



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO E ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO
FLORAL DE DUAS ESPÉCIES DE *Mouriri* (MELASTOMATACEAE) E SUA
IMPORTÂNCIA NA ATRAÇÃO DOS VISITANTES FLORAIS**

FABIANA DOS SANTOS OLIVEIRA

**SÃO LUIS - MA
JUNHO/2016**

FABIANA DOS SANTOS OLIVEIRA

ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO E ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO FLORAL DE DUAS ESPÉCIES DE *Mouriri* (MELASTOMATACEAE) E SUA IMPORTÂNCIA NA ATRAÇÃO DOS VISITANTES FLORAIS

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Biodiversidade e Conservação.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Patrícia Maia Correia de Albuquerque

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cecilia Veronica Nunez

**SÃO LUIS - MA
JUNHO/2016**

dos Santos Oliveira, Fabiana.

Ecologia da polinização e análise da composição química do óleo floral de duas espécies de *Mouriri* (Melastomataceae) e sua importância na atração dos visitantes florais / Fabiana dos Santos Oliveira. - 2016. 136 p.

Co-orientador(a): Cecilia Veronica Nunez

Orientador(a): Patrícia Maia Correia de Albuquerque.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede - Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal/CCBS, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

1. Abelhas. 2. Melastomataceae. 3. *Mouriri*. 4. Óleo floral. 5. Polinizadores. I. Maia Correia de Albuquerque, Patrícia, II. Veronica Nunez, Cecilia. III. Título.

FABIANA DOS SANTOS OLIVEIRA

ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO E ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO FLORAL DE DUAS ESPÉCIES DE *Mouriri* (MELASTOMATACEAE) E SUA IMPORTÂNCIA NA ATRAÇÃO DOS VISITANTES FLORAIS

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Biodiversidade e Conservação.

Banca examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Cecilia Veronica Nunez
Co-orientadora - Presidente da banca

Prof^ª. Dr^ª. Márcia Maria Corrêa Rêgo

Prof^ª. Dr^ª. Patricia Melchionna Albuquerque

Prof^ª. Dr^ª. Rita de Cássia Saraiva Nunomura

Prof^ª. Dr^ª. Ana Paula de Souza Caetano

**SÃO LUIS-MA
JUNHO/2016**

Eu te dedico

Forte por natureza, espírito que preza o respeito e amor ao próximo e que possui uma das mais nobres virtudes, a humildade. Mãe, por você. Pra você. Sempre.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por guiar meus passos e escolhas em todos os momentos.

À Fundação de Amparo a Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão (FAPEMA) pelo financiamento do projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa nos dois anos finais do trabalho.

À professora Patrícia M. C. de Albuquerque por tantos anos de orientação e ajuda no meu crescimento profissional.

À professora Cecilia Veronica Nunez por disponibilizar seu laboratório, equipamentos e me co-orientar no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Sergio Massayoshi Nunomura pela imensa colaboração e ajuda na realização dos experimentos de Cromatografia Gasosa e Espectrometria de massas.

À Paula Suellen da Paz Silva pela grandiosa ajuda com os experimentos de Cromatografia Gasosa e Espectrometria de massas.

À minha mãe, Maria Lúcia Silva dos Santos, que compreende a minha ausência, que junto e até mais do que eu, lutou para que eu pudesse concretizar meus sonhos.

A Irene Aguiar Santos, Emídio dos Santos Aguiar e Sr. Benedito, pela permissão do uso das áreas para a amostragem. Principalmente a Irene que se tornou minha parceira de viagens, de campo e uma eterna amiga.

Aos amigos do Laboratório de Estudos sobre Abelhas (LEA/UFMA).

Aos amigos do Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (Fabiele Cruz, Yuri Pastor, David, Luana Casas, Alan Contreras e Sabrina Zanca) pela paciência, carinho, amizade e disponibilidade para me ensinarem tudo o que sabiam; por não medirem esforços para me ajudar e por tornar minha estadia em Manaus mais feliz. Em especial, a Vanessa Neves Carvalho dos Santos por toda ajuda e apoio que sempre me ofereceu, pela sua amizade sincera e por me fazer descobrir o que é, verdadeiramente, ser uma pessoa boa. E a Leomara Andrade pela ajuda na identificação das substâncias e, principalmente, por sua amizade e alegria em todos os momentos.

E no meio de um inverno eu finalmente aprendi que havia dentro de mim um verão invencível.

Albert Camus

RESUMO

Mouriri (Melastomataceae, Memecyloideae) é um gênero Neotropical com 85 espécies com síndrome de “*Buzz pollination*”. Embora, seja o pólen o seu principal atrativo floral, glândulas côncavas e elípticas localizadas no dorso das anteras e denominadas elaióforo são responsáveis pela produção de óleo. O presente estudo teve como objetivo estudar duas espécies de *Mouriri* quanto a fenologia, biologia floral, visitantes, sistemas de reprodução e identificação química dos óleos florais. Quinzenalmente (n = 10 indivíduos) foram observados de junho/2013 a junho/2014 (*M. acutiflora*) e dezembro/2013 a março/2015 (*M. guianensis*). As abelhas foram coletadas em janeiro e fevereiro/2015 (*M. guianensis*) e em agosto/2015 (*M. acutiflora*). Polinização aberta, autopolinização manual, autopolinização espontânea, polinização cruzada e apomixia foram aplicadas para os sistemas reprodutivos. Glândulas florais (n = 1800) e pernas das abelhas [(*Centris* (*Centris*) *caxiensis* Ducke (n = 6), *Melipona* (*Melikerria*) *fasciculata* Smith (n = 10) e *M. (Melipona) subnitida* Ducke (n = 10)] foram submetidas a extração com hexano, metiladas e analisadas por CG/EM. *Mouriri acutiflora* floresce de abril a setembro e frutifica de junho a novembro e *M. guianensis* floresce de setembro a março e frutifica de novembro a março. As espécies são autocompatíveis, não apomíticas, embora ainda apresentem dependência de polinizadores. Um total de 141 visitantes foram observados em *M. acutiflora*, sendo que *M. fasciculata* (59,79%), *C. caxiensis* (12,31%) e *Eulaema* (*Apeulaema*) *nigrita* Lepeletier (9,4%) tiveram as maiores porcentagens, representando 81,5% do total de visitas. Em *M. guianensis* 86 indivíduos foram registrados, principalmente *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *cearensis* Ducke (60%), *M. subnitida* (21,17%) e *Megalopta* (*Amoena*) *amoena* Spinola (9,41%) representando 98,58% de todas as visitas. O pólen foi o recurso predominantemente coletado através do mecanismo de vibração (*Buzz pollination*), embora o óleo floral também tenha sido disponibilizado em ambas as espécies. *Melipona subnitida* utilizou apenas as regiões das glândulas de *M. guianensis* para a vedação/proteção da entrada da colônia, indicando um possível uso das glândulas/óleo. Os visitantes, a exceção de *Augochloopsis* sp., *Trigona* sp. e vespas (Chalcidoideae) são polinizadores de *Mouriri*. As substâncias identificadas por CG/EM nos óleos florais foram principalmente os ácidos palmítico, esteárico, oleico, lignocérico e palmitoleico, na forma de seus ésteres metílicos. Os extratos das pernas das abelhas tiveram como principais substâncias o ácido linoleico, esteárico, oleico, palmítico e o álcool hexacosanol. Metil hexadecanoto e metil octadecanoato foram comuns aos óleos florais e pernas das abelhas, indicando possível coleta dos lipídeos. Assim, *Mouriri* confere uma oferta regular de recursos para os polinizadores, disponibilizando óleo floral e o pólen, sendo este o principal recurso coletado pelas abelhas.

Palavras-Chave: Melastomataceae, *Mouriri*, Óleo floral, Polinizadores, Abelhas.

ABSTRACT

Mouriri (Melastomataceae, Memecyloideae) is a Neotropical genus with 85 species with "Buzz pollination". Although, to be its main attractive pollen floral, concave and elliptical glands located in the back of the anthers and called elaiophor are responsible for the production of oil. The present study aimed to study two species of *Mouriri* about phenology, floral biology, visitors, and chemical identification systems of floral oils. Fortnightly (n = 10 individuals) were observed from June/2013 to June/2014 (*M. acutiflora*) and December/2013 to March/2015 (*M. guianensis*). The bees were collected in January/2015 and February/2015 (*M. guianensis*) and in August/2015 (*M. acutiflora*). Open pollination, self-pollination manual, spontaneous self-pollination cross-pollination and apomixis were applied to the reproductive systems. Floral glands (n = 1800) and legs of bees [(*Centris* (*Centris*) *caxiensis* Ducke (n = 6), *Melipona* (*Melikerria*) *fasciculata* Smith (n = 10) and *M. (Melipona) subnitida* Ducke (n = 10)] were subjected to extraction with hexane, methyl and analyzed by GC/MS. *Mouriri acutiflora* flowering from April to September and fruits from June to November and *M. guianensis* blooms from September to March and fructifies from November to March. The species are self-compatible, not apomixis, although still present reliance on pollinators. A total of 141 visitors were observed in *M. acutiflora*, and *M. fasciculata* (59.79%), *C. caxiensis* (12.31%) and *Eulaema* (*Apeulaema*) *nigrita* Lepeletier (9.4%) bees had the highest percentages, representing 81.5% of the total visits. In *M. guianensis* 86 individuals were recorded, mainly *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *cearensis* Ducke (60%), *M. subnitida* (21.17%) and *Megalopta* (*Amoena*) *amoena* Spinola (9.41%) representing 98.58% of all visits. The pollen was predominantly resource harvested through the mechanism of vibration (*Buzz pollination*), although the floral oil also has been available in both species. *Melipona subnitida* used only the regions of the glands of *M. guianensis* for seal/protect of the entrance of the colony, indicating a possible use of the glands/oil. Visitors, except *Augochloopsis* sp., *Trigona* sp. and wasps (Chalcidoideae) are pollinators of *Mouriri*. The substances identified by GC/MS in floral oils were mainly palmitic acids, stearic, oleic, lignoceric and palmitoleic, in the form of their methyl esters. The extracts of the legs of the bees had as main substances linoleic acid, stearic, oleic, palmitic acid and alcohol hexacosanol. Methyl hexadecanoate and methyl octadecanoate were common to the floral oils and extracts of the legs of the bees, indicating possible harvest of the lipids. Thus, *Mouriri* confers a regular supply of resources to the pollinators, floral oil and pollen, this being the primary resource harvested by bees.

Keywords: Melastomataceae, *Mouriri*, Floral oil, Pollinators, Bees.

SUMÁRIO

RESUMO	Viii
ABSTRACT	Vix
LISTA DE FIGURA	Xi
LISTA DE TABELAS	Xv
1. INTRODUÇÃO	17
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Interação entre as flores e as abelhas	19
Cores e Perfumes	20
Pólen e Néctar	21
Lipídeos: A Síndrome do óleo floral	22
2.2 Melastomataceae Juss.	26
Gênero <i>Mouriri</i>	27
<i>Mouriri acutiflora</i> Naudin.	29
<i>Mouriri guianensis</i> Aubl.	30
2.3 Química de Melastomataceae	31
3. OBJETIVOS	40
3.1 Geral	40
3.2 Específicos	40
4. JUSTIFICATIVA	40
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
6. LISTA DE PUBLICAÇÕES	57
Capítulo 1: Flowering phenology of <i>Mouriri guianensis</i> (Melastomataceae) and its interaction with crepuscular bees, <i>Megalopta amoena</i> (Halictidae), in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil.	58
Capítulo 2: Biologia reprodutiva e visitantes florais de duas espécies de <i>Mouriri</i> (Melastomataceae) no Nordeste do Brasil.	81
Capítulo 3: Componentes majoritários do óleo floral de duas espécies de <i>Mouriri</i> (Melastomataceae) e sua importância na atração de abelhas visitantes	112
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	135

REFERENCIAL TEÓRICO

- Figura 1:** Estruturas químicas de algumas classes de metabólitos secundários encontrados em plantas. Adaptado de Acamovic & Brooker (2005). 20
- Figura 2:** Modificações nas pernas de abelhas especializadas em coletar óleo floral. (A, C) *Monoeca xanthopyga* Harter-Marques, B., R. da Cunha & J. S. Moure. A) Basitarso anterior e cerdas modificadas em formato de pente (seta), B) Óleo acumulado na pilosidade plumosa localizada atrás do pente, C) Adaptação do esporão e pelos plumosos da escopa na perna posterior. (D, F) *Lanthanommelissa*. D) Basitarso da fêmea com cerdas modificadas em formato de lança, E) Pelos plumosos, F) Detalhes das cerdas modificadas. Prancha retirada de Alves-dos-Santos *et al.* (2007). 24
- Figura 3:** Comparação entre as morfologias florais de três espécies do gênero *Mouriri* mostrando poros apicais e elaióforos. A) Esquema da flor de *Mouriri myrtilloides* subesp. *parvifolia* (Benth.) Morley, B) Anteras reniformes (retirado de Buchmann & Buchmann 1981), C, D) Flor e antera de *Mouriri acutiflora* Naudin. E, F) Flor e antera de *Mouriri guianensis* (presente estudo). 28
- Figura 4:** Morfologias de anteras do gênero *Mouriri* e *Votomita* mostrando distinções entre poros, fendas apicais e elaióforos. Esquema retirado de Buchmann & Buchmann (1981). A) *Mouriri exadenia* Morley (sem glândula), B) *M. muelleri* Cogn., C) *M. micradenia* Ducke, D) *M. ambiconvexa* Morley, E) *M. froesii* Morley, F) *M. duckeana* Ducke, G) *M. monopora* Morley (com um único poro), H) *M. florihunda* Markgr., I) *M. panamensis* Morley, J) *M. densifoliata* Ducke, M) *M. nervosa* Pilg., N) *M. pusa* Gardn., O) *M. micranthera* Morley, P) *M. crassifolia* Sagot., Q) *M. dimorphandra* Morley. 29
- Figura 5:** Ilustração da Flora Brasiliensis, de Carl Friedrich Philipp von Martius, de duas espécies do gênero *Mouriri*. I. *Mouriri chamissoana* Cogn. II) *Mouriri acutiflora* Naudin. (Fonte: <http://florabrasiliensis.cria.org.br>). 30
- Figura 6:** Ilustração de *Mouriri guianensis* Aubl. retirado de Aublet, F. , Histoire des plantes de la Guiane Française, vol. 3: t. 180 (1775) (Fonte: plantillustrations.org/illustration) 31
- Figura 7:** A) Triterpenos isolados de *Miconia sellowiana* (DC.) Naudin e *M. ligustroides*(DC.) Naudin, B) Triterpeno isolado de *Marcetia formosa* Wurdack, 36

C) Biflavonóide isolado de *Miconia cabucu* Hoehne.

Figura 8: Substâncias isoladas de espécies de Melastomataceae. **(1b)** Ácido sumaresinolico e **(1c)** Ácido 3-epi-sumaresinolico em *Miconia stenostachya* DC., **(4)** 2-metoxi-6-pentil-3,5 ciclohexadien-1,4-diona e **(4a)** 2-metoxi-6-heptil-3,5-ciclohexadien-1,4-diona em *Miconia lepidota* DC. **(1a)** Ácido oleanólico, **(2a)** ácido ursolico, **(3a)** 3-O- β -D-glucopiranosideo de sitosterol. Em *Dissotis perkinsiae* Gilg. **(3)** β -sitosterol, **(1)** β -amirina e **(2)** α -amirina em *Tibouchina candolleana* (Mart. ex DC.) Cogn. (Fonte: Serne & martinez, 2015). 37

Figura 9: Flavonoides isolados em espécies de Melastomataceae. **(6)** Canferol em *Medinilla magnifica* Lindley e *Centradenia floribunda* Planch. **(8)** Quercetina em *Bertolonia marmorata* Naudin, **(10)** Leucocianidina em *Medinilla magnifica* Lindley e **(10a)** Leucodelfinidina em *Tibouchina ciliaris* (Vent.) Cong. (Fonte: Serne & martinez, 2015). 37

Figura 10: Estruturas químicas identificadas em óleos florais de espécies de *Krameira* (Seigler *et al.* 1978), *Calceolaria* (Vogel 1974) e *Lysimachia* Vogel (1986). 38

CAPÍTULO 1: Flowering phenology of *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with crepuscular bees, *Megalopta amoena* (Halictidae), in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil

Figure 1: Relationship between flowering phenology (buds and flowers) of *Mouriri guianensis* Aubl. and abiotic factors (temperature, relative humidity and rainfall), Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. A) Rainfall, temperature and relative humidity. B) Flowering. 65

Figure 2: (A) *Mouriri guianensis* Aubl. flower. (B) General aspect; (C) Anthers indicating apical pore (P) and oil gland (GL), Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. Scale bars = 3 mm (A), 20 cm (B) and 10 mm (C). This figure is in color in the electronic version. 66

Figure 3: Relationship between *Mouriri guianensis* Aubl. and bees visiting hours with daily temperature ($^{\circ}$ C) and relative humidity (%), Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. A) Relative humidity and temperature. B) Visit rate. 68

Figure 4: Harvesting behavior exhibited by *Megalopta amoena* Spinola on

Mouriri guianensis Aubl. flowers, Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brasil. (A, B, C, D) Pollen harvesting through *buzz pollination*. (E, F) Bees breaking up the region of the apical pores and glands of the anthers. Scale bars = 6 mm (A, C, D, E, F) and 4 mm (B). This figure is in color in the electronic version. 69

Figure 5: Entrance structure of one man-made box of *Melipona subnitida* Ducke. (A) Entrance of the box. (B) Box entrance sealing. (C, D) Box entrance open. Arrows showing *M. guianensis* anthers. Scale bars = 10 mm (A), 20 mm (B), 15 mm (C, D). This figure is in color in the electronic version. 70

CAPÍTULO 2: Biologia reprodutiva e visitantes florais de duas espécies de *Mouriri* (Melastomataceae) no Nordeste do Brasil

Figura 1: Mapa identificando as espécies estudadas e respectivas áreas de estudo no Estado do Maranhão. A) *Mouriri acutiflora* Naudin estudada em áreas de campos inundáveis, município de Anajatuba, Baixada Maranhense. B) *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae) estudada em área de restinga, Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses. 87

Figura 2: Fenologia de floração e frutificação de *Mouriri acutiflora* (A, B, C) e *Mouriri guianensis* (D, E, F) (Melastomataceae). 91

Figura 3: *Mouriri acutiflora* Naudin. (Melastomataceae). A) Visão geral da planta. B) Detalhe de parte da inflorescência. C) Antera mostrando o poro apical (P) e elaióforo (EL). D) Fruto imaturo. E) Fruto maduro. Escalas: A= 1000 mm, B= 19 mm, C= 1,5 mm, D= 10 mm, E= 10 mm. 93

Figura 4: *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae). A) Visão geral da planta. B) Flor. C) Antera mostrando o poro apical (P) e elaióforo (EL). D) Fruto maduro. E) Corte do fruto verde. F) Corte do fruto maduro. Escalas: A= 100 mm, B= 18 mm, C= 1,5 mm, D= 30 mm, E= 10 mm, F= 5 mm 93

Figura 5: Comparação entre as flores de A) *Mouriri acutiflora* (estilete acima do nível das anteras) e B) *Mouriri guianensis* (estilete abaixo do nível das anteras). 96

Figura 6: Atividade das abelhas visitantes de A) *Mouriri acutiflora* Naudin, B) *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae).

CAPÍTULO 3: Componentes majoritários do óleo floral de duas espécies de *Mouriri*

(Melastomataceae) e sua importância na atração de abelhas visitantes

- Figura 1:** Fluxograma de obtenção dos extratos hexânicos dos óleos florais de *Mouriri acutiflora* e *M. guianensis* (Melastomataceae). 117
- Figura 2: Fluxograma de obtenção dos extratos hexânicos das pernas das abelhas *Centris* (*Centris caxiensis*) Ducke (Centridini), *Melipona* (*Melikerria*) *fasciculata* Smith e *M. (Melipona) subnitida* Ducke (Meliponini). 118
- Figura 3:** Cromatogramas de íons totais dos óleos florais de *Mouriri acutiflora* e sua abelha visitante *Centris caxiensis*, B) *M. guianensis* e *Melipona subnitida*. 124
- Figura 4:** Espectros de massa dos componentes comuns aos óleos florais de *M. acutiflora* e *Centris caxiensis*. 125
- Figura 5:** Espectros de massa dos componentes comuns aos óleos florais de *M. guianensis* e *Melipona subnitida*. 125

LISTA DE TABELAS

Pág.

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1: Algumas substâncias identificadas em espécies de Melastomataceae Juss. 32

CAPÍTULO 1: Flowering phenology of *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with crepuscular bees, *Megalopta amoena* (Halictidae), in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil

Table 1: Visiting bees of *Mouriri guianensis* Aubl. on restinga, Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. 67

CAPÍTULO 2: Biologia reprodutiva e visitantes florais de duas espécies de *Mouriri* (Melastomataceae) no Nordeste do Brasil

Tabela 1: Matriz de correlação do Coeficiente de Spearman para as variáveis ambientais (temperatura, umidade relativa e precipitação) com a floração e frutificação de *Mouriri acutiflora* e *M. guianensis* (Melastomataceae). 92

Tabela 2: Resultados dos experimentos sobre o sistema reprodutivo de *Mouriri acutiflora* e *Mouriri guianensis*. ISI = Índice de auto-incompatibilidade (% frutos oriundos de autopolinização / % de frutos formados por polinização cruzada); IER = Índice de eficiência reprodutiva (razão entre % frutos formados pelo controle e pela polinização cruzada). 95

Tabela 3: Visitantes florais e porcentagens de visitas em *Mouriri acutiflora* Naudin. e *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae), Maranhão, Brasil. 97

CAPÍTULO 3: Componentes majoritários do óleo floral de duas espécies de *Mouriri* (Melastomataceae) e sua importância na atração de abelhas visitantes

Tabela 1: Massas dos extratos hexânicos dos óleos florais e abelhas visitantes de *Mouriri acutiflora* Naudin. e *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae). 119

Tabela 2: Composição química do óleo floral de *Mouriri acutiflora*. 120

Tabela 3: Composição química do óleo floral de *Mouriri guianensis*. 121

Tabela 4: Composição química identificada nos extratos da abelha *Centris* 122

caxiensis.

Tabela 5: Composição química dos extratos das pernas de abelhas operárias de 123

Melipona subnitida.

1. Introdução geral

Segundo Corbet *et al.* (1991), a polinização é definida como “a transferência de grãos de pólen das anteras de uma flor para o estigma de outra flor ou para o seu próprio estigma”, havendo o aumento do valor adaptativo ou “*fitness*” dos organismos envolvidos (AGOSTINI *et al.*, 2014). As interações planta-polinizador são, dessa maneira, interpretadas como o resultado de uma relação co-evolucionária (BAKER & HURD, 1968; CREPET, 1983) com importantes consequências para os organismos (OBERMULLER *et al.*, 2008).

Os animais visitam as flores em busca de carboidratos e proteínas e nesse processo realizam a polinização, assim as plantas oferecem vários tipos de recompensas (pólen, néctar, óleos, resinas, fragrâncias, tecidos florais) garantindo a atração de visitantes. A polinização é mediada por sinais físicos e químicos e o reconhecimento dos “*avisos*” florais é importante na interação planta-polinizador (FARRÉ-ARMENGOL *et al.*, 2013).

Tais “*avisos*” ou atrativos geralmente não são utilizados pelo visitante (exceto os perfumes) e atuam como chamarizes (exemplo: morfologia floral, cores, guias de nectários e voláteis) que sinalizam a presença de recursos (VARASSIN & AMARAL-NETO, 2014). Os recursos, por sua vez, são consumidos ou coletados durante a visita às flores e estabelecem a relação direta entre flor/visitante. Os polinizadores, em especial, as abelhas, utilizam tais recompensas para a alimentação e construção de ninhos (SIMPSON & NEFF, 1983; GIESE, 2005; AGOSTINI *et al.*, 2014).

O pólen e o néctar são as recompensas mais utilizadas e vários estudos versam sobre as suas composições químicas e valores nutricionais (FAEGRI & PIJL, 1980; NICOLSON *et al.*, 2007; WILLMER, 2011; AMORIM *et al.*, 2012). O pólen, além de transportar os gametas masculinos importantes para a reprodução, também é o principal componente da dieta de vários insetos, sendo rico em proteínas, amido e outros açúcares, além de fósforo, vitaminas e água (WILLMER, 2011). O néctar é alimento para uma grande variedade de insetos, aves e para alguns mamíferos, sendo constituído de carboidratos, água, proteínas, terpenoides voláteis, fenóis e alcaloides (ADLER, 2000; RAGUSO, 2004).

Por outro lado, em adição e/ou substituição ao pólen ou ao néctar, um grupo restrito de onze famílias de plantas com flores produzem óleo em glândulas florais (VOGEL, 1969; BUCHMANN & BUCHMANN, 1981; MACHADO, 2004; MELO & GAGLIANONE, 2005). A oferta de lipídeos configura uma característica incomum entre as Angiospermas e as abelhas utilizam os óleos florais para revestimento de ninho e alimento larval (MORLEY, 1976; BUCHAMNN, 1987) ou ainda como “*pollenkitt*” facilitando a aderência dos grãos de pólen aos corpos das abelhas *Epicharis* e *Trigona* (STEINER, 1985; RÉGO & ALBUQUERQUE, 1989).

Melastomataceae é a sétima maior entre as Angiospermas, compreendendo cerca de 166 gêneros e 4500 espécies, sendo cerca de 3000 delas Neotropicais (CLAUSING & RENNER, 2001). São amplamente distribuídas colonizando ambientes variados que correspondem desde os Andes até o norte da América do Sul (RENNER, 1993). No Brasil, possui aproximadamente 1500 espécies presentes desde o Cerrado, Amazônia até os campos do Rio Grande do Sul (ROMERO, 2000; ROMERO & MARTINS, 2002).

A possibilidade de produção e oferta de óleos em Melastomataceae foi investigada nos trabalhos de Buchmann & Buchmann (1981), sendo esta característica bastante restrita na família. A oferta de óleo floral é registrada apenas nos seis gêneros que compõem a subfamília Memecyloideae (*Memecylon*, *Mouriri*, *Spathandra*, *Lijndenia*, *Warneckea* e *Votomita*) (BUCHMANN & BUCHMANN, 1981; MACHADO 2004), sendo esta característica uma sinapomorfia para o grupo (CLAUSING & RENNER, 2001) e a função ecológica sugerida para os óleos florais de *Mouriri* seria a de “*pollenkitt*” (AGOSTINI *et al.*, 2014).

Mouriri é um gênero Neotropical com 85 espécies, sendo que 82 delas possuem uma glândula côncava e elíptica (elaióforo) localizada na parte abaxial do conectivo da antera (MORLEY 1976; BUCHMANN & BUCHMANN, 1981; BUCHMANN, 1983, 1987). Renner (1989) relata que "Uma vez que as secreções das glândulas florais contenham lipídios, a relação entre *Mouriri* e abelhas coletoras de óleo é de particular interesse". Isto se torna importante, uma vez que o óleo disponibilizado por *Mouriri* possui modo de coleta, função e composição ainda mal compreendidos e as respostas para esse sistema de polinização encontram-se limitadas.

Em relação ao sistema reprodutivo em Melastomataceae, vários estudos já foram desenvolvidos, contudo, a maioria se concentra nas tribos Miconieae, Microlicieae e Melastomeae. Embora, na família a xenogamia (polinização cruzada) seja apontada como o sistema mais comum espécies apomíticas e espécies autocompatíveis também são frequentes (GOLDENBERG & SHEPHERD, 1998; GOLDENBERG, 2000; GOLDENBERG & VARASSIN, 2001; MENDES-RODRIGUES & OLIVEIRA, 2012; CAETANO *et al.*, 2013a,b).

No Brasil, há vários estudos desenvolvidos sobre revisões de flora, sistemas reprodutivos e interação inseto-planta com espécies da família Melastomataceae, contudo, trabalhos focando a subfamília Memecyloideae são escassos (GOLDENBERG *et al.*, 2012). Diante do exposto, o presente trabalho foi focado em duas espécies do gênero *Mouriri* (subfamília Memecyloideae) levando-se em consideração a natureza lipídica pouco conhecida das secreções das glândulas e a relação com as abelhas associadas, bem como a escassez de estudos sobre o grupo, principalmente na fitofisionomia amazônica e na restinga.

2. Referencial teórico

2.1 Interação entre as flores e as abelhas

No registro fóssil, a cerca de 140 milhões de anos, o aparecimento de estruturas semelhantes a flores marcaram o provável aparecimento das Angiospermas (TEIXEIRA *et al.*, 2014). Sua posterior diversificação coincidiu com o aumento na diversidade de grupos de insetos como Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera e Diptera (BAKER & HURD, 1968; KNOLL, 1986; RAVEN, EVERT & EICHHORN, 2001).

A diversificação das abelhas, que ocorreu durante o período Cretáceo foi importante, dado o estreito envolvimento com a polinização das plantas com flores (MICHENER, 2007; RENNER & SCHAEFER, 2010). Atualmente as mais de 20.000 espécies de abelhas são responsáveis por visitar e polinizar a maioria das angiospermas (MICHENER, 2007; PINHEIRO *et al.*, 2014).

Flores oferecem alimento, produzem substâncias utilizadas pelas abelhas na construção dos ninhos ou necessárias para a sua reprodução, escondem recursos florais, enganam os visitantes ou servem como local de acasalamento (SIMPSON & NEFF, 1981; VOGEL, 1983; ROUBIK, 1989; SCHLINDWEIN, 2004; GULLAN & CRANSTON, 2008). Por outro lado, os polinizadores transportam os grãos de pólen eficientemente e os depositam nos estigmas de plantas co-específicas, realizando a polinização (SCHLINDWEIN, 2004; TAURA & LAROCA, 2004; THOMPSON, 1989). Tais interações podem ser complexas tendo natureza difusa e, na maioria das vezes, generalista (OLLERTON *et al.*, 2007; MARTINS *et al.*, 2013) ou tender a ser mais especialista (MACHADO, 2004; SCHLINDWEIN, 2004).

Devido à dependência da polinização realizada por animais, a maioria das plantas desenvolve mecanismos ou especializações florais para atraí-los (FAEGRI & PIJL, 1979). De uma forma geral, elas os atraem através de sinais ou atrativos florais que indicam a presença de recursos (FARRÉ-ARMENGOL *et al.*, 2013; VARASSIN & AMARAL-NETO, 2014) e que satisfazem pelo menos uma das três necessidades principais do visitante (alimentação, reprodução e construção dos ninhos) (AGOSTINI *et al.*, 2014).

As plantas também produzem uma variedade de metabólitos secundários com função anti-herbivoria, de feromônios ou envolvidos na atração de visitantes (VERPOORTE *et al.*, 2000) e estas substâncias sinalizadoras são denominadas de semioquímicos (NORDLUND & LEWIS, 1976; MORI, 1998) ou infoquímicos (DICKE & SABELIS, 1988). A figura 1 mostra resumidamente as estruturas de algumas classes de metabólitos secundários identificados em plantas.

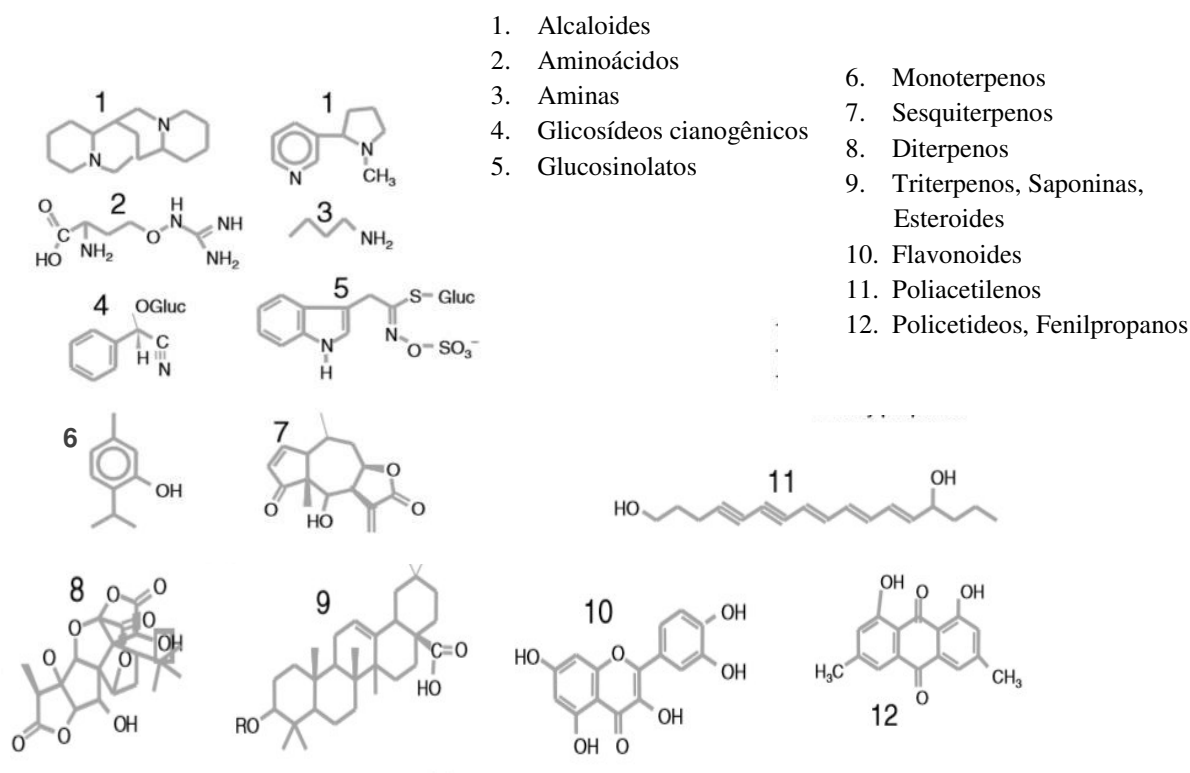


Figura 1: Algumas estruturas químicas de algumas classes de metabólitos secundários encontrados em plantas. Adaptado de Acamovic & Brooker (2005).

A seguir são exemplificadas algumas interações entre flores e abelhas mediadas por atrativos e recursos:

Cores e perfumes

Insetos dependem de estímulos visuais e olfativos para encontrar fontes de recursos e/ou parceiros sexuais. A coloração das flores, junto com os perfumes florais, são os atrativos primários para os polinizadores. Na maioria das vezes, as abelhas associam as cores na faixa do amarelo, rosa, violeta e azul (WESTERKAMP, 1997) e são sensíveis à presença de compostos como as flavonas e flavonóis (HARBONE, 2001). Lunau *et al.* (2011) testando padrões de visitação observaram que flores vermelhas visitadas por beija-flores podem ser mais inconsp cias para as abelhas.

Já os voláteis florais além de atrair polinizadores, podem ter fun o mimética a feromônios para atra o de fêmeas e inibi o de herbivoria (DOBSON & BERGSTROM, 2000). Além disso, podem agir como filtros de visitantes facultativos e inibir a visita o, como parece ser o caso de

fragrâncias contendo monoterpenos, éteres e cetonas (DOBSON & BERGSTROM, 2000; JUNKER & BLUTHGEN, 2010; FARRÉ-ARMENGOL *et al.*, 2013).

Uma das interações mais estudadas em relação à coleta de fragrâncias florais é a estabelecida entre abelhas Euglossini e flores de Orchidaceae. Cerca de 200 espécies de Euglossini são polinizadores efetivos de orquídeas (CAMERON, 2004) coletando perfumes das flores com estruturas semelhantes a escovas, presentes nos tarsos anteriores (VOGEL, 1966). Plantas polinizadas por estas abelhas também incluem Solanaceae (*Solanum circinatum* Bohs., *S. diploconos* (Mart.) Bohs. e *S. sciadostylis* Sendth.), Euphorbiaceae (*Dalechampia*), Araceae (*Anthurium* e *Spathiphyllum*), Bignoniaceae, Gesneriaceae, Lecythidaceae e Zingiberales (AMBRUSTER, 1993; SAZIMA *et al.*, 1993; HENTRICH *et al.*, 2007).

Os perfumes florais também podem servir como atração e orientação para espécies que forrageiam em condições de pouca luz, como as abelhas crepusculares (HOPKINS *et al.*, 2000; WCISLO *et al.*, 2004; WARRANT *et al.*, 2006), uma vez que, além dos sinais visuais, os sinais olfatórios emitidos pelas flores e identificados pelas abelhas através do reconhecimento de substâncias voláteis são provavelmente importantes para voos noturnos (KNOLL & SANTOS, 2012).

Pólen e néctar

O pólen é um dos recursos mais utilizados pelas abelhas. Em flores com anteras poricidas, frequentemente encontradas em Melastomataceae, Solanaceae e Fabaceae e em alguns casos com anteras rimosas como as encontradas em Myrtaceae (LOPES & MACHADO, 1996; FRACASSO & SAZIMA, 2004; WOLOWSKI & FREITAS, 2010), a polinização depende da vibração (BUCHMANN, 1983). Durante esse tipo de coleta de pólen, as abelhas usam movimentos das asas e da sua musculatura torácica para vibrar as anteras e liberar os grãos (NUNEZ-SILVA *et al.*, 2010). Flores com anteras poricidas são comuns, por exemplo, em *Cassia*, *Senna* e *Chamaecrista* (Caesalpiniaceae), *Solanum* (Solanaceae), *Tibouchina* (Melastomataceae), *Byrsonima* (Malpighiaceae), *Sauvagesia* (Ochnaceae), *Krameria* (Krameriaceae) e *Ouratea* (Ochnaceae) (BUCHMANN, 1983; FRACASSO & SAZIMA, 2004; WOLOWSKI & FREITAS, 2010; FRANCO & GIMENES, 2011). A capacidade de coletar pólen por vibração é observada em várias tribos de abelhas como Centridini (*Centris*, *Epicharis*), Euglossini, Bombini (*Bombus*), Augochlorini e Meliponini (*Melipona*).

Em Melastomataceae várias espécies são polinizadas através de *buzz pollination* e são classificadas como “*flores de pólen*” devido ao fato de apresentarem grande disponibilidade deste

recurso para os visitantes (CRUDEN, 2000). Exceções ocorrem em espécies que apresentam poros amplos como em espécies de *Miconia*, sendo que estas são polinizadas por uma variedade maior de polinizadores, caracterizando uma polinização generalista (GOLDENBERG *et al.*, 2008; VARASSIN *et al.*, 2008; BRITO *et al.*, 2016).

Assim como o pólen, o néctar constitui a base da dieta de muitos animais, especialmente as abelhas, sendo utilizado na atração de visitantes florais e importante para a polinização (MITCHELL & WASER, 1992). As flores nectaríferas possuem morfologias variadas facilitando ou restringindo o acesso dos polinizadores (NEAL *et al.*, 1998). Brito *et al.* (2010) observaram que flores de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae), acumulam o néctar em uma câmara nectarífera. Logo, as abelhas visitantes precisam ter comportamento adequado forçando a cabeça entre a base da pétala estandarte, peças da quilha e da ala para coletar o néctar.

Em Melastomataceae poucas espécies possuem nectários florais e por isso a oferta de néctar é considerada incomum na família (GOLDENBERG *et al.*, 2008). Os primeiros relatos de produção de néctar em Melastomataceae ocorreram para o gênero *Tibouchina* associado a polinização por beija-flores, morcegos e abelhas (RENNER, 1989). Posteriormente, também foi descrita para *Brachyotum* estando associada a polinização por beija-flores, assim como aos gêneros de *Charianthus* e *Huilaea* (PENNEYS & JUDD, 2005). Em *Blakea*, a coleta de néctar e a polinização é realizada por roedores (ALMEDA, 2000). Em *Meriania* e *Centronia* morcegos e aves são os principais animais coletores de néctar (MUCHHALA & JARRIN-V, 2002). Algumas espécies de *Miconia* também possuem nectários (GOLDENBERG *et al.*, 2008; VARASSIN *et al.*, 2008).

Lipídeos: A síndrome do óleo floral

Por um longo período, néctar e pólen foram considerados os recursos mais importantes ou mesmo as únicas recompensas nutritivas disponibilizadas para os polinizadores. Porém, há cerca de quarenta e sete anos, Vogel (1969) descobriu um complexo de interações entre plantas com glândulas florais associadas a abelhas especializadas na coleta de óleo. Utilizando flores de *Angelonia* (Plantaginaceae) como base para seu estudo, Vogel identificou a presença de estruturas produtoras de líquidos hidrofóbicos e as denominou de *elaióforos*.

Inicialmente Scrophulariaceae, Iridaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae e Orchidaceae foram incluídas como produtoras deste recurso (VOGEL, 1974; BUCHMANN & BUCHMANN, 1981). Atualmente, Calceolariaceae, Cucurbitaceae, Iridaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae, Myrsinaceae, Orchidaceae, Plantaginaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae e Stilbaceae são reconhecidas como produtoras de lipídeos florais (RENNER & SCHAEFER, 2010). Embora, já

tenham sido incluídas nesta listagem, Melastomataceae (BUCHMANN & BUCHMANN, 1981) e Gesneriaceae (STEINER, 1985) ainda permanecem como uma dúvida, uma vez que produzem óleo floral mas com função ecológica pouco definida (MACHADO, 2004).

Elaióforos estão presentes em 1600 a 2000 espécies de plantas que ocorrem principalmente nas regiões Tropicais e Subtropicais (cerca de 1500 a 1800 espécies) e são polinizadas por fêmeas de 365 a 447 espécies de abelhas (ALVES-DOS-SANTOS *et al.*, 2007; RENNER & SCHAEFER, 2010; MARTINS *et al.*, 2013, 2014). O óleo produzido por estas flores pode ser excretado livremente entre os tricomas (*elaióforos tricomáticos*), comumente encontrados em Iridaceae, Cucurbitaceae, Solanaceae e alguns gêneros de Orchidaceae (*Disperis*, *Ornithocephalus* e *Zygostates*) (COCUCCI & VOGEL, 2001; MACHADO *et al.*, 2002; MACHADO, 2004), ou permanecer sob uma fina cutícula até o seu rompimento (*elaióforos epiteliais*) como os encontrados em Melastomataceae, Krameriaceae, Malpighiaceae, alguns gêneros de Orchidaceae (*Oncidium*, *Grobya* e *Pterigodium*) e Iridaceae (*Tritoniopsis*) (VOGEL, 1974; SIMPSON & NEFF, 1981; BUCHMANN, 1987; MACHADO *et al.*, 2002; MACHADO, 2004).

A evolução das flores produtoras de óleo pode ter iniciado no Eoceno (MICHEZ *et al.*, 2007) e provavelmente tiveram origem independente pelo menos 28 vezes (RENNER & SCHAEFER, 2010), sublinhando que a produção de lipídeos florais é polifilética e um exemplo de convergência evolutiva (NEFF & SIMPSON, 1981; BUCHMANN, 1987; ENDRESS, 1994; RASMUSSEN & OLESEN, 2000; MACHADO, 2004; RECH *et al.*, 2014). Vários estudos concluíram que na maioria das famílias os elaióforos surgiram uma única vez (GOLDBLATT *et al.*, 2008; CHASE *et al.*, 2009; RENNER & SCHAEFER, 2010) e Martins *et al.* (2014) sugerem que a evolução da coleta de óleo tenha iniciado com abelhas *Epicharis*.

A coleta de óleos florais é realizada por abelhas Apidae (Centridini, Tapinotaspidini, Tetrapediini, Ctenoplectrini) e Mellitidae (Macropidini e Redivivini e *Melipona*) (MICHENER, 2000; MICHENER, 2007; GAGLIANONE *et al.*, 2011). Supõe-se que estas abelhas colem o óleo floral por dois principais motivos. O primeiro seria para substituir os açúcares do néctar como fonte de energia. Segundo Vogel (1989), o óleo floral é cerca de oito vezes mais rico em calorias que o néctar e por esta razão, as fêmeas misturam óleos com pólen para alimento de suas larvas (BUCHAMANN & BUCHMANN 1981; BUCHMANN, 1983). O segundo motivo seria para impermeabilizar o ninho (BUCHMANN, 1983). Uma terceira função dos lipídeos florais para as abelhas coletoras seria a utilização como substância adesiva para o transporte de grãos de pólen (*pollenkitt*) em *Epicharis*, *Tetrapedia* e *Trigona* (STEINER, 1985; RÊGO & ALBUQUERQUE,

1989). Apesar de ser sugerido como alimento para abelhas adultas (BUCHAMN, 1987) não há evidências densas que comprovem isso.

A coleta de lipídeos florais requer que as abelhas apresentem algumas adaptações morfológicas (Figura 2) nas pernas e algumas vezes no abdômen (por exemplo em *Tapinotaspoides*). Embora, a coleta efetiva de óleos florais possa ser realizada por abelhas destituídas destas estruturas (RÊGO & ALBUQUERQUE, 1989). As estruturas coletoras das abelhas estão correlacionadas com os diferentes tipos de elaióforos e com a localização dos mesmos na flor.

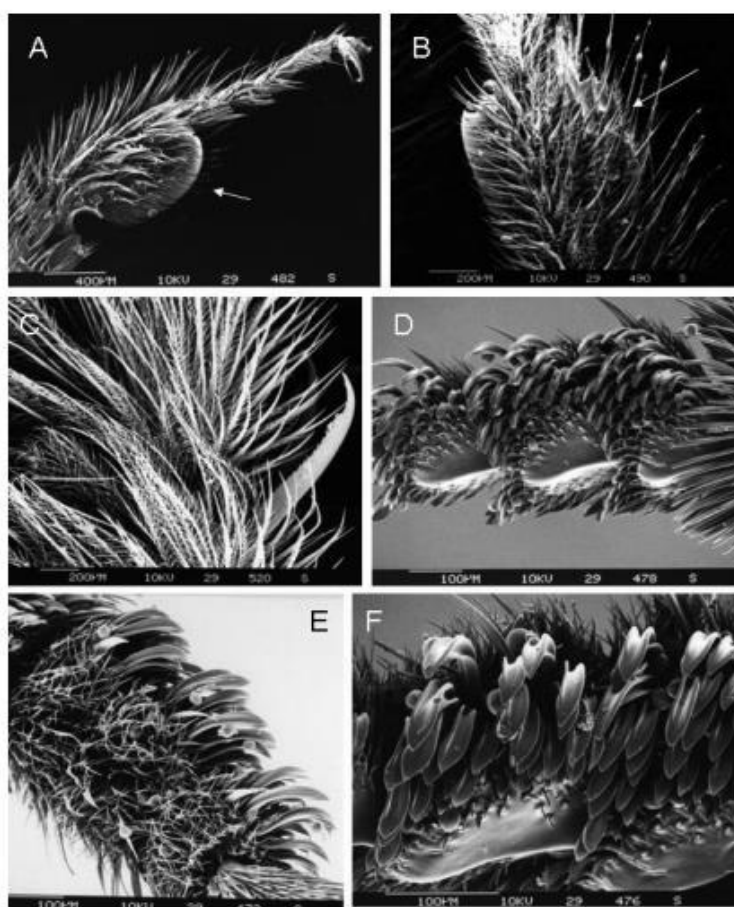


Figura 2: Modificações nas pernas de abelhas especializadas em coletar óleo floral. (A, C) *Monoeca xanthopyga* Harter-Marques, B., R. da Cunha & J. S. Moure. (Tapinotaspidini). A) Basitarso anterior e cerdas modificadas em formato de pente (seta), B) Óleo acumulado na pilosidade plumosa localizada atrás do pente, C) Adaptação do esporão e pelos plumosos da escopa na perna posterior. (D, F) *Lanthanommelissa* (Tapinotaspidini). D) Basitarso da fêmea com cerdas modificadas em formato de lança, E) Pelos plumosos, F) Detalhes das cerdas modificadas. (Fonte: Prancha retirada de Alves-dos-Santos *et al.*, 2007).

Abelhas do gênero *Rediviva* apresentam as duas pernas anteriores alongadas, adaptadas a coleta de óleo nos elaióforos dispostos aos pares (lado a lado) em *Diascia* e *Angelonia* (VOGEL &

MICHENER, 1985). Os Centridini (*Epicharis* e *Centris*), geralmente apresentam o arranjo *four-legged* ou elaióspato, presente nas pernas anteriores e médias, relacionado à exploração de elaióforos epiteliais em Malpighiaceae (NEFF & SIMPSON, 1981). O arranjo “*four-legged*” em *C. caxiensis*, por exemplo, possibilita a manipulação de pelo menos quatro dos cinco pares de glândulas presentes em *Byrsonima gardneriana* A. Juss. (BEZERRA *et al.*, 2009).

As pernas anteriores alongadas presentes em *Centris (Paracentris) hyptidis* Ducke são utilizadas para alcançar os elaióforos dentro da corola de *Angelonia pubescens* Benth. e *A. cornigera* Hook. (MARTINS *et al.*, 2013). *Centris (Wagencknechtia) vardyorum* Roig-Alsina apresenta pentes basitarsais modificados em cerdas grossas e almofadas (*pads*) de pêlos plumosos e finos nas superfícies anterior e ventral. Estas estruturas agem como um absorvente do óleo produzido em elaióforos tricomáticos de *Monttea* (MARTINS *et al.*, 2013).

Centris são associadas principalmente a flores de Krameriaceae, Iridaceae, Plantaginaceae, Solanaceae e Malpighiaceae (RÊGO *et al.*, 2006; ALVES-DOS-SANTOS *et al.*, 2007; RIBEIRO *et al.*, 2008; VIVALLO & MELO, 2009; MARTINS *et al.*, 2013). *Epicharis* está exclusivamente associada a flores de Malpighiaceae, explorando-as com os pares de pernas (anteriores e médios) e friccionando os basitarsos sobre os elaióforos epiteliais enquanto se fixam com as mandíbulas na base da pétala estandarte (GAGLIANONE, 2001; RÊGO *et al.*, 2006).

Tapinotaspidini é considerado o grupo mais adaptado à coleta de substâncias lipídicas em flores, possuindo grande interação com Iridaceae e Solanaceae (COCUCCI *et al.*, 2000). Buchmann & Buchmann (1981) examinando a co-adaptação dos poros apicais e elaióforos de *Mouriri myrtilloides* subsp. *parvifolia* (Benth.) Morley (Melastomataceae) e seus polinizadores, verificaram a presença de fêmeas de *Paratetrapedia calcarata* (Cresson) vibrando as anteras e raspando os elaióforos com as setas modificadas do tarso anterior.

Tetrapedia (Tetrapediini) apresentam um pente na margem externa do basitarso da perna anterior e coletam óleos não voláteis em Malpighiaceae, Plantaginaceae (*Angelonia*), Iridaceae (*Sysirinchium*) e Orchidaceae (*Oncidium*) (SCHLINDWEIN, 2004; GAGLIANONE, 2005; ROZEN *et al.*, 2006; MARTINS *et al.*, 2013).

Ctenoplectrini possui apenas dois gêneros, *Ctenoplectra* que estabelece uma forte relação com flores de *Thladiantha* e *Mormodica* (Cucurbitaceae), a partir das quais obtém néctar, pólen e óleo (BUCHMANN & BUCHMANN, 1981; VOGEL, 1981; SCHAEFER & RENNER, 2008). O seu clado irmão (*Ctenoplectina*) é cleptoparasita e perdeu o comportamento de forrageamento de óleo (MACHADO, 2004).

Segundo Michener (2000), em Mellitidae, apenas as espécies *Macropsis* e *Rediviva* são conhecidamente coletoras de lipídeos florais. *Macropsis* é associada a flores de *Lysimachia*

(Primulaceae) (MICHEZ & PATINY, 2005; DÖTTERL & SCHAFFLER, 2007. MICHEZ *et al.*, 2008) e *Rediviva* é polinizador de Plantaginaceae e Orchidaceae (PAUW, 2006; MARTINS *et al.*, 2013). Os Meliponini também já foram observados explorando elaióforos e estão associados à Malpighiaceae, Gesneriaceae e Melastomataceae. *Trigona* foi observada em flores de *Mouriri*, *Drymonia* e *Stigmaphyllon* (BUCHMANN & BUCHMANN, 1981; OLIVEIRA *et al.*, 2016) e o gênero *Melipona* em flores de *Mouriri* (BUCHMANN & BUCHMANN, 1981; OLIVEIRA *et al.*, 2016) e *Byrsonima* (ALBUQUERQUE & RÊGO, 1989, RIBEIRO *et al.*, 2006).

Machado (2004) e Renner & Shaefer (2010) incluem listas de espécies de plantas produtoras de óleo floral e interação com suas abelhas polinizadoras mais detalhadas.

2.2 Melastomataceae Juss.

Melastomataceae tem hábito arbóreo, arbustivo, ervas cipós ou lianas e raramente epífitas (MENDONZA & RAMIREZ, 2006). São facilmente reconhecidas por suas folhas opostas com nervação acródoma, flores monóclinas, dialipétalas, radialmente simétricas, com androceu diplostêmone e a maioria, desprovidas de nectários. Estames são geralmente conspicuos com anteras poricidas e conectivo prolongado. O gineceu é sincárpico e o fruto é uma cápsula ou uma baya (RENNER, 1993; CLAUSING & RENNER, 2001). Possuem a xenogamia (polinização cruzada) como sistema reprodutivo mais comum, embora espécies autocompatíveis e apomíticas também sejam identificadas na família (GOLDENBERG & SHEPHERD, 1998; GOLDENBERG, 2000; GOLDENBERG & VARASSIN, 2001; MENDES-RODRIGUES & OLIVEIRA, 2012; CAETANO *et al.*, 2013).

Melastomataceae pertence à ordem Myrtales e sua classificação é relativamente bem definida, à exceção do posicionamento de Memecyloideae. Estudos anteriores classificaram esse grupo como uma família separada de Melastomataceae (RENNER, 1993; CLAUSING & RENNER, 2001), outros, como uma subfamília desta (CRONQUIST, 1988, HASTON *et al.*, 2009). Análises recentes utilizando dados moleculares e morfológicos forneceram um forte indício para o monofiletismo do grupo como subfamília, sendo esta classificada como Memecyloideae Meisn (= Memecylaceae DC.) ou Olisbeoideae Burnett (CLAUSING & RENNER, 2001). A delimitação tradicional de Melastomataceae reconhece três subfamílias: Memecyloideae, Astronioideae e Melastomatoideae (COGNIAUX, 1891).

Memecyloideae é Pantropical e inclui seis gêneros: *Memecylon* (cerca de 300 espécies) e *Lijndenia* (6 espécies) Paleotropicais; *Mouriri* (85 espécies) e *Votomita* (10 espécies) Neotropicais, *Spathandra* (6 espécies) e *Warneckea* (50 espécies) Africanas (BUCHMANN, 1987; STONE,

2006). No Brasil, inclui apenas os gêneros *Mouriri* (56 espécies) e *Votomita* (4 espécies) (CLAUSING & RENNER, 2001; GOLDENBERG *et al.*, 2012).

Astronioideae possui quatro gêneros (*Astrocalyx*, *Astronia*, *Astronidium* e *Beccarianthus*) todos com distribuição Pantropical. Melastomatoideae possui 182 gêneros e 4570 espécies amplamente distribuídas nas regiões Tropical e Subtropical, especialmente América do Sul e Caribe com aproximadamente 400 espécies endêmicas (STEPHENS, 2001).

Apesar de membros de Memecyloideae possuírem uma glândula na porção abaxial do conectivo da antera (caractere diagnóstico para espécies da subfamília) responsável pela produção de lipídeos e a presença de tecidos secretores em flores de *Mouriri* terem sido evidenciadas por Buchmann & Buchmann (1981), nas revisões realizadas por Machado (2004), Alves-dos-Santos *et al.* (2007) e Agostini *et al.* (2014), Melastomataceae não é incluída entre as famílias produtoras de óleo. Dafni *et al.* (2005) definem que os critérios para ser incluída entre as famílias produtoras de óleo floral seriam: secretar lipídeos em áreas localizadas nas flores, ser visitada e polinizada por abelhas coletoras de óleo que buscam este recurso na planta.

Gênero *Mouriri*

Mouriri difere de outros gêneros da família pela ocorrência de folhas peninérveas ou com apenas a nervura central perceptível e pela presença de glândulas no dorso das anteras (GOLDENBERG & REGINATO, 2006). Buchmann & Buchmann (1981) descrevem que as flores de *Mouriri* são pentâmeras, com dois conjuntos distintos de estames (antepétalos e antessépalos). As anteras possuem deiscência poricida, fendas ou poros apicais e conectivo prolongado na região dorsal, onde se localiza a glândula (elaióforo). Os autores ainda descrevem que *Mouriri* tem grande variação no tamanho e formato das anteras, dos poros apicais e das glândulas. É importante lembrar que nem todas as espécies de *Mouriri* são glandulares, como é o caso de *M. exadenia*, *M. eugeniaefolia* e *M. francavillana* (MORLEY, 1976).

Mouriri possui polinização por vibração e os lipídeos aromáticos produzidos pelos elaióforos tem função ecológica ainda mal definida (BUCHMANN & BUCHMANN, 1981). Suas flores são visitadas e polinizadas por abelhas altamente especializadas (BUCHMANN & BUCHMANN, 1981). Renner (1984) observou que das doze espécies de abelhas visitantes de *Mouriri nervosa* Pilg. e *M. guianensis* (Melastomataceae), apenas três (*Trigona williana* Friese, *Melipona fulva* Lepeletier e *M. marginata* Lepeletier) raspavam as glândulas do conectivo floral para coletar o óleo, enquanto nove (6 *Euglossa* e 3 *Xylocopa*) coletavam apenas pólen.

A figura 3 mostra a comparação entre as morfologias de *M. myrtilloides* estudada por Buchmann & Buchmann (1981) e as espécies foco deste estudo. A figura 4 ilustra a grande plasticidade das formas de anteras e glândulas presentes em *Mouriri* exemplificadas por Buchmann.

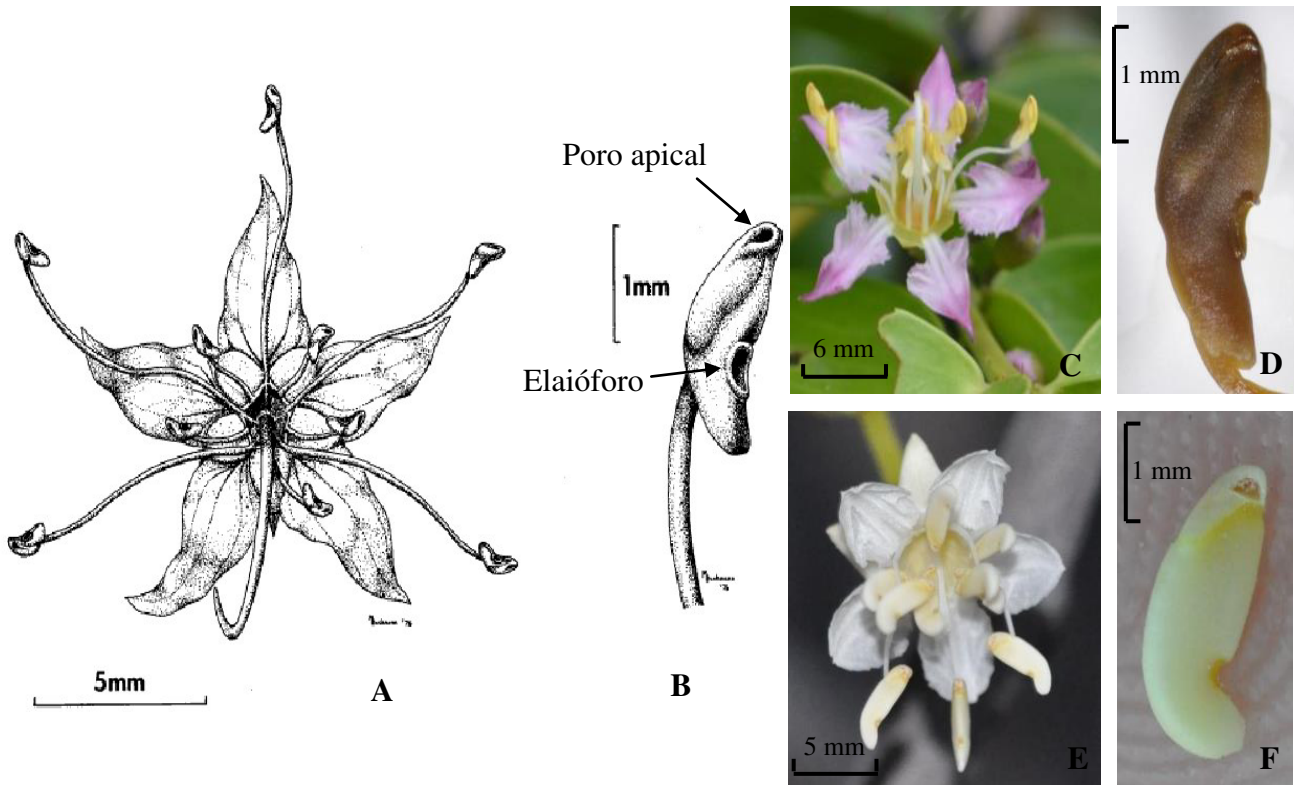


Figura 3: Comparação entre as morfologias florais de três espécies do gênero *Mouriri* mostrando poros apicais e elaióforos. A) Esquema da flor de *Mouriri myrtilloides* subsp. *parvifolia* (Benth.) Morley, B) Anteras reniformes (Fonte: Ilustração retirada de Buchmann & Buchmann 1981), C, D) Flor e antera de *Mouriri acutiflora* Naudin. E, F) Flor e antera de *Mouriri guianensis* Aubl. (presente estudo).

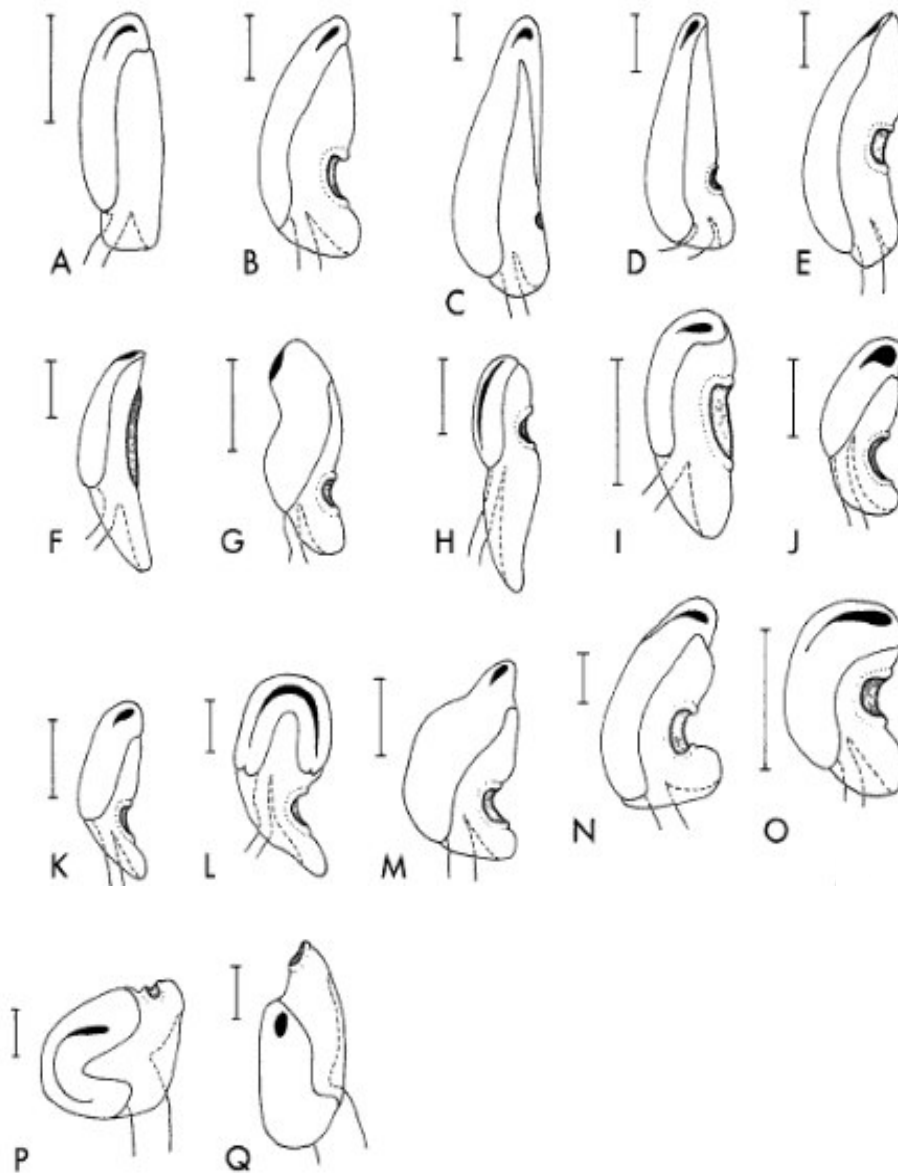


Figura 4: Morfologias de anteras do gênero *Mouriri* mostrando distinções entre poros apicais e elaióforos. A) *Mouriri exadenia* Morley (agládular), B) *M. muelleri* Cogn., C) *M. micradenia* Ducke, D) *M. ambiconvexa* Morley, E) *M. froesii* Morley, F) *M. duckeana* Ducke, G) *M. monopora* Morley (com um único poro), H) *M. florihunda* Markgr., I) *M. panamensis* Morley, J) *M. densifoliata* Ducke, M) *M. nervosa* Pilg., N) *M. pusa* Gardn., O) *M. micranthera* Morley, P) *M. crassifolia* Sagot., Q) *M. dimorphandra* Morley (Fonte: Ilustração retirada de Buchmann & Buchmann, 1981).

Mouriri acutiflora Naudin.

Possui hábito arbóreo se desenvolvendo em substratos terrícolas e apresentando como nomes populares criuli, criviri e quiriri. Possui cerca de 7 a 12 metros de altura, flores pentâmeras

variando de amarelas a rosáceas e estames dimorfos (Figura 5). Não é endêmica do Brasil, porém possui ampla distribuição no país abrangendo os estados do Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Roraima, Tocantins (Norte), Maranhão e Piauí (Nordeste), Mato Grosso (Centro-oeste) (GOLDENBERG, 2015). No Maranhão, tem ocorrência nos campos alagados dos municípios da Baixada maranhense tais como Pinheiro, Santa Inês, Viana e Anajatuba, além de possuir dados de coletas em Imperatriz às margens do rio Tocantins (GOLDENBERG, 2015).



Figura 5: Ilustração da Flora Brasiliensis, de Carl Friedrich Philipp von Martius, de duas espécies do gênero *Mouriri*. I. *Mouriri chamissoana* Cogn. II) *Mouriri acutiflora* Naudin. (Fonte: <http://florabrasiliensis.cria.org.br>).

Mouriri guianensis Aubl.

Apresenta hábito geralmente arbustivo, porém também pode possuir hábito arbóreo. Possui como nome popular, puçá, mini-puçá. Tem cerca de 1 a 2 metros de altura, flores geralmente brancas, pentâmeras, estames dimorfos e protuberantes (Figura 6). É uma espécie endêmica do Brasil, possuindo distribuição entre os estados do Amazonas, Pará, Rondonia e Tocantins (Norte), Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe (Nordeste), Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Centro-oeste), Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Sudeste) (GOLDENBERG, 2015). No Maranhão possui ocorrência na restinga de Barreirinhas (presente trabalho).



Figura 6: Ilustração de *Mouriri guianensis* Aubl. retirado de Aublet, F. , Histoire des plantes de la Guiane Française, vol. 3: t. 180 (1775) (Fonte: plantillustrations.org/illustration).

2.3 Química de Melastomataceae

Do ponto de vista químico, várias substâncias já foram identificadas em Melastomataceae, porém tendo poucas espécies com esse foco de interesse (SERNA & MARTÍNEZ, 2015). Estudos demonstram que a família destaca-se pela presença de terpenoides, fenóis simples, quinonas, lignanas e seus glicosídeos, taninos, flavonoides e antocianinas (CELLOTO *et al.*, 2003; ANDREO *et al.*, 2006; SERNA & MARTÍNEZ, 2015). Alcaloides foram detectados, mas não isolados em *Clidemia hirta* D. Don e *Sonerila Heterostemon* Naudin (HAGNAUER, 1969).

Substâncias da classe dos hidrocarbonetos, triterpenos e esteroides são descritos. *Miconia* (*M. sellowiana* (DC.) Naudin e *M. ligustroides* (DC.) Naudin) apresentaram cinco tipos de triterpenos (OLIVEIRA *et al.*, 2005) (Figura 7A). Rocha *et al.* (2007) isolaram o triterpeno friedelan-3-ona, conhecido como friedelina (Figura 7B) e Rodrigues *et al.* (2008), isolaram o dímero inédito 5-hidróxi-4',7-dimetoxiflavona-(6-C-6'')-5"-hidróxi-3''',4''',7'''-trimetóxi-flavona do extrato metanólico das folhas de *Miconia cabucu* Hoehne. (Figura 7C).

Vilegas *et al.* (1998) analisando *Cambessedesia espora* (A.St.-Hil. Ex Bonpl.) DC encontraram os ácidos graxos esteárico, mirístico e palmítico. Este último também foi identificado em *Henriettella fascicularis* (Sw.) C.Wright por Calderon *et al.* (2002). Como também o Hexadecanoato de hexadecanoila e Hexacosanoato de dotetracontanila em *Lavoisiera pulcherrima* DC (JAMAL *et al.*, 1999).

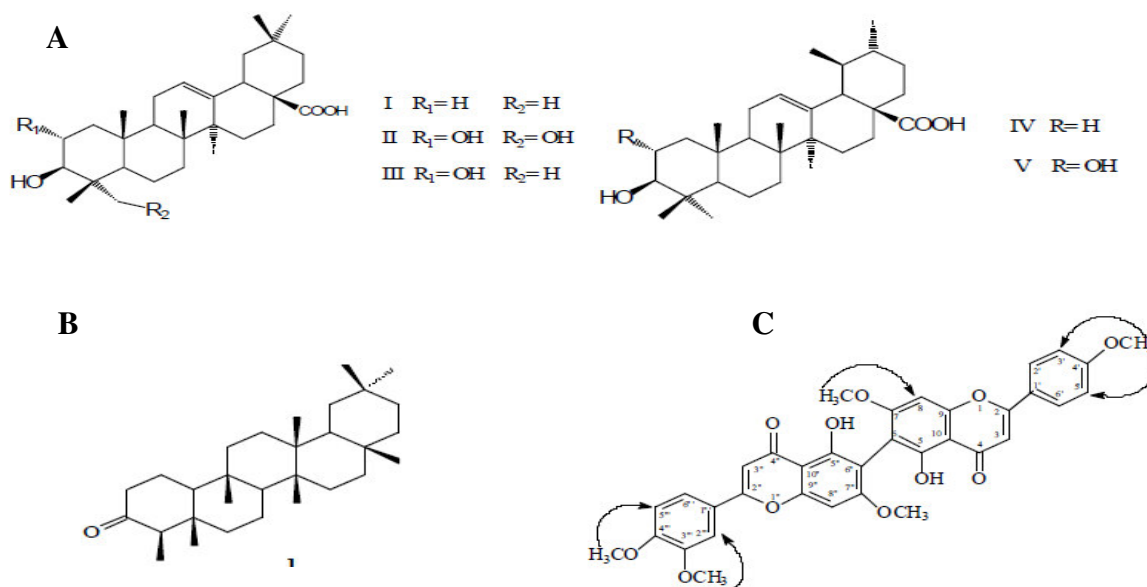


Figura 7: A) Triterpenos isolados de *Miconia sellowiana* (DC.) Naudin e *M. ligustroides*(DC.) Naudin, B) Triterpeno isolado de *Marcetia formosa* Wurdack, C) Biflavonoide isolado de *Miconia cabucu* Hoehne.

Recentemente foi publicada uma revisão incluindo, técnicas de isolamento, purificação e elucidação estrutural, bem como as substâncias isoladas em diversos gêneros da família. Destacamos nas figuras a seguir algumas substâncias já identificadas em Melastomataceae e citadas por Serna & Martinez (2015) (Figuras 8 e 9).

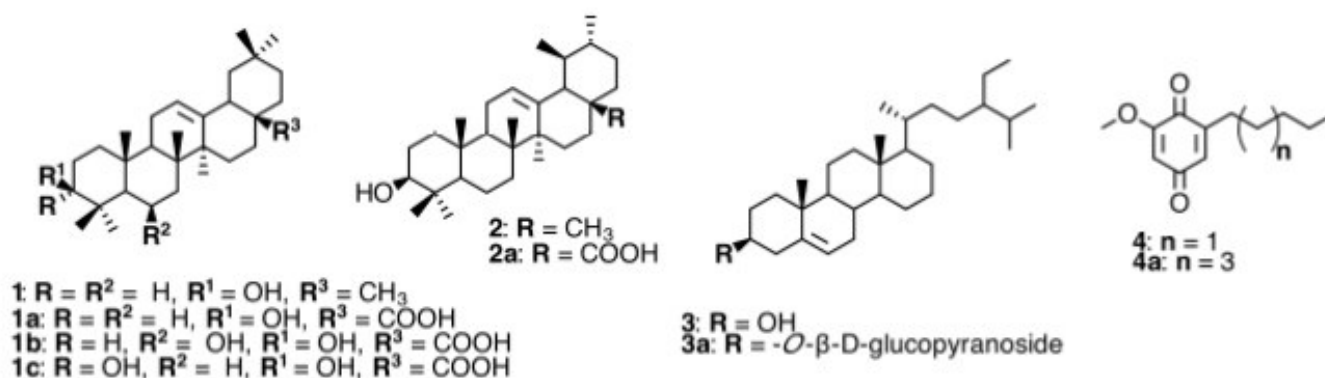


Figura 8: Substâncias isoladas de espécies de Melastomataceae. (1b) Ácido sumaresinólico e (1c) Ácido 3-epi-sumaresinólico em *Miconia stenostachya* DC., (4) 2-metoxi-6-pentil-3,5 ciclohexadien-1,4-diona e (4a) 2-metoxi-6-heptil-3,5-ciclohexadien-1,4-diona em *Miconia lepidota* DC. (1a) Ácido oleanólico, (2a) ácido ursólico, (3a) 3-O- β -D-glucopiranosideo de sitosterol. Em *Dissotis perkinsiae* Gilg. 3) β -sitosterol, (1) β -amirina e (2) α -amirina em *Tibouchina candolleana* (Mart. ex DC.) Cogn. (Fonte: Serna & Martinez, 2015).

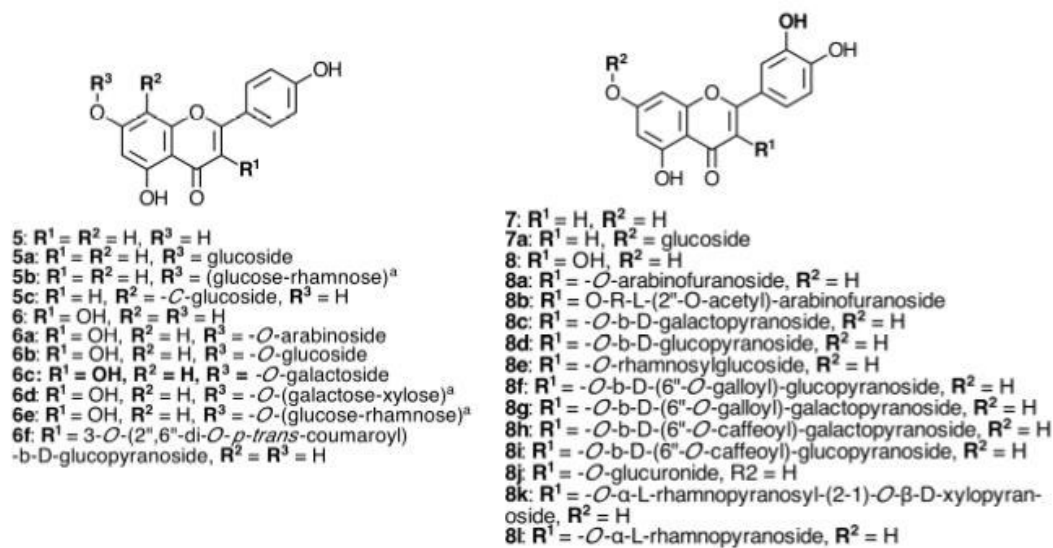


Figura 9: Flavonoides isolados em espécies de Melastomataceae. (6) Canferol em *Medinilla magnifica* Lindley e *Centradenia floribunda* Planch. (8) Quercetina em *Bertolonia marmorata* Naudin, (10) Leucocianidina em *Medinilla magnifica* Lindley e (10a) Leucodelfinidina em *Tibouchina ciliaris* (Vent.) Cong. (Fonte: Serna & Martinez, 2015).

A tabela 1 mostra alguns exemplos de substâncias já conhecidas em espécies de Melastomataceae.

Tabela 1: Algumas substâncias identificadas em espécies de Melastomataceae Juss.

Classe/Substância	Espécie	Referência
Compostos alifáticos		
Ácido palmítico	<i>Cambedessia espora</i> DC.	Vilegas <i>et al.</i> , 1998
	<i>Henriettella fascicularis</i> (Sw.) Triana	Calderon <i>et al.</i> , 2002
Ácido mirístico	<i>C. espora</i>	Vilegas <i>et al.</i> , 1998
Ácido esteárico	<i>C. espora</i>	Vilegas <i>et al.</i> , 1998
Hexadecanoato de hexadecanoila	<i>Lovoisiera pulcherrima</i> DC.	Jamal <i>et al.</i> , 1999
Hexacosanoato de dotetracontanila	<i>L. pulcherrima</i>	Jamal <i>et al.</i> , 1999
Terpenos		
Friedelan-3-ona	<i>Marcetia formosa</i> Wudack	Rocha <i>et al.</i> , 2007
Lupeol	<i>Miconia rubiginosa</i> (Bonpl.) DC.	Spessoto <i>et al.</i> , 2003
	<i>Miconia sellowiana</i> (DC.) Naudin	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
	<i>Miconia fallax</i> DC.	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
	<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
	<i>M. pepericarpa</i>	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
	<i>Trembleya laniflora</i> (D. Don) Cogn.	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
Ácido sumaresinólico	<i>Miconia stenostachya</i> DC.	Chan <i>et al.</i> , 1992
Ácido 3-epi-sumaresinólico		
Acido oleanólico	<i>Dissotis perkinsiae</i> Gilg	Ndjateu <i>et al.</i> , 2014
Acido ursólico		
3-O- β -D-glucopyranoside of sitosterol		
α - amirina	<i>Tibouchina candolleana</i> (Mart. Ex DC.) Cogn	Santos <i>et al.</i> , 2012
β - amirina		
Ácido enólico	<i>H. fascicularis</i>	Calderon <i>et al.</i> , 2002
6,9-diidróxi-4,7-megastigmadien-3-ona	<i>Osbeckia áspera</i> (L.) Blume.	Grayer <i>et al.</i> , 2008
9-hidróxi-4,7-megastigmadien-3-ona	<i>O. aspera</i>	Grayer <i>et al.</i> , 2008
9-hidróxi-4-megastigmadien-3-ona	<i>O. áspera</i>	Grayer <i>et al.</i> , 2008

Continuação Tabela 1

Classe / Substância	Espécie	Referência
4'-hidróxi-1',2'-dihidro- β -ionona	<i>Diplectria beccariana</i> (Cogn.) Kuntze	Jang <i>et al.</i> , 2006
Esteroides		
fitoesteroides β -sitosterol	<i>M. sellowiana</i>	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
Campesterol	<i>M. albicans</i>	
Estigmasterol	<i>M. pepericarpa</i>	
β -sitosterol	<i>T. candolleana</i>	Santos <i>et al.</i> , 2012
Estigmasterol	<i>M. falax</i>	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
	<i>Miconia ligustroides</i> (DC.) Naudin.	
β -sitosterol	<i>M. rubiginosa</i>	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
	<i>M. ligustroides</i>	Crevelin <i>et al.</i> , 2006
	<i>C. espora</i>	Vilegas <i>et al.</i> , 1998
	<i>M. ligustroides</i>	Cunha <i>et al.</i> , 2003
	<i>M. rubiginosa</i>	Spessoto <i>et al.</i> , 2003
	<i>M. albicans</i>	Macari <i>et al.</i> , 1990
	<i>H. fascicularis</i>	Calderon <i>et al.</i> , 2002
Estigmast-4-eno-3,6-dieno	<i>Miconia trailii</i> Cogn.	Zhang <i>et al.</i> , 2003
Esteroides glicosados		
β -sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-glucopironosídeo	<i>M. albicans</i>	Macari <i>et al.</i> , 1990
β -sitosterol-3- <i>O</i> - β -D-galactosídeo	<i>Monochaetum vulcanicum</i> Cogn.	Chatuverdula <i>et al.</i> , 2004
Fenois		
Ácido gálico	<i>Phyllagathis rotundifolia</i> (Jack) Blume.	Ling <i>et al.</i> , 2002
	<i>O. aspera</i>	Grayer <i>et al.</i> , 2008
	<i>Tibouchina grandifolia</i> Cogn.	Kuster <i>et al.</i> , 2009
	<i>Miconia cabucu</i> Hoehne	Rodrigues <i>et al.</i> , 2007
	<i>M. rubiginos.</i>	Rodrigues <i>et al.</i> , 2008

Continuação Tabela 1

Classe / Substância	Espécie	Referência
Ácido elágico	<i>M. myriantha</i>	Li <i>et al.</i> , 2001
	<i>O. aspera</i>	Grayer <i>et al.</i> , 2008
Ácido protocateúrico	<i>T. grandifolia</i>	Kuster <i>et al.</i> , 2009
Quinoides, Xantonoides, Fenilpropanoides e Lignoide		
2-metóxi-6- <i>n</i> -pentil- <i>p</i> -benzoquinona Miconidina	<i>Miconia</i> ssp	Lima <i>et al.</i> , 1970° Lima <i>et al.</i> , 1970b
Xantona lichexantona	<i>H. fascicularis</i>	Calderon <i>et al.</i> , 2002
Ácido ferúlico	<i>L. pulcherrima</i>	Jamal <i>et al.</i> , 1999
(-) pinosinol	<i>H. fascicularis</i>	Calderon <i>et al.</i> , 2002
Flavonoides		
5-hidróxi-4',7-dimetoxiflavona-(6-C-6'')-5''-hidróxi-3''',4''',7'''-trimetoxiflavona	<i>M. cabucu</i>	Rodrigues <i>et al.</i> , 2007
Flavolignana monochaetina	<i>M. multiflorum</i>	Isaza <i>et al.</i> , 2001
Canferol	<i>Melastomama malabathricum</i> L.	Suzanti <i>et al.</i> , 2007
	<i>Mouriri elliptica</i> Mart.	Moleiro <i>et al.</i> , 2009
	<i>O. aspera</i>	Grayer <i>et al.</i> , 2008
	<i>Mouriri pusa</i> Gardner	Andreo <i>et al.</i> , 2006
5,6,4'-trihidróxi-7-metóxi-flavona	<i>M. pusa</i>	Andreo <i>et al.</i> , 2006
Canfetol	<i>Medinilla magnifica</i> Lindley	Isaza <i>et al.</i> , 2007
Quercitina	<i>Centradenia floribunda</i> Planch	Harborne, 1964
Leucocianidina	<i>Bertolonia marmorata</i> Naudin	
Leucodelfinidina	<i>Tibouchina ciliaris</i> (Vent.) Cong	
Isoquercitina	<i>M. multiflorum</i>	Harborne, 1964
Iperedina		Benini <i>et al.</i> , 1992
Triofilina		Barbera, 1986
apigenin	<i>Huberia</i> sp	Mimura <i>et al.</i> , 2004
luteolin		
kaempferol		
3- <i>O</i> -(6'' <i>O</i> -galloil)- β -galactopiranosideo	<i>D. perkinsiae</i>	Rodrigues <i>et al.</i> , 2011

Continuação Tabela 1

Classe / Substância	Espécie	Referência
Taninos		
3,3'-di- <i>O</i> -metil-ácido-elágico-4- <i>O</i> -β-D-xilopiranosídeo	<i>M. myriantha</i>	Li <i>et al.</i> , 2001
3,3'-di- <i>O</i> -metil-ácido elágico 4'-β-D-glicosídeo	<i>H.enriettella fascicularis</i>	Cálderón <i>et al.</i> , 2002
Glicogalina	<i>P. rotundifolia</i>	Ling <i>et al.</i> , 2002
6- <i>O</i> -galoil-2,3- <i>O</i> -(<i>S</i>)-hexahidroxidifenil]-D-glicopiranosídeo		
3,6-di- <i>O</i> -galoil-D-glicose		
1,2,3,6-tetra- <i>O</i> -galoil-β-D-glicose		
oct-1-em-3-il α-arabinofuranosil (1>6)-α-glicopiranosídeo		
4- <i>O</i> -β-D-glicopiranosil-2- <i>O</i> -metilfloroacetofenona	<i>M. multiflorum</i>	Isaza <i>et al.</i> , 2001
4- <i>O</i> -(6'- <i>O</i> -galoil-β-glicopiranosil)-cis- <i>p</i> -ácido cumárico e benzil 6'- <i>O</i> -galoil-β-glucopiranosil		
Glicosídeos cianogênicos		
prunasina 2',6'-di- <i>O</i> -galato	<i>P. rotundifolia</i>	Ling <i>et al.</i> , 2002
prunasina 3',6'-di- <i>O</i> -galato		
prunasina 4',6'-di- <i>O</i> -galato		
prunasina 2',3',6'-tri- <i>O</i> -galato		
(prunasina 3',4',6'-tri- <i>O</i> -galato		
prunasina 2',3',4',6'-tetra- <i>O</i> -galato		
6'- <i>O</i> -galoil-prunasina	<i>M. multiflorum</i>	Isaza <i>et al.</i> , 2001
Taxifilina	<i>H. fascicularis</i>	Calderón <i>et al.</i> , 2002
Alquilbenzoquinonas		
2-metoxi-6-pentil-3,5-ciclohexadieno-1,4-diona	<i>Miconia lepidota</i> DC.	Kingston <i>et al.</i> , 2000
2-metoxi-6-hepil-3,5-ciclohexadieno-1,4-diona		

A composição química dos óleos florais é conhecida apenas em algumas espécies de plantas. Vogel (1974) foi o primeiro a descrever e analisar a natureza química das secreções presentes nos elaióforos. Os estudos introdutórios sobre estas substâncias foram realizados com *Calceolaria pavonii* Benth. (Calceolariaceae), tendo sido analisadas as propriedades físicas e químicas desta espécie, identificando como principal substância o ácido β -acetoxi-hexadecanoico (ácido β -acetopalmítico) (VOGEL, 1974).

Seigler *et al.* (1978) analisando espécies do gênero *Krameria* (*K. cuspidata* Presl., *K. cytisoides* Cav., *K. revoluta* O. Berg e *K. parvifolia* Benth.) (Krameriaceae) obtiveram substâncias com cadeias carbônicas que variavam de C16 a C20 como os 3-acetoxi-hexadecanoico, ácido 3-acetoxi octadecanoico e ácido 3-acetoxi eicosanoico. Sendo estas as substâncias majoritárias nessas espécies. (Figura 10 A,B,C).

Também entre os primeiros estudos com química de óleos fixos podemos destacar o trabalho de Simpson & Neff (1983) com *Lysimachia ciliata* L. (Primulaceae), onde foi identificada a presença de ácidos graxos acetoxi além de outros constituintes. Vogel (1986) investigando *Lysimachia vulgaris* L. evidenciou que a secreção lipídica desta espécie era composta por diglicérides de 3-acetoxi-trans-11-12-octadecanoico (1,2-di-(3-acetoxi-E-11-octadecenoil)-*sn*-glicerol), ou o ácido 3-acetoxi-octadecanoico (Figura 10 D) e ácido acético.

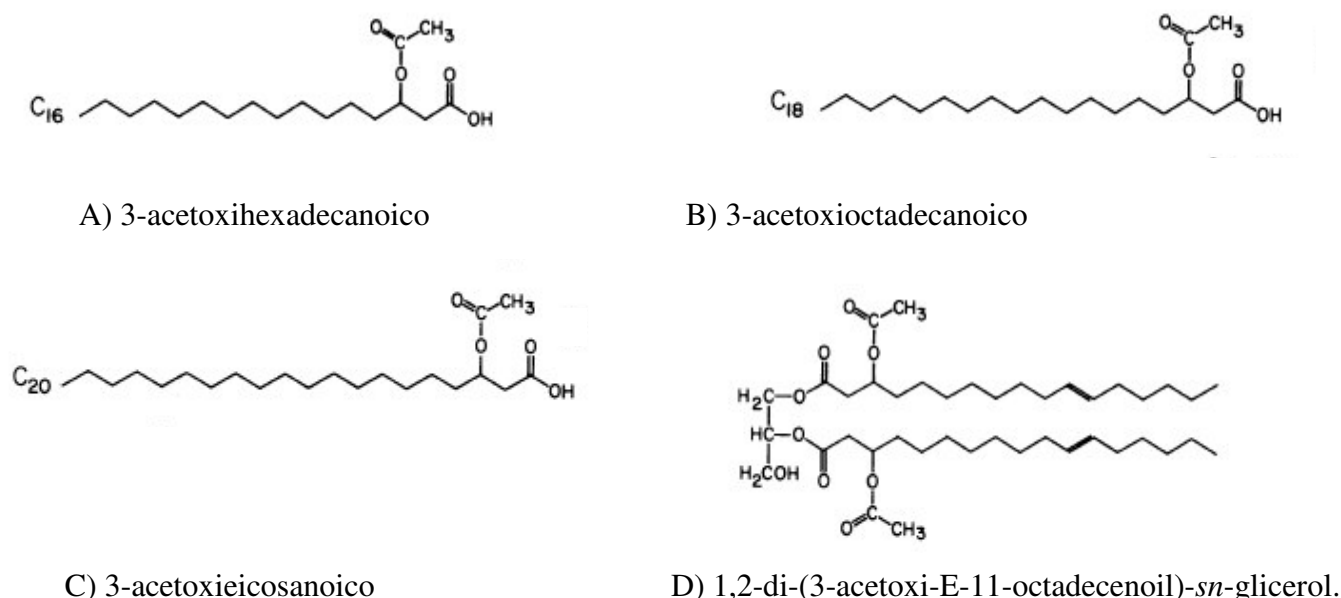


Figura 10: Estruturas químicas identificadas em óleos florais de espécies de A,B,C) *Krameria* (Seigler *et al.* 1978) e D) *Lysimachia* Vogel (1986).

Os constituintes químicos de óleos florais podem variar desde ácidos graxos livres (BUCHMANN, 1987; VINSON *et al.*, 1997), derivados de acetil-glicerol com ácidos β -acetoxi a β -acetato, mono-, di- ou triglicerídeos (VOGEL, 1974; VINSON *et al.*, 1997; REIS *et al.*, 2000; DUMRI *et al.*, 2008). Além de parafinas, ésteres, aminoácidos, carotenoides, substâncias fenolicas, isoprenoides não voláteis, glicosídeos e saponinas.

A análise da composição química de lipídeos de *Oncidium pubes* L., *O. truncatum* Pabst., *O. hookeri* Rolf., *O. praetextum* Rchb. f. e *O. varicosum* L. (Orchidaceae) identificou a presença de ácidos graxos livres, ésteres de glicerila, esteroides, α -tocoferol, sesquiterpenos, hidrocarbonetos, cetonas, di e triacilglicerois (REIS, 2000). Segundo Reis *et al.* (2003), em flores de *Ornithophora radicans* Rchb. f. (Orchidaceae) a substância majoritária é o oncidinol.

Uma das famílias mais estudadas quanto à oferta de óleos florais é Malpighiaceae e a composição de seus lipídeos já é conhecida em várias espécies. *Pterandra pyroidea* A. Juss., por exemplo, apresentou composição dos óleos florais bastante simples, composta por ácido 5,7-diacetoxidocosanoico, ácido 5,7-diacetoxitetraacosanoico, ácido docosanoico e ácido tetracosanoico (CAPELLARI *et al.*, 2011). Analisando 33 espécies de Malpighiaceae simpátricas e 48 Krameriaceae no Cerrado, Haleem (2012) identificou a presença de ácidos graxos substituídos com cadeias de C18 a C24 (3,7-diacetoxi ou 3-hidroxi-7-acetoxi ou 3,9-diacetoxi ou 5,7-diacetoxi ou 5,9-diacetoxi) sendo que os ácidos com substituição em 3,7 foram encontrados em *Byrsonima*, *Heteropteris* e *Peixotoa* e os com substituintes 3,9 foram comuns em *Banisteriopsis*.

Em *Byrsonima brachybotrya* Nied. foi identificado o tetradecanoato de metila, hexadecanoato de metila, otadecanoato de metila, tetracosanoato de metila, 8,11-octadecadienoato de metila, (9*cis*,12*cis*,15*cis*)-octadecatrienoato de metila, butanodioato de dimetila, 2-nitropropanoato de metila, 3,4,5-trimetoxibenzoato de metila, *p*-metoxicinamato de metila, 2-pentadecanona, β -sitosterol, olean-12-en-3-ol, urs-12-en-3-ol, 4',5-diidroxi-7-metoxiflavona, 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona (GIESE, 2005). A análise química do óleo floral de *Lophanthera lactescens* Ducke (Malpighiaceae) forneceu como substância principal, o 3-acetoxioctadecanoato de metila, o qual está presente no óleo floral bruto na forma de seu ácido e nas pernas de *Centris (Hemisiella) trigonoides* Lapeletier e *Tetragonisca angustula* Latreille, evidenciando a coleta deste recurso por suas abelhas visitantes (PIANARO, 2007). Estudos sobre análise química, principalmente associando a coleta por seus visitantes é escasso.

Em Melastomataceae esse tipo de análise química é quase inexistente, especialmente para o gênero *Mouriri*, podendo ser citado apenas o trabalho realizado por Buchmann & Buchmann (1981). Analisando a composição química das secreções dos elaióforos de *M. myrtilloides*

identificaram que mais de 95% do total dos componentes era de origem lipídica. Segundo a metodologia por eles empregada, os componentes foram derivatizados com boro trifluoreto e seus ésteres metílicos examinados por GC/EM e cerca de treze ácidos graxos livres de cadeias carbônicas de C12 a C24 foram encontrados.

Diante do exposto, traçamos os seguintes objetivos para o desenvolvimento do trabalho.

3. Objetivos

3.1 Geral

Descrever aspectos da fenologia da floração, reprodutiva, biologia floral e os visitantes florais de duas espécies de *Mouriri*, bem como identificar as substâncias majoritárias dos óleos florais e o seu papel na atração e interação com as abelhas visitantes.

3.2 Específicos

- Estudar a fenologia e biologia floral;
- Identificar a existência de sistemas reprodutivos autocompatíveis ou auto-incompatíveis;
- Coletar, identificar as abelhas visitantes e os polinizadores;
- Observar a existência ou não de visitaçao noturna/crepuscular;
- Identificar os recursos florais disponibilizados e o comportamento dos visitantes na coleta dos mesmos;
- Determinar as substâncias majoritárias dos óleos florais;
- Atestar se as abelhas visitantes do gênero *Mouriri* coletam e utilizam seu óleo floral.

4. Justificativa

A importância de espécies de Melastomataceae pode ser julgada a partir dos trabalhos realizados em formações Neotropicais como os de Renner (1989) e os de Harter *et al.* (2002). Renner estima que cerca de 27% das espécies de abelhas que ocorrem na Amazônia forrageiam em Melastomataceae e na região de floresta de Araucária estudada por Harter, cerca de 30% das abelhas visitam apenas flores dessa família.

Esta é uma família importante considerando sua ampla distribuição e riqueza de espécies (RENNER 1993, CLAUSING & RENNER, 2001). Além de ser fonte de pólen e néctar (em alguns casos) para o espectro de polinizadores, alguns membros da família disponibilizam óleo floral em vez de ou em adição ao pólen, estando associado a polinizadores importantes (BUCHMANN & BUCHMANN, 1981, BUCNHAMM 1983). Devido aos poucos estudos, a coleta de óleos florais ser

incomum e ainda haver dúvidas sobre se, como o óleo é coletado pelas abelhas e qual o uso dele pelas mesmas, as respostas para esse sistema de polinização na família ainda encontra-se limitado.

Considerando a importância e peculiaridade da oferta de óleo, estudos são necessários para se elucidar questões sobre esse sistema de polinização. A exceção de Malpighiaceae, principalmente o gênero *Byrsonima* que já é bem conhecido (ALBUQUERQUE & RÊGO 1989; MACHADO 2004; RÊGO & ALBUQUERQUE 2006; RÊGO *et al.*, 2006; RIBEIRO *et al.*, 2008), nas demais famílias poucos trabalhos mencionam detalhes da questão da coleta, uso e animais polinizadores de flores produtoras de óleos florais. Em Plantaginaceae os dados limitam-se principalmente ao gênero *Angelonia* (VOGEL, 1974; VOGEL & MACHADO 1991; MACHADO *et al.*, 2002; AGUIAR, *et al.*, 2003). Em Krameriaceae apenas trabalhos pontuais foram desenvolvidos sobre gênero *Krameria* (GIMENES *et al.*, 2002) e mais recentemente Haleem (2012) desenvolveu uma tese abordando a química de óleos florais de várias espécies de Malpighiaceae e Krameriaceae do Cerrado. Em Cucurbitaceae, Orchidaceae e Solanaceae não foram encontrados registros de dados sobre esse sistema de polinização (MACHADO, 2004).

Em Melastomataceae, apenas os trabalhos de Buchmann & Buchmann (1981) relatam a oferta de óleo, indicando que ainda há muito a ser feito neste campo de pesquisa tão interessante. Temos que considerar que as espécies estudadas no presente trabalho são uma exceção dentro da família. Além disso, a relação com as abelhas visitantes associadas à coleta de óleo e a natureza lipídica das secreções presentes nas glândulas é praticamente desconhecida. A composição química de óleos de *Mouriri acutiflora* e de *M. guianensis*, bem como de suas abelhas visitantes são apresentadas aqui pela primeira vez.

Melastomataceae apresenta uma variedade de sistemas reprodutivos pouco explorados, com estudos concentrados apenas em três tribos (Miconieae, Microlicieae e Melastomeae) (GOLDENBERG & SHPHERD, 1998; GOLDENBERG *et al.*, 2008; CAETANO *et al.*, 2013 a,b), notando-se ausência de dados sobre sistema de reprodução nos exemplares de *Mouriri* estudados. A análise dos dados até então publicados sobre Melastomataceae no Brasil permite evidenciar que há necessidade da formação de especialistas na subfamília Memecyloideae e de se obter o conhecimento da real diversidade do grupo, principalmente na Amazônia (GOLDENBERG *et al.*, 2012).

Além da importância ecológica, *Mouriri* tem grande relevância social e econômica nas localidades estudadas, uma vez que são regiões com forte atividade baseada na criação de abelhas sem ferrão (Meliponicultura). O conhecimento sobre *Mouriri* significa subsídios para a conservação

das espécies que são ricas fontes de recurso para as abelhas *Melipona fasciculata* (Tiúba) e *M. subnitida* (Jandaíra) que correspondem a base da meliponicultura nas áreas estudadas.

Considerando o exposto, o conhecimento das características da subfamília Memecyloideae, de *Mouriri* e de suas abelhas visitantes é particularmente relevante tanto do ponto de vista da relação flor/visitante, quanto da química envolvida na interação.

5. Referências bibliográficas

- ACAMOVIC, T.; BROOKER, J.D. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **Proceedings of the Nutrition Society**, 64:403-12, 2005.
- ADLER, L.S. The ecological significance of toxic nectar. **Oikos**, 91:409-420, 2000.
- AGOSTINI, K., LOPES, A.V; MACHADO, I.C. Recursos florais. *In: Biologia da Polinização* (AR Rech, K Agostini, PE Oliveira, IC Machado, eds). Projeto cultural, Rio de Janeiro, p. 129-150, 2014.
- AGUIAR, C. M. L., AND M. C. GAGLIANONE. Nesting biology of *Centris (Centris) aenea* (Hymenoptera, Apidae, Centridini). **Revista Brasileira de Zoologia** 20:601–606, 2003.
- ALBUQUERQUE, P.M.C.; RÊGO, M.M.C. Fenologia das abelhas visitantes de murici (*Byrsonima crassifolia*, Malpighiaceae). **Boletim Museu Paraense Emilio Goeldi, série Zoologia**. 5:163-178, 1989.
- ALVES-DOS-SANTOS,I.; MACHADO, I. C.; GAAGLIANONE, M.C. História natural das abelhas coletoras de óleo. **Oecologia Brasiliis**, 11 (4): 544-557, 2007.
- AMBRUSTER, W.S. Evolution of plant pollination systems: hypotheses and tests with the neotropical vine *Dalechampia*. **Evolution**, 47:1480-1505, 1993.
- AMORIM, F.W.; GALETTO, L.; SAZIMA, M. Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). **Plant Biology**, 15:317-327, 2012.
- ANDREO, M.A.; BALLESTEROS, K.V.R.; HIRUM-LIMA, C.A.; DA ROCHA, L.R.M.; BRITO, A.R.M.S.; VILEGAS, W. Effect of *Mouriri* pusa extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection. **J. Ethnopharmacol.**107: 431-441, 2006.
- BAKER, H. G., HURD, P.D. Intrafloral ecology. **Annual Review of Entomology**, 13: 385-414, 1968.
- BARBERÁ, O.; SANZ, J.F.; SANCHES-PARAREDA, J.; MARCO, J.A. Further flavonol glycosides from *Anthyllis nobrychioides*. **Phytochemistry**, 25: 2361-2365, 1986.

- BEZERRA, E.S., LOPES, A.V. & MACHADO, I.C. Biologia reprodutiva de *Byrsonima gardneriana* A. Juss. (Malpighiaceae) e interações com abelhas *Centris* (Centridini) no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 32:95-108, 2009.
- BRITO, V.L.G.; PINHEIRO, M. & SAZIMA, M. *Sophora tomentosa* e *Crotalaria vitellina* (Fabaceae): biologia reprodutiva e interações com abelhas na restinga de Ubatuba, São Paulo. **Biota Neotropica**, 10:185-192, 2010.
- BRITO, V.L.G.; V.L.G.; FENDRICH, T.G.; SMIDT, E.C.; VARASSIN, I.G.; GOLDENBERG, R. Shifts from specialised to generalised pollination systems in Miconieae (Melastomataceae) and their relation with anther morphology and seed number. **Plant Biology**, 18:585-593, 2016.
- BUCHMANN, S. L.; BUCHMANN, M. D. Anthecology of *Mouriri myrtilloides* (Melastomataceae: Memecyleae), an oil flower in Panama. **Biotropica**, 13 (Supplement), 7–24, 1981.
- BUCHMANN, S. L. Buzz pollination. In: Angiosperms. In: **Handbook of Experimental Pollination Biology** (C.E. Jones & R.J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York: 73-113, 1983.
- BUCHMANN, S. L. The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18, 343-369, 1987.
- CAETANO, A.P.S; SIMÃO, D.G.; CARMO-OLIVEIRA, R.; OLIVEIRA, P.E. Diplospory and obligate apomixis in *Miconia albicans* (Miconieae, Melastomataceae) and an embryological comparison with its sexual congener *M. chamissois*. **Plant Systematics and Evolution**, 299, 1253-1262, 2013a.
- CAETANO A.P.S; TEIXEIRA S.P.; FORNI-MARTINS E.R.; CARMELLOGUERREIRO S.M. Pollen insights into apomictic and sexual *Miconia* (Miconieae, Melastomataceae). **International Journal of Plant Sciences**, 174, 760-768, 2013b.
- CALDERÓN, AI; TERREAUX, C; SCHENK, K; PATTISON, P; BURDETTE, JE; PEZZUTO, JM; GUPTA, MP; HOSTETTMANN, K Isolation and structure elucidation of an isoflavone and a sesterterpenoic acid from *Henriettella fascicularis*. **Journal of Natural Products**, 65: 1949-1953, 2002.
- CAMERON, S.A. Phylogeny and biology of Neotropical orchid bees (Euglossini). **Annual Review of Entomology**, 49: 377- 404, 2004.
- CAPELLARI, S.C.; HALEEM, M.A.; MARSAIOLI, A.J.; TIDON, R.; SIMPSON, B.B. *Pterandra pyroidea*: a case of pollination shift within Neotropical Malpighiaceae. **Annals of Botany**, 107:1323–1334, 2011.

- CELOTTO, A.C.; NAZARIO, D. Z.; SPESSOTO, M. A; MARTINS, C. H. G.; CUNHA, W. R. *Braz. J. Microbiology*, 34, 1517, 2003.
- CHAN, W.R.; SHEPPARD, V.; MEDFORD, K.A.; TINTO, W.F.; REYNOLDS, W.F.; McLEANS, S. Triterpenes from *Miconia stenotachya*. *Journal of Natural Products*, 55: 963:966, 1992.
- CHASE, M.W.; WILLIAMS, N.H.; DE FARIA, A.D.; NEUBIG, K.M.; AMARAL, M.C. E.; WHITTEN, W.M. Floral convergence in Oncidiinae (Cymbidieae; Orchidaceae): an expanded concept of *Gomesa* and a new genus *Nohawilliamsia*. *Annals of Botany*, 104:387-402, 2009.
- CHATUVERDULA, V.S.P.; GAO, Z.; JONES, S.H.; FENG, X.; HECHT, S.M.; KINGSTON, D.G.I. A new ursane triterpene from *Monochaetum vulcanicum* that inhibits DNA polymerase lyase. *Journal of Natural Products*, 67: 899-901, 2004.
- CLAUSING, G.; RENNER, S. S. Molecular Phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: Implications for Character Evolution. *American Journal of Botany*, 88, 486-498, 2001.
- COCUCCI, A. A.; SÉRCIC, A.; ROIG-ALSINA, A. Oil-collecting structures in Tapinotaspidini: their diversity, function and probable origin. *Mitteilungen der Münchner Entomologischen Gesellschaft*, 90: 51-74, 2000.
- COCUCCI, A.; VOGEL, S. Oil-producing flowers of *Sisyrinchium* species (Iridaceae) and their pollinators in southern South America. *Flora*, 196:26-46, 2001.
- COGNIAUX, C.A. Melastomataceae. Pp. 1-1256. *In: A. & C. de Candolle (eds.). Monographiae Phanerogamarum 7. Paris, G. Masson, 1981.*
- CORBET, S.A.; WILLIAMS, I.H. & OSBORNE, J.L. Bees and the pollination of crops and wild flowers in the european community. *Bee World*, 72:47-59, 1991.
- CREPET, W. L. The role of insect pollination in the evolution of the angiosperms. Pp. 31-50. *In: L. REAL (ed.). Pollination Biology. Orlando, Flórida, Academic Press. 1983.*
- CREVELIN, E.J.; TURATTI, I.C.C.; CROTTI, A.E.M.; VENEZIANI, R.C.S.; LOPES, J.L.C.; LOPES, N.P.; CUNHA, W.R. Identification of biologically active triterpenes and sterols present in hexane extracts from *Miconia* species using high-resolution gas chromatography. *Biomedical Chromatography*, 20: 827-830, 2006.
- CRUDEN, R.W. 2000. Pollen grains: Why so many? *Plant Systematics and Evolution*, 222:143-165.
- CUNHA, W.R.; MARTINS, C.; FERREIRA, D.D.; CRITTI, A.F.M. ALBUQUERQUE, S. *In vitro* trypanocidal activity of triterpenes from *Miconia* species. *Planta Medica*, 69: 474-478, 2003.
- DAFNI, A.; KEVAN, P.G. & HUSBAND, B.C. *Practical Pollination Biology*. enviroquest ltd., Canadá. 590p, 2005.

- DICKE, M.M.; SABELIS, W. Infochemical terminology: based on cost-benefits analysis rather than origins of compounds. **Functional Ecology**, 2:131, 1988.
- DOBSON, H.E.M.; BERGSRTÖM, G. The ecology and evolution of pollen odors. **Plant Systematics and Evolution**, 222:63-87, 2000.
- DOTTERL, S.; SCHAFFLER, I. Flower scent of floral oil-producing *Lysimachia punctate* as attractant for the oil-bee *Macropis fulvipes*. **Journal of Chemical Ecology**, 33:441–445, 2007.
- DUMRI, K., SEIPOLD, L., SCHMIDT, J., GERLACH, G., DOTTERL, S., ELLIS, A. G.; WESSJOHANN, L. A. Non-volatile floral oils of *Diascia* spp. (Scrophulariaceae). **Phytochemistry**, 69:1372–1383, 2008.
- ENDRESS, P. K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1994.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **The Principles of Pollination Ecology**. Oxford, Pergamon Press. 244 pp, 1979.
- FARRÉ-ARMENGOL, G.; FILELLA, I.; LLUSIA J.; PEÑUELAS, J. Floral volatile organic compounds: Between attraction and deterrence of visitors under global change. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, 15:56-67, 2013.
- FRACASSO, C. M.; SAZIMA, M. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo *versus* diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. **Revista Brasileira de Botânica**. 27, 794-804, 2004.
- FRANCO, E.L.; GIMENES, M. Pollination of *Cambessedesia wurdackii* in Brazilian campo rupestre vegetation, with special reference to crepuscular bees. **Journal of Insect Science**, 2: 1-13, 2011.
- GAGLIANONE, M.C. Bionomia de *Epicharis*, associações com Malpighiaceae e uma análise filogenética e biogeográfica das espécies dos subgêneros *Epicharis* e *Epicharana* (Apidae, Centridini). Tese de doutorado. FFCLRP/USP, Ribeirão Preto, Brasil. 188p, 2001.
- GAGLIANONE, M.C. Nesting biology, seasonality, and flower hosts of *Epicharis nigrita* (Fries, 1900) (Hymenoptera: Apidae: Centridini), with a comparative analysis for the genus. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, 40:191-200, 2005.
- GAGLIANONE, M.C.; AGUIAR, A.J.C.; VIVALLO, F. ALVES-DOS-SANTOS, I. Cheklis das abelhas coletoras de óleos do Estado de São Paulo, **Biota Neotropica**, 11:1-10, 2011.
- GIESE, S. O. K. Estudo da composição química dos óleos de *Byrsonima brachybotrys* (Malpighiaceae). Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná, 2005.

- GIMENES, M. Interactions between bees and *Ludwigia elegans* (Camb.) Hara (Onagraceae) flowers at different altitudes in São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 19:681-689, 2002.
- GOLDBLATT, P.; A. RODRIGUEZ, A.; POWELL, M. P.; DAVIES, T. J.; MANNING, J. C.; VANDER BANK, M.; SAVOLAINEN, V. Iridaceae “Out of Australasia”? Phylogenetic tree, biogeography, and divergence time based on plastid DNA sequences. **Systematic Botany**, 33:495–508, 2008.
- GOLDENBERG, R.; SHEPHERD, G.J. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. **Plant Systematics and Evolution**, 211, 13-29, 1998.
- GOLDENBERG, R. O gênero *Miconia Ruiz & Pav.* (Melastomataceae): I. Listagens analíticas; II. Revisão taxonômica da seção *Hypoxanthus* (Rick. ex DC.) Hook. F.. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas/SP, 259p, 2000.
- GOLDENBERG, R.; VARASSIN, I.G. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 24, 283-288, 2001.
- GOLDENBERG, R.; REGINATO, M. Sinopse da família Melastomataceae na Estação Biológica de Santa Lúcia (Santa Teresa, Espírito Santo). **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão, nova série**, 20: 33-58, 2006.
- GOLDENBERG, R.; PENNEYS, D.S.; ALMEDA, F.; JUDD, W.S. & MICHELANGELI, F.A. Phylogeny of *Miconia* (Melastomataceae): patterns of stamen diversification in a megadiverse neotropical genus. **International Journal of Plant Sciences**, 169: 963-979, 2008.
- GOLDENBERG, R.; BAUMGRATZ, F.A.; SOUZA, M.L.DEL'REI. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros Taxonomy of Melastomataceae in Brazil: retrospective and perspective views and an identification key for the genera. **Rodriguésia**, 63(1): 145-161. 2012.
- GOLDENBERG, R. 2015. *Mouriri*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB19703>>. Acesso em 22 d maio de 2016.
- GRAYER, R.J.; THABREW, M.I.; HUGHES, R.D.; BRETHERTON, S.; LEVER, A.; VEITCH, N.C.; KITE, G.C.; LELLI, R.; SIMMONDS, M.S.J. Phenolic and terpenoid constituents from the Sri Lankan medicinal plant *Osbeckia aspera*. **Pharmacology Biology**, 46: 154-161, 2008.
- GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os insetos: um resumo entomológico**. Tradução de Sonia Hoenen. São Paulo: Roca, 2008.

- HEGNAUER R. Phytochemistry and plant taxonomy – an essay on the chemotaxonomy of higher plants. **Phytochemistry**, 25:1519-1935, 1986.
- HALEEN, A. M. Química das recompensas florais de Krameriaceae e Malpighiaceae do Cerrado. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 131p, 2012.
- HASTON, E.; RICHARDSON, J.E.; STEVENS, P.F.; CHASE, M.W.; HARRIS, D.J. The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 161:128-131, 2009.
- HARBORNE, J.B. Phenolic glycosides and their natural distribution. *In*: Biochemistry of phenolic compounds. Harborne, J.B. Ed. Academic Press, London, 129p, 1964.
- HARBORNE, J.B. Twenty –five years chemical ecology. **Natural Products Reports**, 18: 361-379, 2001.
- HARTER, B.; LEISTIKOW, C.; WILMS, W.; TRUYLIO, B.; ENGELS, W. Bees collecting pollen from flowers with poricidal anthers in a south Brazilian Araucaria forest: a community study. **Journal of Apicultural Research**, 40 (1-2): 9:16, 2002.
- HENTRICH, H.; KAISER, R.; GOTTSBERGER, G. Floral scent collection at the perfume flowers of *Anthurium rubrinervium* (Araceae) by the kleptoparasitic orchid bee *Aglae cerulea* (Euglossini). **Ecotropica**, 13:149-155, 2007.
- HOPKINS, M. J. G.; HOPKINS, H.C.F. ; SOTHERS, C.A. Nocturnal Pollination of *Parkia velutina* by *Megalopta* bees in Amazonia and its possible significance in the evolution of chiropterophily. **Journal of Tropical Ecology**, 16: 733-746, 2000.
- ISAZA, J.H.; ITO, H.; YOSHIDA, T. A flavonol glycoside-lignan ester and accompanying acylated glucosides from *Monochaetum multiflorum*. **Phytochemistry**, 58:321-327, 2001.
- JAMAL, C.M.; TAVARES, K.G.; RASLAN, D.S.; MIRAGLIA, M.C.M.; DUARTE, L.D.G. Isolation of constituents as analgesic agents from *Lavoisiera pulcherrima* DC (Melastomataceae). **Acta Horticulturae**, 501: 145-150, 1999.
- JANG, D.S.; SU, B.N.; PAWLUS, A.D.; KANG, Y.; KARDONO, L.B.S.; RISWAN, S.; AFRIASTINI, J.J.; FONG, H.H.S.; PEZZUTO, J.M.; KINGHORN, A.D. Beccaridiol, na unusual 28-nortriterpenoid from the leaves of *Diplectria beccariana*. **Phytochemistry**, 67: 1832-1837, 2006.
- JUNKER, R.R.; BLÜTHGEN, N. Floral scents repel facultative flower visitors, but attract obligate ones. **Annals of Botany**, 105:777-782, 2010.
- KINGSTON, D.G.I.; ABDEL-KADER, M.; ZHOU, B.N.; YANG, S.W.; BERGER, J.M.; VAN DER WERFF, H.; EVANS, R.; MITTERMEIER, R.; MALONE, S.; FAMOLARE, L.; GUERIN-MCMANUS, M.; WISSE, J.H.; MILLER, J.S. Biodiversity conservation, economic development,

and drug discovery in Suriname. **Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals**, 39–49, 2000.

KNOLL, F.R.N.; SANTOS, L.M. Orchid bee baits attracting bees of the genus *Megalopta* (Hymenoptera, Halictidae) in Bauru region, São Paulo, Brazil: abundance, seasonality, and the importance of odors for dim-light bees. **Revista Brasileira de Entomologia**, 56: 481–488, 2012.

KUSTER, R.M.; ARNOLD, N.; WESSJOHANN, L. Anti-fungal flavonoids from *Tibouchina grandifolia*. **Biochemistry System Ecology**, 37:63–5, 2009.

LI, X.C.; JACOB, M.R.; PASCO, D.S.; ELSOHLY, H.N.; NIMROD, A.C.; WALKER, L.A.; CLARK, A.M. Phenolic compounds from *Miconia myriantha* inhibiting *Candida* aspartic proteases. **Journal Natural Products**, 64:1282-1285, 2001.

LIMA, O.G; BETTOLO, G.B.M; MONACHE, F.D; COELHO, J.S.B; D'ALBUQUERQUE, IL; CAVALCANTI, M.S.B; MARTINS, D.G; OLIVEIRA, L.L. Primeiras observações sobre a atividade antimicrobina e antineoplásica de produto identificado como 2-metóxi-6-n-pentil-1,4-dihidroxibenzeno (miconidina) isolada de extratos de raízes de *Miconia* sp (Melastomataceae). **Revista do Instituto de Antibióticos**, UFPE 10: 35-39, 1970a.

LIMA, O.G; BETTOLO, G.B.M; MONACHE, F.D; COELHO, J.S.B; D'ALBUQUERQUE, I.L; MACIEL, G.M; LACERDA, A; MARTINS D.G. Atividade antimicrobina e antineoplásica de produto identificado como 2-metóxi-6-n-pentil-p-benzoquinona (primina) isolado de *Miconia* sp (Melastomataceae). **Revista do Instituto de Antibióticos**, UFPE 10: 29-34, 1970b.

LING, SK; TANAKA, T; KOUNO, I New cyanogenic and alkyl glycoside constituents from *Phyllagathis rotundifolia*. **Journal of Natural Products**, 65: 131-135, 2002.

LOPES, A.V.F.E.; MACHADO, I.C.S. Biologia floral de *Swartzia pickelli* (Leguminosae-Papilionoideae) e sua polinização por *Eulaema* spp. (Apidae-Euglossinae). **Revista Brasileira de Botânica**, 19, 17-24, 1996.

LUNAU K.; PAPIOREK S.; ELTZ T.; SAZIMA M. Avoidance of achromatic colours by bees provides a private niche for hummingbirds. **Journal of Experimental Biology**, 214:1607–1612, 2011.

MACARI, P.A.T.; EMERENCIANO, V.P.; FERREIRA, Z.M.G.S. Identificação de triterpenos de *Miconia albicans* triana através de análise por microcomputador. **Química Nova**, 13: 260-262, 1990.

MACHADO, I.C.; VOGEL, S.; LOPES, A.V. Pollination of *Angelonia cornigera* Hook. (Scrophulariaceae) by long- legged oil-collecting bees in ne Brazil. **Plant Biology**, 4:352-359, 2002.

- MACHADO, I.C. Oil-collecting bees and related plants: a review of the studies in the last twenty years and case histories of plants occurring in ne Brazil. Pp 255-280. *In*: B.M Freitas, B.M.; Pereira, J.O.P. (eds.). **Solitary bees, conservation, rearing and management for pollination**. editora Imprensa Universitária, UFCe, Fortaleza. 285p, 2004.
- MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. Floral traits and pollination systems in the caatinga, a brazilian tropical dry forest. **Annals of Botany**, 94: 365-376, 2004.
- MARTINS, A.C.; AGUIAR, A.J.C.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Interaction between oil-collecting bees and seven species of Plantaginaceae. **Flora**, 401-411, 2013.
- MARTINS, A. C.; SCHERZ, M. D.; RENNERT, S. S. Several origins of floral oil in the Angelonieae, a Southern Hemisphere disjunct clade of Plantaginaceae. **American Journal of Botany**, 101:2113–2120, 2014.
- MELO, G.A.R.; GAGLIANONE, M.C. Females of *Tapinotaspidodes*, a genus in the oil-collecting bee tribe Tapinotaspini, collect secretions from non-floral trichomes (Hymenoptera, Apidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, 49: 167-168, 2005.
- MENDES-RODRIGUES, C.; OLIVEIRA, P.E. Polyembryony in Melastomataceae from Brazilian Cerrado: multiple embryos in a small word. **Plant Biology**, 14, 845-853, 2012.
- MENDOZA, H. & RAMÍREZ, B. Guía ilustrada de géneros de Melastomataceae y Memecylaceae de Colombia. Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt - Universidad del Cauca.
- MICHENER, C. D. **The Bees of the World**. Baltimore, John Hopkins University Press, 913 p, 2000.
- MICHENER, C.D. **The bees of the world**. John Hopkins University Press, Baltimore, MD, USA, 2007.
- MICHEZ, D.; PATINY, S. World catalogue, biogeography and floral choices of the oil-collecting bee genus *Macropis* Panzer 1809 (Hymenoptera, Apoidea, Melittidae). **Annual of Society Entomology**, 45:15–28, 2005.
- MICHEZ D., EARDLEY C. D., KUHLMANN M., PATINY S. Monographic revision of the southern-african bee genus *Capicola* (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae). **European Journal of Entomology** 104: 311-340, 2007.
- MICHEZ, D., PATINY, S., RASMONT, P., TIMMERMANN, K.; VEREECKEN, N. J. Phylogeny and host-plant evolution in Melittidae s.l. (Hymenoptera: Apoidea). **Apidologie**, 39:146–162, 2008.
- MIMURA, M.R.;M.; SALATINO, A.; SALATINO, M.L.F. Distribution of flavonoids and the taxonomy of *Huberia*. **Biochemistry System Ecology**, 32: 27-34, 2004.

- MITCHELL, R.J.; WASER, N.M. Adaptive significance of *Ipomopsis aggregata* nectar production: pollination success of single flowers. **Ecology**, 73, 633-638, 1992.
- MORI, K., J. Semiochemical – Synthesis, stereochemistry and bioactivity. **European Journal Chemistry**, 1479-1489, 1998.
- MORLEY, T. Memecyleae (Melastomataceae). Fl. Neotrop. New York Botanical Garden, New York, 1976.
- MUCHHALA, N.; JARRÍN-V, P. Flower visitation by bats in cloud forest of western Ecuador. **Biotropica**, 34:387-395, 2002.
- NEFF, J.L.; SIMPSON, B. B. Oil-collecting structures in the Anthophoridae (Hymenoptera): Morphology, function, and use in systematics. J. Kans. **Entomology Society**, 54:95-123, 1981.
- NICOLSON, S.W.; NEPI, M.; PACINI, E. **Nectaries and Nectar**. Netherlands, Springer, 2007.
- NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. **Journal of Chemical Ecology**, 2:211-220, 1976.
- OBERMULLER, E.S.; NASCIMENTO, G.B.; GAVA, H.Z.; RIBEIRO, L.F.; SILVA, A.G. O contraste entre síndromes de polinização e sistemas efetivos de polinização e suas perspectivas para ecossistemas associados à Mata Atlântica. **Natureza on line**, 6: 42-47, 2008.
- OLIVEIRA, A.I.; CREVELIN, E.J.; ARANTES, G.M.; CROTTI, A.E.M.; CUNHA, W.R. Triterpenos isolados de espécies de *Miconia* (Melastomataceae). In: 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005.
- OLIVEIRA, F.S.; RIBEIRO, M.H.; NUNEZ, C.V.; ALBUQUERQUE, P.M.C. Flowering phenology of *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with crepuscular bees *Megalopta amoena* (Halictidae) in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil. **Acta Amazonica**, 46(3): 2016.
- OLLERTON, J.; KILLICK, A.; LAMBORN, E.; WATTS, S.; WHISTON, M. Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. **Taxon**, 56:717-728, 2007.
- PAUW, A. Floral syndromes accurately predict pollination by a specialized oil-collecting bee (*Rediviva peringueyi*, Melittidae) in a guild of south African orchids (Coryciinae). **American Journal of Botany**, 93: 917-926, 2006.
- PENNEYS, D.S.; JUDD, W.S. A cladistic analysis and systematic revision of *Charianthus* (Miconieae: Melastomataceae) using morphological and molecular characters. **Systematic Botany**, 30: 559-584, 2005.

- PIANARO, A. Ecologia química de abelhas brasileiras: *Melipona rufiventris*, *Melipona scutellaris*, *Plebeia droryana*, *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragonisca angustula* e *Centris trigonoides*. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2007.
- PINHEIRO, M.; GAGLIANONE, M.M.; NUNES, C.E.P.; SIGRIST, M.R.; ALVES DOS SANTOS, I. Polinização por abelhas. *In: Biologia da Polinização* (AR Rech, K Agostini, PE Oliveira, IC Machado, eds). Projeto cultural, Rio de Janeiro, p.206 -233, 2014.
- RAGUSO, R.A. Why are some floral nectars scented? **Ecology**, 85:1486-1494, 2004.
- RASMUSSEN, C.; OLESEN, J.M. oil-flowers and oil-collecting bees. In: Totland et al. (Eds.) The Scandinavian Association for Pollination Ecology Honnours Knut Faegri. Norweg. **Academy of Letter**, p. 23,31, 2000.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**, 6ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 906 p, 2001.
- RECH, A.R.; AVILA JR, R.S.; SCHLINDWEIN, C. Síndromes de polinização: especialização e generalização. *In: Biologia da Polinização* (Rech, A.R.; Agostini, K.; Oliveira, P.E.; Machado, I.C. eds). Projeto cultural, Rio de Janeiro, p.171-181, 2014.
- RÊGO, M. M. C.; ALBUQUERQUE, P. M. C. Comportamento das abelhas visitantes de murici, *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth, Malpighiaceae. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi, Série Zoológica**, 5:179-193, 1989.
- RÊGO M.M.C., ALBUQUERQUE P.M.C. **Polinização do murici**. São Luís: MMA/ EDUFMA, 2006.
- REGO, M.M.C.; ALBUQUERQUE, P.M.C.; RAMOS, M.C.; CARREIRA, L.M. Aspectos da Biologia de Nidificação de *Centris flavifrons* (Friese) (Hymenoptera: Apidae, Centridini), um dos Principais Polinizadores do Murici (*Byrsonima crassifolia* L. Kunth, Malpighiaceae), no Maranhão. **Neotropical Entomology**, 35: 579-587, 2006.
- REIS, M.G. A contribuição da química para o estudo das Orchidaceae e seus ppolinizadores. Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, São Paulo, 2000.
- REIS, M.G; FARIA A.D.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E.; MARSAIOLI, A.J. The chemistry of Flower-rewards: *Oncidium* (Orchidaceae). **Journal Brazilian of Chemistry Society**, 11: 600-608, 2003.
- RENNER, S. S. Phaenologie, Blütenbiologie, und Rekombinationsystemes einiger zentralamogonisher Melastomataceen. Tese de doutorado. Universidade de Hamburg, 1984.

- RENNER, S.S. A survey of reproductive biology in neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 76: 496-518, 1989.
- RENNER, S.S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany**, 13: 519-40, 1993.
- RENNER, S.; SCHAEFER, H. The evolution end loss oil-offering flowers insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. **Philosophical Transactions of the Royals Society of London**, 365, 423-435, 2010.
- RIBEIRO, E.K.M.D., RÊGO, M.M.C.; MACHADO, I.C.S. Cargas polínicas de abelhas polinizadoras de *Byrsonima chrysophylla* Kunth. (Malpighiaceae): fidelidade e fontes alternativas de recursos florais. **Acta Botânica Brasilis**, 22:165-171, 2008.
- ROCHA, S.F.; BRANCO, A.; SILVA, T.R.S.; CORREIA, M. PINTO, A.C. Isolamento e Identificação do triterpeno friedelina de *Marcetia formosa* (Melastomataceae). In: 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.
- RODRIGUES, J.; INALDO, D.; SANTOS, L.C.; VILEGAS, W. Biflavonoide isolado de folhas de *Miconia cabucu* Hoehne (Melastomataceae). In: 31^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Araraquara, São Paulo, 2007.
- RODRIGUES, J; MICHELIN, DC; RINALDO, D; ZOCCOLO, GJ; CAMPNER DOS SANTOS, L; VILEGAS, W; SALGADO, HRN. Antimicrobial Activity of *Miconia* Species (Melastomataceae). **Journal of Medical Food**, 1: 120-126, 2008.
- ROMERO, R. A new species of *Microlicia* Melastomataceae) from Brazil. **Brittonia**, 52:142-144, 2000.
- ROMERO, R.; MARTINS, A.B. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 25: 19-24, 2002.
- ROUBIK, D.W. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge, Mass Smithsonian, 514p, 1989.
- ROZEN, J.G.; MELO, G.A.R.; AGUIAR, A.J.C.;ALVES- DOS- SANTOS, I. nesting Biologies and Immature stages of the tapinotaspidine Bee Genera *Monoeca* and *Lanthanomelissa* and of their osirine Cleptoparasites *Protosiris* and *Parepeolus* (Hymenoptera: Apidae). **American Museum Novitates**, 3501: 1-66, 2006.
- SAZIMA, I.; BUZATO, S.. SAZIMA, M. The bizarre inflorescence of *Norantea brasiliensis* (Marcgraviaceae): visits of hovering and perching birds. **Botanica Acta**, 106, 507-513, 1993.

- SCHAEFER, H.; RENNER, S. S. A phylogeny of the oil bee tribe Ctenoplectrini (Hymenoptera: Anthophila) based on mitochondrial and nuclear data: evidence for Early Eocene divergence and repeated out-of-Africa dispersal. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 47:799–811, 2008.
- SCHLINDWEIN, C. Are oligolectic bees always the most effective pollinators. In; Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination (B.M. Freitas, Ed.). Imprensa universitária, Fortaleza: 231-140, 2004.
- SEIGLER, D.S; SIMPSON, B.B.; MARTIN, C.; NEFF, J.L. Free 3-acetoxylfatty acids in glands of *Krameria* species. **Phytochemistry**, 17, 995, 1978.
- SERNA, D.M.O.; MARTINEZ, J.H.I. Phenolics and Polyphenolics from Melastomataceae Species. *Molecules*, **Molecules**, 20:17818-17847, 2015.
- SIMPSON, B.B.; NEFF, J.L.; SEIGLER, D. *Krameria*, free fatty acids and oil-collecting bees. **Nature**, 267: 150-151, 1977.
- SIMPSON, B.B.; SEIGLER, D.S; NEFF, J.L. Lipids from the glands of *Krameria*. **Biochemical Systematics and Ecology**, 7:193, 1979.
- SIMPSON, B.B; NEFF, J.L. Floral rewards: Alternatives to pollen and nectar. **Annals Missouri Botanical Gardens**, 68:301, 1981.
- SIMPSON, B.B.; NEFF, J.L. Evolution and diversity of floral rewards. In Richards AJ (ed). The pollination of flowers by insects. London: Academic Press. pp. 142-159, 1983.
- SPESSOTO, M.A.; FERREIRA, D.S.; CROTTI, A.E.M.; SILVA, M.L.A.; CUNHA, W.R. Evaluation of the analgesic activity of extracts of *Miconia rubiginosa* (Melastomataceae). **Phytomedicine**, 10: 606-609, 2003.
- STEINER K. E. The role of nectar and oil in the pollination of *Drymonia serrulata* (Gesneriaceae) by *Epicharis*-bees (Anthophoridae) in Panama. **Biotropica**, 17:217–229, 1985.
- STEVENS, P. F. Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012 [and more or less continuously updated since]." will do. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>, 2001.
- STONE, R.D. Phylogeny of major lineages in Melastomataceae, subfamily Olisbeoideae : utility of nuclear glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GapC) gene sequences. **Systematic Botany** 31: 107–121, 2006.
- SUSANTI, D.; SIRAT, H.M.; AHMAD, F.; MAT ALI, R.; AIMI, N.; KITAJIMA, M. Antioxidant and cytotoxic flavonoids from the flowers of *Melastoma malabathricum*. **Food Chemistry**, 103: 710-716, 2007.

- TAURA, H.M.; LAROCA, S. Biologia da Polinização: interações entre as abelhas (Hym., Apoidea) e as flores de *Vassobia breviflora* (Solanaceae). **Acta Biologica Paranaense**, 33: 143-162, 2004.
- TEIXEIRA, S.P.; MARINHO, C.R.; PAULINO, J.V. A Flor: aspectos morfofuncionais e evolutivos. *In: Biologia da Polinização* (Rech, A.R.; Agostini, K.; Oliveira, P.E.; Machado, I.C. eds). Projeto cultural, Rio de Janeiro, p.71-92, 2014.
- THOMPSON, J.N. Concepts of coevolution. **Trends in Ecology and Evolution**, 4: 179-183, 1989.
- VARASSIN, I.G.; PENNEYS, D.S.; MICHELANGELI, F.A. Comparative Anatomy and Morphology of Nectar-producing Melastomataceae. **Annals of Botany**, 102: 899-909, 2008.
- VARASSIN, I.G.; AMARAL-NETO, L.P. Atrativos. *In: Biologia da Polinização* ((Rech, A.R.; Agostini, K.; Oliveira, P.E.; Machado, I.C. eds). Projeto cultural, Rio de Janeiro, p.152-168, 2014.
- VILEGAS, W; CABRERA, A; BERNARDI, AC; POZETTI, GL; BOER, CE; ALÉCIO, AC; ROCHA, AB. Constituintes químicos de *Cambessedesia espora* DC (Melastomataceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas**, 19: 235-241, 1998.
- VINSON, S.B.; WILLIAMS, H.J.; FRANKIE, G.W.; SHRUM, G. Floral lipids chemistry of *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) and use of floral lipids by *Centris* bees (Hymenoptera: Apidae). **Biotropica**, 29:76, 1997.
- VIVALLO, F.; MELO, G.A.R. Taxonomy and geographic distributions of the species of *Centris* of the *hyptidis* group (Hymenoptera, Apidae, Centridini) whit a description of a new species from Central Brazil. **Zootaxa**, 2075:33-44, 2009.
- VOGEL, S. Pafümsammelnde Bienen als Bestäuber von Orchidaceen und Gloxina. **Österreichische Botanische Zeitschrift**, 113: 302-361, 1966.
- VOGEL, S. Ölblumen und ölsammelnde Bienen. **Tropische und subtropische Pflanzenwelt**, 7: 285-547, 1974.
- VOGEL, S. Abdominal oil-mopping – a new type of foraging in bees. **Naturwiss**, 68: 627-628, 1981.
- VOGEL, S. Ecophysiology of zoophilic pollination. *In: Lange, O. L., Nobel, P. S., Osmond, C. B. & Ziegler, H. (eds.) Physiological Plant Ecology III. Encycl. Plant Physiololy*. Springer Verlag, Berlin. p. 559-624, 1983.
- VOGEL, S.; C. D. MICHENER. Long bees legs and oil-producing floral spurs, and a new *Rediviva* (Hymenoptera, Melittidae; Scrophulariaceae). **Journal of the Kansas Entomology Society**, 58: 359-364, 1985.

- VOGEL, S. Ölblumen und ölsammelnde Bienen. Zweite Folge: *Lysimachia* und *Macropis*. **Tropische und subtropische Pflanzenwelt**, 54: 149-312, 1986.
- VOGEL, S.; MACHADO, I. C. Pollination of four sympatric species of *Angelonia* (Scrophulariaceae) by oil-collecting bees in NE. Brazil. **Plant System Evolution**, 178: 153-178, 1991.
- WARRANT, E.J, KELBER A, WALLÉN R, WCISLO W.T. Ocellar optics in diurnal and nocturnal bees and wasps. **Arthropod Structure and Development**, 35: 293–305, 2006.
- WCISLO, W.T.; ARNESON, L.; ROESCH, K.; GONZALEZ, V.H.; SMITH, A.; FERNANDEZ, H. The evolution of nocturnal behaviour in sweat bees, *Megalopta genalis* and *M. ecuadoria* (Hymenoptera: Halictidae): an escape from competitors and enemies? **Biological Journal of the Linnean Society**, 83: 377-387, 2004.
- WESTERKAMP, C. Flowers and bees are competitors – not partners: towards a new understanding of complexity in specialized bee flowers. **Acta Horticulturae**, 437:71-74, 1997.
- WILLMER, P. **Pollination and floral ecology**. New Jersey, UK, Princenton University Press, 778pp, 2011.
- WOLOWSKI, M.; FREITAS, L. Sistema reprodutivo e polinização de *Senna multijuga* (Fabaceae) em Mata Atlântica Montana. **Rodriguesia**, 61:167-179, 2010.
- ZHANG, Z; ELSOHLY, H.N.; CONG LI, X.; KHAN, S.I.; BROEDEL, S.E.; RAULLI, R.E.; CIHLAR, R.L.; WALKER, L.A. Flavanone glycosides from *Miconia trailii*. **Journal of the Natutal Products**, 66: 39-41, 2003.

6. Lista de publicações

Capítulo 1

Flowering phenology of *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with crepuscular bees *Megalopta amoena* (Halictidae) in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil

Fabiana dos Santos OLIVEIRA¹, Monique Hellen Martins RIBEIRO¹, Cecilia Veronica NUNEZ², Patricia Maia Correia de ALBUQUERQUE^{1*}

¹ Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Biologia, Programa de Pós-Graduação da Rede Bionorte (PPG-BIONORTE), Laboratório de Estudos sobre Abelhas (LEA), Avenida dos Portugueses, 1966, CEP 65080-805, São Luís, Brasil.

² Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTI), Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (LABB), Avenida André Araújo, 2936, Petrópolis, CEP: 69067-375, Manaus, Brasil.

*Corresponding author: patemaia@gmail.com

Flowering phenology of *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with crepuscular bees, *Megalopta amoena* (Halictidae), in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil

ABSTRACT

Mouriri guianensis is a Brazilian endemic plant species distributed throughout the Amazon forest, Caatinga, Mata Atlântica and Cerrado domains, extending northward into Venezuela. The aim of this study was to describe the flowering phenology, floral biology and visitors associated with *M. guianensis*, highlighting the crepuscular bee species *Megalopta amoena*. *Mouriri guianensis* flowers from September to March. The flowering, the details of floral biology and the activities of floral visitors were observed for ten individual plants in December 2013, January-March 2014, September-December 2014, and January-March 2015. The flowering peaks occurred in December 2013 and in November-December 2014. Bees were collected in January and February 2015. A total of 86 individuals belonging to six bee species were recorded visiting the flowers, with *Xylocopa cearensis* making more than one-half of the visits (60%), followed by *Melipona subnitida* and *Megalopta amoena* with 21.17% and 9.41% of the visits, respectively. The visitors showed activity peaks between 5:00 and 6:00 AM (66.27%). Buzz pollination was their predominant behavior. *Megalopta amoena* used its jaws to open the pore and the anther gland. *Melipona subnitida* used parts of the glands to seal the entrance to the colony. The visitors, except for *Augochloopsis* sp. and *Trigona* sp., are pollinators of *M. guianensis*. Plants having an extended anthesis can attract visitors both day and night. In this study, we present an example of a crepuscular pollination system. We suggest that blooming at twilight is a strategy used by the plant to escape unsuitable visitors.

KEYWORDS: Pollination, insect-plant interaction, floral oil, crepuscular foraging.

Fenologia da floração de *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) e sua interação com abelhas crepusculares *Megalopta amoena* (Halictidae) na restinga do Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses, Brasil.

RESUMO

Mouriri guianensis é uma espécie vegetal endêmica do Brasil, distribuindo-se pelos domínios da Floresta Amazônica, Caatinga, Mata Atlântica e Cerrado, chegando ao norte até a Venezuela. O objetivo do estudo foi descrever a fenologia de floração, a biologia floral e os visitantes florais de *M. guianensis*, com destaque para as abelhas crepusculares *Megalopta amoena*. *Mouriri guianensis* floresce de setembro a março e a floração de dez indivíduos foi acompanhada em dezembro/2013, janeiro-março/2014, setembro-dezembro/2014, janeiro-março/2015, sendo observados aspectos da biologia floral e visitantes. Os picos de floração ocorreram em dezembro/2013 e novembro-dezembro/2014. As abelhas foram coletadas em janeiro e fevereiro de 2015. Um total de 86 indivíduos de seis espécies de abelhas foi registrado visitando as flores com *Xylocopa cearensis* realizando a maioria das visitas (60%), seguida por *Melipona subnitida* e *Megalopta amoena* com 21,17% e 9,41%, respectivamente. Os visitantes mostraram picos de atividade entre 5:00 - 6:00 h (66,27%). O comportamento predominante foi o de vibração. *Megalopta amoena* utilizou suas mandíbulas para romper os poros da antera e glândula. *Melipona subnitida* utilizou partes das glândulas para a vedação da entrada da colônia. Os visitantes, a exceção de *Augochloopsis* sp. e *Trigona* sp., são polinizadores de *M. guianensis*. Plantas com longos períodos de antese podem atrair visitantes diurnos e noturnos. Aqui demonstramos um exemplo de sistema de polinização crepuscular, sugerindo que o fato florir durante o crepúsculo é uma estratégia da planta para escapar de visitantes inoportunos.

PALAVRAS-CHAVE: Polinização, interação inseto-plantas, óleo floral, forrageamento crepuscular.

INTRODUCTION

Plant-pollinator interaction involves reciprocal adjustments between interacting participants, ultimately leading to interspecific mutualisms or “*guild coevolution*” (Thompson 1989). The interactions can be studied from combined phytocentric and zoocentric perspectives to identify and understand the pollination syndromes, plant reproductive success, floral visitors, associated behaviors and pollination efficiency (Martins 2013; Freitas *et al.* 2014).

Floral resources generally mediate the relationship between flowers and visitors. For example, pollen is an essential resource for feeding bees and is also essential in plant reproduction; these two functions are mutually exclusive (Westerkamp 1997; Agostini *et al.* 2014). The plants must allocate pollen grains to reproduction. They also need bees for pollination, a conflict termed the “*pollen dilemma*” (Westerkamp 1997).

Accordingly, plants need to make functional adjustments to maintain their visitors. A few examples, among many possible adjustments, are the production of large amounts of pollen grains in the case of “*pollen of flowers*” (Cruden 2000) and the spatial separation of stamens (heteranthery) present in *Senna*, *Cassia*, *Chamaecrista* and *Tibouchina* flowers that can guarantee efficient resource allocation and ensure reproduction (Vogel 1974; Buchmann 1983; Vallejo-Marin *et al.* 2009). Additionally, poricidal anthers, which can provide adaptive advantages to the plant by minimizing pollen harvesting by less efficient visitors (Buchmann 1983), and nocturnal anthesis, in certain species such as *Mouriri*, could be strategies that facilitate the avoidance of unsuitable visitors (Wcislo *et al.* 2004).

Mouriri is a Neotropical genus that shows the ‘*buzz pollination*’ syndrome, with an absence of nectar in its flowers. However, in addition to providing pollen to its visitors, small epithelial elaiophores are located on its anthers. These structures produce a nonvolatile oil whose specific ecological function of which for the bees remains unknown (Buchmann and Buchmann 1981; Agostini *et al.* 2014). *Mouriri* flowers are associated with visitors that are diurnal foragers,

including bees belonging to the genera *Xylocopa*, *Trigona*, *Melipona* (Buchmann and Buchmann 1981) and *Centris* (Oliveira 2010), which are among their main pollinators.

Most bee species are active during the day. However some of them, such as *Megalocta* (Halictidae, Algochlorini), are adapted to a restricted niche, foraging at twilight, when most bee species are not active (Wcislo *et al.* 2004; Warrant *et al.* 2006; Wcislo and Tierney 2009).

The aim of this study was to describe the flowering phenology, floral biology and the visitors of *Mouriri guianensis*, highlighting the crepuscular bees *Megalocta amoena*.

MATERIALS AND METHODS

The present study was conducted in an area of *restinga* within the Lençóis Maranhenses National Park (LMNP), at the settlement Ponta do Mangue (lat. -2.5812; long. -42.7956), Barreirinhas, Maranhão, Brazil. LMNP has an area of 155.000 ha, with 453.28 km² covered by vegetation, 405.16 km² of which are predominantly *restinga*. Mangroves and river bank communities (riparian forests) are also still present in the park (Brasil 2002). The climate of the region is megathermic tropical (Aw' Type, according to the Köppen classification). The mean annual temperature is between 26 and 27 °C. The annual rainfall ranges between 1600 and 1800 mm, with two well-defined seasons: rainy from January to July and dry from August to December (Brasil 2002).

The phenology of ten *Mouriri guianensis* Aubl. individuals was followed on a fortnightly basis during the study periods December 2013 to March 2014 and September 2014 to March 2015. For the purposes of this study, we have defined the flowering period from the time of the initial formation of the bud until the time that the flowers reach senescence. The periods during which a relatively large number of flowers were in anthesis were considered as the flowering peaks (Newstrom *et al.* 1994). The collected botanical material was deposited at the Herbarium of the Federal University of Maranhão – MAR (MAR 6619).

The flowering pattern of the species was ranked by using the Fournier scale (1974), which estimates the intensity of each phenophase in a semi-quantitative manner based on gaps and five categories (0-4). Zero quantity indicates phenophase absence; **1-** phenophase presence with a magnitude ranging from 1 to 25%; **2-** from 26% to 50%; **3-** from 51% to 75% and **4-** from 76% to 100%. Every month, the sum of the phenologic intensity values for all individuals was calculated and divided by the maximum possible value (number of individuals x 4). The value obtained was expressed as a percentage (Bencke and Morellato 2002): $\text{Fournier (\%)} = \frac{\sum \text{phenophase} \times 100}{N \times 4}$. Spearman's correlation (with a 95% confidence interval) was used to analyze the relationship between meteorological factors (temperature, relative humidity and rainfall) and flowering.

Monthly meteorological data (temperature, relative humidity and rainfall) were provided by the Meteorologic Laboratory/Climatological and Environmental Center of the Maranhão State University (Laboratório de Meteorologia/Núcleo Geoambiental da Universidade Estadual do Maranhão (LABMET/NUGEO)).

Data on anthesis onset, sequence and duration, the number of buds and open flowers per day, the type of reward offered to the visitors, floral longevity and odor emission were obtained in the peak flowering months.

Direct observations of the bees were performed by verifying the visitor type, the harvested reward, the pollen deposition site and the hourly timing and duration of visits. The counts of the number of visits were made based on the number of times the bee alighted on the flowers to harvest the reward. At each hour associated with a collection event, the behavior of the visitor was followed for 15 minutes by taking notes, filming and photographing (Nikon D90, Nikon Corporation, Tokyo, Japan).

The temperature and daily relative humidity were obtained with a digital thermohygrometer (Model 7666.02.0.00, INCOTERM). Measurements were made at one-hour intervals.

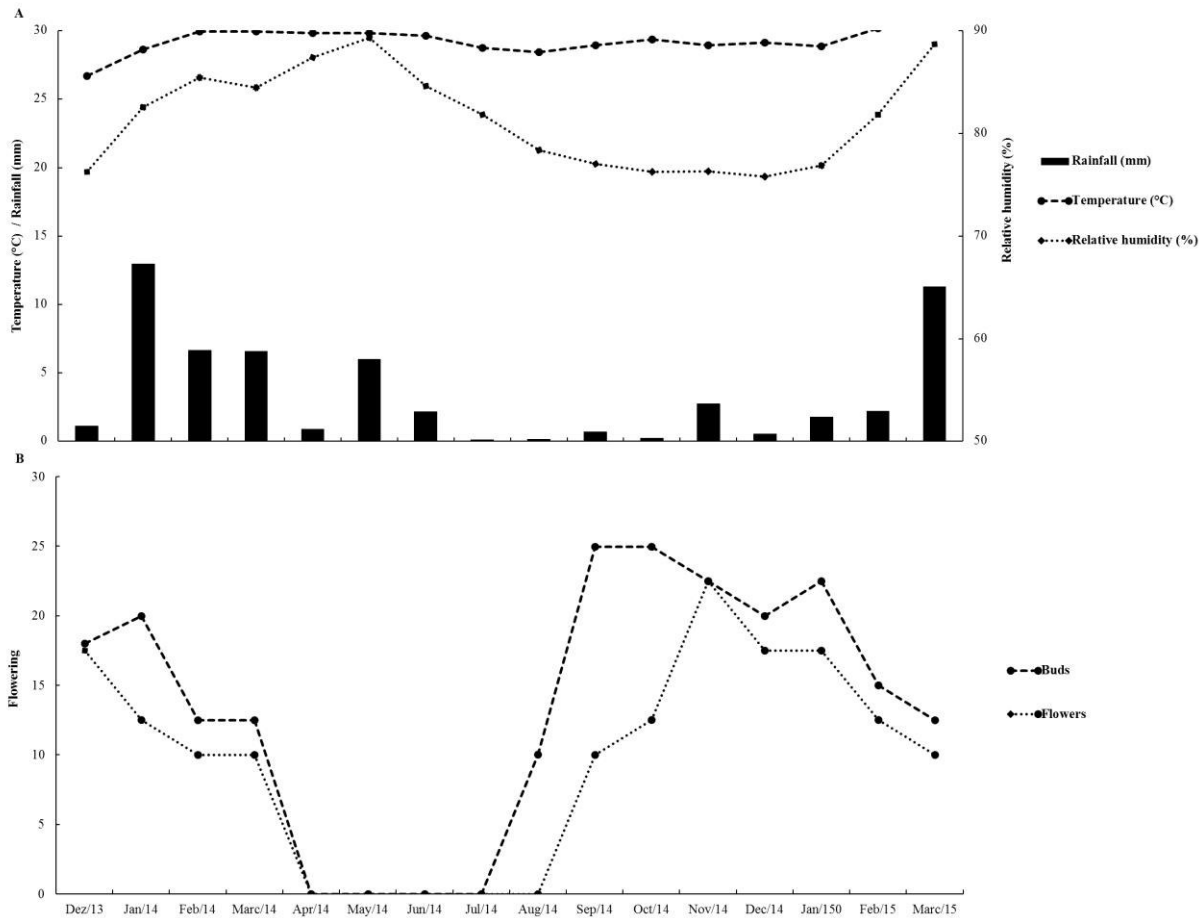
Floral visitors were collected in January and February 2015 with the use of an entomological net, at first from 6:00 AM to 18:00 PM and then from 18:00 PM to 6:00 AM, for five successive and three full-moon days in January 2015 to cover the entire whole nocturnal visitation period. Later, the observations were made from 04:00 AM to 18:00 PM during 10 non-consecutive days in February 2015. The collected bees were deposited in the bee collection of the Federal University of Maranhão - LEACOL.

To identify the plant species in addition to *M. guianensis* that were visited by *Megalopta amoena* Spinola throughout the sampling period, the pollen loads from five individuals were acetolyzed using Erdtman's method (1960).

RESULTS

Flowering in *M. guianensis* occurs from September to March (Figure 1). December 2013 and November/December 2014 showed relatively large numbers of open flowers. The number of buds was higher from September to January (Figure 1). Flowering showed a significant correlation with relative humidity ($r_s = -0.7545$, $p = 0.0015$ for buds; $r_s = -0.7149$, $p = 0.0018$ for flowers). However, temperature ($r_s = 0.2036$ and $p = 0.4495$ for buds; $r_s = 0.1653$ and $p = 0.5406$ for flowers) and rainfall ($r_s = -0.1726$ and $p = 0.5226$ for buds; $r_s = -0.0136$ and $p = 0.9601$ for flowers) were not significantly correlated with the studied phenophases.

Figure 1: Relationship between flowering phenology (buds and flowers) of *Mouriri guianensis* Aubl. and abiotic



factors (temperature, relative humidity and rainfall), Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. A) Rainfall, temperature and relative humidity. B) Flowering.

The *M. guianensis* plants examined in this study are shrubs nearly 1.5 m tall possessing white, pentamerous flowers and stamens with yellow, dithecal, poricidal anthers, with elaiophores on their upper part. The stamens are positioned so that the apical pores of the anthers maintain a position in which they are turned downward toward the stigma (Figure 2). The flowers show, on average, seven buds/inflorescence (7.6 ± 4.5) and from two to three open flowers per day. The flowers offer pollen and oil as rewards. The odor originates from the anthers, calyx and corolla and is strong during the night and until the early morning. Blooming begins at approximately 18:00 PM with the gradual separation of the petals and is over by approximately 4:00 AM. Floral longevity is

short, and by approximately 9:00 AM, the flower already holds anthers bearing no pollen and darkened elaiophores.

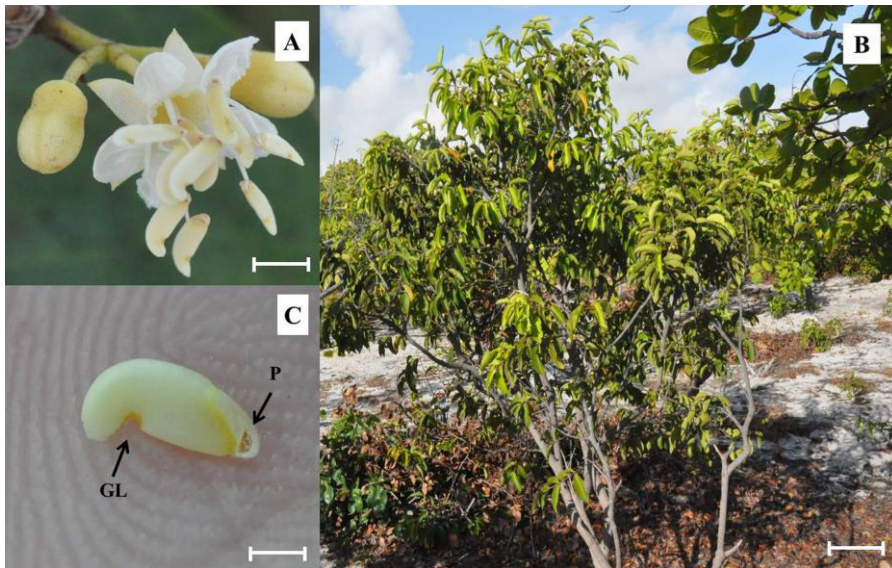


Figure 2: (A) *Mouriri guianensis* Aubl. flower. (B) General aspect; (C) Anthers indicating apical pore (P) and oil gland (GL), Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. Scale bars = 3 mm (A), 20 cm (B) and 10 mm (C).

We recorded a total of 86 individuals from two subfamilies and six species of Apidae in approximately 250 hours of observation. *Xylocopa cearensis* Ducke conducted more than half of the visits (60%), followed by *Melipona subnitida* Ducke and *Megalopta amoena* with 21.17% and 9.41% of the visits, respectively (Table 1).

Table 1: Visiting bees of *Mouriri guianensis* Aubl. on restinga, Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. (*) = not collected species.

Family/Tribe/Species	Individuals	Visit rate (%)
APIDAE		
Meliponini		
<i>Melipona (Melipona) subnitida</i>	18	21.17
<i>Trigona</i> sp.*	1	1.17
Xylocopini		
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) cearensis</i>	51	60
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) grisescens</i>	6	7
HALICTIDAE		
Augochlorini		
<i>Megalopta (Amoena) amoena</i>	8	9.41
<i>Augochloropsis</i> sp.	2	2.3

Megalopta amoena bees were the first visitors, starting their foraging activity approximately 5:00 AM and ending it at 5:35 AM, visiting few flowers and remaining in them for nearly 23 seconds (22.9 ± 1.19). No visits of this species were observed at any other time.

The sampling of the pollen load found in the scopes of *M. amoena* showed 88.5% from *M. guianensis* and 17.6% belonging to other plant species [6% *Machaerium* type (Fabaceae), 4% *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March (Burseraceae), 2% *Mimosa misera* Benth. (Mimosaceae), 1.5% *Astrocaryum* sp. (Arecaceae), 1% *Anacardium microcarpum* Ducke (Anacardiaceae), 1% *Myrcia obtusa* Shauer (Myrtaceae), 1% *Xyris paraensis* Poepp. (Xyridaceae), 0.6% *Hyptis* type (Labiatae), 0.5% *Tabebuia* type (Bignoniaceae)].

Melipona subnitida bees began their activities at 5:30 AM and ended at approximately 8:00 AM, while *Xylocopa* (*X. cearensis* and *Xylocopa grisescens* Lepetelier) bee species initiated their harvesting activities at approximately 6:00 AM. As a whole, the visitors concentrated their activity peaks between 5:00 AM and 6:00 AM (66.27%) (Figure 3).

Except for *M. amoena*, these other bee species remained on the flowers for nearly three to four seconds. Spearman's correlation analyses did not demonstrate significant associations between abiotic factors and bee activities ($r_s = -0.38$ and $p = 0.1929$ for temperature; $r_s = 0.46$ and $p = 0.1083$ for relative humidity).

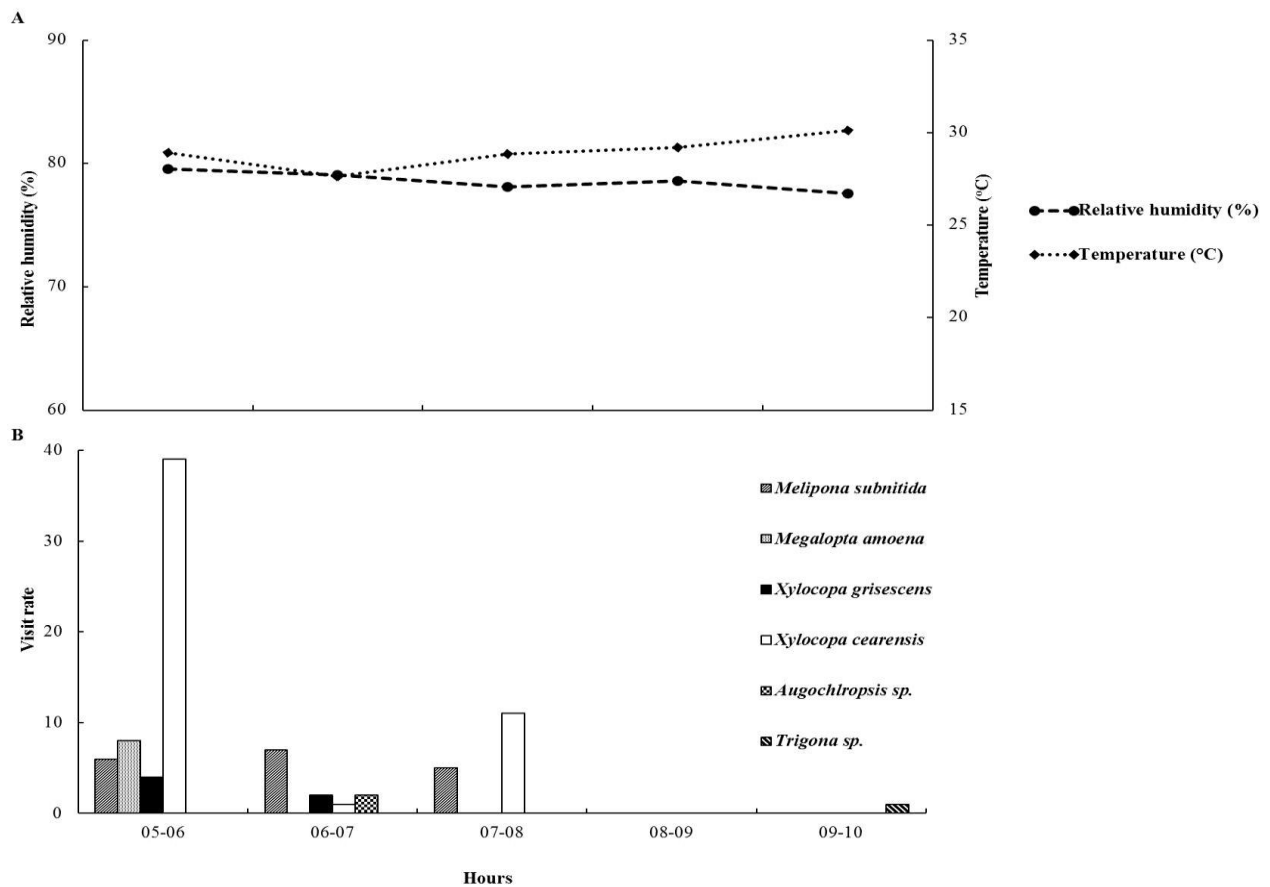


Figure 3: Relationship between *Mouriri guianensis* Aubl. and bees visiting hours with daily temperature (°C) and relative humidity (%), Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brazil. A) Relative humidity and temperature. B) Visit rate.

Buzzing was the predominant harvesting behavior for all studied bees. The collected bees showed no effective floral oil harvesting, and the common specialized bees that harvest floral oil (*Centris*, *Epicharis*, *Tetrapedia* or Tapinotaspidini) were not observed. Nevertheless, *M. amoena*, in addition to the “buzz pollination” behavior (Figure 4 A-D), alighted on the flower, clinging to just one stamen, utilizing its strong jaws to open the anther pores and, at times, breaking up the oil gland (Figure 4 E-F), suggesting that this species could show facultative pollen theft.

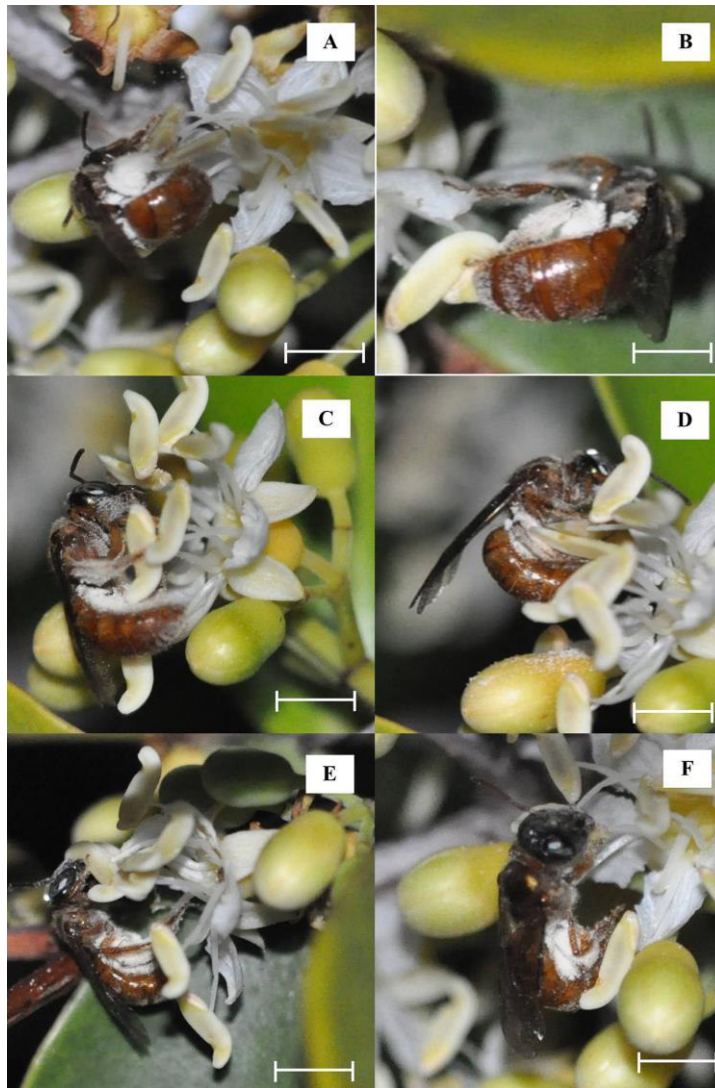


Figure 4: Harvesting behavior exhibited by *Megalopta amoena* Spinola on *Mouriri guianensis* Aubl. flowers, Lençóis Maranhenses National Park, Maranhão, Brasil. (A, B, C, D) Pollen harvesting through *buzz pollination*. (E, F) Bees breaking up the region of the apical pores and glands of the anthers. Scale bars = 6 mm (A, C, D, E, F) and 4 mm (B). This figure is in color in the electronic version.

Melipona subnitida bees harvested pollen from *M. guianensis* and utilized their gland regions to sealing the colony entrances (the colonies were located in nearby man-made boxes) (Figure 5 A-B). We found that the entrance to the boxes was sealed during the night and reopened only by morning (Figure 5 C-D). One individual of the genus *Trigona* was observed harvesting pollen straight from the anthers without contacting the stigmas. However, this species was not collected. *Augochloropsis* sp. was only observed flying over the flowers.

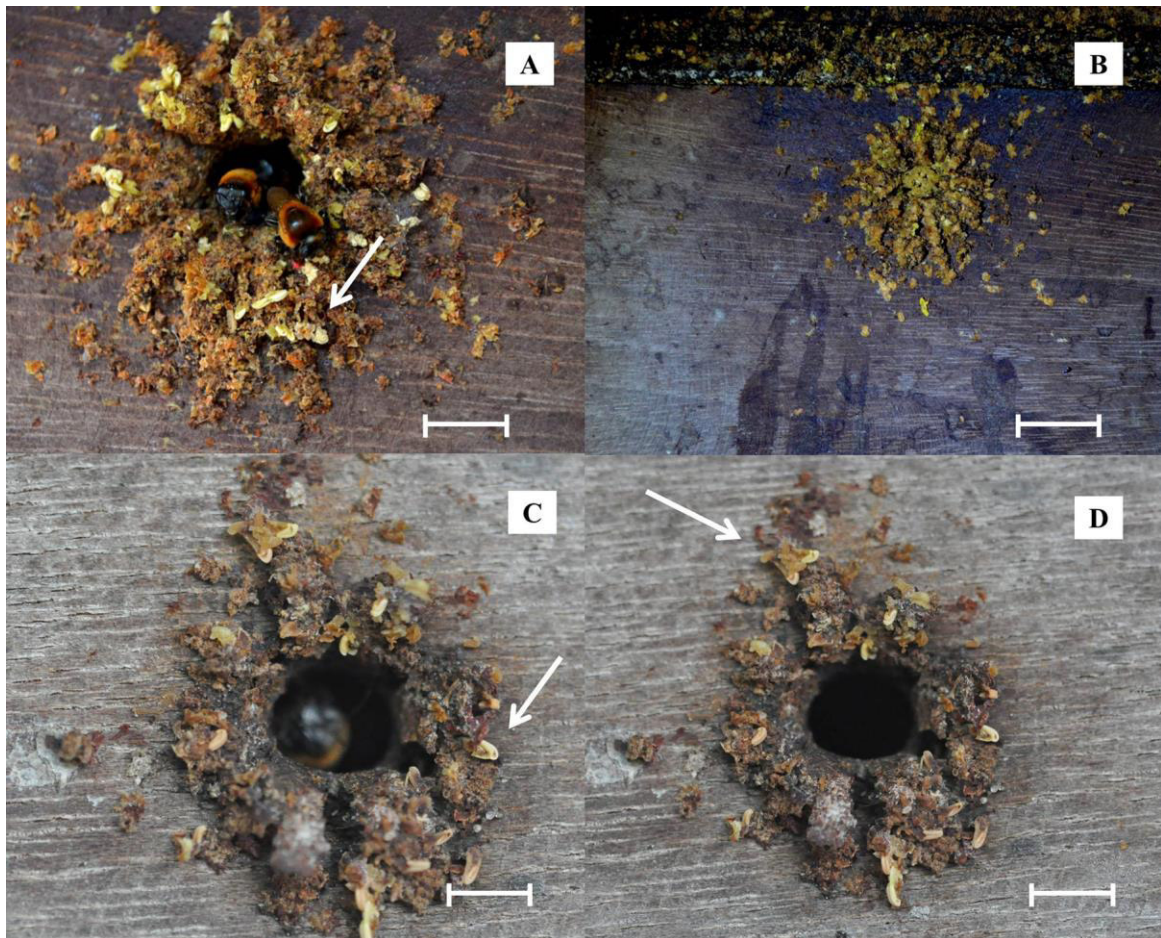


Figure 5: Entrance structure of one man-made box of *Melipona subnitida* Ducke. (A) Entrance of the box. (B) Box entrance sealing. (C, D) Box entrance open. Arrows showing *M. guianensis* anthers. Scale bars = 10 mm (A), 20 mm (B), 15 mm (C, D). This figure is in color in the electronic version.

DISCUSSION

Abiotic factors such as temperature, humidity and rainfall influence the induction and control of flowering and, consequently, activity and interaction with pollinators (Knoll and Santos 2012). In this study, it was noted that with the exception of relative humidity, meteorological factors were not significant in relation to flowering. This could be due to the absence of large fluctuations in monthly temperature averages and precipitation during the studied period. In low-seasonality environments (uniform climates), climatic factors influence the flowering of species in a less obvious way (Locatelli and Machado 2004).

Spearman's correlation analysis involving relative humidity showed that as this climatic variable decreases, flowering increases. In periods of low humidity, the plants increase their evapotranspiration rates considerably, consequently increasing soil water and nutrient input and thereby ensuring that energy reserves are adequate (Odum 1971; Locatelli and Machado 2004). Given the characteristics of the studied area, this may be a physiological strategy used by *M. guianensis* to ensure adequate energy reserves. Thus, in addition to climatic factors, physiological factors can influence flowering (Locatelli and Machado 2004).

Although *M. guianensis* flowers attracted bees with diurnal foraging habits such as *Xylocopa* and *Melipona* as their more common visitors, nocturnal anthesis and the emission of strong odors during the night represent major attractants for bee species such as *M. amoena* that pollinate flowers based on a pattern of nocturnal or crepuscular melittophily. Two crepuscular bee species (*Megalopta sodalis* Vachal and *Ptiloglossa aff. dubia* Moure) were found visiting the flowers of *Cambessedesia wurdackii* Martins (Melastomataceae). Although this plant was sought by diurnal visitors, crepuscular bees were found to be its potential pollinators (Franco and Gimenes 2011).

Plants with an extended anthesis, more than 12 hours, attract diurnal and nocturnal visitors, both of which are effective pollinators of the visited plants (Martins 2013; Aguilar-Rodriguez *et al.* 2015). A similar result was found in this study, suggesting that bees that visit *M. guianensis* can play a complementary role in pollination (Martins 2013; Aguilar-Rodriguez *et al.* 2015).

Megalopta amoena starts to forage on flowers before other bees. Accordingly, considering that *M. amoena* has large and robust bees, such as *X. cearensis* and *X. grisencens*, as its main competitors in the study area, its pattern of foraging during the period where the other pollinators are not active increases the reward harvested, reducing the chances for competition and predation (Wcislo *et al.* 2004).

In contrast, an interesting idea about the resource partitioning and resource sharing is "*sensory exclusion*", where interactions occur in sensory windows to which less efficient members

may not have access (Lunau, *et al.* 2011; Brito *et al.* 2014). Red flowers pollinated by hummingbirds, for example, represent a color niche that only hummingbirds can identify, as these flowers are inconspicuous to bees (Lunau *et al.* 2011). This study appears to furnish an example of an interaction mediated by this principle, suggesting that the blooming of the plant at twilight is a strategy to escape from undesirable visitors.

Several studies have previously confirmed that *Megalopta* are active on plants with poricidal anthers (Wcislo *et al.* 2004; Franco and Gimenes 2011). Species with diurnal and/or nocturnal anthesis belonging to Anacardiaceae, Bombacaceae, Guttiferae and Melastomataceae were identified as plants that served as a pollen source for *Megalopta* bees (Wcislo *et al.* 2004; Smith *et al.* 2012). Analysis of the pollen loads carried by *M. amoena* suggests that, although *M. guianensis* had been responsible for 88.5% of the pollen, they also visited many other plant species to harvest this pollen reward, confirming the diffuse nature of most established relationships between plants and pollinators (Martins 2013).

The higher visitation rate of *X. cearensis* to the flowers in the study area may be explained by the observation that *Mouriri* was the possible source of pollen for this species. *Xylocopa* bees utilize pollen as food, (Viana *et al.* 2002) and *M. guianensis* is a plant with abundant pollen. In addition, *Xylocopa* are efficient pollination agents, mainly for plants such as *Mouriri* with poricidal anthers (Buchmann 1983). Poricidal anthers could be a strategy for avoiding the harvest of pollen grains by less efficient visitors (Junker and Blüthgen 2010; De Luca and Vallejo-Marin 2013), reducing the numbers of visiting bees, as found in *Tibouchina*, *Comolia* and *Mouriri* (Buchmann and Buchmann 1981; Buchmann 1983; Oliveira-Rebouças and Gimenes 2004). Furthermore, the large quantity of pollen produced and the heteranthery presented by *Mouriri* flowers may, in part, contribute to mitigate the problem of the “*pollen dilemma*,” guaranteeing their reproductive and feeding success (Vallejo-Marin *et al.* 2009).

The high visitation rate of *Melipona subnitida* is due to the location of the harvesting area in the immediate proximity of man-made colony boxes as well as the availability of larval food (pollen) and material (oil) for sealing the colony entrance from the plant. Siqueira *et al.* (2007), analyzing several stingless bee species nests, found their entrances to be mainly composed of plant resins and animal feces. The presence of resins in *Mouriri* species and the exploitation of the glands of these species by *Melipona* bees have previously been observed (Buchmann and Buchmann 1981). The present work shows evidence that *M. subnitida* utilizes *M. guianensis* floral oil. The sealing of the entrance at night and reopening in the morning occurred in a pattern similar to that seen in other Meliponinae such as *Tetragonisca angustula* Latreille (Cortopassi-Laurino and Nogueira-Neto 2003).

Although Meliponinae are specialized in harvesting floral resins for building the wall of their nests (Agostini *et al.* 2014), their harvesting of floral oils from *Mouriri* flowers has already been reported (Buchmann and Buchmann 1981; Renner 1984). *Trigona pallens* Fabricius were observed on the elaiophores of *Mouriri myrtilloides* subsp. *parvifolia* (Benth.) Morley in Panamá (Buchmann and Buchmann 1981). The behavior of scraping the floral connective glands to harvest the oil that would probably be mixed with pollen has been observed in *Trigona williana* Friese, *Melipona fulva* Lepeletier and *M. marginata* Lepeletier, whereas nine species (six *Euglossa* and three *Xylocopa*) only harvested pollen (Renner 1984). Most likely, the oil harvesting makes it easy for the pollen grains to adhere to the smooth ventral surface of these bees and increases the amount of rewards to be carried (Rêgo and Albuquerque 1989).

The flowers of *M. guianensis* produce an odor that is strongly emitted during the night. Thus, the bees capacity to detect smells may have an important role in searching for flowers at twilight conditions (Knoll and Santos 2012). Most likely, bees use these floral scents to help them with the location of pollen sources, an important factor for foraging bees in low-light conditions (Dobson and Bergström 2000; Wcislo *et al.* 2004).

The flowers of *M. guianensis* secrete an aromatic oil used by the visiting bees. However, the oil from *Mouriri* could not be viewed as a floral reward because its ecological functions for the bees exploiting it remain not fully defined; so far as we know, it only serves to facilitate the adherence of pollen grains to the thorax of the *Epicharis* and *Trigona* bees (Buchmann and Buchmann 1981; Steiner 1985; Agostini *et al.* 2014). Although no floral oil harvesting-specialized bee species, such as Centridini, Tapinotaspidini and Tetrapediini, were found visiting *M. guianensis* flowers, evidence of the indirect use of the oil from *Mouriri* flowers by their visiting bees was observed; thus, this oil appears important to them.

Visiting bees, apart from *Augochloropsis* sp. and *Trigona* sp., were considered potential pollinators of *M. guianensis*, considering their harvesting behaviors and body sizes. While they vibrate, bees hold themselves to a group of stamens, bending their entire bodies over it, shortening the distance to the stigma and transferring pollen grains.

From our results, we conclude that *M. guianensis* was an important source of resources for the pollinating bees that collect pollen via the specific vibration mechanism known as buzz pollination. Additionally, evidence for the use of oil by *M. subnitida* characterizes *Mouriri* as important species for these bees in the study area. Additionally, this plant species, despite being associated with the daytime visits of bees, attracted and was pollinated by crepuscular bees, presenting a case of a crepuscular pollination system. Thus, we suggest that both daytime and nighttime visitors can act in a complementary manner in the pollination process. However, further studies are needed to confirm this hypothesis. Finally, the data of the present study will serve to strengthen knowledge about *Mouriri* as well as about the mechanisms related to plant interaction and crepuscular bees.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Mr. Emídio Santos Aguiar and Mrs. Irene Aguiar Santos for allowing us to use the sampling area and for their support and friendship throughout all the steps of this work. We are grateful to Drs. Gabriel A. R. Melo and Leandro M. Santos (UFPR) for their help in identifying the species and to Jorge M. Antunes for his help in drafting the English version of the original manuscript. Thanks are also offered to the Brazilian Institute of Biodiversity Conservation and Protected Areas (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio)/Authorization and Information Biodiversity System (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO), (Protocol number 47580-1), to the Research and Scientific Development Foundation of Maranhão - FAPEMA (Process APP-UNIVERSAL 1018/13, PROBATION 466/13 and POS-GRAD 03431/13) for their financial support, and to the High Level Personnel Improvement Coordination - CAPES for a scholarship grant.

REFERENCES

- Agostini, K.; Lopes, A.V.; Machado, I.C. 2014. Recursos florais. In: Rech, A.R.; Agostini, K.; Oliveira, P.E.; Machado, I.C. 2014. *Biologia da Polinização*. 1^a ed. Rio de Janeiro, Projeto cultural, p. 129-150.
- Aguilar-Rodriguez, P.A.; Kromer, T.; Garcia-Franco, J.G.; MacSwiney, M.C. 2015. From dusk till dawn: nocturnal and diurnal pollination in the epiphyte *Tillandsia heterophylla* (Bromeliaceae). *Plant Biology*, 18:37–45.
- Bencke, C.S.C.; Morellato, L.P. C. 2002. Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de plantas, sua interpretação e representação. *Revista Brasileira de Botânica*, 25: 269-275.
- Brasil. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, Ministério do Meio Ambiente. 2002. Plano de Manejo: Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses. Brasília, 499p.

- Brito, V.; Telles, F.; Lunau, K. 2014. Ecologia cognitiva da polinização. In: Rech, A.R.; Agostini, K.; Oliveira, P.E.; Machado, I.C. 2014. *Biologia da Polinização*. 1ª ed. Rio de Janeiro, Projeto cultural, p 418-438.
- Buchmann, S.L.; Buchmann, M.D. 1981. Anthecology of *Mouriri myrtilloides* (Melastomataceae: Memecyleae), an oil flower in Panama. *Biotropica*, 13: 7–24.
- Buchmann, S.L. 1983. Buzz pollination. In: Jones, C.E.; Little, R.J. (Ed.). *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold, New York, p. 73-113.
- Cortopassi-Laurino, M.; Nogueira-Neto, P. 2003. Notas sobre a bionomia de *Tetragonisca weyrauchi* Schwarz, 1943 (Apidae, Meliponini). *Acta Amazônica*, 33:643-650.
- Cruden, R.W. 2000. Pollen grains: Why so many? *Plant Systematics and Evolution*, 222:143-165.
- De Luca, P.A.; Vallejo-Marín, M. 2013. What's the "buzz" about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. *Current Opinion in Plant Biology*. 16: 429-435.
- Dobson, H.E.M.; Bergström, G. 2000. The ecology and evolution of pollen odors. *Plant Systematics and Evolution*, 222:63–87.
- Erdtman, G. 1960. The Acetolysis Method. A Revised Description. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54: 561-564.
- Fournier, L.A. 1974. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba*, 24: 422-423.
- Franco, E.L.; Gimenes, M. 2011. Pollination of *Cambessedesia wurdackii* in Brazilian campo rupestre vegetation, with special reference to crepuscular bees. *Journal of Insect Science*, 2: 1-13.
- Freitas, L.; Vizontin-Bugoni, J.; Wolowski, M.; Souza, J.M.T. de Varassin, I.G. 2014. Interações planta-polinizador e a estruturação das comunidades. In: Rech, A.R.; Agostini, K.; Oliveira, P.E.; Machado, I.C. 2014. *Biologia da Polinização*. 1ª ed. Rio de Janeiro, Projeto cultural, p. 373-397.

- Junker, R.R.; Blüthgen, N. 2010. Floral scents repel facultative flower visitors, but attract obligate ones. *Annals of Botany*, 105:777-782.
- Knoll. F.R.N.; Santos, L.M. 2012. Orchid bee baits attracting bees of the genus *Megalopta* (Hymenoptera, Halictidae) in Bauru region, São Paulo, Brazil: abundance, seasonality, and the importance of odors for dim-light bees. *Revista Brasileira de Entomologia*, 56: 481–488.
- Locatelli, E.; Machado, I. C. 2004. Fenologia das espécies arbóreas de uma Mata Serrana (Brejo de Altitude) em Pernambuco, Nordeste do Brasil. In: Porto, K. C.; Cabral, J.J.; Tabarelli, M. (Org.). Brejos de altitude: história natural, ecologia e conservação. MMA/PROBIO, Brasília, p. 255-276.
- Lunau K.; Papiorek S.; Eltz T.; Sazima M. 2011. Avoidance of achromatic colours by bees provides a private niche for hummingbirds. *Journal of Experimental Biology*, 214:1607–1612.
- Martins, A.C. 2013. Historical approaches in the study of plant-pollinator interactions. *Oecologia Australis*, 17: 39-52.
- Newstrom, L.E.; Frankie, G.W.; Baker, H.G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica*, 26:141-159.
- Odum, E.P. 1971. *Fundamentos da ecologia*. Fundação Calouste Gulbenkian, 3ª edição, Lisboa, 595p.
- Oliveira-Rebouças, P.; Gimenes, M. 2004. Abelhas (Apoidea) Visitantes de Flores de *Comolia ovalifolia* DC Triana (Melastomataceae) em uma Área de Restinga na Bahia. *Neotropical Entomology*, 33:315-320.
- Oliveira, F.S. 2010. *Biologia reprodutiva e sistema de polinização de “criuli” Mouriri acutiflora Naudin (Melastomataceae)*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, Maranhão, Brasil, 42p.

- Rêgo, M.M.C.; Albuquerque, P.M.C. 1989. Comportamento das abelhas visitantes de murici, *Byrsonima crassifolia*, (L.) Kunth, Malpighiaceae. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi*, 5:179-193.
- Renner, S.S. 1984. *Phaenologie, Blütenbiologie, und Rekombinationssystemes einiger zentralamogonischer Melastomataceen*. Tese de doutorado, Universidade de Hamburg.
- Siqueira, E.L.; Martinez, R.B.; Nogueira-Ferreira, F.H. 2007. Ninhos de abelhas sem ferrão (Hymenoptera, Meliponina) em uma região de Araguari-MG. *Bioscience Journal*, 23: 38-44.
- Smith, A.R.; Quintero, I.J.L.; Patino, J.E.M.; Roubik, D.W.; Wcislo, W.T. 2012. Pollen use by *Megalopta* sweat bees in relation to reward availability in a tropical forest. *Ecological Entomology*, 37: 309–317.
- Steiner, K.E. 1985. The role of nectar and oil in the pollination of *Drymonia serrulata* (Gesneriaceae) by *Epicharis*-bees (Anthophoridae) in Panama. *Biotropica*, 17:217–229.
- Thompson, J.N. 1989. Concepts of coevolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 4: 179-183.
- Warrant, E.J, Kelber A, Wallén R, Wcislo W.T. 2006. Ocellar optics in diurnal and nocturnal bees and wasps. *Arthropod Structure and Development*, 35: 293–305.
- Westerkamp, C. 1997. Flowers and bees are competitors – not partners: towards a new understanding of complexity in specialized bee flowers. *Acta Horticulturae*, 437:71-74.
- Wcislo, W.T.; Arneson, L.; Roesch, K.; Gonzalez, V.H.; Smith, A.; Fernandez, H. 2004. The evolution of nocturnal behaviour in sweat bees, *Megalopta genalis* and *M. ecuadoria* (Hymenoptera: Halictidae): an escape from competitors and enemies? *Biological Journal of the Linnean Society*, 83: 377-387.
- Wcislo, W.T.; Tierney, S.M. 2009. Behavioural environments and niche construction: the evolution of dim-light foraging in bees. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 84: 19–37.

- Vallejo-Marin, M.; Manson, J.S.; Thomson, J.D.; Barrett, S.C.H. 2009 Division of labour within flowers: heteranthery, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. *Journal of Evolutionary Biology*, 22:828–839.
- Viana, B.F.; Kleinert, A.M.P.; Silva, F. 2002. Ecologia de *Xylocopa (Neoxylocopa) cearensis* (Hymenoptera, Anthophoridae) nas dunas litorâneas de Abaeté, Salvador, Bahia. *Iheringia*, 92:47-57.
- Vogel, S. 1974. Olblumen und olsammelnde Bienen. Akad. Wissenschaften u. Literature Mainz. Wiesbaden: Franz Steiner, 547p.

Capítulo 2

1 **Biologia reprodutiva e visitantes florais de duas espécies de *Mouriri* (Melastomataceae) no**
2 **Nordeste do Brasil**

3

4

5 **FABIANA DOS SANTOS OLIVEIRA¹, CECILIA VERONICA NUNEZ², PATRICIA MAIA**
6 **CORREIA DE ALBUQUERQUE¹.**

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21 ¹ Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Biologia, Programa de Pós-Graduação em
22 Biodiversidade e Biotecnologia - Rede Bionorte (PPG-BIONORTE), Laboratório de Estudos sobre
23 Abelhas (LEA), Avenida dos Portugueses, 1966, CEP 65080-805, São Luís, Brasil.

24 ² Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTI),
25 Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia (LABB), Avenida André Araújo, 2936, Petrópolis,
26 CEP: 69067-375, Manaus, Brasil.

27 *Corresponding author: patemaia@gmail.com

28 **ABSTRACT** – (Reproductive biology and flower visitor two *Mouriri* species (Melastomataceae) in
29 the Northeast of Brazil). Melastomataceae has great morphological conservation and pollination
30 systems. The objective was to study the reproductive system of *Mouriri acutiflora* and *Mouriri*
31 *guianensis* and interactions with their floral visitors. Phenology and floral biology were observed
32 every two weeks (n = 10 individuals) from June/2013 to June/2014 (*M. acutiflora*) and
33 December/2013 to March/2015 (*M. guianensis*). Open pollinated treatments, manual pollination,
34 spontaneous self-pollination, cross-pollination and apomixis have been applied to check the
35 reproductive system. Floral visitors were collected in January and February/2015 (*M. guianensis*)
36 and August/2015 (*M. acutiflora*). *Mouriri acutiflora* flowering from April to September and fruiting
37 from June to November. *Mouriri guianensis* flowering from September to March and fruiting from
38 November to March. The species are self-compatible and offer pollen and oil. A total of 141 visitors
39 were observed in *M. acutiflora*. *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith (59.79%) *Centris*
40 (*Centris*) *caxiensis* Ducke (12.31%) and *Eulaema (Apeulaema) nigrata* Lepeletier (9.4%) had the
41 higher percentage of visits. In *M. guianensis* 86 individuals were recorded, mostly *Xylocopa*
42 (*Neoxylocopa*) *cearensis* Ducke (60%), *Melipona subnitida* Ducke (21.17%) and *Megalopta*
43 *amoena* Spinola (9.41%). Oil indirect use evidence was observed in *M. subnitida* In *M. acutiflora*, it
44 was observed that the midlegs of bees *C. caxiensis* and *M. fasciculata* had mixture of oil and pollen.
45 *Mouriri* provides a regular supply of resources or pollinators and the oil could have offered dual
46 function, as night protection of inputs of colonies of *Melipona* and how pollen grains adhesive.
47 Key-words – Bees, Melastomataceae, Oil, Pollination, Reproductive systems.

48

49

50

51

52

53 **RESUMO** – (Biologia reprodutiva e visitantes florais de duas espécies de *Mouriri*
54 (Melastomataceae) no Nordeste do Brasil). Melastomataceae é composta por 166 gêneros e 4500
55 espécies com grande conservação da morfologia floral e dos sistemas de polinização. O trabalho
56 objetivou estudar *Mouriri acutiflora* e *M. guianensis* e suas interações com seus visitantes florais.
57 Fenologia e biologia floral foram observadas quinzenalmente (n = 10 indivíduos) de junho/2013 a
58 junho/2014 (*M. acutiflora*) e dezembro/2013 a março/2015 (*M. guianensis*). Polinização aberta,
59 autopolinização manual, autopolinização espontânea, polinização cruzada e apomixia foram
60 aplicadas para a verificação do sistema reprodutivo. Visitantes florais foram coletados em janeiro e
61 fevereiro/2015 (*M. guianensis*) e agosto/2015 (*M. acutiflora*). *Mouriri acutiflora* floresce de abril a
62 setembro e frutifica de junho a novembro. *Mouriri guianensis* floresce de setembro a março e
63 frutifica de novembro a março. As espécies são autocompatíveis, não apomíticas e dependem dos
64 polinizadores. Um total de 141 visitantes foram observados em *M. acutiflora*. *Melipona*
65 (*Melikerria*) *fasciculata* Smith (59,79%) *Centris* (*Centris*) *caxiensis* Ducke (12,31%) e *Eulaema*
66 (*Apeulaema*) *nigrita* Lepeletier (9,4%) tiveram maior porcentagem de visitas. Em *M. guianensis* 86
67 indivíduos foram registrados, principalmente *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *cearensis* Ducke (60%),
68 *Melipona subnitida* Ducke (21,17%) e *Megalopta amoena* Spinola (9,41%). Embora tenha sido
69 observado visitas de Centridini (*C. caxiensis* e *C. tarsata*) em flores de *M. acutiflora*, não foi
70 observado comportamento específico para o manuseio das glândulas. Centridini não foram
71 coletados em *M. guianensis*. *Mouriri* confere uma oferta regular de recursos para os polinizadores e
72 o pólen foi o recurso mais procurado pelas apesar da disponibilidade de óleo floral.

73 Palavras-chave – Abelhas, Óleo floral, Polinização, Sistemas reprodutivos.

74

75

76

77

78 **Introdução**

79 Melastomataceae é composta por cerca de 166 gêneros e 4500 espécies (Clausing & Renner
80 2001) com centros de distribuição nos Trópicos e Subtrópicos (Renner 1993). No Brasil,
81 aproximadamente 1500 espécies são conhecidas, distribuindo-se desde o Cerrado, Amazônia até o
82 sul do país (Renner 1989, Romero & Martins 2002, Baumgratz et al. 2006, Goldenberg et al. 2012,
83 Santos et al. 2012).

84 A família apresenta grande conservação da morfologia floral e dos sistemas de polinização
85 (Santos et al. 2012), possuindo flores geralmente hermafroditas, pentâmeras, com hercogamia e
86 anteras poricidas (Renner 1989, Souza & Lorenzi 2005). O pólen, geralmente é a única recompensa
87 disponível na maioria das espécies da família e por esse motivo são classificadas como “*flores de*
88 *pólen*” (Cruden 2000). A polinização dessas espécies está associada a abelhas Apidae, Andrenidae,
89 Colletidae e Halictidae, capazes de vibrar as anteras poricidas (*Buzz pollination*) (Buchmann 1983).
90 A especificidade entre as abelhas que vibram e a coleta de pólen já é bem definida (Renner 1989,
91 Fracasso & Sazima 2004, Luo et al. 2008, Brito & Sazima 2012, Brito et al. 2016).

92 A oferta de néctar é conhecida em cerca de 80 espécies de Melastomataceae, contudo, essa
93 condição é considerada incomum ou rara na família (Varassin et al. 2008). A presença de nectários
94 já foi estudada em gêneros como *Tibouchina*, *Brachyotum*, *Blakea*, *Charianthus*, *Centronia*,
95 *Huilaea*, *Meriania* e *Miconia* estando relacionadas principalmente à polinização por abelhas, mas
96 também por beija-flores, aves, roedores e morcegos (Penneys & Judd 2005, Goldenberg et al.
97 2008), caracterizando um recurso complementar ao pólen e um sistema de polinização mais
98 generalista (Varassin et al. 2008, Santos et al. 2012, Brito et al. 2016).

99 Além do oferecimento de pólen e néctar (raramente), observa-se também a ocorrência de
100 espécies que oferecem óleo como uma possível recompensa (Buchmann & Buchmann 1981, Renner
101 1984). A disponibilidade de óleo em Melastomataceae é mais rara que a oferta do néctar, uma vez

102 que está associada apenas aos gêneros da subfamília Memecyloideae (Buchmann & Buchmann
103 1981).

104 Onze famílias (Calceolariaceae, Cucurbitaceae, Iridaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae,
105 Myrsinaceae, Orchidaceae, Plantaginaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae e Stilbaceae)
106 reconhecidamente possuem flores que oferecem óleo aos visitantes (Buchmann 1987, Vogel 1989,
107 Renner & Schaefer 2010). Melastomataceae (gênero *Mouriri*) (Buchmann & Buchmann 1981) e
108 Gesneriaceae (*Drymonia*) (Steiner 1985) são ainda uma dúvida, pois, embora secretem óleo floral
109 sua coleta e uso ainda não estão claros. Alguns autores acreditam que a secreção dos elaióforos
110 dessas espécies atue como *pollenkitt* facilitando a aderência dos grãos de pólen aos corpos das
111 abelhas (Machado 2004).

112 A literatura sobre a família Melastomataceae registra diversidade no sistema reprodutivo
113 (desde espécies autocompatíveis até auto-incompatíveis) (Renner 1989, Goldenberg & Shepherd
114 1998, Goldenberg & Varassin 2001). Contudo, o sistema predominante na família é o xenógamo
115 (Renner 1989) e observações recentes em 120 espécies corroboram esta informação (Goldenberg &
116 Varassin 2001, Santos et al. 2012). Apesar de espécies apomíticas terem sido demonstradas na
117 família (Goldenberg & Varassin 2001, Fracasso & Sazima 2004, Santos et al. 2012, Caetano et al.
118 2013a,b, Caetano & Cortez 2014).

119 Em Melastomataceae os estudos de biologia reprodutiva se concentram em representantes de
120 Miconieae, Microlicieae e Melastomeae (Goldenberg & Shepherd 1998, Santos et al. 2012, Brito &
121 Sazima 2012), notando-se que há escassez de informações sobre sistemas reprodutivos na família,
122 principalmente para Memecyloideae.

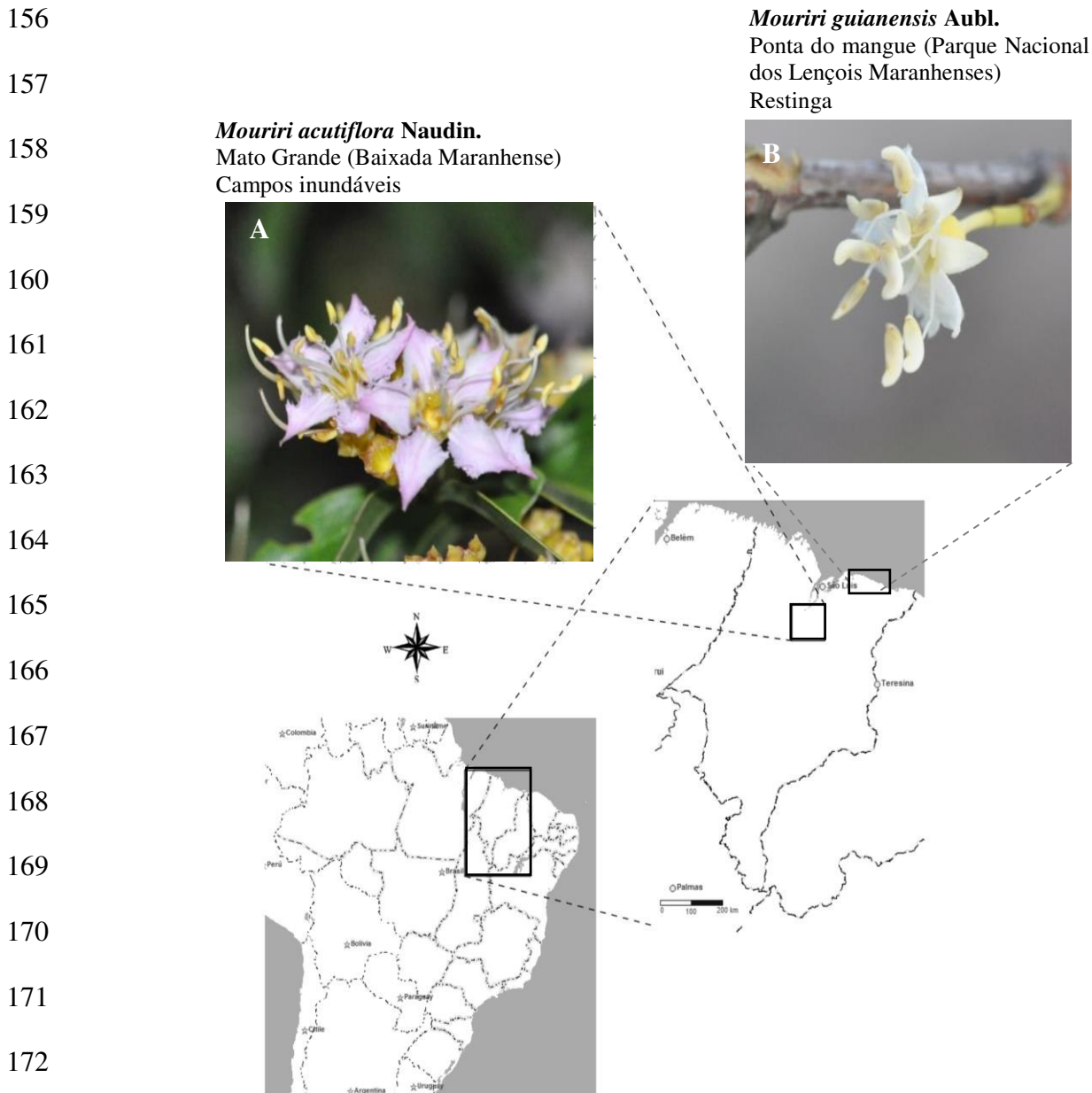
123 Neste contexto, o objetivo do trabalho foi estudar a biologia reprodutiva das espécies
124 *Mouriri acutiflora* Naudin. e *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae), verificando-se a
125 existência de sistemas autocompatíveis ou auto-incompatíveis, bem como identificar as interações
126 das espécies com seus visitantes florais.

127 **Material e Métodos**

128 **Área de estudo**- Observações e coleta de dados de *M. acutiflora* foram realizadas no povoado Mato
129 Grande, município de Anajatuba (lat -3,2644; long -44,6194), Baixada Ocidental Maranhense (Fig.
130 1). A Baixada Maranhense é composta por cerca de 32 municípios e possui área de 1.775.0,356 ha.
131 Foi denominada Área de proteção Ambiental pelo Decreto Estadual 11.900 de 11 de junho de 1991
132 e foi designada Sítio Ramsar em 2000. A região da Baixada ocorre a noroeste do Estado, sendo um
133 dos cinco setores que compõem a Zona Costeira e Estuarina do Maranhão (ZCEM) e está localizada
134 na Amazônia Legal Maranhense. Localiza-se na zona de transição entre os biomas Cerrado e
135 Amazônia com forte influência de ambientes costeiros e marinhos e formando o maior conjunto de
136 bacias lacustres do Nordeste (MMA, 2016). Possui manguezais, babaçuais, matas de galerias e
137 remanescentes de floresta amazônica. Ainda, apresenta dois tipos de paisagens características, os
138 Tesos (áreas altas e nunca inundadas) e os Campos inundáveis (terras baixas, planas e inundáveis)
139 (Seplan 1978). O clima da região é caracterizado por precipitação média anual de 1600 mm,
140 temperaturas médias em torno dos 24 °C e umidade relativa do ar superior a 70% (Thorntwaite
141 1948, Feitosa & Trovão 2006). O solo é do tipo hidromórfico e periodicamente inundado, formando
142 campos aluviais chamados de “Pantanal Maranhense” (Feitosa & Trovão 2006).

143 O estudo conduzido com *M. guianensis* foi desenvolvido em uma área de restinga, Povoado
144 Ponta do Mangue (lat -2,5812; long -42,7956), no Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses (Fig.
145 1). O Parque possui área de 155.000 ha, com 453,28 Km² de vegetação dos quais 405,16 Km² deste
146 recoberto por vegetação de dunas e restinga que sofrem efeitos contínuos de ventos marinhos.
147 Manguezais e matas ciliares também são bastante frequentes (Brasil 2002). O clima da região é
148 caracterizado por precipitação anual variando entre 1600 e 1800 mm. Segundo a classificação de
149 Koppen (1948) o clima enquadra-se em Tropical Megatérmico. As médias de temperatura situam-se
150 em torno de 26 – 27 °C e a umidade relativa média é de 79%, possuindo duas estações bem
151 definidas: chuvosa de janeiro a julho e seca de agosto a dezembro (Brasil 2002).

152 **Figura 1:** Mapa identificando as espécies estudadas e respectivas áreas de estudo no Estado do Maranhão. A) *Mouriri*
 153 *acutiflora* Naudin, estudada em áreas de campos inundáveis, município de Anajatuba, Baixada Maranhense. B) *Mouriri*
 154 *guianensis* Aubl. (Melastomataceae) estudada em área de restinga, Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses.
 155



173 **Fenologia-** As análises fenológicas foram realizadas em 10 indivíduos marcados aleatoriamente.
 174 Observações quinzenais foram realizadas entre junho de 2013 e junho de 2014 para *M. acutiflora*.
 175 Para *M. guianensis* as observações foram realizadas entre dezembro de 2013 e março de 2014 e de
 176 setembro de 2014 a março de 2015. As fenofases observadas foram: emissão botões, flores, frutos

177 imaturos e maduros. O material botânico coletado foi depositado no Herbário da Universidade
178 Federal do Maranhão-MAR (MAR 6619 para *M. guianensis* e MAR 6200 para *M. acutiflora*).

179 A intensidade dos eventos fenológicos foi quantificada segundo os critérios de Fournier
180 (Fournier 1974) onde distinguem-se quatro categorias. A categoria zero indica a ausência de
181 fenofase; 1- presença da fenofase com magnitude entre 1 a 25%; 2- magnitude de 26% a 50%; 3- de
182 51% a 75% e 4- de 76% a 100%. O percentual de Fournier foi obtido de acordo com: (%) de
183 Fournier = Σ fenofase x 100 / N x 4. Onde, Σ fenofase é a soma das intensidades fenológicas de
184 todos os indivíduos por mês, N é o número total de indivíduos (n=10) e o 4, representa o número de
185 categorias semi-quantitativas da análise. Os maiores valores para cada fenofase foram considerados
186 como os “picos de intensidade” (Bencke & Morellato 2002). A correlação de Spearman com
187 intervalo de confiança de 95% foi utilizada para relacionar os fatores climáticos (temperatura,
188 umidade relativa e precipitação) com as fenofases das espécies analisadas.

189 As médias mensais de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação foram obtidas a
190 partir dos dados do Laboratório de Meteorologia/Núcleo Geoambiental da Universidade Estadual
191 do Maranhão (LABMET/NUGEO).

192 **Morfologia**- A descrição morfológica de *M. acutiflora* e *M. guianensis* consistiu em observações
193 diretas das flores, fotografias (Câmera Nikon D90, Nikon Corporation, Tokio, Japão) e na medição
194 das partes florais (pétalas e diâmetro da corola) (n = 20 flores por espécie provenientes de 10
195 indivíduos diferentes) com o paquímetro digital (Modelo Carbon Fiber, WESTERN). As flores
196 foram classificadas de acordo com Machado & Lopes (2004) em: pequena (< 10 mm), média (entre
197 10 mm e 20 mm), grande (entre 20 mm e 30 mm) e muito grande (> 30 mm).

198 **Biologia floral**- Botões florais (n = 30) foram previamente marcados e ensacados com *voile* para se
199 verificar o início, sequência e duração da antese, bem como o número de flores abertas por dia.
200 Através de observações diretas foi verificado o tipo de recompensa oferecida (pólen, óleo, néctar).

201 Para a detecção da emissão de odor, flores foram coradas com vermelho neutro (n = 30)
202 (Dafni 1992) e testadas através da metodologia de dissecação dos verticilos, onde pétalas, anteras e
203 receptáculos foram acondicionados em frascos por 20 minutos. Após esse período os frascos foram
204 destampados, anotando-se a presença ou não de odor (Dafni et al. 2005). A viabilidade dos grãos de
205 pólen (n = 20 flores) foi feita por meio da coloração dos grãos com Carmim acético a 2% (Radford
206 et al. 1974). A receptividade estigmática foi verificada mergulhando-se 10 estigmas (provenientes
207 de indivíduos diferentes) em permanganato de potássio (Dafni 1992).

208 **Sistema reprodutivo**- Botões em pré-antese foram tratados com os seguintes experimentos: **1)**
209 controle (botões apenas marcados, n = 85/*M. acutiflora* e n = 54/*M. guianensis*), **2)** autopolinização
210 manual (estigma recebeu pólen da própria flor, n = 56/*M. acutiflora* e n = 67/*M. guianensis*), **3)**
211 autopolinização espontânea (botões apenas ensacados, n = 63/*M. acutiflora* e n = 45/*M. guianensis*),
212 **4)** polinização cruzada (estigmas receberam pólen de outra planta, n = 68/*M. acutiflora* e n = 56/*M.*
213 *guianensis*), **5)** apomixia (botões com estiletos cortados, n = 58/*M. acutiflora* e n = 68/*M.*
214 *guianensis*). Após os tratamentos, todas as flores foram ensacadas com *voile* e acompanhadas até a
215 formação de frutos.

216 O grau de auto-incompatibilidade (ISI) foi obtido segundo o índice de autocompatibilidade
217 (ISI *sensu* Bullock 1985), caracterizado pela razão entre frutos provenientes de autopolinização e
218 polinização cruzada. O limite superior para espécies auto-incompatíveis é da razão de 0,25. O
219 índice de eficiência reprodutiva (IER), razão entre frutos formados pelo controle e pela polinização
220 cruzada, foi calculado para estimar a eficácia das polinizações naturais (Zapata & Arroyo 1978,
221 Oliveira & Gibbs 2000).

222 **Visitantes florais**- Foram verificados os visitantes florais, o recurso coletado por eles, o local de
223 deposição do pólen e duração e horário das visitas (n = 5 indivíduos/espécie). O percentual de
224 visitas foi obtido baseando-se na quantidade de vezes que o visitante pousou na flor. A cada hora, o
225 comportamento do visitante foi acompanhado por 15 minutos (totalizando 6 horas de observação),

226 anotado, filmado e fotografado com câmera Nikon modelo D90 (Nikon D90, Nikon Corporation,
227 Tokyo, Japan).

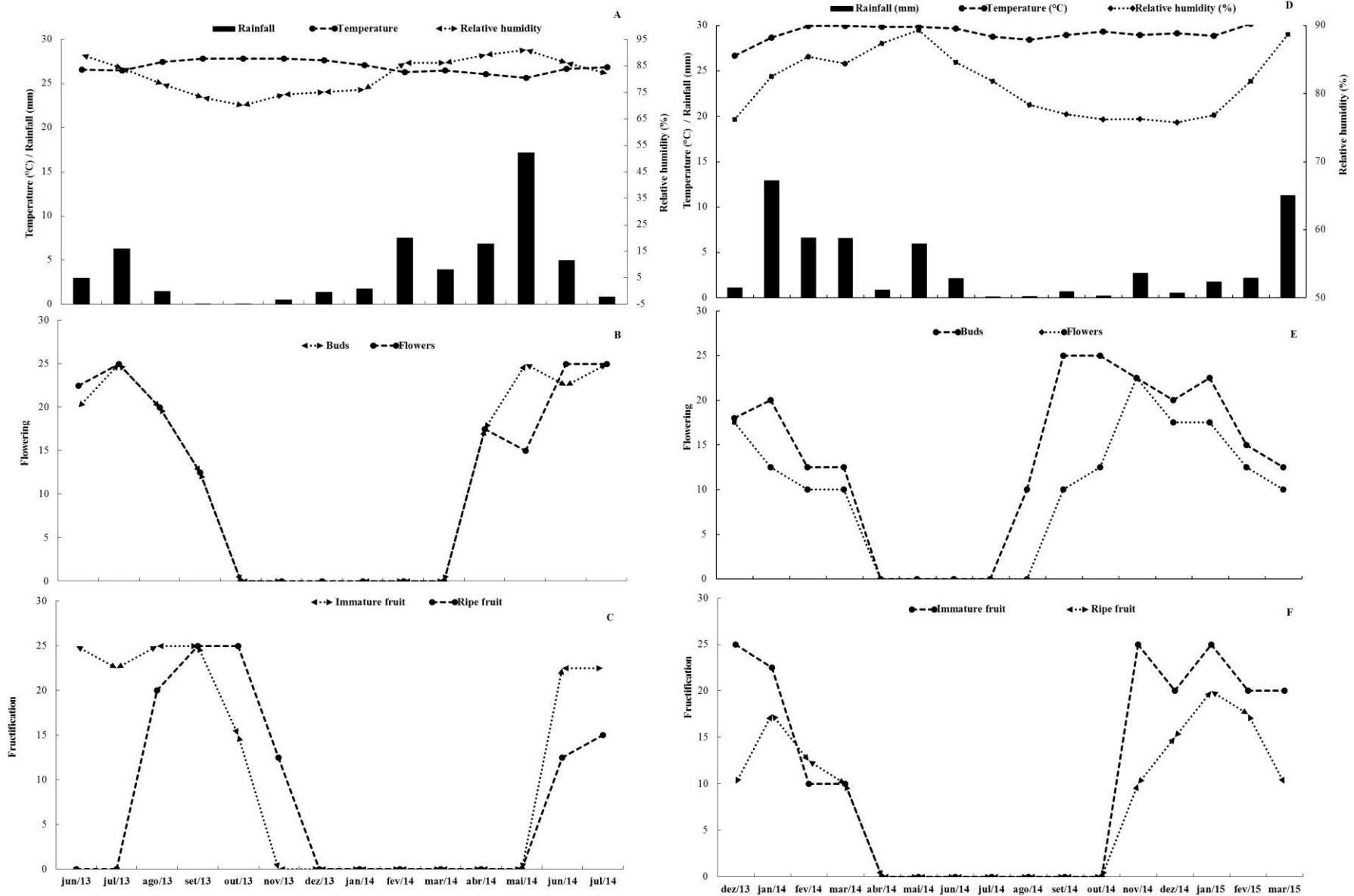
228 A coleta das abelhas visitantes de *M. acutiflora* ocorreu em agosto de 2015 das 18:00 h as
229 6:00 h no primeiro dia e de 3:00 h as 18:00 h nos cinco dias subsequentes (cerca de 90 horas de
230 observação). Visitantes florais de *M. guianensis* foram coletados em janeiro e fevereiro de 2015.
231 Para esta espécie, foram realizadas observações em flores de 6:00 h as 18:00 e de 18:00 h as 6:00 h
232 por cinco dias consecutivos e em três dias de lua cheia em janeiro/2015 para verificar a visitação
233 noturna. Posteriormente, as coletas foram realizadas de 04:00 h as 18:00 durante dez dias não
234 consecutivos em fevereiro de 2015 (cerca de 240 horas de observação). As abelhas coletadas e
235 identificadas foram depositadas na Coleção de Abelhas da Universidade Federal do Maranhão –
236 LEACOL/UFMA. A cada hora, temperatura e umidade relativa do ar diárias foram coletadas com o
237 auxílio de um termo higrômetro digital (Modelo 7666.02.0.00, INCOTERM, Porto Alegre, Brasil).

238

239 **Resultados**

240 **Fenologia-** *Mouriri acutiflora* floresceu de abril a setembro com picos de floração em junho e
241 julho. Os indivíduos de *M. acutiflora* frutificam de junho a novembro (Fig. 2 A, B, C). A floração
242 não apresentou correlação com os fatores abióticos (temperatura, umidade relativa e precipitação).
243 Em relação à frutificação, frutos maduros apresentaram correlação significativa com temperatura (r_s
244 = 0,7166, $p = 0,0039$) e umidade relativa ($r_s = -0,6503$, $p = 0,0118$) (Tabela 1). *Mouriri guianensis*
245 floresceu de setembro a março. Dezembro de 2013 e novembro/dezembro de 2014 marcaram os
246 picos de floração. A frutificação ocorreu de novembro a março. Frutos maduros apresentaram picos
247 de intensidade entre os meses de janeiro e fevereiro (Fig. 2 D, E, F). Floração ($r_s = -0,75$, $p = 0,0015$
248 para botões; $r_s = -0,71$, $p = 0,0018$ para flores) e frutos maduros ($r_s = -0,22$, $p = 0,041$) mostraram-se
249 correlacionados com a umidade relativa do ar (Tabela 1).

250 **Figura 2:** Fenologia de floração e frutificação de *Mouriri acutiflora* (A, B, C) e *Mouriri guianensis* (D, E, F) (Melastomataceae).



251 **Tabela 1:** Matriz de correlação do Coeficiente de Spearman para as variáveis ambientais (temperatura, umidade relativa
 252 e precipitação) com a floração e frutificação de *Mouriri acutiflora* e *M. guianensis* (Melastomataceae).

	<i>Mouriri acutiflora</i>			<i>Mouriri guianensis</i>		
	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)	Precipitação (mm)	Temperatura (°C)	Umidade relativa (%)	Precipitação (mm)
Botões	$r_s = -0,41$ $p = 0,1445$	$r_s = -0,48$ $p = 0,0788$	$r_s = 0,38$ $p = 0,1776$	$r_s = 0,20$ $p = 0,4495$	$r_s = -0,75$ $p = \mathbf{0,0015^*}$	$r_s = -0,17$ $p = 0,5226$
Flores	$r_s = -0,29$ $p = 0,3064$	$r_s = 0,41$ $p = 0,1438$	$r_s = -0,29$ $p = 0,3032$	$r_s = 0,16$ $p = 0,5406$	$r_s = -0,71$ $p = \mathbf{0,0018^*}$	$r_s = -0,0136$ $p = 0,9601$
Frutos verdes	$r_s = 0,29$ $p = 0,3007$	$r_s = -0,13$ $p = 0,6373$	$r_s = -0,11$ $p = 0,7045$	$r_s = -0,16$ $p = 0,5432$	$r_s = -0,36$ $p = 0,1585$	$r_s = 0,28$ $p = 0,2773$
Frutos maduros	$r_s = 0,71$ $p = \mathbf{0,0039^*}$	$r_s = -0,65$ $p = \mathbf{0,0118^*}$	$r_s = -0,47$ $p = 0,0875$	$r_s = 0,06$ $p = 0,8149$	$r_s = -0,22$ $p = \mathbf{0,0410}$	$r_s = 0,34$ $p = 0,1921$

253 *Correlação do Coeficiente de Spearman significativo ao nível de 0,05

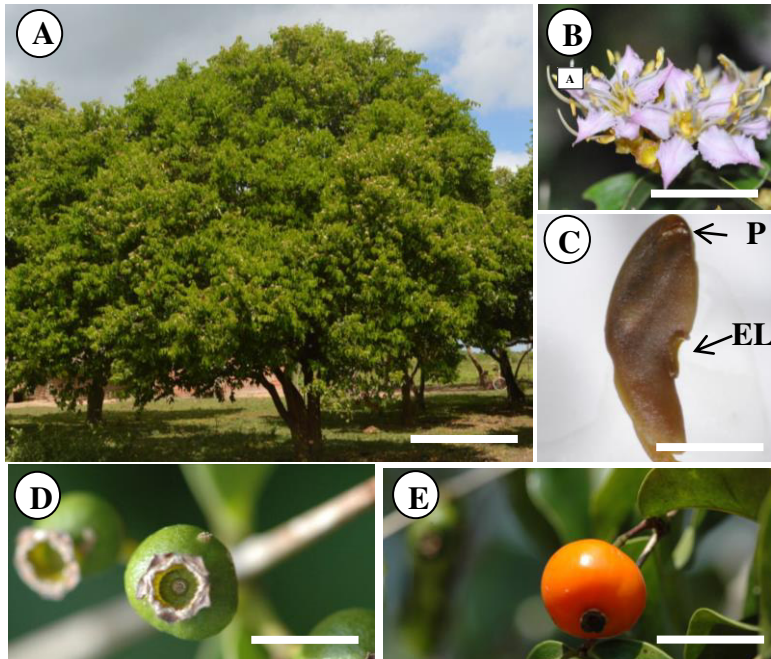
254

255 **Morfologia** - *Mouriri acutiflora* apresenta flores com aproximadamente 19,73 mm ($\pm 0,94$) com
 256 coloração branco-lilás, pentâmeras, pedunculadas, dialipétalas e com cálice gamossépalo (Fig. 3).
 257 Os estames estão distribuídos em dois verticilos: um com cinco estames antessépalos (mais longos),
 258 outro com cinco estames antepétalos (mais curtos) caracterizando a heteranteria. As anteras são
 259 ditecas, com deiscência poricida e apresentam elaióforo (Fig. 3). O número de flores/inflorescência
 260 é variável, porém, no geral, com grande quantidade de botões ($17,16 \pm 6,81$) e cerca de duas flores
 261 abertas/inflorescência/dia (n = 10).

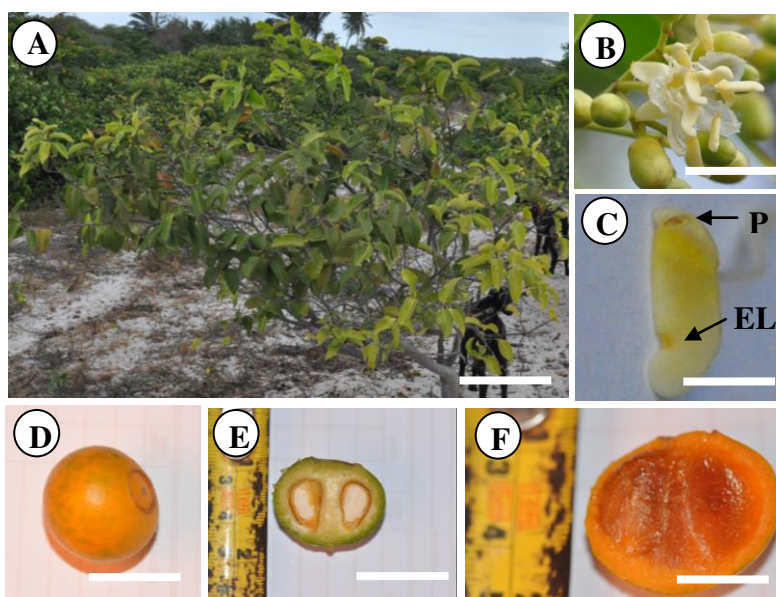
262 *Mouriri guianensis* apresenta flores brancas, pentâmeras com cerca de 18,11 mm ($\pm 0,87$),
 263 estames em um grupo de dez todos de igual tamanho, anteras poricidas, ditecas e com elaióforos

264 (Fig. 4). As flores apresentam, em média, sete botões/inflorescência ($7,6 \pm 4,5$) e de duas a três
 265 flores abertas por dia ($n = 10$).

266 **Figura 3:** *Mouriri acutiflora* Naudin. (Melastomataceae). A) Visão geral da planta. B) Detalhe de parte da
 267 inflorescência. C) Antera mostrando o poro apical (P) e elaióforo (EL). D) Fruto imaturo. E) Fruto maduro. Escalas: A=
 268 1000 mm, B= 19 mm, C= 1,5 mm, D= 10 mm, E= 10 mm.

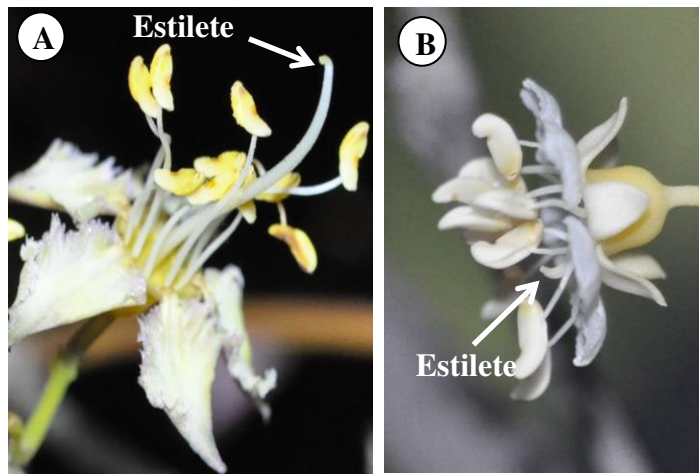


279 **Figura 4:** *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae). A) Visão geral da planta. B) Flor. C) Antera mostrando o poro
 280 apical (P) e elaióforo (EL). D) Fruto maduro. E) Corte do fruto verde. F) Corte do fruto maduro. Escalas: A= 100 mm,
 281 B= 18 mm, C= 1,5 mm, D= 30 mm, E= 10 mm, F= 5 mm.



290 Observou-se que nas duas espécies há a separação espacial dos estames e estigma
 291 (hercogamia). Em *M. acutiflora* o estigma localiza-se sempre acima e a frente dos estames, com os
 292 poros apicais voltados para fora e os dois grupos de estames possuem diferentes tamanhos
 293 (heteranteria) (Fig. 5A). Em *M. guianensis* o estigma está em uma posição sempre abaixo do nível
 294 das anteras e os poros dispostos em direção ao estigma (Fig. 5B).

295 **Figura 5:** Comparação entre as flores de A) *Mouriri acutiflora* (estilete acima do nível das anteras) e B) *Mouriri*
 296 *guianensis* (estilete abaixo do nível das anteras).



304 **Biologia floral-** Em *M. acutiflora* a abertura da flor inicia-se por volta das 20:00 h estando
 305 completamente aberta as 2:00 h. Nessa espécie a longevidade floral tem duração de
 306 aproximadamente 24 horas. Em *M. guianensis* a antese começa cerca das 18:00 h com a separação
 307 gradual das pétalas, finalizando a sua abertura por volta das 4:00 h. A longevidade floral foi de
 308 aproximadamente 24 horas.

309 As flores das duas espécies oferecem pólen e óleo como recompensas aos seus visitantes. As
 310 regiões dos poros das anteras tornam-se escurecidas após as visitas das abelhas. Os elaióforos
 311 apresentam aspecto entumescido e brilhante desde a abertura das flores até por volta das 9:00 h da
 312 manhã (*M. guianensis*) e 10:00 h (*M. acutiflora*). Após este período adquirem coloração escura.
 313 Não se observou a formação de gotas na superfície dos elaióforos.

314 O odor é fortemente exalado durante toda a antese e os testes com vermeho neutro e de
 315 dissecação das partes florais indicaram que o odor é provavelmente é emitido pelas anteras, cálice e
 316 corola. Devido a diferença de longevidade floral das duas espécies, o teste de receptividade
 317 estigmática demonstrou que 61% dos estigmas corados entre as 6:00 h e 11:00 h (*M. acutiflora*) e
 318 70% entre 6:00 h e 7:00 h (*M. guianensis*) estiveram receptivos. A viabilidade polínica verificada foi
 319 de 85% e 82% para *M. acutiflora* e *M. guianensis*, respectivamente. Em *M. acutiflora* verificou-se
 320 ainda que 84% dos polens das anteras do grupo de estames maiores foram viáveis em comparação
 321 com 98% das anteras dos estames menores.

322 **Sistema reprodutivo** - Os resultados sobre os sistemas reprodutivos estão resumidos na tabela 2.
 323 Observou-se que as espécies não formam frutos por apomixia e que o percentual de frutos formados
 324 a partir de polinizações cruzadas foi maior em relação às polinizações naturais (controle). O ISI
 325 calculado indica que as espécies são autocompatíveis (Tabela 2).

326 Em *M. acutiflora* os experimentos de autopolinização espontânea obtiveram maiores
 327 porcentagens que autopolinizações manuais, já em *M. guianensis* observou-se o contrário. Ainda,
 328 constatou-se que as flores em condições naturais formaram mais frutos que as autopolinizadas
 329 espontaneamente, principalmente em *M. guianensis*.

330 **Tabela 2:** Resultados dos experimentos sobre o sistema reprodutivo de *Mouriri acutiflora* e *Mouriri guianensis*. ISI =
 331 Índice de auto-incompatibilidade (% frutos oriundos de autopolinização / % de frutos formados por polinização
 332 cruzada); IER = Índice de eficiência reprodutiva (razão entre % frutos formados pelo controle e pela polinização
 333 cruzada).

Tratamentos	<i>Mouriri acutiflora</i>	<i>Mouriri guianensis</i>
	% (Flor/Fruto)	% (Flor/Fruto)
1 - Pol. natural (controle)	24,7 (85/21)	27,8 (54/15)
2 - Autopol. Manual	5,35 (56/3)	17,9 (67/12)
3 - Autopol. Espontânea	11,11 (63/7)	2,2 (45/1)
4 - Polinização cruzada	45,58 (68/31)	50 (56/28)
5 - Apomixia	0 (58/0)	0 (68/0)
ISI	0,36	0,41
IER	0,54	0,55

334 **Visitantes florais**- Os visitantes florais de *M. acutiflora* totalizaram 141 indivíduos (138 abelhas e 3
335 vespas) pertencentes as famílias Apidae e Chalcidoidea (Tabela 3).

336 **Tabela 3:** Visitantes florais e porcentagens de visitas em *Mouriri acutiflora* Naudin. e *Mouriri guianensis* Aubl.
337 (Melastomataceae), Maranhão, Brasil. Indiv.= Indivíduos, %= Porcentagem de visitas.

Família/Tribo/Espécie	<i>M. acutiflora</i>		<i>M. guianensis</i>	
	Indiv.	%	Indiv.	%
APOIDEA				
APIDAE				
Xylocopini				
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) grisescens</i> Lepletier 1841	-	-	6	7
<i>Xylocopa (Schonnherria) muscaria</i> (Fabricius, 1775)	12	8,69	-	-
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) frontalis</i> (Olivier, 1789)	8	5,79	-	-
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) cearensis</i> Ducke, 1910	5	3,62	51	60
<i>Xylocopa</i> sp.1	1	0,7	-	-
<i>Xylocopa</i> sp.2	2	1,44	-	-
<i>Xylocopa</i> sp.3	2	1,44	-	-
Centridini				
<i>Centris (Centris) caxienseis</i> Ducke, 1907	17	12,31	-	-
<i>Centris (Hemisiella) tarsata</i> Smith, 1874	1	0,7	-	-
Meliponini				
<i>Melipona (Melipona) subnitida</i> Ducke, 1910	-	-	18	21,17
<i>Melipona (Melikerria) fasciculata</i> Smith, 1874	77	55,79	-	-
<i>Trigona</i> sp.*	-	-	1	1,17
Euglossini				
<i>Eulaema (Apeulaema) nigrita</i> Lepeletier, 1841	13	9,4	-	-
HALICTIDAE				
Augochlorini				
<i>Megalopta amoena</i> (Spinola, 1853)	-	-	8	9,41
<i>Augochloropsis</i> sp.	-	-	2	2,3
CHALCIDOIDAE				
Chalcididae sp1	3	2,1	-	-
TOTAL	141		86	

338 *Espécie não coletada

339

340 As espécies *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith (Meliponini) (abelha sem ferrão
341 Tiúba), *Centris (Centris) caxienseis* Ducke (Centridini) e *Eulaema (Apeulaema) nigrita* Lepeletier
342 (Euglossini) apresentaram as maiores porcentagem de visitas com 59,79%, 12,31% e 9,4%,
343 respectivamente (Tabela 3). Os horários com maior concentração de visitantes mantiveram-se entre
344 6:00 h e 10:00 h da manhã, embora as abelhas tenham forrageado durante praticamente todo o dia
345 (Figura 6A).

346 Em visita a flores de *M. guianensis* foi registrado um total de 86 indivíduos das famílias
347 Apidae e Halictidae. As espécies com maior percentual de visitas foram *Xylocopa* (*Neoxylocopa*)
348 *cearensis* Ducke (60%) (Xylocopini), *Melipona subnitida* Ducke (21,17%) (Meliponini) (abelha
349 sem ferrão Jandaíra) e *Megalopta amoena* Spinola (Augochlorini) (9,41%) (Tabela 3). Os horários
350 entre 5:00 h e 6:00 h apresentaram o maior percentual de visitas (Figura 6B).

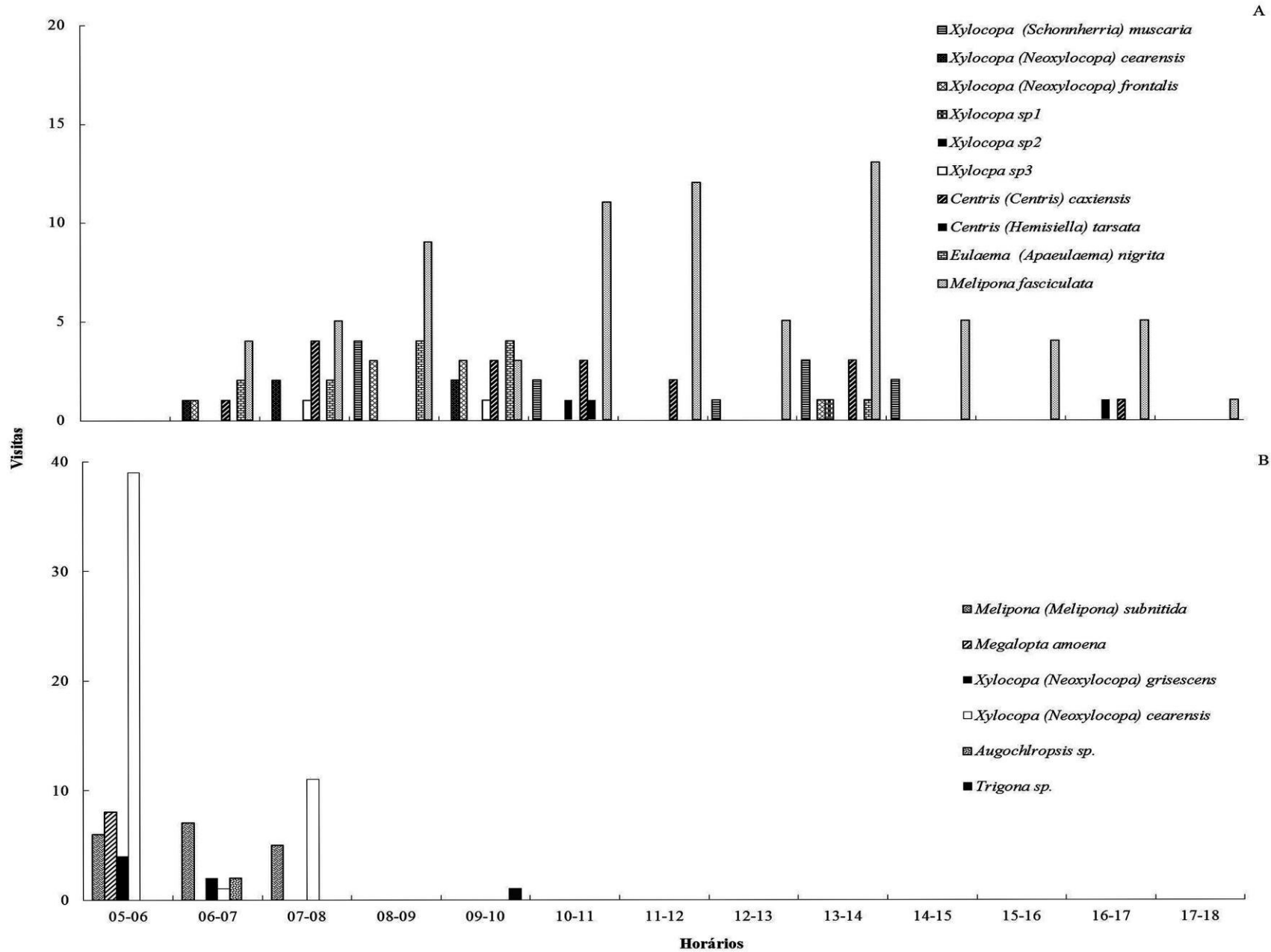
351 O pólen foi o recurso predominantemente coletado através do mecanismo de vibração (*Buzz*
352 *pollination*). As abelhas maiores como *Xylocopa* (Tabela 3) pousaram nas flores, curvando-se
353 totalmente e agarrando-se aos grupos de estames maiores (*M. acutiflora*) ou todos os estames (*M.*
354 *guianensis*) e realizando o movimento de vibração.

355 *Melipona* e *Megalopta* abraçam poucas anteras e curvam-se sobre elas realizando o
356 movimento de vibração. As abelhas *Augochloropsis* e *Trigona* sp. apresentaram comportamento de
357 pilhadores de pólen. As vespas foram observadas apenas sobrevoando as flores de *M. acutiflora*.

358 Em relação ao comportamento de coleta de óleo, embora tenha sido observado visitas de
359 Centridini (*C. caxiensis* e *C. tarsata*) e *Melipona* em flores de *M. acutiflora*, não foi observado
360 comportamento específico para o manuseio das glândulas e coleta de óleo floral nesta espécie. Em
361 *M. guianensis* não foram observadas visitas de Centridini, embora espécies da tribo sejam
362 constantes na área.

363

364 **Figura 6:** Atividade das abelhas visitantes de A) *Mouriri acutiflora* Naudin, B) *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae).



366 **Discussão**

367 A floração das espécies estudadas pode ser classificada como periódica anual longa,
368 variando de 4 a 6 meses (Newstrom et al. 1994), indicando que *Mouriri* confere uma oferta regular
369 de recursos para os polinizadores nas áreas estudadas. Ou seja, o número de flores e o período de
370 floração mais extenso, proporcionam maiores disponibilidade de recurso e possibilidades para que a
371 polinização aconteça (Buzato et al. 2000, Brito & Sazima 2012).

372 Richards (1952) sugere que em ambientes tropicais sazonais, onde há uma estação seca bem
373 definida, a maioria das espécies floresce neste período. Este padrão não foi evidenciado para *M.*
374 *acutiflora*, uma vez que a espécie apresentou floração intermediária entre os períodos seco e
375 chuvoso. Ainda, os fatores abióticos locais (temperatura, umidade relativa e precipitação) e a
376 floração não se mostraram correlacionados. Contudo, para *M. guianensis* esta ideia pode ser
377 sugerida, pois a mesma floresceu durante a estação seca e houve correlação significativa com as
378 médias de umidade relativa e emissão de botões e flores. Todavia, além dos fatores ambientais,
379 deve-se levar em consideração que os padrões fenológicos estão sujeitos a fatores endógenos ou
380 fisiológicos da própria planta e ainda a atuação dos polinizadores (Morellato & Leitão-Filho 1990,
381 Locatelli & Machado 2004).

382 As espécies de *Mouriri* estudadas no Maranhão apresentam notável semelhança quanto à
383 morfologia floral e parecem estar adaptadas aos mesmos tipos de polinizadores. Suas anteras
384 poricidas constituem um mecanismo especializado que restringe o espectro de visitantes (Renner
385 1989, Buchmann 1987, Schlindwein 2004) e requerem comportamento especializado associado a
386 abelhas capazes de vibrar as anteras e realizar a coleta dos grãos de pólen por “*Buzz pollination*”
387 (Buchmann 1983).

388 A morfologia floral em Melastomataceae pode ser entendida como o resultado da co-evolução
389 entre os primeiros ancestrais da família e as abelhas coletoras de pólen, sendo que a maioria das
390 espécies de Melastomataceae é conhecida como “*flores de pólen*” (Cruden 2000). Estas flores

391 necessitam alocar recursos para a sua reprodução e disponibilizar alimento aos polinizadores, funções
392 totalmente excludentes, gerando o que se chama de “*dilema do pólen*” (Westerkamp 1997). Um dos
393 ajustes funcionais, portanto, é a produção de grande quantidade de grãos (Cruden 2000), como parece
394 ocorrer nas duas espécies de *Mouriri* estudadas ou ainda a heteranteria (*sensu* Endress 1994) presente
395 em *M. acutiflora*.

396 O dimorfismo morfológico dos estames observado em Melastomataceae [*Lavoisiera*
397 *imbricata* (Thunb.) DC., *Microlicia fasciculata* Mart. ex Naudin., *M. inquinans* Naudin, *M.*
398 *viminalis* (DC.) Triana, *Trembleya neopyrenaica* Naudin, *T. parviflora* (don) Cogn.] (Faegri & Pijl
399 1979, Luo et al. 2008, Santos et al. 2012) e outras espécies, sugere uma otimização da transferência
400 do pólen. Vallejo-Marin et al. (2009) argumentam que na heteranteria pode ocorrer uma separação
401 funcional do pólen para o visitante e para a reprodução da planta. Essa ideia, contudo, não pode ser
402 aplicada para todas as espécies heterânteras. Luo et al. (2008) estudando *Melastoma malabathricum*
403 L. (Melastomataceae) observaram que polens dos estames maiores foram depositados em maior
404 número na superfície estigmática, o que já não ocorreu no gênero *Solanum* (Solanaceae) estudado
405 por Bowers (1975) ou em *Cambessedesia hilariana* (Kunth.) DC. (Melastomataceae) estudada por
406 Fracasso & Sazima (2004).

407 Segundo Fracasso & Sazima (2004) aparentemente essa morfologia não reflete diferenças
408 funcionais, uma vez que os resultados encontrados por eles no pólen de todas as anteras de *C.*
409 *hilariana* foram altamente viáveis (85,61% a 90,64%), resultado também verificado em *M.*
410 *acutiflora*. Contudo, não somente a viabilidade polínica pode ser um indicativo da diferenciação
411 funcional, uma vez que deve-se considerar outros parâmetros ou características, como padrões de
412 deposição da exina do pólen, conteúdo de amido e outros carboidratos no grão, conteúdo de
413 lipídios, de água, etc (Fracasso & Sazima 2004). No entanto, pode-se sugerir que possivelmente, o
414 tamanho distinto dos estames nessa espécie possa aumentar as possibilidades de polinização, uma

415 vez que resulta numa disposição das anteras que amplia a área de deposição do pólen na superfície
416 ventral do polinizador, aumentando as chances do estigma receber pólen.

417 A presença de flores pentâmeras e abertas, assim como observado nas espécies de *Mouriri*
418 estudadas, confere às estruturas reprodutivas uma disposição que favorece o acesso aos estames e
419 estigma pelos polinizadores (Buchmann & Buchmann 1981, Fracasso & Sazima 2004), facilitando a
420 polinização cruzada. No caso das flores de *M. acutiflora* a hercogamia de aproximação, com o
421 estigma posicionado mais à frente do que os estames, permite que o estigma receba os grãos de
422 pólen de outras flores antes que o polinizador seja contaminado com o pólen da própria flor. Em *M.*
423 *guianensis* as anteras posicionadas acima do estigma pode ser uma característica favorável à
424 autopolinização.

425 Odor provavelmente presente nas anteras, cálice e corola indicam que a emissão de voláteis
426 pode constituir um dos atrativos florais importantes nas espécies estudadas. Faegri & Pijl (1979)
427 afirmam que odores ou essências florais auxiliam no processo de polinização, pois servem como um
428 dos meios de sinalização para os visitantes que procuram a flor em busca de recursos.

429 De acordo com o ISI as espécies de *Mouriri* estudadas no Maranhão são autocompatíveis,
430 produzindo frutos a partir de quase todos os tratamentos. As espécies não formam frutos
431 apomíticos, ou seja, não são agamospérmicas e, embora formem frutos por autopolinização
432 espontânea, os resultados dos experimentos do sistema de reprodução indicam que as espécies ainda
433 necessitam de polinização biótica. Este resultado pode ser evidenciado pelas altas taxas de
434 xenogamia.

435 Espécies como *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. e *Leandra regnellii* (Triana) Cogn.
436 também apresentaram autocompatibilidade e frutos formados a partir de autopolinizações
437 espontâneas. Nos resultados de Brito & Sazima (2012), *T. pulchra* Cogn. é dependente do
438 polinizador apesar da sua autocompatibilidade. Os autores discutem que a polinização autônoma em
439 *T. pulchra* pode ser devido a movimentos vigorosos das flores gerados pelo vento, resultando na

440 liberação de grãos de pólen ou devido a gotas d'água de chuva que podem transportar os grãos até o
441 estigma das flores. Para *Mouriri* observou-se que as flores também estão sujeitas à ação dos ventos
442 fortes, uma vez que ambas as espécies localizam-se em áreas abertas, o que pode ter favorecido a
443 formação de frutos por autopolinização espontânea.

444 Em Melastomataceae são encontrados níveis variados de autocompatibilidade e auto-
445 incompatibilidade, além de espécies apomíticas (Goldenberg & Shepherd 1998, Goldenberg &
446 Varassin 2001, Brito & Sazima 2012, Santos et al. 2012, Silva et al. 2015) sendo a
447 autocompatibilidade relatada para várias espécies como *Leandra dasytricha* (A. Gray) Cogn., *L.*
448 *regnellii* (Triana) Cogn., *Tibouchina cerastifolia* Cogn., *T. sellowiana* (Cham) Cogn. e *T.*
449 *semidecandra* Cogn. (Goldenberg & Varassin 2001). Em áreas de campos rupestres cerca de 80%
450 das Melastomataceae apresentaram algum grau de autocompatibilidade (Santos et al. 2012). Em
451 *Mouriri* e outras espécies com anteras poricidas e hercogamia marcada e a autocompatibilidade não
452 significa necessariamente autogamia elevada nos sistemas reprodutivos, uma vez que autogamia é
453 possivelmente restrita por estas características (Renner 1989, Santos et al. 2012).

454 Pólen e óleo foram disponibilizados por *M. acutiflora* e *M. guianensis* para os seus visitantes,
455 sendo que o pólen foi o recurso predominantemente procurado pelas abelhas. Este é importante para
456 a alimentação e manutenção do ciclo de vida das mesmas (Rech & Absy 2011).

457 Abelhas coletoras de pólen e coletoras de óleos florais foram observadas em visita a flores
458 de *Mouriri*. *Xylocopa* apresentaram boa representatividade e sua elevada frequência em *Mouriri* é
459 devido à fonte de pólen em abundância para a alimentação de adultos e larvas. Em um estudo
460 anterior foi identificado ninhos de *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *frontalis* (Olivier) em troncos de *M.*
461 *acutiflora*, o que indica que esta espécie vegetal além de ser fonte de recurso alimentar também é
462 local de nidificação para estas abelhas (FS Oliveira, dados não publicados).

463 *Melipona* também são bem amostradas como visitantes de Melastomataceae (Agostini et al.
464 2014). Trabalhos realizados nas áreas estudadas demonstraram que Melastomataceae constitui

465 recurso polínico importante para *Melipona*. Pinto et al. (2014) identificaram na restinga do Parque
466 Nacional dos Lençóis Maranhenses que polens de *M. guianensis* foram importantes na dieta de *M.*
467 *subnitida*. Recentemente, Carvalho et al. (2016) identificaram na região da Baixada Maranhense *M.*
468 *acutiflora* como pólen dominante nas amostras de *M. fasciculata*. A preferência de *Melipona* por
469 espécies de Melastomataceae é devido a presença das anteras poricidas e de sua capacidade de
470 vibrá-las o que restringe o número de visitantes, fato importante para o forrageamento dessas
471 abelhas que são eussociais (Buchmann 1983, Nunes -Silva et al. 2013).

472 Os Centridini formam um grupo especializado de abelhas coletoras de lipídios florais,
473 especialmente de flores de Malpighiaceae (Buchmann 1987), sendo ainda polinizadores eficazes de
474 espécies desta família (Albuquerque & Rêgo 1989, Machado 2004, Rêgo & Albuquerque 2004,
475 Rêgo & Albuquerque 2006, Rêgo et al. 2006, Ribeiro et al. 2008). Centridini também são
476 polinizadoras efetivas de muitas Melastomataceae (Fracasso & Sazima 2004).

477 Embora, abelhas coletoras de óleo *Centris* e espécies já identificadas explorando elaióforos
478 como *Melipona* tenham sido coletadas nas flores de *Mouriri* um comportamento específico de
479 manuseio das glândulas e coleta efetiva de lipídeos não foi observado e nas espécies aqui estudadas
480 e a vibração (*Buzz pollination*) foi realizada em todas as visitas. *Melipona* não apresenta nenhuma
481 modificação morfológica específica para coleta de lipídeos florais, mas foi sugerido algum
482 comportamento de manuseio dos elaióforos por *Melipona fulva* Lepeletier e *M. marginata*
483 Lepeletier em flores de *M. myrtilloides* e *M. nervosa* (Renner 1984). Em *M. guianensis* o uso de
484 partes das anteras onde contém os elaióforos foi verificado, indicando a utilização das
485 glândulas/óleo como material para a vedação e/ou proteção da entrada da colônia de *M. subnitida*
486 (Oliveira et al. 2016).

487 Capellari et al. (2011) estudando *Pterandra pyroidea* A. Juss sugeriu que nesta espécie
488 estaria ocorrendo um processo de mudança de sistema de polinização. Esta hipótese é apoiada por
489 algumas evidências como a maior frequência de abelhas grandes coletoras de pólen como visitantes

490 mais comuns e polinizadores efetivos; pela predominância da coleta de pólen apesar da oferta de
491 óleo. Ainda, a ausência de comportamento de coleta de óleo por Centridini e abelhas *Monoeca*
492 (*Tapinotaspidini*), a maior frequência de visitas a flores aglandulares e a predominância deste
493 morfo, sugerem um aumento da frequência deste fenótipo na área.

494 Embora não se possa afirmar que se trata de um processo de perda da função dos elaióforos,
495 em *Mouriri* a predominância de abelhas coletoras de pólen e ausência ou não detecção de
496 comportamento específico para a coleta de óleo por espécies conhecidamente coletoras de lipídeos
497 também foram observados. Morfos aglandulares não foram observados e uma análise morfológica
498 mais ampla e precisa das flores seria necessária para afirmar se há a presença desse fenótipo ou de
499 elaióforos reduzidos na população presente nas áreas estudadas. E aspectos energéticos do óleo
500 necessitam de análises químicas para serem respondidos.

501 As abelhas visitantes de *Mouriri* recebem os grãos de pólen indistintamente na região
502 ventral, podendo tocar os estigmas de outras flores e a maioria das visitas ocorreu no período da
503 manhã. Melastomataceae parecem ser visitadas e polinizadas mais frequentemente no início da
504 manhã (Renner 1984). A maior frequência de visitas de abelhas para *T. pulchra* estudadas por Brito
505 & Sazima (2012) coincide com horários de baixa umidade relativa e temperaturas amenas. Este
506 padrão parece ser comum para visitação de outras espécies de Melastomataceae como *T.*
507 *cerastifolia* Cogn., *T. clinopodifolia* Cogn., *T. gracilis* (Bonpl.) Cogn. (Franco et al. 2011) e
508 também observado para *M. acutiflora* e *M. guianensis*.

509 Dessa maneira, podemos concluir que as duas espécies de *Mouriri* estudadas no Maranhão
510 são autocompatíveis, não apomíticas embora ainda necessitem da atividade dos polinizadores para a
511 sua reprodu o. Ambas as espécies são fontes regulares de recurso para os visitantes que atuam
512 como polinizadores através do processo de vibra o (*Buzz pollination*). Abelhas capazes de vibrar e
513 tocar o estigma regularmente na coleta de gr os de pólen são presumivelmente polinizadores das
514 flores de *Mouriri* e as abelhas visitantes foram também polinizadores efetivos, a exce o de

515 *Augochloropsis*, *Trigona* e as vespas (Chalcidoidea). O pólen foi o recurso predominantemente
516 procurado pelas abelhas apesar da disponibilidade de óleo floral nas duas espécies vegetais e o
517 comportamento de coleta efetiva de óleo floral durante as visitas das abelhas não foi identificado.
518 Respostas conclusivas sobre o sistema de polinização envolvendo flores que oferecem óleo e suas
519 abelhas associadas ainda estão longe de ser obtidas e mais observações biológicas, estudos químicos
520 e filogenéticos são necessários para esclarecer as relações envolvidas nessa interação.

521

522 **Agradecimentos**

523 Agradecemos ao sr. Benedito, sr. Emídio Santos Aguiar sra. Irene Aguiar Santos pela
524 concessão das áreas para a realização do estudo. Ao Dr. Gabriel A. R. Melo, Leandro M. Santos
525 (UFPR) pela identificação das abelhas. Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da
526 Biodiversidade – ICMBio e Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO
527 pela autorização para a realização das atividade de campo no Parque Nacional dos Lençóis
528 Maranhenses (Protocolo número 47580-1). A FAPEMA (Processo APP-UNIVERSAL 1018/13,
529 466/13) pelo suporte financeiro. A CAPES pela concessão da bolsa de pós-graduação.

530

531 **Referências**

532 Agostini K, Lopes AV, Machado IC. 2014. Recursos florais. *In: Biologia da Polinização* (AR Rech,
533 K Agostini, PE Oliveira, IC Machado, eds). Projeto cultural, Rio de Janeiro, p. 129-150.
534 Albuquerque PMC, Rêgo MMC. 1989. Fenologia das abelhas visitantes de murici (*Byrsonima*
535 *crassifolia*, Malpighiaceae). Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi, série Zoologia 5:163-
536 178.
537 Baumgratz JFA. 2006. Melastomataceae. *In: Checklist das plantas do nordeste brasileiro:*
538 angiospermas e gimnospermas (MRV Barbosa, C Sothers, S May, CFL Gamarra-Rojas, AC

- 539 Mesquita, orgs.). Universidade Federal da Paraíba, Ministério de Ciência e Tecnologia,
540 Brasília, p. 105-108.
- 541 Bencke CSC, Morellato LPC. 2002. Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de
542 plantas, sua interpretação e representação. *Revista Brasileira de Botânica* 25: 269-275.
- 543 Brasil. 2002. Plano de Manejo: Parque Nacional dos Lençóis Maranhenses. *In*: Instituto Brasileiro
544 do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, Ministério do Meio Ambiente.
545 Brasília 499p.
- 546 Brito VLG, Sazima M. 2012. *Tibouchina pulchra* (Melastomataceae): Reproductive biology of a
547 tree species at two sites of an elevational gradient in the Atlantic Rainforest in Brazil. *Plant*
548 *Systematics and Evolution* 298:1271-1279.
- 549 Buchmann SL, Buchmann MD. 1981. Anthecology of *Mouriri myrtilloides* (Melastomataceae:
550 Memecyleae), an oil flower in Panama. *Biotropica* 13:7–24.
- 551 Buchmann SL. 1983. Buzz pollination. *In*: Handbook of Experimental Pollination Biology (CE
552 Jones, RJ Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York, p-73-113.
- 553 Buchmann SL. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and*
554 *Systematics* 18:343-369.
- 555 Bullock SH. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest. *Biotropica* 17: 287-
556 301.
- 557 Buzato S, Sazima M, Sazima I. 2000. Hummingbird-pollinated floras at three Atlantic forest sites.
558 *Biotropica* 32: 824–841.
- 559 Caetano APS, Teixeira SP, Forni-Martins ER, Carmello-Guerreiro SM. 2013a. Pollen Insights into
560 Apomictic and Sexual *Miconia* (Miconieae, Melastomataceae). *International Journal of Plant*
561 *Sciences* 174: 760-768.

- 562 Caetano APS, Simão DG, Carmo-Oliveira R, Oliveira PE. 2013b. Diplospory and obligate apomixis
563 in *Miconia albicans* (Miconieae, Melastomataceae) and an embryological comparison with its
564 sexual congener *M. chamissois*. *Plant Systematics and Evolution* 299: 1253-1262.
- 565 Carvalho GCA, Ribeiro MHM, Araújo, ACAM, Barbosa MM, Oliveira FS, Albuquerque PMC.
566 2016. Importância polínica utilizada por *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith, 1854
567 (Hymenoptera: Apidae: Meliponini) em uma área de Floresta Amazônica na região da
568 Baixada Maranhense, Brasil *Oecologia Australis* 20:58-68
- 569 Clausen G, Renner SS. 2001. Molecular Phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae:
570 Implications for Character Evolution. *American Journal of Botany*. 88:486-498.
- 571 Capellari SC, Haleem MA, Marsaioli AJ, Tidon R, Simpson BB. 2011. *Pterandra pyroidea*: a case
572 of pollination shift within Neotropical Malpighiaceae. *Annals of Botany* 107:1323–1334.
- 573 Cruden RW. 2000. Pollen grains: Why so many? *Plant Systematics and Evolution* 222:143-165.
- 574 Dafni A. 1992. *Pollination ecology. A practical approach*. Oxford, IRL Press at Oxford University
575 Press, 250p.
- 576 Dafni A, Kevan PG, Husband BC. 2005. *Practical Pollination Biology*. Enviroquest Ltd., Canadá.
577 590p.
- 578 Endress PK. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge, UK:
579 Cambridge University Press.
- 580 Faegri K, Van der Pijl L. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford, Pergamon Press. 244
581 pp.
- 582 Feitosa AC, Trovão JR. 2006. *Atlas Escolar do Maranhão: Espaço Geo-histórico e Cultural*. João
583 pessoa: Ed. Grafset. 202 p.
- 584 Fournier LA. 1974. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en
585 árboles. *Turrialba* 24: 422-423.

- 586 Fracasso CM, Sazima M. 2004. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC.
587 (Melastomataceae): sucesso reprodutivo *versus* diversidade, comportamento e frequência de
588 visitas de abelhas. *Revista Brasileira de Botânica*. 27:794-804.
- 589 Goldenberg R, Shepherd GJ. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae n
590 “cerrado” vegetation. *Plant Systematic Evolution* 211: 13-29.
- 591 Goldenberg R, Varassin IG. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra
592 do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 283-288.
- 593 Goldenberg R, Guimarães PJF, Kriebel R, ROMERO R. 2008. Melastomataceae. *In: Plantas da*
594 *floresta atlântica* (JR Stehmann, RC Forzza, A Salino, M Sobral, DP Costa, LHY
595 Kamino, eds.). Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p. 330-343.
- 596 Goldenberg R, Baumgratz FA, Souza ML, Del’rei. 2012. Taxonomia de Melastomataceae no
597 Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. *Rodriguésia*
598 63:145-161.
- 599 Köppen W. 1948. *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. México: Fondo de Cultura
600 Econômica.
- 601 Locatelli E, Machado IC. 2004. Fenologia das espécies arbóreas de uma Mata Serrana (Brejo de
602 Altitude) em Pernambuco, Nordeste do Brasil. *In: Brejos de altitude: história natural, ecologia*
603 *e conservação* (KC Porto, JJ Cabral, M Tabarelli, Org.). MMA/PROBIO, Brasília, p. 255-276.
- 604 Luo Z, Zhang D, Renner SS. 2008. Why two kinds of stamens in buzzpollinated flowers?
605 Experimental support for Darwin’s division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology*
606 22:794-800.
- 607 Machado IC. 2004. Oil-collecting bees and related plants: a review of the studies in the last twenty
608 years and case histories of plants occurring in Ne Brazil. *In: Solitary bees, conservation,*
609 *rearing and management for pollination* (BM Freitas, JOP Pereira, eds.), Editora Impresa
610 Universitária, UFCE, Fortaleza. p285.

- 611 Machado IC, LOPES AV. 2004. Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a brazilian
612 tropical dry forest. *Annals of Botany* 94:365-376.
- 613 Newstrom LE, Frankie GW, Baker HG. 1994. A new classification for plant phenology based on
614 flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica*
615 26:141-159.
- 616 Nunes-Silva P, Hrnecir M, Silva C.I, Roldão YS, Imperatriz-Fonseca VL. 2013. Stingless bees,
617 *Melipona fasciculata*, as efficient pollinators of eggplant (*Solanum melongena*) in
618 greenhouses. *Apidologie* 44:537-546
- 619 Oliveira PE, Gibbs PE. 2000. Reproductive biology of Woody plants in a Cerrado community.
620 *Flora* 195:311-329.
- 621 Pinto RS, Albuquerque PMC, Rêgo MMC. 2014. Pollen Analysis of food pots stored by
622 *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a Restinga area *Sociobiology*,
623 61:461-469.
- 624 Radford AE, Dickinson WC, Massey JR, BELL CR. 1974. Vascular plant systematic. Harper &
625 Row Publishers, New York.
- 626 Rech AR, Absy ML. 2011. Pollen sources used by species of Meliponini (Hymenoptera: Apidae)
627 along the Rio Negro channel in Amazonas, Brazil *Grana*, 50:150-161
- 628 Rêgo MMC, Albuquerque PMC. 1989. Comportamento das abelhas visitantes de murici, *Byrsonima*
629 *crassifolia*, (L.) Kunth, Malpighiaceae. *Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi* 5:179-193.
- 630 Rêgo MMC, Albuquerque PMC. 2006. Polinização do murici. São Luís: MMA/ EDUFMA.
- 631 Rêgo MMC, Albuquerque PMC, Ramos MC.; Carreira LM. 2006. Aspectos da Biologia de
632 Nidificação de *Centris flavifrons* (Friese) (Hymenoptera: Apidae, Centridini), um dos
633 Principais Polinizadores do Murici (*Byrsonima crassifolia* L. Kunth, Malpighiaceae), no
634 Maranhão. *Neotropical Entomology* 35:579-587.

- 635 Renner SS. 1984. Phaenologie, Bluetenbiologie, und Rekombinationsystemes einiger
636 zentralamogonisher Melastomataceen. Tese de doutorado, Universidade de Hamburg.
- 637 Renner SS. 1989. A survey of reproductive biology in neotropical Melastomataceae and
638 Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76: 496-518.
- 639 Renner SS. 1993. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae Nordic
640 *Journal of Botany* 13:519-40.
- 641 Renner SS, Schaefer H. 2010. The evolution end loss oil-offering flowers insights from dated
642 phylogenies for angiosperms and bees. *Phil. Trans. Roy. Soc., London B* 365, 423-435, 2010
- 643 Ribeiro EKMD, Rêgo MMC, Machado ICS. 2008. Cargas polínicas de abelhas polinizadoras de
644 *Byrsonima chrysophylla* Kunth. (Malpighiaceae): fidelidade e fontes alternativas de recursos
645 florais. *Acta Botânica Brasiliis* 22:165-171.
- 646 Romero R, Martins AB. 2002. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas
647 Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 25:19-24.
- 648 Santos APM, Fracasso CM, Santos ML, Romero R, Sazima M, Oliveira PE. 2012. Reproductive
649 biology and species geographical distribution in the Melastomataceae: a survey based on New
650 World taxa. *Annals of Botany* 110: 667-679.
- 651 Schlindwein C. 2004. Are oligoletics bees always the most effective pollinators. *In: Solitary bees:*
652 *conservation, rearing and management for pollination* (BM Freitas, ed.). Imprensa
653 universitária, Fortaleza, 231-140.
- 654 Steiner KE. 1985. The role of nectar and oil in the pollination of *Drymonia serrulata*
655 (Gesneriaceae) by *Epicharis*-bees (Anthophoridae) in Panama. *Biotropica* 17:217-229.
- 656 Seplan. 1978. Baixada Ocidental Maranhense. Relatório Técnico Secretaria de Planejamento do
657 Estado do Maranhão-SEPLAN, 112p.
- 658 Souza VC, Lorenzi H. 2005. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de
659 angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, Plantarum.

- 660 Thornthwaite CW. 1948. An approach toward a rational classification of climate. Geographical
661 Review, New York 38, 55-94.
- 662 Vallejo-Marin M, Manson JS, Thomson JD, Barrett SCH. 2009. Division of labour within flowers:
663 heteranthery, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. Journal of Evolutionary
664 Biology 22:828–839.
- 665 Varassin IG, Penneys DS, Michelangeli FA. 2008. Comparative Anatomy and Morphology of
666 Nectar-producing Melastomataceae. *Annals of Botany* 102:899-909.
- 667 Vogel S. 1989. die Ölblumensymbiosen parallelismus und andere Aspekt ihrer Entwicklung in
668 Raum und Zeit. *Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung* 26:341-362.
- 669 Westerkamp C. 1997. Flowers and bees are competitors – not partners: towards a new
670 understanding of complexity in specialized bee flowers. *Acta Horticulturae* 437:71-74.
- 671 Zapata TR, Arroyo MTK. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest
672 in Venezuela. *Biotropica* 10:221-230.

Capítulo 3

1 **Componentes majoritários do óleo floral de duas espécies de *Mouriri* (Melastomataceae) e sua**
2 **importância na atração de abelhas visitantes**

3
4
5
6
7 **Fabiana S. Oliveira¹, Paula S.P. Silva², Sergio M. Nunomura³, Patricia M.C. Albuquerque¹,**
8 **Cecilia V. Nunez⁴**

9
10
11
12
13 ¹ Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e
14 Biotecnologia - Rede Bionorte (PPG-BIONORTE), Laboratório de Estudos sobre Abelhas (LEA), Avenida dos
15 Portugueses, 1966, CEP 65080-805, São Luís, Maranhão, Brasil.

16 ² Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química,
17 Avenida General Rodrigo Otávio, 6200, Coroado, CEP: 69077-000, Manaus, Amazonas, Brasil.

18 ³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTI), Divisão de Química de
19 Produtos Naturais, Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia (LAPAAM), Avenida André Araújo, 2936
20 Petrópolis, CEP: 69067-375, Manaus, Amazonas, Brasil.

21 ⁴ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTI), Laboratório de
22 Bioprospecção e Biotecnologia (LABB), Avenida André Araújo, 2936, Petrópolis, CEP: 69067-375, Manaus,
23 Amazonas, Brasil.

24 *Corresponding author: patemaia@gmail.com

37 **Abstract** Pollen and nectar are the most common flower resources, while the supply of oils are rare
38 and only available in eleven families of plants. The study goal was to identify the major
39 components of *Mouriri acutiflora* Naudin and *M. guianensis* Aubl. oils and verify if your bees
40 visitors collect flower lipids. Buttons, flowers and bees were collected in Maranhão. Glands (n =
41 1800) and legs of bees [(*Centris (Centris) caxiensis* Ducke (n = 6), *Melipona (Mellikeria)*
42 *fasciculata* Smith (n = 10) and *M. subnitida* Ducke (n = 10)] were subjected to extraction with
43 hexane, methylated and analyzed by GC/MS. Major constituents the *M. acutiflora* were: palmitic
44 acid (5.92%), stearic (3.18%), 8-heptadecenoic (3.05%), lignoceric (2.28%) and *cis*-palmitoleic
45 (2.26%) acids. *Mouriri guianensis* presented oleic acid (5.7%), palmitic (4.15%), triacontane
46 (2.46%) and stearic (2.42%) as major. *C. caxiensis* the 9.12-octadecadienoic was predominant
47 (25.99%) and *M. subnitida* stearic acid (10.55%), hexacosanol (9.22%), oleic (7.56%) and palmitic
48 (5.07%) acids were the main compounds. The palmitic and stearic acid were the common *Mouriri*
49 oil components and their visitors. Despite the common components between them, the absence of
50 handling behavior/low or collection components percentage and oil quantity presented by *Mouriri* it
51 is believed no was effective collection of *Mouriri* oil is performed by bees. The oil does not seem to
52 be director reason for bee visits.

53

54

55 **Keywords** Bees, chemical ecology, pollination.

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67

68

69

70 **Resumo** Pólen e néctar são os recursos florais mais comuns e a oferta de óleos é rara e somente
71 disponível em onze famílias de plantas. O objetivo do estudo foi identificar os principais
72 constituintes dos óleos florais de *Mouriri acutiflora* Naudin e *M. guianensis* Aubl. e verificar se as
73 suas abelhas visitantes coletam o lipídeos florais. Botões, flores e abelhas foram coletados no
74 Maranhão. Glândulas (n = 1800) e pernas das abelhas [(*Centris (Centris) caxiensis* Ducke (n = 6),
75 *Melipona (Melikerria) fasciculata* Smith (n = 10) e *M. (Melipona) subnitida* Ducke (n = 10)] foram
76 submetidos a extração com hexano, metilados e analisados por CG/EM. Os constituintes
77 majoritários do óleo floral de *M. acutiflora* foram: ácido palmítico (5,92%), ácido esteárico
78 (3,18%), 8-heptadecenoico (3,05%), ácido lignocérico (2,28%) e *cis*-ácido palmitoleico (2,26%).
79 *Mouriri guianensis* apresentou o ácido oleico (5,7%), palmítico (4,15%), o hidrocarboneto
80 triacontano (2,46%) e ácido esteárico (2,42%). Em *C. caxiensis* o 9,12-octadecadienoico foi
81 predominante (25,99%) e em *M. subnitida* o ácido esteárico (10,55%), o álcool hexacosanol
82 (9,22%), ácido oleico (7,56%) e ácido palmítico (5,07%) foram majoritários. Os ácidos palmítico e
83 esteárico foram comuns ao óleo de *Mouriri* e suas abelhas visitantes. Apesar da presença de
84 componentes comuns entre os óleos florais e as abelhas, indicando possível coleta de lipídeos nas
85 flores, o pólen foi o principal motivo das visitas das abelhas.

86

87 **Palavras-chave** Abelhas, ecologia química, polinização.

88

89

90

91

92

93

94

95

96

97

98

99

100

101

102

103 **Introdução**

104 Flores produzem diversos sinais químicos perceptíveis e modulados pelo sistema cognitivo
105 dos seus visitantes como um verdadeiro “*mosaico sensorial*” (Raguso, 2004). Nesse sentido,
106 evoluíram uma ampla gama de recompensas florais tais como pólen, néctar, óleos, resinas e
107 perfumes para alcançar seus polinizadores (Dumri et al. 2008, Agostini et al. 2014).

108 Pólen e néctar são os recursos florais mais comuns, enquanto a oferta de óleos é rara e
109 observada em Calceolariaceae, Cucurbitaceae, Iridaceae, Krameriaceae, Malpighiaceae,
110 Myrsinaceae, Orchidaceae, Plantaginaceae, Scrophulariaceae, Solanaceae e Stilbaceae (Machado
111 2004; Melo e Gaglianone 2005; Martins et al. 2014). Óleo floral é o termo usado para descrever os
112 lipídeos não voláteis, em vez de óleos essenciais voláteis (Silvera 2002). São secretados por uma
113 glândula denominada elaióforo que pode ser de origem tricômica ou epitelial (Vogel 1974) e está
114 presente em 1600 a 2000 espécies de plantas Tropicais e Subtropicais (Alves-dos-Santos et al.
115 2007; Renner e Schaefer 2010; Martins et al. 2013, 2014).

116 Tais óleos podem servir como atrativo aos polinizadores (Nogueira et al. 1998); para a
117 adesão e transporte de grãos de pólen como observado em *Clusia grandiflora* Splitg. (Kaminski e
118 Absy 2006), *Drymonia serrulata* (Jacq.) Mart. (Gesneriaceae) (Steiner 1985), em *Byrsonima*
119 *crassifolia* L. (Rich.) (Rêgo e Albuquerque 1989) e supostamente em *Mouriri* (Melastomataceae);
120 tornar resinas florais mais fluídas permitindo maior mobilidade dos grãos de pólen de *Cordylandra*
121 (Clusiaceae) (Porto et al. 2000); ou ainda, ser ativamente coletados por fêmeas de Centridini,
122 Tapinotaspidini, Tetrapediini, Cetenoplectrini e Mellitidae servindo para a construção de ninhos
123 (Buchmann e Buchmann 1981; Buchmann 1983, 1987; Michener 2007). Do ponto de vista químico,
124 óleos são energeticamente mais ricos do que o néctar ou o pólen e, portanto, as abelhas podem
125 beneficiar-se dessa fonte de alimento de alta qualidade para suas larvas (Buchmann e Buchmann
126 1981; Vogel 1989).

127 A maioria dos óleos florais estudados apresentam uma combinação de ácidos graxos
128 saturados e insaturados de cadeia longa com substituintes β -acetoxi, mono e diglicerídeos
129 (Buchmann e Buchmann 1981; Reis et al. 2000; Seipold et al. 2004; Dumri et al. 2008; Capellari et
130 al. 2011; Haleem et al. 2010). Outros componentes relacionados com secreção de elaióforos são
131 parafinas, glicerois, ésteres, glicosídeos, isoprenoides não voláteis e saponinas (Buchmann e
132 Buchmann 1981; Neff e Simpson 1981; Buchmann 1987; Roubik 1989).

133 Acilglicerois também são constituintes importantes e já foram encontrados em *Calceolaria*
134 *pavonii* Benth. [1-(3'-acetoxiexadecanoil)-2 acetilglicerol e 1,2-(‘-acetoxi-E-11-octadecenoil)-sn-
135 glicerol] (Vogel 1974), em *Lysimachia vulgaris* L. (Primulaceae) (ácido 3-acetoxi-octadecanoico)

136 (Vogel 1986), em *Ornithophora radicans* Rchb. f. (Orchidaceae) (Oncidiol) (Reis et al. 2000, Reis
137 et al. 2003), em *Malpighia coccigera* L. (Malpighiaceae) (ácidos acetilados 3-dihidroxi) (Seipold
138 et al. 2004) e em espécies de *Diascia* (Scrophulariaceae) (ácidos (3R)-acetoxi com 14, 16 e 18
139 carbonos) (Dumri et al. 2008).

140 Ácidos graxos com substituintes são comumente encontrados em óleos florais de
141 Krameriaceae (Haleem 2012) e em *Byrsonima intermedia* A. Juss (Malpighiaceae) onde foi
142 identificado o ácido birsônico [(3R,7R)-diacetoxidocosanoico] (Reis et al. 2007). Ácidos graxos
143 sem substituintes como ácido hexadecanoico, octadecanoico, eicosanoico, tetracosanoico entre
144 outros (Vogel 2009) também são importantes na composição de óleos de muitas espécies, como por
145 exemplo, *Pterandra pyroidea* A. Juss (Malpighiaceae) (Capellari et al. 2011).

146 Em Melastomataceae a produção de óleos não voláteis é relatada apenas para os gêneros da
147 subfamília Memecyloideae (*Memecylon*, *Mouriri*, *Spathandra*, *Lijndenia*, *Warneckea* e *Votomita*)
148 (Buchmann e Buchmann 1981). Em *Mouriri*, gênero Neotropical com 85 espécies de árvores e
149 arbustos, os elaióforos estão localizados na região abaxial do conectivo da antera, característica
150 diferencial em relação às demais espécies possuidoras de glândulas (Buchmann e Buchmann 1981;
151 Buchmann 1987).

152 A natureza química dos óleos florais de *Mouriri* foi estudada por Buchmann e Buchmann
153 (1981) e Renner (1984), tendo sido identificados como constituintes do óleo de *M. myrtilloides*
154 (Benth.) Morley, o ácido esteárico e o 12-metil tetradecanoato. Além de indícios da presença de
155 glicose, aminoácidos (prolina, alanina e glicina), carotenoides, substâncias fenolicas, ésteres e
156 proteínas (Buchmann e Buchmann 1981). Já em *M. nervosa* Pilg. foi confirmada a presença de
157 misturas de ácidos lipídicos livres, β -acetoxi com cadeias de 14 a 20 carbonos (Renner 1984).

158 A ecologia, morfologia floral, taxonomia e evolução, geralmente são os principais focos dos
159 estudos realizados com flores produtoras de óleos florais (Seipold et al. 2004) e o conhecimento
160 sobre a natureza química das secreções de elaióforos dessas flores ainda necessita de estudos mais
161 detalhados. Assim, o trabalho teve como objetivo identificar as substâncias majoritárias dos óleos
162 florais de *Mouriri acutiflora* e *M. guianensis* e investigar se há semelhança com a composição
163 química das substâncias presentes nas pernas de suas abelhas visitantes.

164

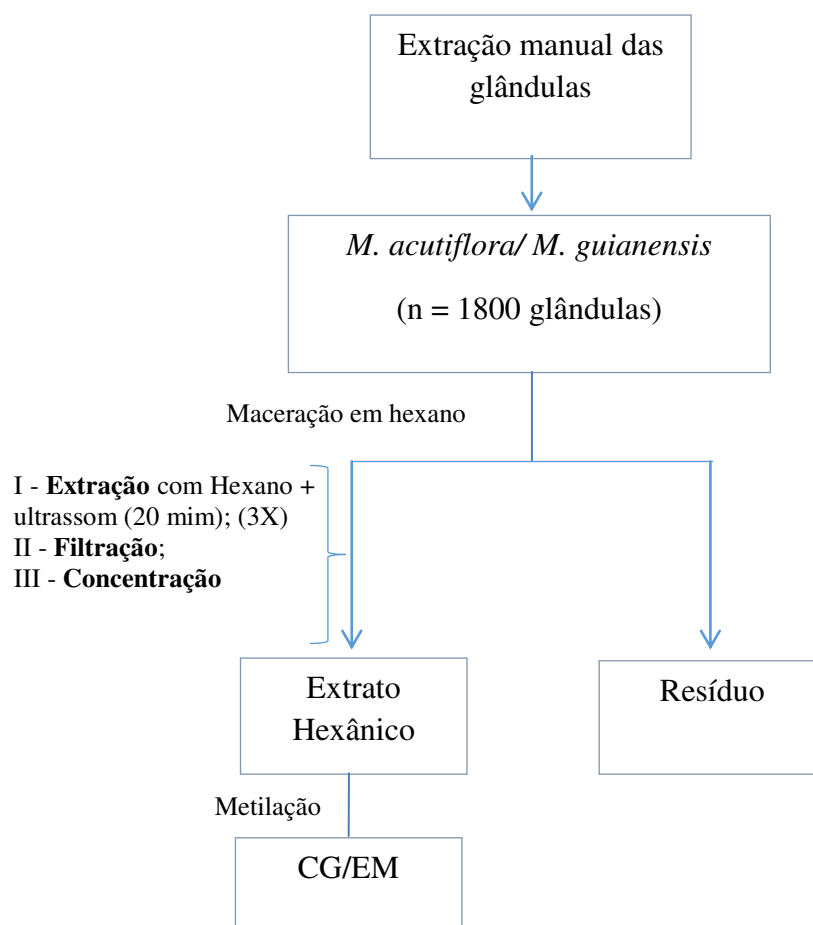
165 **Material e Métodos**

166 Botões e flores de *M. guianensis* foram coletados na restinga do Parque Nacional dos
167 Lençóis Maranhenses (lat -2,5812; long -42,7956) em fevereiro/2015. O material vegetal de *M.*
168 *acutiflora* foi coletado em uma área de campos inundáveis, Anajatuba (lat -3,2644; long -44,6194),

169 região da Baixada Ocidental Maranhense em agosto/2015. O material vegetal foi depositado no
 170 Herbário da Universidade Federal do Maranhão-UFMA/MAR (MAR 6619 para *M. guianensis* e
 171 MAR 6200 para *M. acutiflora*).

172 Glândulas de *M. acutiflora* e *M. guianensis* (n = 70 para cada espécie) foram coradas com
 173 Sudan III, corante que evidencia a presença de lipídios. Gotas de Sudam foram adicionadas as
 174 glândulas, aguardando-se por cinco minutos para que ocorresse a reação. Em seguida, foram
 175 lavadas em água corrente e observadas em estereomicroscópio verificando-se a ocorrência ou não
 176 de coloração (Johansen 1940; Dafni et al. 2005).

177 Os óleos florais de *M. acutiflora* e de *M. guianensis* foram obtidos por meio da retirada
 178 manual de 1800 glândulas de cada espécie (n = 180 botões/espécie) para posterior extração com
 179 hexano, metilação e análise por CG/EM (Fig. 1).



197 **Fig. 1:** Fluxograma de obtenção dos extratos hexânicos dos óleos florais de *Mouriri acutiflora* Naudin. e *M. guianensis*
 198 Aubl. (Melastomataceae).

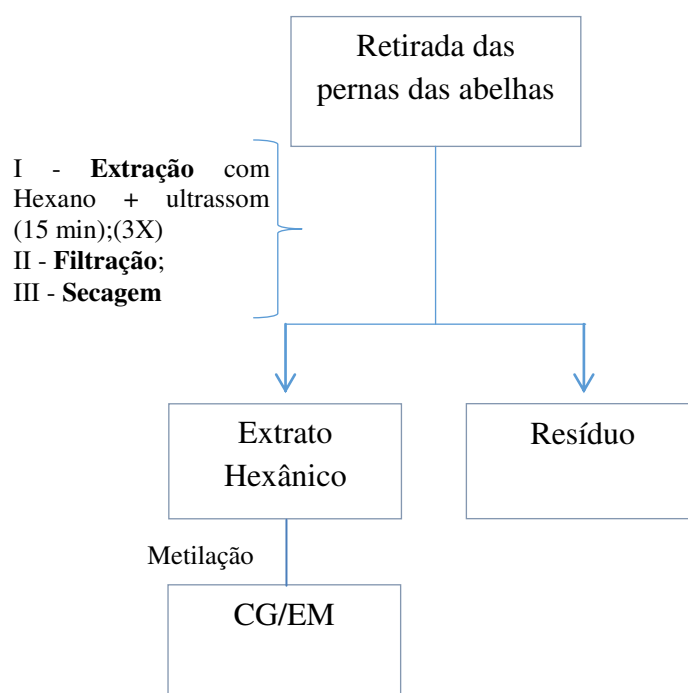
199

200 Após a evaporação do solvente e obtenção das massas, os óleos florais foram submetidos à
 201 análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) utilizando-se o sistema de eluição

202 Hexano/Acetato de etila (8:2 v/v). Posteriormente, estas foram visualizadas em luz UV 254 nm e
 203 365 nm (reveladores físicos), reveladas com sulfato cérico ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) e anisaldeído sulfúrico
 204 (reveladores químicos) e fotografadas.

205 Observações e coleta das abelhas em visita as flores foram realizadas em janeiro e
 206 fevereiro/2015 (*M. guianensis*) e agosto/2015 (*M. acutiflora*). *Centris caxiensis* (n = 6 indivíduos),
 207 *M. fasciculata* (Tiúba) (n = 6) e *M. subnitida* (Jandaíra) (n = 10) foram as espécies escolhidas para o
 208 presente trabalho, uma vez que foram visitantes frequentes das espécies de *Mouriri*, além de serem
 209 descritas na literatura como abelhas relacionadas com a coleta de óleos florais.

210 As abelhas tiveram as pernas médias e traseiras retiradas, colocadas em recipientes contendo
 211 hexano 100% e submetidas a ultrassom por 15 minutos (3x) (Fig. 2). O material extraído foi
 212 filtrado, acondicionado em frascos de vidro e secos em capela. Os extratos resultantes foram
 213 analisados por CCD com sistema de eluição Hexano/Acetato de etila 9:1, 8:2 e 7:3 (v/v),
 214 DCM/MeOH (95:5 v/v), DCM/Acetona (9:1 v/v) e MeOH 100% e revelados com sulfato cérico
 215 ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$).



229 **Fig. 2:** Fluxograma de obtenção dos extratos hexânicos das pernas das abelhas *Centris* (*Centris*) *caxiensis* Ducke
 230 (*Centridini*) (n = 6), *Melipona* (*Melikerria*) *fasciculata* Smith (n = 6) e *M. (Melipona) subnitida* Ducke (*Meliponini*) (n =
 231 10).

232

233 As amostras de óleos florais e dos extratos das pernas das abelhas foram metiladas com
 234 diazometano (CH_2N_2) de acordo com o seguinte procedimento: cerca de 2 mg de cada amostra foi

235 pesada e solubilizada com 230 μL de Acetona/MeOH. A este volume foi adicionado 20 μL de
 236 diazometano e após 20 minutos a solução foi avolumada com 750 μL de hexano PA.

237 As amostras metiladas foram concentradas a 1 mg/mL e analisadas por Cromatografia
 238 Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massa (CG/EM). As análises por CG/EM foram realizadas
 239 em cromatógrafo gasoso Thermo (Modelo Trace GC Ultra), com injetor automático AI 3000,
 240 acoplado ao espectrômetro de massas Thermo (Modelo DSQ-II) com ionização por impacto
 241 eletrônico. Utilizou-se a coluna apolar ZB-5MS (Phenomenex) (20 m x 0,18 mm x 0,18 μm) e
 242 Hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min, com injetor a 220 $^{\circ}\text{C}$ em modo split, razão de
 243 10:1 e linha de transferência a 250 $^{\circ}\text{C}$. O forno foi programado com rampa de aquecimento de 60
 244 $^{\circ}\text{C}$ a 240 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e mantido por 10 min a 240 $^{\circ}\text{C}$. O Espectrômetro de massas foi programado
 245 em modo *full scan* (40-650 m/z), modo positivo a 70 eV e *ion source* a 250 $^{\circ}\text{C}$.

246 A reação de metilação foi realizada na Universidade Federal do Amazonas (UFAM),
 247 Laboratório de Química de Biomoléculas da Amazônia (Q-BiomA) sob coordenação do Prof. Dr.
 248 Valdir Florêncio da Veiga Junior. As análises de CG/EM foram realizadas no Instituto Nacional de
 249 Pesquisas da Amazônia (INPA), Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia (LAPAAM) sob a
 250 supervisão do Prof. Dr. Sergio Massayoshi Nunomura.

251 Os índices de retenção (IR) das substâncias foram obtidos através da co-injeção das
 252 amostras com a mistura de *n*-alcanos com padrão C₇ - C₃₀. O calculo dos IR foi segundo a equação
 253 de Van den Dool e Kratz (1963) (Equação 1). A identificação das substâncias presentes foi
 254 realizada através da utilização do banco de dados da biblioteca NIST e por comparação dos IR
 255 calculados com os encontrados na literatura (Adams 2009; FFNSC Library 2012). A quantificação
 256 dos constituintes nas amostras analisadas foi calculada através da normalização de área do
 257 respectivo pico no cromatograma de íons.

258

$$259 \quad I = \frac{100 (X_i - X_z)}{(X_{(z+1)} - X_z)} + Z$$

260

261 **Equação 1:** Cálculo para Índices de Retenção.

262 **X_i** = Tempo de retenção do componente de interesse

263 **X_z** = Tempo de retenção do *n*-alcano eluído imediatamente antes de *X_i*

264 **X_(z+1)** = Tempo de retenção do alcano eluído imediatamente após *X_i*

265 **Z** = Número de carbonos do alcano no tempo de retenção *X_z*

266

267

268 **Resultados**

269 A presença de lipídeos foi indicada através da coloração dos elaióforos de *M. acutiflora* e *M.*
270 *guianensis* com Sudan III.

271 Os extratos hexânicos obtidos a partir dos elaióforos de *M. guianensis* e *M. acutiflora*
272 geraram massas de 15,4 mg e 53,4 mg de óleo floral, respectivamente. Os extratos das pernas de *M.*
273 *fasciculata* apresentaram rendimento de massa inferior ao necessário para a realização das análises
274 (m= 0,5 mg) e com perfil cromatográfico bastante semelhante ao encontrado em *C. caxiensis*, e por
275 isso, foram considerados apenas as amostras de *C. caxiensis* (15 mg) e *M. subnitida* (5,3 mg) para a
276 continuação do trabalho (Tab. 1).

277 **Tabela 1:** Massas e respectivos rendimentos dos extratos hexânicos dos óleos florais e das pernas das abelhas visitantes
278 de *Mouriri acutiflora* Naudin. e *Mouriri guianensis* Aubl. (Melastomataceae). Rend. = Rendimento, (*)=*Melipona*
279 *fasciculata*, (**)= *Centris caxiensis*, (***)= *Melipona subnitida*.

	Óleo floral				Abelhas			
	Nº de Botões/glândula	Peso seco (mg)	Massa (mg)	Rend (%)	Nº de abelhas	Peso seco (mg)	Massa (mg)	Rend (%)
<i>M. acutiflora</i>	180/1800	267	53,4	20	6* 6**	4 290	0,5 15	12,5 5,17
<i>M. guianensis</i>	180/1800	201,3	15,4	7,6	10****	40	5,3	13,25

280

281 A análise por CG/EM das amostras metiladas de óleos florais e extratos das pernas das
282 abelhas identificaram principalmente a presença ácidos graxos na forma de seus ésteres, decorrentes
283 do processo de metilação e hidrocarbonetos.

284 A identificação química das amostras dos óleos florais de *M. acutiflora* está listada na tabela
285 1. A substância não identificada e eluída em 55,07 minutos (6,43%), seguida de metil
286 hexadecanoato (ácido palmítico metil ester) (5,92%), octadecanoato (ácido esteárico metil ester)
287 (3,18%), 8-heptadecenoato (3,05%), tetracosanoato (ácido lignocérico metil ester) (2,38) e *cis*-9-
288 hexadecenoato (ácido palmitoleico metil ester (2,26%) apresentaram as maiores porcentagens de
289 área (Tab. 2). As substâncias não identificadas e eluídas em 49,38 min (2,56%) e 45,01min (2,38%),
290 também apresentaram porcentagens relevantes em relação as demais.

291

292

293

294

295

296

297
298
299

Tabela 2: Composição química do óleo floral de *Mouriri acutiflora*. Insat. = grau de insaturação, TR = tempo de retenção, IR_{cal} = índice de retenção calculado, IR_{tab} = índice de retenção tabelado, % = porcentagem da substância na amostra.

Nome da substância	Insat	TR	IR _{cal}	IR _{tab}	%
Não identificado	-	14,10	1272	-	0,26
Tridecano / C ₁₃ H ₂₈	13:0	15,95	1300	1300 ¹	0,32
Não identificado	-	22,15	1475	-	0,32
Não identificado	-	28,32	1638	-	0,81
Metil tetradecanoato / C ₁₅ H ₃₀ O ₂	15:0	31,36	1722	1722 ¹ /1727 ²	0,53
Etil tetradecanoato / C ₁₆ H ₃₂ O ₂	16:0	33,91	1795	1794 ² /1795 ³	0,49
13-metil tetradecanoato / C ₁₆ H ₃₂ O ₂	16:0	34,81	1823	-	1,03
5,6,7-trimetoxy-8-acetil-2,2-dimetilcromeno/ C ₁₆ H ₂₀ O ₅	16:4	36,86	1883	1883 ¹ /1886 ²	0,73
Metil <i>cis</i> 9-hexadecenoato / C ₁₇ H ₃₂ O ₂	17:1	37,16	1893	-	2,26
Metil hexadecanoato / C ₁₇ H ₃₄ O ₂	17:0	38,12	1922	1921 ¹ /1925 ²	5,92
Impureza	-	38,55	1936	-	0,41
Impureza	-	38,75	1942	-	0,8
Impureza	-	38,91	1947	-	0,87
Metil 9,12-heptadecadienoato / C ₁₈ H ₃₂ O ₂	18:2	40,1	1984	1994 ³	1,39
Metil 8-heptadecenoato / C ₁₈ H ₃₄ O ₂	18:1	40,36	1992	-	3,05
Metil heptadecenoato / C ₁₈ H ₃₆ O ₂	18:0	41,26	2022	2028 ² / 2067 ³	1,25
Não identificado	-	42,13	2050	-	1,17
Não identificado	-	43,40	2092	-	2,01
Metil octadecanoato / C ₁₉ H ₃₄ O ₂	19:0	44,31	2122	2124 ¹ /2127 ²	3,18
Não identificado	-	45,01	2146	-	2,38
Não identificado	-	45,25	2154	-	1,41
Não identificado	-	49,38	2251	-	2,56
Não identificado	-	55,07	2516	-	6,43
Impureza	-	57,78	2624	-	1,34
Ftalato	-	60,15	2720	-	1,89
Metil tetracosanoato / C ₂₆ H ₅₂ O ₂	26:0	62,10	2795	2797 ³ /2798 ²	2,34
<i>n</i> -Nonacosano / C ₂₉ H ₆₀	29:0	65,34	2893	2900 ¹	0,95

300

¹NIST, ² Adams, ³FFNSC

301

302

303

304

Os óleos florais de *M. guianensis* apresentaram metil esteres de ácidos graxos saturados e insaturados, hidrocarbonetos alifáticos e uma cetona (6,10,14-trimetil-pentadecan-2-ona ou Hidrofarnesilcetona). Nos óleos florais de *M. guianensis* a substância não identificada e eluída em

305 60,20 min (7,6%), seguida do metil *cis*-9-octadecenoato ou ácido oleico metil ester (5,7%), metil
 306 hexadecanoato ou ácido palmítico metil ester (4,15%), o hidrocarboneto triacontano (2,46%), metil
 307 octadecanoato ou esteárico metil ester (2,42%) foram majoritárias (Tab. 3).

308 Nota-se que as substâncias presentes nos óleos de ambas as espécies apresentam-se em
 309 baixas porcentagens.

310 **Tabela 3:** Composição química dos óleos florais de *Mouriri guianensis*. Insat. = grau de insaturação, TR = tempo de
 311 retenção, IR_{cal} = índice de retenção calculado, IR_{tbl} = índice de retenção tabelado, % = porcentagem da substância na
 312 amostra.

Nome da substância	Insat	TR	IR _{cal}	IR _{tbl}	%
Metil dodecanoato / C ₁₂ H ₂₄ O ₂	12:0	24,09	1530	1527 ²	0,23
Não identificado	-	31,46	1725	-	0,59
6,10,14-trimetil-pentadecan-2-ona / C ₁₈ H ₃₆ O ₂		34,90	1825	1822 ³ /1841 ²	0,28
Não identificado	-	35,78	1851	-	0,77
Não identificado	-	37,32	1897	-	0,61
Metil hexadecanoato / C ₁₇ H ₃₄ O ₂	17:0	38,21	1925	1921 ¹ /1925 ²	4,15
15-metil hexadecanoato / C ₁₈ H ₃₆ O ₂	18:1	41,34	2024	-	0,21
Não identificado	-	43,23	2086	-	0,78
Metil <i>cis</i> -octadecenoato / C ₁₉ H ₃₆ O ₂	19:1	43,49	2094	-	5,7
Metil octadecanoato / C ₁₈ H ₃₈ O ₂	18:0	44,38	2125	2124 ¹ /2126 ²	2,42
Não identificado	-	45,09	2145	-	0,42
Não identificado	-	48,94	2284	-	0,42
Não identificado	-	49,45	2303	-	0,94
Metil eicosanoato / C ₂₁ H ₄₈ O ₂	21:0	50,07	2326	2328 ²	0,67
Pentacosano / C ₂₅ H ₅₂	25:0	54,63	2498	2500 ¹	0,69
Ftalato	-	55,10	2517	-	4,66
Não identificado	-	58,15	2640	-	1,35
Não identificado	-	60,20	2722	-	7,6
Nonacosano / C ₂₉ H ₆₀	29:0	64,61	2872	2900 ¹	1,48
Triacontano / C ₃₀ H ₆₂	30:0	68,90	2977	3000 ¹	2,46

313 ¹NIST, ² Adams

314

315 A análise dos extratos das pernas de *C. caxiensis* resultou na identificação principalmente de
 316 hidrocarbonetos com cadeias variando de 22 a 30 carbonos. Metil ésteres de ácidos e álcoois
 317 alifáticos também foram encontrados (Tab. 4). O metil 9,12-octadecadienoato ou ácido linoléico
 318 metil ester (25,99%) foi majoritário nas amostras de *C. caxiensis*.

319
320
321

Tabela 4: Composição química identificada nos extratos da abelha *Centris caxiensis*. Insat. = grau de insaturação, TR = tempo de retenção, IR_{cal} = índice de retenção calculado, IR_{tbl} = índice de retenção tabelado, % = porcentagem da substância na amostra.

Nome da substância	Insat	TR	IR _{cal}	IR _{tbl}	%
12-metil tridecanoato / C ₁₅ H ₃₀ O ₂	15:0	31,47	1726	-	0,32
Não identificado	-	37,43	1900	-	0,49
Metil hexadecanoato / C ₁₇ H ₃₄ O ₂	17:0	38,22	1925	1921 ¹ /1925 ²	4,12
Não identificado	-	43,25	2087	-	2,15
Metil 9 <i>cis</i> , 12 <i>cis</i> -octadecadienoato/ C ₁₉ H ₃₄ O ₂	19:2	43,55	2096	2093 ¹ /2095 ² -	25,99
Metil octadecanoato / C ₁₈ H ₃₈ O ₂	18:0	44,40	2125	2127 ²	3,86
Docosano / C ₂₂ H ₄₆	22:0	46,58	2154	2200 ¹	1,88
Tricosano / C ₂₃ H ₄₈	23:0	49,38	2251	2300 ¹	3,66
Tetracosano / C ₂₄ H ₅₀	24:0	52,05	2399	2400 ¹	1,21
Z-9-pentacoseno / C ₂₅ H ₅₀	25:1	53,90	2470	2476 ³	2,62
Pentacosano / C ₂₅ H ₅₂	25:0	54,68	2451	2500 ¹	8,07
Ftalato	-	55,14	2518	-	8,38
Hexacosano / C ₂₆ H ₅₄	26:0	57,13	2598	2600 ¹	0,75
Z-9-heptacoseno / C ₂₆ H ₅₄	26:1	58,89	2670	2676 ³	9,98
Heptacosano / C ₂₇ H ₅₆	27:0	59,57	2698	2698 ³	5,83
Ftalato	-	60,21	2723	-	0,78
Tetracosanol / C ₂₄ H ₅₀ O	24:0	61,31	2765	2710 ³	0,37
Octacosano / C ₂₈ H ₅₈	28:0	62,11	2796	2800 ¹	0,61
Heptacosanol / C ₂₇ H ₅₆ O	27:0	64,47	2867	3016 ³	7,96
Não identificado	-	65,42	2896	-	2,26
13-metil nonacosano / C ₃₀ H ₆₂	30:0	66,54	2923	2935 ²	0,79
Triacotano / C ₃₀ H ₆₂	30:0	69,70	2995	3000 ¹	0,26

322
323
324
325
326
327
328
329
330
331

¹NIST, ² Adams, ³FFNSC

Os extratos das operárias de *M. subnitida* (Jandaíra) apresentaram composição lipídica com menor riqueza de substâncias, tendo sido identificados metil ésteres de ácidos saturados (palmítico e esteárico metil éster), insaturado (ácido oleico metil éster), um álcool sesquiterpênico acíclico (Farnesol 2E,6E), hidrocarbonetos alifáticos e um álcool alifático (Tab. 5). As substâncias majoritárias foram o metil octadecanoato ou ácido esteárico (10,55%), o Hexacosanol (9,22%), o *cis* 9-octadecenoato ou oleico (7,56%) e o hexadecanoato ou ácido palmítico (5,07%).

332 **Tabela 5:** Composição química identificada nos extratos das pernas de abelhas operárias de *Melipona subnitida*. Insat.
 333 = grau de insaturação, TR = tempo de retenção, IR_{cal} = índice de retenção calculado, IR_{tbl} = índice de retenção tabelado,
 334 % = porcentagem da substância na amostra.

Nome da substância	Insat	TR	IR _{cal}	IR _{tbl}	%
Farnesol (2E,6E) / C ₁₅ H ₂₈ O	15:2	31,43	1724	1722 ²	0,53
Ftalato	-	35,75	1850	-	0,43
Metil hexadecanoato / C ₁₇ H ₃₄ O ₂	17:0	38,19	1924	1921 ¹ /1925 ²	5,07
Não identificado	-	43,24	2086	-	
Metil <i>cis</i> -9-octadecenoato / C ₁₉ H ₃₆ O ₂	19:1	43,51	2095	-	7,56
Metil octadecanoato / C ₁₉ H ₃₈ O ₂	19:0	44,38	2125	2127 ²	10,55
Não identificado	-	51,15	2366	-	0,47
Pentacosano / C ₂₅ H ₅₂	25:0	54,64	2500	2500 ¹	1,55
Hexacosano / C ₂₄ H ₅₀	24:0	58,21	2642	2600 ¹	3,68
Não identificado	-	58,87	2669	-	0,69
Heptacosano / C ₂₇ H ₅₆	27:0	59,54	2697	2700 ¹	1,33
Não identificado	-	63,43	2836	-	1
Hexacosanol / C ₂₆ H ₅₄ O	26:0	64,48	2868	2852 ³	9,22

335 ¹NIST, ² Adams, ³FFNSC

336

337 Na correlação das substâncias encontradas nos óleos florais e nos extratos das pernas das
 338 abelhas, foi possível confirmar como componentes comuns o metil hexadecanoato (ácido palmítico
 339 metil ester) e o metil octadecanoato (ácido esteárico metil ester). As comparações entre os
 340 cromatogramas estão nas figuras 2 e os espectros de massa estão nas figuras 3 e 4.

341

342

343

344

345

346

347

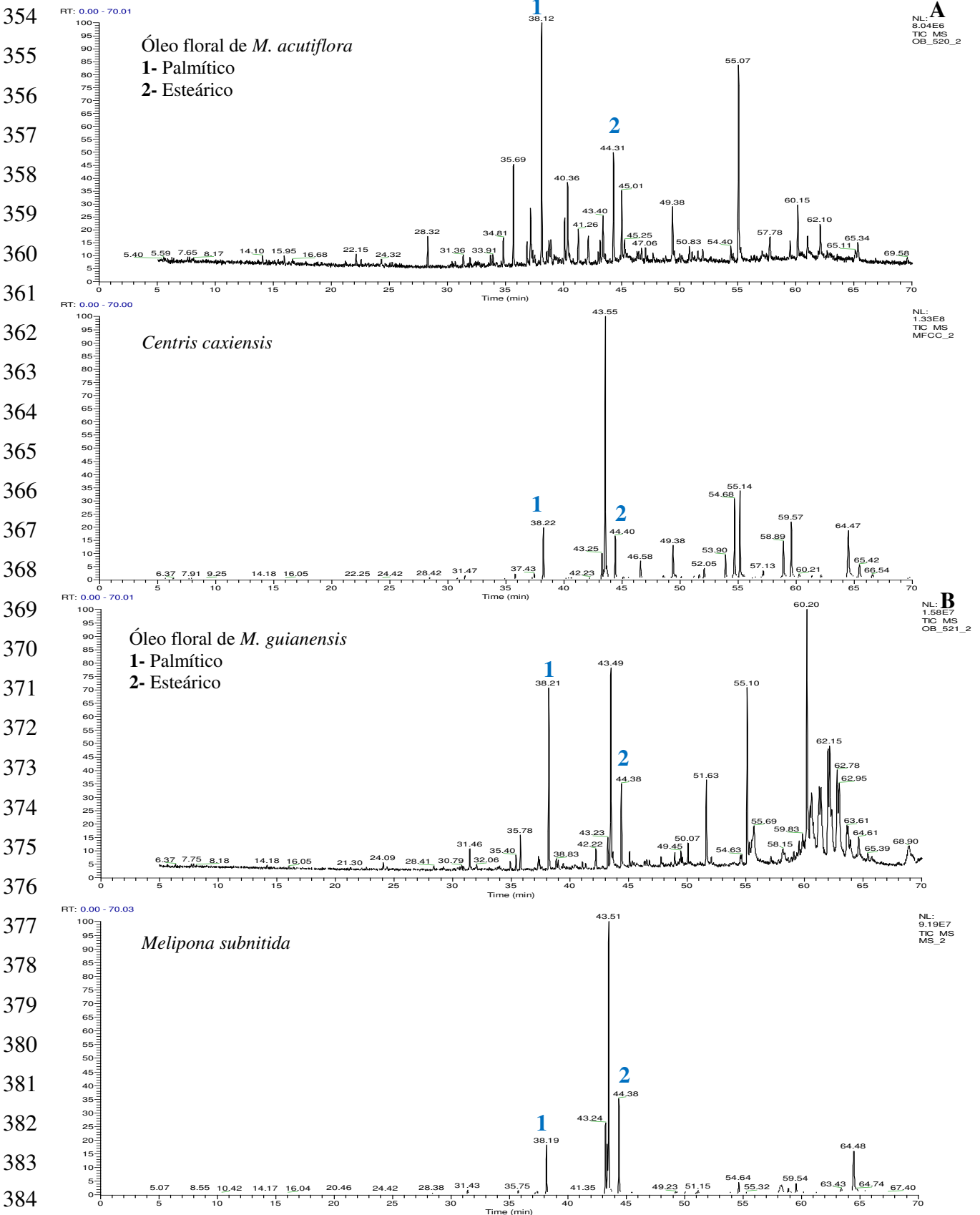
348

349

350

351

352 **Fig. 2:** A) Cromatogramas de íons totais dos óleos florais de *M.acutiflora* e sua abelha visitante *C. caxiensis*, B) *M.*
353 *guianensis* e *Melipona subnitida*.



385 **Fig. 3:** Espectros de massas dos componentes comuns aos óleos florais de *M. acutiflora* e *Centris caxiensis*.

386

387

388

389

390

391

392

393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

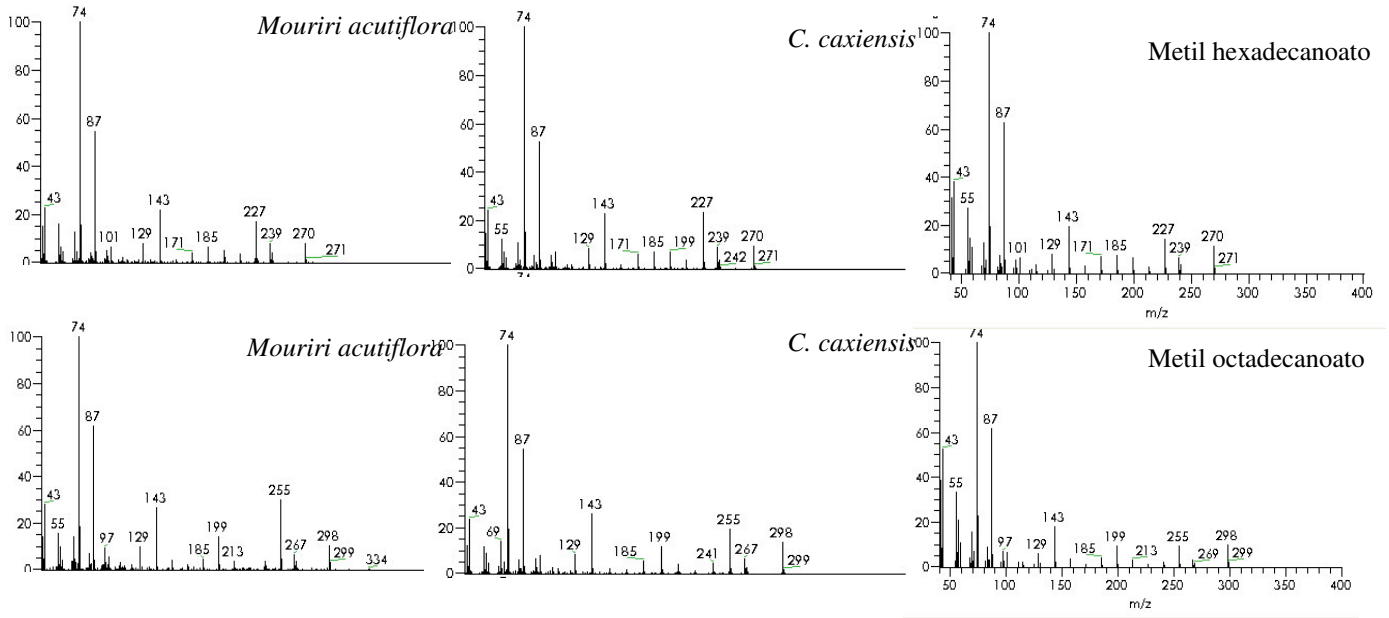
413

414

415

416

417



403 **Fig. 4:** Espectros de massas dos componentes comuns aos óleos florais de *M. guianensis* e *melipona subnitida*.

404

405

406

407

408

409

410

411

412

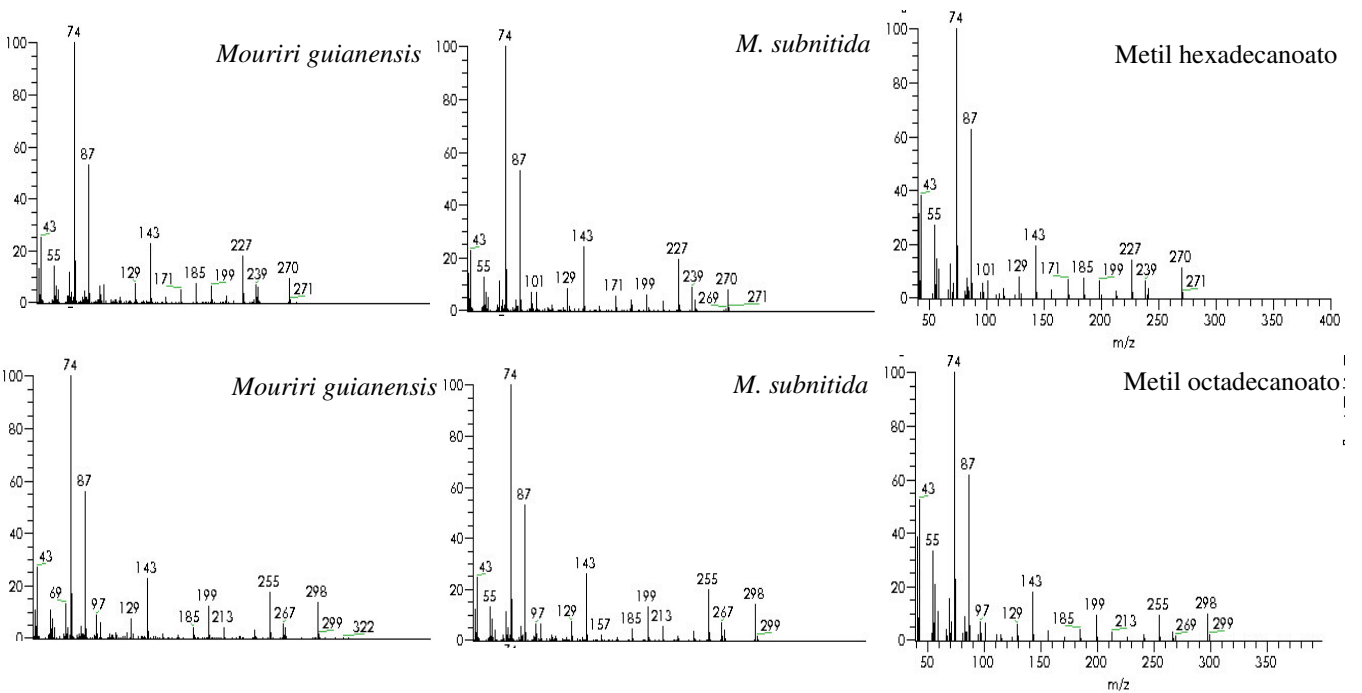
413

414

415

416

417



418 **Discussão**

419 A oferta de óleo tem sido proposta como uma estratégia evolutiva altamente bem sucedida
420 para otimizar a polinização (Buchmann 1987) e a maioria das espécies produtoras de lipídeos florais
421 os utilizam para atrair os seus polinizadores (Vogel 1986; Costa et al. 2006; Dotterl e Schaffler
422 2007; Santos et al. 2007).

423 Os testes com Sudam III indicaram a presença de lipídeos nas secreções dos elaióforos de
424 *Mouriri*, corroborando as informações de Buchmann e Buchmann (1981) que indicaram estas
425 estruturas como elaióforos verdadeiros e não apenas nectários ou glândulas produtoras de odor
426 como presumidos por Morley (1976).

427 Quantidade e qualidade de óleos florais produzidos pelas flores podem ser uma potencial
428 razão para a atratividade de abelhas coletoras de lipídeos (Capellari et al. 2011). Em flores com
429 elaióforos epiteliais como os de Melastomataceae, Malpighiaceae e Krameriaceae a quantidade de
430 lipídeos secretada tende a ser maior do que flores com elaióforos tricomáticos (Alves-dos-Santos et
431 al. 2007). Nossos resultados mostram que as flores de *Mouriri* produzem pequena quantidade de
432 óleo (média de 0,085 mg/flor - *M. guianensis* e 0,29 mg/flor - *M. acutiflora*) quando comparadas
433 com outras espécies produtoras deste recurso floral como *Banisteriopsis anisandra* (Adr. Juss) (1
434 mg/flor) (Malpighiaceae) (Haleem et al. 2010), *Krameria* (Krameriaceae) (0,91 mg/glândula)
435 (Simpson et al. 1977) e *Mouriri* (Buchmann e Buchmann 1981). *Mouriri guianensis* produziu
436 quantidade inferior de óleo em comparação a *M. acutiflora* e *M. myrtilloides* (0,2 mg/flor, total de
437 dez glândulas).

438 Capellari et al. (2011) verificaram que a produção de óleos em *Pterandra pyroidea* A. Juss
439 (Malpighiaceae) foi baixa (0,12 mg/flor) e que a frequência de abelhas coletoras desse recurso foi
440 pequena em relação as demais espécies simpátricas de Malpighiaceae presentes na mesma área e
441 que apresentavam maiores quantidades de óleo. Esta espécie apresenta um sistema de polinização
442 alterado para polinizadores generalistas em que a principal recompensa é o pólen e não o óleo.

443 Em *Mouriri* nota-se que a frequência de visitas de abelhas coletoras de óleo é baixa ou
444 ausente em relação aquelas coletoras de pólen. Observa-se que em *Mouriri guianensis* 78,71% das
445 visitas foram realizadas por espécies que coletaram exclusivamente pólen, não tendo sido observada
446 nenhuma fêmea coletora de lipídeos (*Centris* ou *Epicharis*) nesta espécie (Oliveira et al. 2016),
447 apesar de estas abelhas terem sido observadas em visita a outras plantas, como por exemplo,
448 *Byrsonima* (Malpighiaceae) na área estudada. Em *M. acutiflora* abelhas coletoras de lipídeos florais
449 (*C. caxiensis* e *C. (Hemisiella) tarsata* Smith) representaram apenas 13,01% das visitas, não tendo
450 sido identificado comportamento de manuseio das glândulas por estas abelhas (FS Oliveira, dados

451 não publicados). Nesse sentido, a quantidade de óleo produzido pelas espécies estudadas é um fator
452 que pode interferir na atratividade das abelhas e o pólen é a recompensa mais procurada e
453 ativamente coletada.

454 A qualidade dos óleos florais disponibilizados para os visitantes é outro fator importante a
455 ser considerado, uma vez que, fonte de energia é um dos principais motivos das abelhas procurarem
456 óleos em plantas (Buchmann e Buchmann 1981; Vogel 1989). De acordo com Vogel (1974), devido
457 ao seu alto valor energético o óleo é utilizado como substituto do néctar como alimento larval.
458 Estudos comprovam que lipídeos florais são cerca de oito vezes mais calóricos do que o néctar
459 (Vogel 1989). *Epicharis umbraculata nigrita* Friese coleta cargas mistas de óleo e pólen nas flores
460 de *Byrsonima intermedia* A. Juss (Malpighiaceae) (Gaglianone 2005) e os lipídicos presentes nas
461 escopas de *Macropis nuda* Provancher (Mellitidae), assim como o óleo misturado com pólen no
462 alimento das larvas desta espécie apresentam semelhança na maioria dos componentes (Cane et al.
463 1983). Os lipídeos, além de importante fonte de energia, são usados para a síntese de gordura e
464 glicogênio pelas abelhas (Keller et al. 2005).

465 Abelhas coletoras de óleos não voláteis em flores também utilizam este recurso para a
466 construção e impermeabilização de seus ninhos. Feudlaufer et al. (1993) encontraram que
467 constituintes como os ácidos láurico, mirístico e linoleico estão relacionados com propriedades
468 antimicrobianas. Logo, a presença destes ácidos nos óleos coletados pode ser importante para a
469 defesa do ninho contra micro-organismos, principalmente para espécies solitárias que nidificam em
470 solo úmido como *Centris*. Tais constituintes foram identificados nos óleos de *Mouriri*, porém, em
471 baixas concentrações. Da mesma maneira, os voláteis farnesol e o hidrofarnesilcetona identificados
472 respectivamente em *M. subnitida* e *M. guianensis*, porém em baixas porcentagens. Estudos mostram
473 que visitantes florais podem discriminar qualitativamente e quantitativamente a composição do
474 aroma floral (Andersson e Dobson 2003).

475 Supoe-se que o farnesol tenha sido coletado por *M. subnitida* em outra fonte de voláteis
476 florais, uma vez que não foi identificado nos óleos de *M. guianensis*. O Hidrofarnesilcetona é
477 comum em plantas e faz parte do bouquet de odores florais para vários insetos (Kalinova et al.
478 2009; Schulz et al. 2011) e está relacionado a feromônios de várias espécies de Lepidoptera
479 (Nieberding et al. 2008). Eltz et al. (2010) associaram o hidrofarnesilcetona a atração de abelhas,
480 revelando que Euglossini são atraídos por essa substância estocando-a nas franjas tibiais. Em
481 *Mouriri*, contudo, esta substância representou apenas 0,28% da amostra.

482 Os óleos florais de ambas as espécies de *Mouriri* apresentam componentes lipídicos
483 comumente encontrados em plantas conhecidamente produtoras de óleo e que disponibilizam este

484 recurso aos polinizadores. Como por exemplo tem-se os ésteres metílicos dos ácidos tetracosanoico
485 e docosanoico encontrados em *P. Pyroidea* (Haleem et al 2010; Capellari et al. 2011), *cis-9-*
486 *octadecenoato* e hexacosanoato comuns a *Ornithocephalus cochleariformis* C. Schweinf., *O.*
487 *Bicornis* Lindl. e *Byrsonima crassifolia* L. (Rich.) (Silvera 2002) e os ésteres tetradecanoato,
488 hexadecanoico, octadecanoato, tetracosanoato e 9,12-octadecadienoato identificados em *Byrsonima*
489 *brachybotrya* L.) (Giese 2005) e octadecanoico em *Mouriri myrtilloides* (Benth.) Morley
490 (Buchmann e Buchmann 1981).

491 Acredita-se que uma das principais questões sobre oferta de óleos florais é a relação de
492 custo/benefício da coleta pelas abelhas especializadas nesse comportamento (Agostini et al. 2014).
493 Dessa maneira, sugerimos que, apesar dos óleos de *Mouriri* apresentaram-se compostos lipídicos
494 podendo ser fonte energética para as abelhas que procuram esse recursos nas flores, as baixas
495 concentrações desses componentes podem influenciar negativamente na procura do recurso nestas
496 plantas. Somado a isto, a oferta abundante de pólen e a presença de outras fontes de óleos na área
497 podem igualmente influenciar na coleta.

498 A presença de séries acetoxi em óleos florais de espécies já estudadas [*M. nervosa* Pilg.
499 (Renner 1984), *Oncidium* (Orchidaceae) (Reis et al. 2007), *Krameria* (Krameriaceae) (Seigler et al.
500 1978), *Calceolaria pavonii* (Calceolariaceae) (Vogel 1974) e Malpighiaceae (Haleem et al. 2010)]
501 difere dos resultados obtidos com óleos florais de *Mouriri* demonstrando que esses são menos
502 complexos.

503 A análises das pernas das abelhas mostrou riqueza de hidrocarbonetos. Diversos estudos
504 químicos indicam que as pistas utilizadas no reconhecimento são representadas por compostos
505 associados à hidrocarbonetos, divididos em alcanos, alcenos e alcanos com ramificação (Gamboa et
506 al. 1996). Estudos de reconhecimento realizados com substâncias isoladas aplicadas na abelha sem
507 ferrão *Trigona fulviventris* Guérin (Meliponini) acusaram que os indivíduos dessa espécie utilizam
508 o pentacosano como pista para o reconhecimento (Buchwald e Breed 2005).

509 Hidrocarbonetos teriam como função primária a proteção contra desidratação (Lockey
510 1988), secundariamente funções comunicativas e finalmente a de feromônio utilizado na marcação
511 de trilhas de forrageamento (Howard e Blomquist 2005). Hidrocarbonetos como pentacosano,
512 hexacosano, heptacosano, z-nonacoseno, e hentriacontano também são citados como responsáveis
513 pela separação entre os grupos de indivíduos de *Friesiomelitta varia* Lepeletier (Meliponini)
514 (Nunez et al. 2008).

515 A associação de óleos florais e atração de abelhas coletoras deste recurso foi relatada por
516 Silvera (2002), onde os ácidos tetradecanoico, *cis-9-octadecenoico* e hexacosanoico foram

517 identificados nas pernas de *Paratetrapedia* sp. e encontrados em várias espécies de Orchidaceae
 518 visitadas por ela [(*Ornithocephalus cochleariformis* C. Schweinf., *O. Bicornis* Lindl., *Erycina*
 519 *crisagalli* (Rchb.f.) N.H.Williams & M.W.Chase, *Oncidium cheiophorum* Rchb., *Oncidium*
 520 *ornithorrhynchum* Kunth. e *Lockhartia oerstedii* Rchb. f.]

521 Nas amostras de óleos florais e extratos das pernas das abelhas foi possível confirmar a
 522 presença das substâncias metil hexadecanoato (ácido palmítico metil ester) e o metil octadecanoato
 523 (ácido esteárico metil ester) como substâncias comuns. Os cromatogramas de íons totais dos óleos
 524 florais de *M. acutiflora* e *C. caxienseis* mostram quem o ácido palmítico e esteárico estão em maiores
 525 proporções nos óleos. Em *M. guianensis* observa-se o ácido palmítico está em maior quantidade no
 526 óleo indicando que, possivelmente, apesar da não detecção do comportamento de coleta, em algum
 527 momento as abelhas exploraram os elaióforos de *Mouriri*.

528 Um estudo mais detalhado exclusivamente sobre o comportamento das abelhas ou ainda
 529 análise da composição química de células de cria ou da estrutura do ninho poderiam esclarecer
 530 algumas dúvidas restantes sobre o sistema de polinização aqui apresentado. O presente estudo
 531 apresenta novos dados em relação a química de óleos florais de Melastomataceae e suas abelhas
 532 visitantes, esperando-se com isso contribuir para o entendimento desse sistema de polinização na
 533 família.

534

535 **Agradecimentos**

536 Agradecemos ao professor Sergio Massayoshi Nunomura pela concessão do laboratório e material
 537 para a realização das análises em GC/EM. A Leomara Andrade pela ajuda na identificação das
 538 substâncias. A CAPES pela concessão da bolsa de pós-graduação.

539

540 **Referencias**

- 541 Adams RP (2009) Identification of essential oil components by Chromatography/Mass
 542 Spectrometry. 4ª Edição, Editora Allured Books
- 543 Andersson S, Dobson HEM (2003) Behavioral foraging responses by the butterfly *Heliconius*
 544 *melpomene* to *Lantana camara* floral scent. J Chem Ecol 29:2303–2318
- 545 Alves-dos-Santos I, Machado IC, Gaglianone MC (2007) História natural das abelhas coletoras de
 546 óleo. Oecol Bras 11: 544-557
- 547 Bittrich V, Amaral MCE (1997) Flower biology of some *Clusia* species from Central Amazonia.
 548 Kew Bulletin 52:617–635

- 549 Bittrich V, Nascimento-Junior J, Amaram MCE, Nogueira PCL (2013) The anther oil of *Symphonia*
550 *globulifera* L.f. (Clusiaceae). *Biochem Syst Ecol* 49:131–134
- 551 Buchmann S L, Buchmann MD (1981) Anthecology of *Mouriri myrtilloides* (Melastomataceae:
552 Memecyleae), an oil flower in Panama. *Biotropica* 13 (Supplement), 7–24
- 553 Buchmann SL (1993) Buzz pollination. *In*: Jones CE, Little RJ (eds.). *Angiosperms. Handbook of*
554 *Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold, New York: 73-113
- 555 Buchmann SL (1987) The ecology of oil flowers and their bees. *Ann Rev Ecol Syst* 18:343-369
- 556 Buchwald R, Breed MD (2005) Nestmate recognition cues in stingless bee, *Trigona fulviventris*.
557 *Anim Behav* 70:1331-1337
- 558 Cane JH, Eickwort GC, Wesley FR, Spielholz J (1983) Foraging, grooming and mating behaviours
559 of *Macropis nuda* (Hymenoptera, Melittidae) and use of *Lysimachia ciliata* (Primulaceae) oils in
560 larval provisions and cell linings. *American Naturalist* 110: 257-264
- 561 Capellari SC, Haleem MA, Marsaioli AJ, Tidon R, Simpson BB (2011) *Pterandra pyroidea*: a case
562 of pollination shift within Neotropical Malpighiaceae. *Ann Bot* 107:1323–1334
- 563 Costa CBN, Costa JAS, Ramalho M (2006) Biologia reprodutiva de especies simpaticas de
564 Malpighiaceae em dunas costeiras da Bahia, Brasil. *Rev Bras Bot* 29:103-114
- 565 Dafni A, Kevan PG, Husband BC (Ed.) (2005) *Practical pollination biology*. Cambridge:
566 *Enviroquest* 590 p
- 567 Dobson HEM, Bergström G (2000) The ecology and evolution of pollen odors. *Plant Syst Evol*
568 222:–87
- 569 Dool VD, Kratz PD (1963) A generalization of the retention index system including linear
570 temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J chromat* 11: 463-471
- 571 Dotterl S, Schaffler I (2007) Flower scent of oil-producing *Lysimachia punctata* as attractant for the
572 oil-bee *Macropis fulvipes*. *J Chem Ecol* 33: 441–445
- 573 Dumri K, Seipold L, Schmidt J, Gerlach G, Dotterl S, Ellis AG, Wessjohann LA (2008) Non-
574 volatile floral oils of *Diascia* spp. (Scrophulariaceae). *Phytochem* 69:1372–1383
- 575 Etz T, Hedenstrom E, Bang J, Wallin EA, Anderson J (2010) (6R,10R)-1,10,14-trimethylpentadeca-
576 2-one a dominant and behaviorally active component in male Orchid bee fragrances. *J Chem Ecol*
577 36:1322-1326
- 578 *Flavour and Fragrance Natural and Synthetic Compounds* (2012) Shimadzu Corporation, Kyoto,
579 Japão 94p
- 580 Feldlaufer MF, Lusby WR, Knox DA, Shimanuki H (1993) Isolation and identification of linoleic
581 acid as an antimicrobial agent from the chalcid fungus *Ascospheera apis*. *Apidologie* 24:89-94

- 582 Gaglianone MC (2005) Nesting biology, seasonality, and flower hosts of *Epicharis nigrita* (Friese,
583 1900) (Hymenoptera: Apidae: Centridini), with a comparative analysis for the genus. *Stud Neotrop*
584 *Fauna Environ* 40:91-200
- 585 Gamboa JG, Grudzien TA, Espelie KE, Bura EA (1996) Kin recognition in social wasps:
586 combining chemical and behavioural evidence. *Anim Behav* 51:625-629
- 587 Haleem MA, Cappellari SC, Simpson BB, Marsaioli AJ (2010) Isolation and chemical
588 characterization of new Malpighiaceae floral fatty acids. *In: Proceedings of the 11th International*
589 *Chemistry Conference and Exhibition in Africa 'The Role of Chemistry in the Development of*
590 *Africa', Luxor, Egypt.*
- 591 Haleem MA (2012) Química de recompensas florais de Krameriaceae e Malpighiaceae do Cerrado.
592 Tese de doutorado Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, São Paulo 213p
- 593 Howard RW, Blomquist GJ (2005) Ecological, behavioral, and biochemical aspects of insect
594 hydrocarbons. *Annl Rev Entomol* 50: 371-393
- 595 Johansen DA (1940) *Plant microtechnique*. Mc Graw Hill, New York
- 596 Kalinova B, Podskalska H, Ružicka J, Hoskovec M (2009) Irresistible bouquet of death. How are
597 burying beetles (Coleoptera: Silphidae: Nicrophorus) attracted by carcasses. *Naturwissenschaften*,
598 96:889-899
- 599 Kaminski AC, Absy ML (2006) Bees visitors of three species of *Clusia* (Clusiaceae) flowers in
600 Central Amazonia. *Acta Amaz* 36: 259-264
- 601 Keller I, Fluri P, Imdorf A (2005) Pollen nutrition and colony development in honey bees. *Bee*
602 *Worlds* 86:3-10
- 603 Lockey KH (1988) Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comparable*
604 *Biochem Phys* 89:595-645
- 605 Machado IC, Lopes AV (2000) *Souroubea guianensis* Aubl.: Quest for its legitimate pollinator and
606 the first record of tapetal oil in the Marcgraviaceae. *Ann Bot* 85:705–711
- 607 Machado IC (2004) Oil-collecting bees and related plants: a review of the studies in the last twenty
608 years and case histories of plants occurring in ne Brazil. p255-280. *In: Freitas BM, Pereira JOP*
609 *(eds.). Solitary bees, conservation, rearing and management for pollination. editora Impresa*
610 *Universitária, UFCe, Fortaleza* 285p
- 611 Martins AC, Scherz MD, Renner SS (2014) Several origins of floral oil in the Angelonieae, a
612 Southern Hemisphere disjunct clade of Plantaginaceae. *Am J Bot* 101:2113–2120

- 613 Manning R, Harvey, M (2002) Fatty acids in honeybee-collected pollens from six endemic
614 western Australian eucalypts and the possible significance to the western Australian beekeeping
615 industry. *J experim Agric* 42:217-223
- 616 Melo GAR, Gaglianone MC (2005) Females of *Tapinotaspidoides*, a genus in the oil-collecting bee
617 tribe Tapinotaspini, collect secretions from non-floral trichomes (Hymenoptera, Apidae). *Rev*
618 *Bras Entomol* 49: 167-168
- 619 Michener CD (2007) *The bees of the world*. John Hopkins University Press, Baltimore, MD, USA.
- 620 Morley T (1976) *Memecyleae (Melastomataceae)*. Fl. Neotrop. New York Botanical Garden, New
621 York.
- 622 Neff JL, Simpson BB (1981) Oil-collecting structures in the Anthophoridae (Hymenoptera):
623 Morphology, function, and use in systematics. *J. Kans. Entomol Soc* 54: 95-123
- 624 Nieberding CM, de Vos H, Schneider MV, Lassance JM (2008) The Male Sex pheromone of the
625 Butterfly *Bicyclus anynana*: Towards an Evolutionary Analysis. in *PLoS ONE* 3: 2751 p
- 626 Nogueira PCL, MARSAIOLI AJ, AMARAL MCE, BITTRICH V (1998) The fragrant floral oils of
627 *Tovomita* species. *Phytochem* 49: 1009-1012
- 628 Nunes TM (2008) Reconhecimento parental em abelhas eussociais Neotropicais (Hymenoptera:
629 Apinae, Meliponini): uma análise dos mediadores químicos e seus determinantes em *Frieseomelitta*
630 *varia*. Dissertação - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, 113p
- 631 Oliveira FS, Ribeiro MHM, NUNEZ CV, ALBUQUERQUE PMC (2016) Flowering phenology of
632 *Mouriri guianensis* (Melastomataceae) and its interaction with crepuscular bees, *Megalopta amoena*
633 (Halictidae), in the restinga of Lençóis Maranhenses National Park, Brazil. *Acta Amazonica* 46(3)
- 634 Pinto RS, Albuquerque PMC, Rêgo MMC (2014) Pollen analysis of food pots stored by
635 *Melipona subnitida* Ducke (Hymenoptera: Apidae) in a Restinga area *Sociobiol* 61:461-469
- 636 Porto ALM, Machado SMF, Oliveira CMA, Bittrisch V, Amaral MCE, Marsaioli AJ (2000)
637 Polyisoprenylated benzophenones from *Clusia* floral resins. *Phytochem* 55:755-768
- 638 Raguso RA (2004) Why are some floral nectars scented? *Ecol* 85:1486-1494
- 639 Rasmussen C, Olesen JM (2000) Oil-flowers and oil-collecting bees. *In: Totland et al. (Eds.) The*
640 *Scandinavian Association for Pollination Ecology Honnours Knut Faegri*. Norweg. Acad. Lett.,
641 Oslo, p. 23,31
- 642 Reis MG (2000) A contribuição da química para o estudo das Orchidaceae e seus polinizadores.
643 Dissertação (Mestrado em Química)- Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química,
644 Campinas, São Paulo.

- 645 Reis MG, Faria AD, Bittrich V, Amaral MCE, Marsaioli AJ (2003). The chemistry of Flower-
646 rewards: *Oncidium* (Orchidaceae). J. Braz. Chem. Soc. 11: 600-608
- 647 Reis MG, Faria AD, dos Santos IA, Amaral MDE, Marsaioli AJ (2007) Byrsonic acid – the clue to
648 floral mimicry involving oil-producing flowers and oil-collecting bees. J Chem Ecol 33:1421–1429
- 649 Renner SS (1984) Phaenologie, Bluetenbiologie, und Rekombinationsystemes einiger
650 zentralamogonischer Melastomataceen. Tese de doutorado, Universidade de Hamburg.
- 651 Roubik DW (1989) Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge, Mass Smithsonian,
652 514p
- 653 Schulz S, Yildizhan S, van Loon JJA (2011) The biosynthesis of hexahydrofarnesylacetone in the
654 butterfly *Pieris brassicae*. J Chem Ecol 37: 360-363
- 655 Seigler DS, Simpson BB, Martin C, Neff JL (1978) Free 3-acethoxyfatty acids in floral glands of
656 *Krameria* species. Phytochem 17: 995-1009
- 657 Seipold L, Gerlach G, Wessjohann L (2004) A new type of floral oil from *Malpighia*
658 *coccigera* (Malpighiaceae) and chemical considerations on the evolution of oil flowers. Chem.
659 Biodiv. 1: 1519-1528
- 660 Silvera K (2002) Adaptive radiation of oil-reward compounds among Neotropical Orchid species
661 (Oncidiinae). Tese de doutorado, Universidade da Florida, Florida, 71p
- 662 Simpson BB, Neff JL, Seigler DS (1977) *Krameria*, free fatty acids and oil-collecting bees. Nature,
663 267:150-151
- 664 Steiner KE (1985) The role of nectar and oil in the pollination of *Drymonia serrulata*
665 (Gesneriaceae) by *Epicharis*-bees (Anthophoridae) in Panama. Biotropica 17:217-229
- 666 Vogel S (1974) Ölblumen und ölsammelnde Bienen. Tropische und subtropische Pflanzenwelt 7:
667 285-547
- 668 Vogel S (1986) Ölblumen und ölsammelnde Bienen. Zweite Folge: *Lysimachia* und *Macropis*.
669 Tropische und subtropische Pflanzenwelt, 54: 149-312.
- 670 Vogel S (2009) The non African oil-flowers and their bees: A brief survey. In: Proceeding of 35th
671 Annals conference of the South African Association of Botanists (SAAB), Stellenbosch University
672 South Africa

7. Considerações finais

O presente trabalho proporcionou o desenvolvimento de três capítulos, sendo um já publicado na revista *Acta Amazonica*. Como considerações finais apresenta-se um breve resumo dos resultados mais importantes e reflexões a cerca do sistema de polinização aqui estudado.

O primeiro capítulo refere-se a interações de *Mouriri guianensis* e seus visitantes florais, especialmente as abelhas crepusculares *Megalopta amoena*. Neste estudo, confirmamos que *M. guianensis* foi uma importante fonte de pólen o qual foi coletado pelas abelhas por vibração. Nesta espécie a abelha *Melipona subnitida* extraiu as anteras e utilizou apenas as regiões das glândulas para vedar a entrada dos ninhos, indicando o uso do óleo floral. O principal resultado foi a associação desta espécie com visitantes noturnos *M. amoena*, configurando um caso de polinização crepuscular. Este sistema de polinização em flores de Melastomataceae é pouco citado na literatura e observado pela primeira vez em flores de *Mouriri*.

O segundo capítulo trata do sistema reprodutivo de *M. acutiflora* e *M. guianensis* e seus visitantes florais. Os resultados demonstraram que as espécies são autocompatíveis, embora a polinização biótica desempenhe importante papel na reprodução das espécies. O conhecimento dos sistemas reprodutivos em Melastomataceae é importante visto que a maioria dos estudos com esse foco concentram apenas em poucas tribos da família. Ambas as espécies de *Mouriri* são fontes regulares de recurso, atraindo um espectro similar de polinizadores que coletam o recurso predominantemente através do processo de vibração (*Buzz pollination*). O comportamento de coleta efetiva de óleo floral durante as visitas das abelhas as flores não foi identificado.

O terceiro e último artigo refere-se a química dos óleos florais disponibilizados por *Mouriri*, onde verificou-se que os óleos de *M. acutiflora* e *M. guianensis* analisados por CG/EM são constituídos de componente lipídicos, hidrocarbonetos e voláteis. Dois componentes presentes nos óleos de *Mouriri* também foram comuns nas abelhas visitantes, indicando a coleta dos óleos florais pelas abelhas visitantes. Assim, sugere-se que as espécies de *Mouriri* estudadas possam utilizar as glândulas e o óleo floral como material para vedação/proteção da entrada do ninho e como recurso floral. Contudo, é certo que estudos mais aprofundados sobre a composição química dos os ninhos e células de cria (estrutura, constituição), bem como sobre o comportamento de coleta dos óleos florais ainda são necessários para se concluir algo.

Muito se avançou no conhecimento de plantas produtoras de óleos florais desde a descoberta por Vogel (1969), porém ainda falta muito a ser esclarecido sobre a oferta desse recurso pelas plantas e coleta por abelhas especializadas nesse comportamento, principalmente em relação a utilização desse recurso pelas mesmas. Estudos aprofundados envolvendo não apenas o trabalho de

biólogos, mas também de químicos é fundamental para relacionar as análises químicas com observações biológicas e desvendar os componentes envolvidos nesse sistema de polinização.

Em relação à Melastomataceae não apenas a questão envolvendo óleos florais é de interesse, uma vez que esta é uma das mais importantes famílias da flora brasileira e devido sua ampla diversidade de espécies também é uma das que mais carece de estudos. As pesquisas desenvolvidas com a família são focadas em pouco gênero, logo, o presente trabalho mostra uma grande quantidade de dados acerca da fenologia da floração, biologia floral e sistema reprodutivo. Além de espectro de visitantes e química dos óleos florais. Ainda, apresenta o primeiro registro de interação entre abelhas *Megalopta* e flores de *Mouriri*, um caso interessante de sistema de polinização crepuscular.