>C. spiritus-sanctensis</i>	Resina	1	1-2	25-594	161,01	0,001		
<i>Plebeia</i> sp.	<i>C. hilariana</i>	Resina	1	1-5	69-376	72,10	0,005		
		Pólen	1	1-4	79-365	85,12	0,001		
	<i>C. spiritus-sanctensis</i>	Resina	1	1-5	44-963	118,30	0,005		
<i>Xylocopa ordinaria</i>	<i>C. hilariana</i>	Pólen	1-11	2-16	19-261	12,90	0,04		
<i>Augochloropsis</i> spp.	<i>C. hilariana</i>	Pólen	1-3	3-25	48-803	24,06	0,04		
<i>Hypanthidium divaricatum</i>	<i>C. hilariana</i>	Resina	1	1-4	18-42	14,25	0,02		
		Pólen	1	2	46	23,02	0,02		
<i>Hypanthidium foveolatum</i>	<i>C. hilariana</i>	Resina	1	3	57	19,04	0,02		

5.0 Discussão

As flores de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* são dióicas e apresentam flores planas, com órgãos reprodutivos expostos e de fácil acesso aos recursos florais. Segundo Richards (1986) flores com esta morfologia são visitadas por espécies de vários grupos de insetos. No entanto, *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* são classificadas como “flores de resina” (Armbruster, 1984) e apresentam especificidade de visitantes florais devido à oferta deste recurso floral, utilizado apenas por fêmeas de abelhas de alguns grupos taxonômicos. Esta especificidade de visitantes é comum em espécies que oferecem resina floral, tendo sido observada em outras espécies de *Clusia* e também em espécies de *Dalechampia* (Euphorbiaceae) (Armbruster & Webster, 1979; Armbruster & Webster, 1981; Sazima *et. al*, 1985; Bitrich & Amaral, 1997; Lopes & Machado, 1998; Correia *et. al*,. 1999; Carmo & Franceschinelli, 2002). Além da especificidade, que pode levar à maior fidelidade nas visitas às flores, outra vantagem das “flores de resina” refere-se à menor possibilidade de exaustão do recurso pelos visitantes, já que estes dificilmente removem toda a resina em uma única visita, o que assegura visitas repetidas às flores (Armbruster, 1984).

Os principais polinizadores de *C. hilariana* são espécies de abelhas coletoras de resina floral (*E. surinamensis*, *E. smaragdina* e *E. cordata*). Estas abelhas foram consideradas polinizadores principais devido a seu comportamento de forrageio, frequência de visitas em flores masculinas e femininas, porte corporal adequado em relação às estruturas reprodutivas e presença de pólen aderido ao corpo. Embora a resina seja o recurso principal, flores de *C. hilariana* são visitadas também por algumas abelhas apenas para coleta de pólen, como espécies de *Augochloropsis*, *A. mellifera*, *X. ordinaria*, que foram observadas visitando também flores femininas por engano (visitas rápidas, sem coleta de recursos). Nas visitas a flores masculinas *Augochloropsis spp.* e *X. ordinaria* coletaram pólen por vibração, comportamento característico destas abelhas (Buchmann, 1983), e apresentaram o mesmo comportamento em flores femininas, confirmando a idéia de visitas por engano a estas flores. Apesar das visitas por engano em flores femininas, *Augochloropsis spp.* também foi considerada um polinizador principal, devido a sua frequência de visitas em flores masculinas e femininas e presença de pólen aderido ao corpo, embora *Augochloropsis spp* apresentem pequeno porte corporal. Visitas e polinização por engano de *Augochloropsis spp.* foram registradas também por Lopes & Machado

(1998) em flores femininas de *C. nemorosa*. Apesar de *E. cordata* ser considerada principal polinizador de *C. hilariana* em Praia das Neves, esta espécie teve frequência de visitas muito baixa na restinga de Grussaí/Iquipari, principalmente em flores femininas, não sendo considerada polinizador principal nesta restinga. Embora *Plebeia spp.* tenham sido os visitantes mais freqüentes em flores masculinas e femininas de *C. hilariana* na restinga de Praia das Neves, estas abelhas foram consideradas polinizadores ocasionais, pois não possuem tamanho compatível com as estruturas reprodutivas e nem sempre transportam grãos de pólen no corpo, além de apresentarem as menores taxas de forrageio entre os visitantes florais. As outras abelhas visitantes, *A. mellifera*, *H. divaricatum*, *H. foveolatum* e *X. ordinaria* também são consideradas polinizadores ocasionais de *C. hilariana*, pois embora apresentem porte corporal adequado em relação às estruturas reprodutivas (exceto *Hypanthidium*) e pólen aderido ao corpo, estas abelhas foram pouco freqüentes em flores femininas.

Flores de *C. spiritu-sanctensis* foram visitadas somente para coleta de resina; embora o pólen seja exposto no início da antese sem contaminação com a resina, não foi observada coleta ativa deste recurso por nenhum visitante floral. Fêmeas de *E. surinamensis* e *E. smaragdina* foram os polinizadores principais desta espécie nas duas áreas estudadas e também *E. cordata* na restinga de Praia das Neves. Estas abelhas apresentaram comportamento de forrageio e porte corporal adequado e grãos de pólen aderido ao corpo. Espécies de *Plebeia* foram consideradas polinizadores ocasionais de *C. spiritu-sanctensis*, pois foram freqüentes apenas em flores femininas, são pequenas em relação às estruturas reprodutivas e poucos indivíduos apresentaram grãos de pólen aderido ao corpo, além de apresentarem as menores taxas de forrageio entre os visitantes florais.

Plebeia spp., apesar de freqüentes em flores de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* na restinga de Praia das Neves, não foram observadas na restinga de Grussaí/Iquipari. Abelhas sem ferrão da subtribo Meliponina são comuns em ecossistemas tropicais (Michener, 2000), inclusive em ecossistemas litorâneos (Viana & Alves dos Santos, 2002; Lenzi *et al.*, 2003). A relação entre abundância e a riqueza local das espécies de abelhas com a diversidade de recursos alimentares e a existência de sítios de nidificação foi enfatizada em outros estudos (Roubik, 1989). A ausência destas abelhas na restinga de Grussaí/Iquipari, observada não só neste estudo, mas também por Gaglianone *et al.* (2004) e Cesário & Gaglianone

(2005) pode estar relacionada a alterações antrópicas, como retirada de madeira através de corte raso e abertura de estradas e trilhas, levando a uma deficiência de locais naturais adequados para nidificação, visto que muitas destas espécies nidificam em ocos de árvores.

O comportamento dos visitantes florais para a coleta de resina difere do comportamento apresentado para coleta de pólen. Quando coletam resina os visitantes não exibem o comportamento de limpeza do pólen disperso no corpo, desempenhado pelas abelhas entre visitas sucessivas durante as coletas de pólen e néctar, pois apresentam a corbícula carregada de resina. Como consequência, o pólen tende a acumular-se no corpo, o que pode aumentar a eficiência destes vetores de pólen e reduzir a perda de pólen que servirá á polinização (Armbruster, 1984).

O modo de exposição dos recursos nas flores de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*, com mais de um evento de exposição do pólen e resina, evita que um único visitante colete todo o recurso em uma única ou poucas visitas. A permanência dos recursos nas flores de *Clusia* pode garantir sua atratividade durante todo o período de antese e aumentar assim as chances de polinização.

Flores masculinas e femininas de *C. hilariana* apresentam morfologia floral semelhante, sendo o mesmo observado entre flores masculinas e femininas de *C. spiritu-sanctensis*. Nas duas espécies de *Clusia*, flores de ambos os sexos oferecem resina como recurso floral e são semelhantes quanto à coloração, tamanho, disposição das estruturas reprodutivas e odor. Estas características se enquadram no padrão de “automimetismo” proposto por Bawa (1980).

A existência de “automimetismo” em *C. hilariana* foi discutida por Martins *et. al.* (2007), que atribuem à polinização por engano, o papel de sistema principal de polinização desta planta. Segundo estes autores, espécies de Halictidae seriam os principais polinizadores, buscando pólen como recurso nas flores. Em outro sistema coexistindo com este, e considerado menos efetivo, abelhas Euglossina seriam polinizadores ocasionais, buscando resina como recurso floral. Entretanto, os resultados obtidos para *C. hilariana* nas duas áreas estudadas neste trabalho, indicam que tanto abelhas Euglossina quanto *Augochloropsis spp* são polinizadores principais, não corroborando a hipótese de “polinização por engano” como principal sistema de polinização para *C. hilariana*. Os dados indicam que nas áreas estudadas *Clusia hilariana* é polinizada tanto pela guilda de abelhas coletoras de resina quanto

por coletores de pólen através da polinização por engano. Dentre as espécies de *Clusia*, diferentes mecanismos são observados para evitar ou minimizar o contato do pólen com a resina (Bitrich & Amaral, 1996, 1997). Nas flores masculinas de *C. hilariana* a resina é secretada por um anel de estaminódios que circunda o androceu, o que mantém os grãos de pólen livres da resina. No entanto, em flores masculinas de *C. spiritu-sanctensis* a resina é secretada pelos estames, e mistura-se aos grãos de pólen. Esta é uma característica comum em espécies de *Clusia* da seção Cordylandra, a qual *C. spiritu-sanctensis* pertence, mas requer certa especialização das flores femininas, que precisam produzir substâncias oleosas na superfície dos estigmas para diluir a resina e auxiliar na germinação dos grãos de pólen (Bitrich & Amaral, 1996 e 1997). A mistura do pólen com a resina pode ser uma estratégia para evitar o desperdício de pólen, pois todo o pólen liberado pelas anteras irá misturar-se com a resina, podendo ser transportado indiretamente pelos visitantes florais. Além disso, não ocorrem visitas de coletores de pólen em flores de *C. spiritu-sanctensis*.

C. hilariana e *C. spiritu-sanctensis* apresentam padrão de floração anual, considerando-se a classificação de Newstrom *et. al.* (1994). Segundo a classificação de Gentry (1974) o florescimento de ambas espécies é do tipo “steady-state”, caracterizado por um longo período de florescimento (mais de 1 mês) e poucas flores abertas por dia. Espécies com este tipo de florescimento geralmente estão associadas a polinizadores com comportamento de forrageio do tipo “trap-lining” (rota de coleta), ou seja, que repetem a mesma seqüência de forrageio em viagens consecutivas (Janzen, 1971). Este comportamento foi descrito para abelhas Euglossina (Janzen, 1971) e segundo Gentry (1974), devido a este comportamento, estas abelhas são consideradas um importante grupo de polinizadores para espécies com este padrão de florescimento. Os resultados obtidos para *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* reforçam as conclusões de Gentry (1974), sendo observado o mesmo padrão para outras espécies de *Clusia*, como *Clusia nemorosa* (Lopes & Machado, 1998) e *Clusia lanceolata* (Correia *et. al.*, 1999).

C. hilariana e *C. spiritu-sanctensis* apresentam picos de floração seqüenciais, com um curto período de sobreposição do florescimento. Durante o período de sobreposição é possível que polinizações interespecíficas ocorram, visto que estas espécies utilizam os serviços dos mesmos polinizadores em áreas que ocorrem em simpatria. Embora não tenham sido observadas plantas que indicassem a existência

de híbridos entre estas espécies de *Clusia*, estudos mais detalhados são necessários.

Indivíduos de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* que florescem juntos podem apresentar menor sucesso reprodutivo e/ou atuarem como competidores, visto que a similaridade na composição de polinizadores é bastante alta entre as duas espécies vegetais. Neste sentido, indivíduos que florescem em períodos diferentes minimizariam a competição por polinizadores e evitariam polinizações interespecíficas, além de contribuir para a manutenção da floração seqüencial entre espécies simpátricas (Bawa, 1983; Rathcke & Lacey, 1985; Araujo *et. al.*, 1994).

A competição por polinizadores pode atuar como força seletiva sobre o período de floração, estabelecendo e mantendo a divergência entre os períodos de floração de espécies vegetais simpátricas (Grant, 1963; Levin, 1971; Waser, 1978). Portanto, a estratégia de picos de floração seqüenciais, observada para *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* pode ser interpretada como um mecanismo de isolamento temporal, que possibilita o uso dos mesmos vetores de pólen. Além disso, o florescimento seqüencial permite que os polinizadores explorem a resina floral por um período maior.

C. hilariana floresceu e frutificou na estação quente e úmida, padrão distinto de muitas espécies arbóreas da restinga que frutificam na estação seca (Talora & Morelato, 2000; Morelato *et. al.*, 2000). Nenhuma correlação foi encontrada entre o florescimento de *C. hilariana* com os fatores climáticos, já a frutificação apresentou correlação positiva com a temperatura média e precipitação. *C. spiritu-sanctensis* floresceu na estação quente e úmida e frutificou na estação seca, apresentando padrão semelhante ao observado para outras espécies arbóreas em área de restinga (Talora & Morelato, 2000; Morelato *et. al.*, 2000). Segundo Talora & Morelato (*op.cit.*), o início de floração estaria relacionado ao aumento da temperatura e comprimento do dia, já a frutificação teria correlação negativa com estes fatores. Entretanto, nenhuma correlação significativa foi encontrada entre a floração e frutificação de *C. spiritu-sanctensis* com os fatores climáticos.

A maior intensidade de floração em plantas masculinas, observada para *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* foi descrita também para outras espécies de *Clusia* (Correia *et. al.* 1993; Bitttrich & Amaral, 1996) e parece ser um padrão que proporciona maior eficiência na polinização, dispersão de pólen e produção de sementes (Opler & Bawa, 1978)

A sincronia de floração entre plantas femininas e masculinas é fator imprescindível para o sucesso da polinização em espécies dióicas. Para *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* esta sincronia foi evidenciada pela correlação altamente significativa, entre o florescimento de plantas masculinas e femininas. Além disso, a estratégia de florescimento apresentada por ambas espécies de *Clusia* (florescimento longo, com poucas flores abertas por dia) contribui para aumentar o fluxo de pólen entre os indivíduos, pois induz os polinizadores (“trap-liners”) a visitar várias flores em seqüência durante o forrageio.

A ocorrência e relevância da agamospermia para a reprodução de espécies de *Clusia* é controversa e não foi observada em *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis*. A ocorrência de apomixia foi detectada para *Clusia fluminensis*, *Clusia lanceolata* (Correia 1983; Correia *et al*, 1989), *Clusia rosea* e *Clusia minor* (Maguire, 1976), sendo que para as duas primeiras, a apomixia depende da deposição de resina sobre os estigmas. Por não apresentarem apomixia e por serem espécies dióicas, as espécies de *Clusia* estudadas são dependentes de agentes polinizadores para sua reprodução.

A menor taxa de frutificação natural de *C. hilariana*, quando comparada à frutificação obtida nos experimentos de polinização manual cruzada, sugere que a transferência de pólen feita pelos vetores está aquém dos valores potenciais, podendo sugerir baixa freqüência de visitas dos polinizadores. Entretanto, os valores alcançados para polinização natural são muito maiores do que os descritos para outras espécies de *Clusia* dióicas (Faria *et. al*, 2006), principalmente para *C. spiritu-sanctensis*, considerada uma espécie rara em Grussai/Iquipari. De modo diferente, Faria *et. al.* (2006) observaram baixas taxas de frutificação natural em *C. hilariana* em área de restinga no Parque Nacional de Jurubatiba (Carapebus, RJ). Segundo estes autores o pequeno sucesso reprodutivo observado seria devido à baixa freqüência dos visitantes florais na região. No presente trabalho, foram verificados valores expressivos de freqüências de visitas de polinizadores efetivos, o que pode ter resultado nos altos valores de porcentagem de polinização.

A maior taxa de frutificação natural observada em 2006/2007 para *C. hilariana* pode estar relacionada ao fato da floração nesta estação reprodutiva ter sido mais longa e intensa do que no ano de 2005/2006, nas duas áreas de estudo. O número de visitas apresentou correlação positiva com o número de flores abertas na estação

e também com a taxa de frutificação. Desta forma, a floração mais intensa resultou em maior taxa de visitação e conseqüentemente em maior frutificação.

C. spiritu-sanctensis apresentou altas taxas de frutificação natural nas duas áreas de estudo, apesar da baixa freqüência de visitas dos polinizadores principais em flores femininas e ausência de agamospermia. O grande sucesso reprodutivo desta espécie pode estar relacionado ao investimento na produção e manutenção do pólen na população, evidenciado pela floração mais intensa em indivíduos masculinos e pelo mecanismo de exposição dos recursos (pólen misturado com a resina), que contribui para evitar o desperdício dos grãos de pólen. Estes mecanismos podem levar à maior eficiência no transporte de pólen, resultando em maiores taxas de frutificação. Entretanto, deve-se levar em consideração que o número de indivíduos testados foi pequeno e pode ter influenciado nos resultados.

A freqüência dos visitantes florais diferiu entre as espécies de *Clusia* e entre os sexos das plantas, estando associada aos tipos de recursos florais, modo de apresentação e exposição dos recursos, além da intensidade de floração. A maior freqüência de *Plebeia spp.* em flores de *C. hilariana* durante o período de sobreposição da floração com *C. spiritu-sanctensis*, pode estar relacionada ao fato desta espécie oferecer pólen e resina como recursos. Espécies de *Plebeia* apresentam hábito alimentar generalista e são oportunistas, além disso o comportamento de forrageio em grupo destas abelhas permite que alguns indivíduos se dediquem à coleta de pólen enquanto outros coletam a resina, simultaneamente. Diferentemente, *E. cordata*, *E. surinamensis* e *E. smaragdina* visitaram preferencialmente flores de *C. spiritu-sanctensis*, durante o período de sobreposição de floração. Esta preferência pode estar relacionada à atratividade floral, pois em flores de *C. spiritu-sanctensis* a resina é mais exposta e de coloração alaranjada, enquanto em flores de *C. hilariana* a resina é menos exposta e de coloração menos vistosa. Já o fato de *Hypanthidium* ter sido observado somente em flores de *C. hilariana* pode ser devido à atratividade diferenciada destas plantas relacionada por exemplo à composição química das resinas (Nogueira *et. al*, 2001). A biologia destas abelhas ainda é pouco conhecida, embora sejam espécies relativamente comuns em ambientes abertos. Seus ninhos são construídos em cavidades pré-existentes, e as resinas utilizadas como material para sua estruturação, fazendo parte das células (Roubik, 1989).

A maior taxa de visitas em flores masculinas de *C. hilariana* está relacionada a maior intensidade de floração das plantas masculinas e a maior riqueza de visitantes nestas flores, devido à oferta de pólen, além da resina. Diferente do observado para *C. hilariana*, flores masculinas e femininas de *C. spiritu-sanctensis* apresentaram taxas de visitas semelhantes, apesar de plantas masculinas apresentarem maior intensidade de floração. Flores de ambos os sexos foram visitadas somente para coleta de resina. Apesar do pólen ser exposto no início da antese em flores masculinas, sem contaminação com a resina, não foi observada coleta ativa deste recurso por nenhum visitante floral.

Flores masculinas de *C. spiritu-sanctensis* são visitadas principalmente por abelhas de médio a grande porte, como *E. cordata*, *E. surinamensis* e *E. smaragdina*, já flores femininas são visitadas principalmente por espécies de pequeno porte corporal, como *Plebeia spp.* As flores masculinas apresentam maior área de secreção de resina do que flores femininas. Esta diferença pode explicar o fato de flores masculinas serem visitadas principalmente por abelhas de médio a grande porte, que coletam grandes cargas de resina, em relação à quantidade de resina disponível por flor. Além disso, a maior frequência destas abelhas em flores masculinas pode estar inibindo a presença de *Plebeia spp.* nestas flores. Outra explicação para os diferentes padrões de visitação entre flores masculinas e femininas pode ser relacionada a diferenças na composição química da resina. Lokvam & Braddock (1999) observaram dimorfismo na composição química da resina de *Clusia grandiflora*, com maior bioatividade da resina de flores femininas. Segundo estes autores esta pode ser uma característica adaptativa, visto que flores masculinas e femininas evoluem sob diferentes pressões de seleção; no entanto não é claro como estas características se fixaram durante a evolução da resina como recurso floral em *Clusia*. Entretanto, estudos mais detalhados sobre as propriedades bioquímicas das resinas são necessários para melhor compreender a preferência e importância dos polinizadores em *Clusia*.

C. hilariana e *C. spiritu-sanctensis* são importantes por fornecerem um recurso básico para a construção e proteção dos ninhos de várias espécies de abelhas, que atuam como vetores de pólen para várias espécies vegetais. Desta forma a preservação destas espécies de *Clusia* e dos locais onde ocorrem é fundamental para a existência de várias espécies de abelhas e também das espécies vegetais que dependem destas abelhas para sua reprodução.

6.0 Conclusões

C. hilariana e *C. spiritu-sanctensis* são espécies dióicas e não apresentam agamospermia, sendo dependentes de polinizadores para sua reprodução. Suas flores são classificadas como “flores de resina” e apresentam especificidade de polinizadores devido à oferta deste recurso.

Flores de *C. hilariana* são visitadas para coleta de pólen e resina. Esta espécie é polinizada por *E. surinamensis*, *E. smaragdina*, *E. cordata* e *Augochloropsis spp.*, sendo que *Augochloropsis spp.* realiza a polinização por engano, provavelmente devido ao automimetismo floral. Esta, entretanto, não foi considerado o sistema principal de polinização, já que abelhas coletoras de resina estão também entre os principais polinizadores. Flores de *C. spiritu-sanctensis* são visitadas somente para coleta de resina. Os principais polinizadores desta espécie foram *E. cordata*, *E. surinamensis* e *E. smaragdina*.

C. hilariana e *C. spiritu-sanctensis* compartilham polinizadores em áreas onde ocorrem em simpatria, com curto período de sobreposição espacial e temporal de visitantes florais. A maior visitação em período sem sobreposição no florescimento sugere que pode haver competição entre estas espécies vegetais por polinizadores e que os picos de floração seqüenciais contribuiriam para o isolamento temporal destas espécies, possibilitando sua coexistência e utilização dos mesmos polinizadores.

A preservação de *C. hilariana* e *C. spiritu-sanctensis* e também dos locais onde ocorrem é essencial para a manutenção de várias espécies de abelhas e também das espécies vegetais que dependem destas abelhas para sua reprodução.

7.0 Referências bibliográficas

Araújo, D.S.D. & Henriques, R.P.B. (1984). Análise florística das restingas do estado do Rio de Janeiro. In Lacerda L.D., Araujo D.S.D., Cerqueira R. & Turcq B. (eds.) *Restingas: Origem, estrutura e processos*. Universidade Federal Fluminense / CEUFF, Niterói. p.159-193.

Araújo, A C.; Fischer, E. A ; Sazima, M. (1994). Floração seqüencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região de Juréia, sudeste do Brasil. *Rev Brasil. Bot.* 17(2):113-118.

Armbruster, W. G. (1984). The role of the resin in Angiosperm pollination: ecological and chemical considerations. *Amer. J. Bot.* 71 (8):1149-1160.

Armbruster, W. S. & Herzig, A. L. (1984). Partitioning and sharing of pollinators by four sympatric species of *Dalechampia* (Euphorbiaceae) in Panama. *Ann. Missouri Bot. Garden* 71:1-16.

Armbruster, W. S. & Webster, G. L. (1979). Pollination of two species of *Dalechampia* (Euphorbiaceae) in Mexico by Euglossine bees. *Biotropica* 11(4): 278-283.

Armbruster, W. S. & Webster, G. L. (1981). Sistemas de polinização de duas espécies simpátricas de *Dalechampia* (Euphorbiaceae) no Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica* 11(1):13-17.

Assis, A M., Oberdan, J. P, Thomaz, L. D. (2004). Fitossociologia de uma floresta de restinga no Parque Estadual Paulo César Vinha, Setiba, município de Guarapari (ES). *Rev Brasil. Bot.* 27(2): 349-361.

Assumpção, J. & Nascimento, M.T. (1998). Fitofisionomia de uma restinga no extremo Norte do Litoral Fluminense: Um novo elemento no mosaico?. *Anais do IV Simpósio de Ecossistemas Brasileiros*. ACIESP. v. 3 p. 158-164.

Assumpção, J. & Nascimento, M.T. (2000). Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no complexo lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, RJ, Brasil. *Acta Bot. Brasil.* 14:301-315.

Barros, M. A. G. (1992). Fenologia da floração, estratégias reprodutivas e polinização de espécies simpátricas do gênero *Byrsonima* Rich (Malpighiaceae). *Rev Brasil. Biol.* 52(2):343-353.

Bawa, K. S. (1980). Mimicry of male by female flowers and intrasexual competition for pollinators in *Jacartia dolichaula* (D. Smith) Woodson (Caricaceae). *Evolution* 34:467-474.

Bawa, K. S. (1990). Plant –pollinator interactions in tropical rain forests. *Ann. Rev Ecol. Syst.* 21: 399-422.

Bawa, K. S. (1983). Patterns of flowering in tropical plants. *In*: Jones, C. E., Little, R. J. (Eds). *Handbook of experimental pollination Biology*. Scientific and Academic Editions, New York. 394-410.

Bittrich, V & Amaral, M. C. E. (1996). Flower morphology and pollination biology of some *Clusia* species from the Gran Sabana (Venezuela). *Kew Bulletin* 51:681-694.

Bittrich, V & Amaral, M. C. E. (1997) Flower biology of some *Clusia* species from the Gran Sabana (Venezuela). *Kew Bulletin* 52:617-635.

Buchmann, S.L. (1983). Buzz pollination in angiosperms. *In*: Jones, C. E. Little, R.J. (Eds.). *Handbook of Experimental pollination Biology*. Scientific and Academic Editions, New York. 73-113.

Carmo, R. M. & Franceschinelli, E. V. (2002). Polinização e biologia floral de *Clusia arrudae* Planchon & Triana (Clusiaceae) na Serra da Calçada, município de Brumadinho, MG. *Rev Brasil. Bot.* 25(3):351-360.

Cesário, L. F. (2005). Ecologia da polinização e fenologia reprodutiva de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) em área de restinga do Norte Fluminense. Monografia. 37p.

Correia, M. C. R. (1983). Contribuição ao estudo da biologia floral e do sistema de reprodução de *Clusia fluminensis* PL. & Tr. (Guttiferae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 94p.

Correia, M. C. R., Ormond, W. T., Pimenta, M. L. (1989). Biologia da reprodução de espécies de *Clusia* da restinga de Maricá – RJ, Brasil. Resumos do XL Congresso Nacional de Botânica, Cuiabá, MT, Brasil, p.100.

Correia, M. C. R., Ormond, W. T., Pinheiro, M. C. B., Lima, H. A. (1993). Estudo da biologia floral de *Clusia criuva* Camb. Um caso de mimetismo. *Bradea* 6 (24) : 209-219.

Correia, M. C. R., Ormond, W. T., Pinheiro, M. C. B., Lima, H. A. (1999). Biologia da reprodução de *Clusia lanceolata* Camb. *Hoehnea* 26(1) 61-73.

Costa, J.A.S. & Ramalho, M. (2001). Ecologia da polinização em ambiente de duna tropical (APA do Abaeté, Salvador, Bahia, Brasil). *Sitientibus, Série Ciências Biológicas*, 1(2): 141-153.

Crepet, W. L.. (1983). The role of pollination in the evolution of the angiosperms. *In: Real, L. (ed.) Pollination biology*. Academic Press, Orlando, USA, p. 29-50.

da Cruz, D. D., Mello, M. A. R., Sluys, M. V. (2006). Phenology and floral visitors of two sympatric *Heliconia* species in the Brazilian Atlantic forest. *Flora* 201:519-527.

Dafni, A. (1992). *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press, 250p.

- Dressler, R. L. (1982). Biology of the orchid bees (Euglossini). *Ann. Rev Ecol. Syst.* 13:373-394.
- Faegri, K. & Pijl, L. (1979). *The principles of pollination ecology*. London, Pergamon Press 3. Ed. 244p.
- Faria, A. P. G., Matallana, G., Wendt, T., Scarano, F. R. (2006). Low fruit set in the abundant dioecious tree *Clusia hilariana* (Clusiaceae) in a Brazilian restinga. *Flora*.201: 606-611.
- Fournier, L.A. (1974). Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24: 422-423.
- Gaglianone, M.C.; A.S. Bernardino; L.F. Cesário. (2004). Bee diversity in a restinga ecosystem in Northern Rio de Janeiro. *Anais do VIII IBRA - International Conference on Tropical Bees*, Ribeirão Preto, SP.
- Gentry, A. H. (1974). Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6:64-68.
- Gottsberger, G., Amaral, A Jr. (1984). Pollinations strategies in brazilian *Philodendron* species. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 97:391-410.
- Grant, V. (1994). Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 3-10.
- Hoffman, J. S., Moreno, M. R., Bonadiman, G. S. L., Oliveira, N. E. M., Gonçalves, M. A M. (2002). Fitossociologia da formação halófila e psamófila-repitante da restinga de Praia das Neves, Presidente Kennedy, ES. *Cadernos Camilliani, Cachoeiro de Itapemirim*, 3(1-2): 19-24.
- Janzen, D. H. (1971). Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. *Science* 171:203-205.

Lacerda, L.D., Araújo, D.S.D., Cerqueira, R. & Turcq, B. (1984). *Restingas: origem, estrutura e processos*. Centro Editorial da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

Lenzi, M., Orth, A. I., Laroca, S. (2003). Associação das abelhas silvestres (Hymenoptera, Apoidea) visitantes florais de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), na ilha de Santa Catarina (sul do Brasil). *Acta Biol. Par.* 32 (1,2,3,4): 107-127.

Levin, D. A. (1971). The origin of reproductive isolating mechanisms in flowering plants. *Taxon* 20(1): 91-113.

Linsley, E. G. (1958). The Ecology of solitary bees. *Hilgardia*, 27 (19) :543-597.

Lokvam, J. & Braddock, J. F. (1999). Anti-bacterial function in the sexually dimorphic pollinator rewards of *Clusia grandiflora* (Clusiaceae). *Oecologia* 119:534-540.

Lopes, A V. & Machado, I. C. (1996). Biologia floral de *Swartzia pickelii* Killip ex Ducke (Leguminosae-Papilionoideae) e sua polinização por *Eulaema spp.* (Apidae-Euglossini). *Rev Brasil. Bot.* 19(1): 17-24.

Lopes, A . V. & Machado, I. C. (1998). Floral biology and reproductive ecology of *Clusia nemorosa* (Clusiaceae) in northeastern Brazil. *Plant Syst. Evol.* 213:71-90.

Maguire, B. (1976). Apomixis in the genus *Clusia* (Clusiaceae). A preliminary report. *Taxon* 25:241-244.

Mariz, G. (1974). Chaves para as espécies de *Clusia* nativas no Brasil. *Mem. Inst. Bioc. Univ. Fed. PE, Brasil.* 1:249-314.

Martins, R. L.; Wendt, T.; Margis, R.; Scarano, F. R. (2007). Reproductive biology. In: Ulrich Lüttge. (Org.). *Clusia - a woody neotropical genus of remarkable plasticity and diversity*. Berlin Heidelberg: Springer Verlag. p. 73-94.

Magurran, A. E. (1988). *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press.

Mayo, S. J. (1991). A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). *Kew Bulletin*. 46:601-681.

Michener, C. D. (2000). *The bees of the world*. John Hopkins University Press, 913 p.

Morellato, L. P. C., Talora, D. C., Takanasi, A., Bencke, C. C., Romera, E. C. Ziparro, V. B. (2000). Phenology of Atlantic rain forest trees: A comparative study. *Biotropica* 32(4b):811-823.

Moreno, M. R. (2001). O estudo da ecologia vegetal e o sul do Espírito Santo. *Cadernos Camilliani, Cachoeiro de Itapemirim*, 2(2): 17-14.

Newstrom, L. E., Frankie, G. W., Baker, H. G. (1994). A new classification for phenology based on flowering patterns in lowland Tropical rain forest trees at la selva, Costa Rica. *Biotropica* 26: 141-159.

Nogueira, P. C., Bittrich, V., Shepherd, G. J., Lopes, A. V., Marsaioli, A. J. (2001). The ecological and taxonomic importance of flower volatiles of *Clusia* species (Guttiferae). *Phytochemistry* 56:443-452.

Oliveira, C. M. A., Porto, A. L. M., Bittrich, V., Vencato, I., Marsaioli, A. J. (1996). Floral resins of *Clusia* spp.; chemical composition and biological function. *Tetrahedron Lett.* 37.6427.

Oliveira, P. R., & Gimenes, M. (2004). Abelhas (Apoidea) visitantes de flores de *Comolia ovalifolia* DC Triana (Melastomataceae) em uma área de restinga na Bahia. *Neotropical Entomology*, 33(3):315-320.

Opler, P. A. & Bawa, K. S. (1978). Sex ratios in tropical forest trees. *Evolution* 32:812-821.

Pereira, O.J. & Araujo, D.S.D. (2000). Análise florística das restingas dos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro. *In* Esteves F. A & Lacerda L.D. (eds.). *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. Universidade Federal do Rio de Janeiro / NUPEM, Macaé. p.25-63.

Percival, M. S. (1965). *Floral Biology*. Pergamon Press, Oxford, USA, 243 p.

Pinheiro, M.C.B. (1995). *Biologia da reprodução de cinco espécies de Melastomataceae da restinga de Maricá –RJ*. Campinas –SP- Tese de doutorado.

RadamBrasil. (1983). Rio de Janeiro/Vitória; Geologia, Geomorfologia, Pedologia, Vegetação e Uso Potencial da Terra – SF.23/24. *Projeto RADAMBRASIL*, Rio de Janeiro.

Rathcke, B. & Lacey, E. P. (1985). Phenological patterns of terrestrial plants. *Ann. Rev Ecol. Syst.*, 16: 179-214.

Richards, A. J. (1986). *Plant breeding systems*. Cambridge University Press, London, 579 p.

Rocha, C.F.D.; Bergallo, H.G.; Alves, M.A.S.; Sluys, M.V. (2003). *A biodiversidade nos grandes remanescentes florestais do Estado do Rio de Janeiro e nas restingas da Mata Atlântica*. São Carlos. Rima, 160p.

Roubick, D. W. (1989). *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge, University Press, New York, USA, 524 p.

Sazima, M., Sazima, I., Carvalho-Okano, R. M. (1985). Biologia floral de *Dalechampia stipulaceae* (Euphorbiaceae) e sua polinização por *Euglossa melanotricha* (Apidae). *Rev. Brasil. Biol.* 45: 85-93.

Simpson, B. B. & Neff, J. L. (1983). Evolution and diversity of floral rewards. *In*: Jones, C. E., Little, R. J. (eds). *Handbook of experimental pollination Biology*. Scientific and Academic Editions, New York. 142-159.

Soffiati, A. (2000). Aspectos históricos das restingas da Eco-Região Norte do Estado do Rio de Janeiro – Brasil. *In* Esteves, F.A. & Lacerda, L.D. (eds.) *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. NUPEM/UFRJ, Macaé, RJ, Brasil, 341-370.

Talora, D. C. & Morelato, P. C. (2000). Fenologia de espécies arbóreas em floresta de planície litorânea do sudeste do Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 23 (1): 13-26.

Waser, N. M. (1978). Inter-specific pollen transfer and competition between co-occurring plants species. *Oecologia* 36:223-236.

Viana, B. F. & Alves-dos-Santos, I. (2002). Bee diversity of the coastal sand dunes of Brazil. *In* Kevan P. & Imperatriz, V. L. (eds): *Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature*. Ministry of Environment, Brazilia, Distrito Federal, Brasil, p.135-153.

Vieira, A.C.M. (1995). Biologia da polinização e sistema de reprodução de *Peixotoa hispidula* Juss (Malpighiaceae). Tese de mestrado. Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ - Rio de Janeiro.

Wendt, T., Canela, M. B. F., Klein, D. E., Rios, R. I. (2002). Selfing facilitates reproductive isolation among three sympatric species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *Plant Syst. Evol.* 232:201-212.

Zaluar H. L. T. & Scarano F. R. (2000). Facilitação em restingas de moitas: um século de buscas por espécies focais. *In*: Esteves, F. A, Lacerda, L. D. (eds) *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. NUPEM/UFRJ, R.J., p:1-21.

Zar, J. H. (1996). *Biostatistical analysis*. London, Prentice-Hall, 3. ed. 662p.