UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Interação entre plantas produtoras de óleo floral e
abelhas coletoras de óleo floral (Apidae, Hymenoptera).”

Carlos Eduardo Pinto da Silva

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras
de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutor em Ciências, Área:
ENTOMOLOGIA

RIBEIRÃO PRETO -SP

2013

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

“Interação entre plantas produtoras de óleo floral e
abelhas coletoras de óleo floral (Apidae, Hymenoptera).”

Carlos Eduardo Pinto da Silva

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras
de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para a
obtenção do título de Doutor em Ciências, Área:
ENTOMOLOGIA

Orientadora: Isabel Alves dos Santos.

RIBEIRÃO PRETO -SP

2013

Ficha Catalográfica

Pinto da Silva, Carlos Eduardo

Interação entre plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo floral (Apidae, Hymenoptera).

v + 93 páginas.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo.

1. Redes complexas 2. Polinizadores 3. Cerrado

I Universidade de São Paulo. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto.

Comissão Julgadora:

Prof (a). Dr (a).

Prof (a). Dr (a).

Prof (a). Dr (a).

Prof (a). Dr (a).

Prof^a. Dr^a. Isabel Alves dos Santos
(Orientadora)

Agradecimentos

Há um pouco mais de quatro anos cheguei a São Paulo para fazer o doutoramento na USP, e algumas pessoas foram importantes para mim neste período. Todas elas foram importantes no meu doutoramento e na produção da tese de alguma forma, e eu gostaria de citá-las aqui como forma de reconhecimento e gratidão.

Quando terminei o mestrado queria mudar de cidade e de pós-graduação, e dentro das exigências que tinha, pensei que São Paulo poderia ser uma boa opção. Então, (começar sentença com *Então* é bem paulistano) eu agradeço muitíssimo a pessoa que me encorajou e me ajudou a vir para São Paulo e norteou no caminho do doutorado, minha orientadora, Isabel Alves dos Santos.

A tese foi fruto de árduo, mas divertido, trabalho de campo. Ficar no meio do cerrado por esse tempo, com aquele sol na cabeça foi muito legal, ver bichos, plantas, toda manifestação dos organismos é divertidíssimo. Aí, eu tenho que agradecer imensamente meu companheiro de campo. Não fosse por Paulo César Fernandes (PC) eu ainda estaria coletando os dados. PC, obrigado pela ajuda e companhia nas coletas. Continuando em Itirapina, eu agradeço a todos os funcionários da Estação Ecológica Itirapina, em especial, a Paulo Rufino e a Dona Isabel que sempre foram muito atenciosos e carinhosos comigo e com PC na nossa estada em Itirapina. Não posso esquecer Júlio, dono do Ubar. Júlio foi responsável pelos melhores jantares e por ótimas conversas em Itirapina. Também quero agradecer Fabiana Pioker e Tiago Caetano que me ajudaram a delimitar as parcelas no começo do trabalho de campo.

Agradeço imensamente ao Programa de Pós-graduação em Entomologia da FFCLRP por dispor a infraestrutura e todo auxílio para que eu realizasse meu doutorado. Quero agradecer bastante Renata Cavallari pela paciência e eficiência em tirar todas as minhas dúvidas sobre protocolos, relatórios e afins. Agradeço também ao Instituto de Biociências, Departamento de Ecologia e Laboratório de Abelhas por me conceder infraestrutura necessária para o desenvolvimento da tese. Agradeço especialmente a Dr Paulo Nogueira Neto, Dra. Astrid Kleinert e Dra. Vera Lúcia Imperatriz Fonseca que cuidam com muito carinho o Laboratório de Abelhas. Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida, ao Instituto Florestal pela permissão de estudar na Estação Ecológica Itirapina.

No Laboratório de Abelhas, onde eu passei boa parte do doutorado, conheci algumas pessoas que me ajudaram um bocado nesse tempo, quero agradecer: Adriana da Silva, Aline Martins, André Luis Acosta, Antonio Aguiar, Charles Santos, Cristiane Krug, Denise Alves, Guaraci Duran, Maria da Gloria (Bá), Mariana Taniguchi, Mariana Imperatriz Fonseca, Rodolfo Jaffé, Renata Araujo, Sérgio Hilário, Sheina Koffler, Tarsila Coelho, Tereza Cristina Gianini, e Tiago Franco. Com essa galera eu troquei ideias sobre pesquisa (muitas vezes sobre a minha tese) e sobre amenidades, eles deixaram esse período muito agradável.

Quero agradecer alguns colegas de Pós-graduação em Ribeirão Preto que sempre foram muito solícitos e me ajudaram um bocado quando estive lá. Em especial, o pessoal da Rep. Enshark: Ayrton Vollet (Ganso), Filipi Plezio, Lucas Lecci, Bruno da Silva (lampião) e Marcelo (tola); também agradeço Kátia Aleixo, Letícia Farias e Mauricio Castro (Frutíli).

Eu quero agradecer também três professores que dedicaram uma parte do seu tempo para conversar comigo sobre e/ou ler parte da minha tese. Os comentários que eles fizeram foram de grande valia e me ajudaram bastante. São eles: Marcelo Aizen, Marco Mello e Paulo Guimarães Jr..

Agradeço Sidnei Mateus e Cynthia Pinheiro Machado por terem aceitado colaborar num dos capítulos de tese e cederem seus dados.

Gostaria de agradecer Dr. Antonio Aguiar e Dr. Felipe Vivallo pela identificação das espécies de abelhas coletoras de óleo. Dra. Maria Mamede pela identificação das espécies de plantas produtoras de óleo floral. Agradeço o Dr. Tiago Franco pela cessão da lupa para fotografar os indivíduos de *Tetrapedia diversipes*.

Agradeço a Dra. Anita Marsaioli e ao Dr. Muhammad Haleem por aceitarem serem colaboradores no quarto capítulo realizando as análises químicas.

Na minha estadia paulistana eu fiz alguns amigos fora do laboratório, mas, dentro da biologia. São pessoas muito queridas com as quais partilhei muito do meu tempo. Quero agradecer Jomar Barbosa, Gustavo Oliveira, Julia Beneti, Esther Sebastián, Rachel Werneck, Luiz Ernesto C. Schmidt, Rodolpho Credo, Renato Lima, Ivy Chiarelli, Julia Astegiano, Laura Alencar, Thiago Loboda. Outra galera, muito companheira e querida, eu conheci mais ou menos fora do IB, são eles: Ana Mengardo, Andre Vieira (Mingau), Beatriz Cortez, Raphael Sayeg (Ceará), Caroline Coguetto, Luisa Maciel, Marcel Barranco, Vanessa Galassi e Gastón Lopez. Também quero agradecer a João Paulo Capretz (Gordo) com quem divido o apto, conversas, aperreios há três anos.

Como citei acima, eu fiz o mestrado em outro local (não só o mestrado, a graduação também). O “outro local” é o Recife (minha terrinha) e lá, nessa época, eu conheci pessoas fantásticas que eu quero agradecer. Pois, apesar da distância são importantes na minha formação (graças à tecnologia). Quero agradecer Clemens Schlindwein, que foi responsável pela minha iniciação no mundo da pesquisa e com quem aprendi muitas coisas. Aos meus outros grandes amigos do Laboratório Plebeia que sempre ajudaram com conversas, conselhos, companhia, em especial: Airton Carvalho, Artur Maia, Carlos Eduardo Beserra, Maise Silva, Paulo Milet Pinheiro e Reisl Oliveira. Também agradeço a Braulio A. Santos pelas conversas e ajuda com as análises estatísticas.

Agradeço a todos da família Zampini que me acolheu com muito carinho e atenção durante todo o tempo que nos conhecemos. Em especial agradeço Juliana Zampini, minha companheira nos últimos três anos e meio, pelo carinho, companhia, paciência e dedicação comigo, me ajudando na tese como minha revisora oficial de inglês.

Quero agradecer a toda minha família por todo carinho e apoio que sempre me dão. Agradeço, especialmente, minha Mãe, que está o tempo inteiro ao meu lado, me ajudando, me ensinando e cuidando de mim.

Apresentação

Esta tese é composta por quatro capítulos principais. Uma introdução geral irá apresentar brevemente os temas abordados nos quatro manuscritos que virão em sequencia. O primeiro capítulo “Variação temporal na interação entre plantas produtoras de óleo e seus visitantes florais”, trata de uma avaliação bianual da estrutura da rede de interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo floral, e o papel da abundância das plantas nessa interação. No segundo capítulo, intitulado “Variação espacial na interação entre plantas produtoras de óleo floral e seus visitantes florais.”, comparamos a rede de interação destes organismos em algumas localidades do cerrado e mostramos que um grupo de super-generalistas sustenta as interações em diferentes locais e que as interações mais especialistas tendem a ser perdidas. O terceiro capítulo “Análise morfométrica entre indivíduos de *Tetrapedia diversipes* provenientes de populações da Floresta Atlântica de São Paulo”, teve como objetivo correlacionar medidas morfométricas de indivíduos de *T. diversipes* com o sexo, tamanho do ninho, volume de alimento e população de origem. O quarto capítulo, “Odores voláteis de plantas produtoras de óleo floral são um sinal de atração para seus visitantes especializados?”, investigou se as plantas produtoras de óleo floral produzem compostos voláteis e se esses voláteis são utilizados pelas abelhas coletoras de óleo como sinal de atração. Uma Conclusão Geral pontua os principais achados da tese.

Sumário

Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	xi
Lista de Anexos	xii
Resumo	13
Abstract	15
INTRODUÇÃO GERAL	17
Referências Bibliográficas	20
CAPÍTULO 1 “Variação temporal na interação entre plantas produtoras de óleo e seus visitantes florais.”	25
Resumo	26
Introdução	27
Metodologia	28
Resultados	31
Discussão	36
Referências Bibliográficas	40
CAPÍTULO 2 “Variação espacial na interação entre plantas produtoras de óleo floral e seus visitantes florais.”	44
Resumo	45
Introdução	46
Metodologia	47
Resultados	51
Discussão	63
Referências Bibliográficas	69

CAPÍTULO 3 “Análise morfométrica entre indivíduos de <i>Tetrapedia diversipes</i> Klug, 1810 provenientes de populações da Floresta Atlântica de São Paulo.”	74
Resumo	75
Introdução	76
Metodologia	77
Resultados	78
Discussão	83
Referências Bibliográficas	85
Anexo	88
CAPÍTULO 4 “Plantas produtoras de óleo floral produzem odores?”	89
Resumo	90
Introdução	91
Metodologia	92
Resultados	93
Discussão	94
Referências Bibliográficas	95
CONCLUSÃO GERAL	98

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 1 – Estação Ecológica Itirapina, à esquerda vista parcial de uma das parcelas de estudo.

Figura 2 – Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo na Estação Ecológica Itirapina. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à direita) e abelhas (à esquerda) estudadas e a espessura das colunas representam o número de interações de cada espécie. As linhas brancas, que conectam as colunas pretas, são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta. A) Rede de interação do 1º ano de estudo. B) Rede de interação do 2º ano de estudo.

Figura 3 – Medidas de abundância e interação das quatro espécies de plantas produtoras de óleo floral registrados em cada parcela nos dois anos de estudo (* significa que houve diferença na medida para a espécie entre anos). A) Número de plantas com flores. B) Número de flores. C) Número de interações. D) Número de visitas florais.

Capítulo 2

Figura 1 – Os dados das redes de interação estudadas foram coletados em cinco áreas de cerrado do Estado de São Paulo (1 – 5). No mapa do estado de São Paulo a linha contínua mostra a Rodovia Anhanguera, a linha tracejada mostra a Rodovia Washington Luis e os números mostram a localização das áreas de estudo.

Figura 2 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo na Estação Ecológica Jataí. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 3 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo na Estação Ecológica Pé de Gigante. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 4 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo no Fragmento Limoeiro. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 5 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo no Fragmento Posto. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 6 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo na Estação Ecológica Itirapina. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 7 – Similaridade das interações observadas nas cinco redes baseada no índice de Sorensen-Dice.

Figura 8 – Similaridade das espécies observadas nas cinco redes baseada no índice de Sorensen-Dice.

Figura 9 – O número de espécies de abelhas compartilhadas entre as redes e o número de interações compartilhadas entre as redes foi significativamente correlacionado segundo o resultado do teste de Mantel. Os pontos são as interseções entre o número de interações compartilhadas e o número de espécies de abelhas compartilhadas entre as áreas. Ver tabela 6.

Figura 10 – As cinco redes de interação estudadas mostram o número de interações observadas. As colunas pretas representam as espécies de plantas (abaixo), destaque para *B. intermedia* e abelhas (acima) estudadas, e a largura das barras representa o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Capítulo 3

Figura 1. Medidas feitas nos indivíduos de *Tetrapedia diversipes*. A – Largura da cabeça entre os olhos (seta pontilhada) e comprimento da cabeça (do ocelo central à fissura do labro). B – Distância intertegular.

Figura 2. Comprimento da cabeça de indivíduos de *Tetrapedia diversipes* emergentes das populações estudadas. O *box plot* mostra a mediana, os *quartis* e o máximo e mínimo dos valores obtidos para este comprimento.

Figura 3. Massa seca (mg) dos indivíduos do sexo masculino e feminino das duas populações de *Tetrapedia diversipes* estudadas. A medida é referente aos valores médios de todos os indivíduos de cada sexo, independente da população de origem.

Figura 4. Comparação das medidas morfológicas dos indivíduos de *T. diversipes* emergentes do Laboratório de Abelhas no município de São Paulo do experimento com manipulação de alimento (n = 26, sendo 13 controles e 13 manipulados). O *box plot* mostra a mediana, os *quartis* e o máximo e mínimo da: A) Largura da cabeça; B) Comprimento da cabeça; C) Massa seca.

Figura 5. Regressão linear entre as medidas morfológicas de indivíduos de *T. diversipes* emergentes (n = 13) e o peso do pólen retirado de cada célula. A) Largura da cabeça; B) Comprimento da cabeça; C) Massa seca.

Capítulo 4

Figura 1. Os gráficos mostram o resultado da análise de GCMS, no qual é possível verificar o tempo de retenção e os picos dos voláteis que foram armazenados na mistura de Tenax-TA e Carbopack X. de etila das flores de *Byrsonima intermedia*. Os números indicados nos picos dos gráficos são as substâncias identificadas, elas são: 1) 3,7 Ácido diacetoxycosanoico. 2)- Nonacosano, 3) – Ácido byrsonico. 4) – 5 Hidroxi – 4,7 dimetoxylavonona.

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1. Índices de estrutura das redes de interações planta-abelha estudadas. Grau de especialização da rede, representada pelo H_2' , que varia de zero (sem especialização) a um (especialização completa). NODF e Modularidade das redes, quanto maior o valor mais aninhado e/ou modular é o sistema, ao lado de cada um desses índices está o seu valor de significância (p-valor) e o Z score.

Tabela 2. Grau normalizado e Centralidade por proximidade das espécies de plantas produtoras de óleo floral das rede de interação do 1º ano e 2º ano. Os valores variam de zero a um e quanto maior mais generalista (grau normalizado) e/ou mais central (centralidade por proximidade) é a espécie.

Tabela 3 Grau normalizado e Centralidade por proximidade das espécies de abelhas coletoras de óleo das rede de interação do 1º ano e 2º ano. Os valores variam de zero a um e quanto maior mais generalista (grau normalizado) e/ou mais central (centralidade por proximidade) é a espécie.

Tabela 4. ANOVA modelo misto para medidas repetidas de número de plantas e número de flores, número de interações e número de visitas florais registrados nas parcelas do cerrado da E.E. Itirapina.

Capítulo 2

Tabela 1. Espécies de abelhas coletoras de óleo floral que foram coletadas em flores de plantas produtoras de óleo floral nas áreas de Cerrado estudadas.

Tabela 2. Espécies de plantas produtoras de óleo floral que foram registradas com flores e visitadas por abelhas coletoras de óleo floral nas áreas de Cerrado estudadas.

Tabela 3. Índices de estrutura das redes de interações planta-abelha estudadas. Grau de especialização da rede, representada pelo H_2' , que varia de zero (sem especialização) a um (especialização completa). Aninhamento (NODF) e Modularidade das redes, quanto maior o valor mais aninhado e/ou modular é o sistema, ao lado de cada um desses índices está o seu valor de significância (p-valor) e o Z score (ver métodos).

Tabela 4. O grau normalizado (interações observadas/interações possíveis) das espécies de abelhas coletoras de óleo floral e plantas produtoras de óleo floral em cada rede de polinização. O índice varia de zero a um, e quanto maior mais generalista é a espécie em questão.

Tabela 5. Espécies de abelhas coletoras de óleo floral centrais em cada rede de polinização de acordo com a métrica centralidade por proximidade.

Tabela 6. Na diagonal superior estão os números de interações compartilhadas entre duas redes, e na diagonal inferior estão os números de espécies de abelhas/plantas compartilhadas pelas cinco redes.

Tabela 7. ANOVA modelo misto para medidas repetidas de número de plantas com flores registrados nas 30 parcelas do cerrado da E.E. Itirapina.

Tabela 8. Número de indivíduos com flores nas parcelas estudadas na E.E. Itirapina. Média e desvio padrão da abundância das plantas por parcela, os valores que compartilham as mesmas letras em sobrescrito não diferem significativamente (n significa número de parcelas).

Capítulo 3

Tab. 1. Valor médio e desvio padrão das medidas tomadas nos machos e fêmeas de *Tetrapedia diversipes* das populações de Ilhabela e Boracéia.

Tabela 2. Medidas das células de *T. diversipes*, das quais os indivíduos analisados emergiram.

Lista de Anexo

Indivíduos de *Tetrapedia diversipes* emergidos de ninhos armadilhas no Campus da Universidade de São Paulo. Dos 26 indivíduos emergidos, o alimento não foi manipulado (controle) em 13 e em outros 13 o alimento foi retirado (manipulado). As abelhas foram medidas e a valor do peso do pólen é referente à quantidade de massa polínica retirada de cada célula. As abelhas de células controle não tiveram alimento retirado.

Resumo - A interação entre plantas e seus visitantes florais forma uma rede de interação complexa. Essa rede de interação possui propriedades emergentes que caracterizam a estrutura da rede. A composição, a riqueza e o papel das espécies nas redes de interação podem variar espaço-temporalmente e levar a alteração na estrutura das redes. A estrutura também pode variar de acordo com o grau de dependência entre os pares de espécies. É esperado que interações com elevado grau de dependência mútua variem menos no tempo e no espaço. A interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo é de alta dependência mútua, já que as abelhas necessitam do óleo para alimentar as larvas e construir ninhos e são polinizadores mais importantes dessas plantas. O alimento larval destas abelhas é composto por pólen, óleo e néctar. A quantidade de alimento disponível para as larvas pode influenciar o tamanho dos adultos quando emergirem. As espécies de abelhas coletoras de óleo são solitárias, ou seja, não existe contato entre as gerações. Assim uma abelha recém-emergida deve ser capaz de encontrar as fontes de óleo, seguindo algum sinal de atração, que poderia ser através de odores voláteis. No presente trabalho analisamos se a estrutura da rede de interação formada pelas plantas produtoras de óleo floral e seus visitantes coletores de óleo varia espacialmente e temporalmente. Para a análise temporal coletamos dados da interação por dois anos em Itirapina, São Paulo. No estudo de variação espacial comparamos as redes de interação em cinco áreas de cerrado no interior de São Paulo. Em ambos os estudos usamos métricas de redes complexas. Além disso, estudamos a relação entre tamanho de célula de cria e quantidade de alimento disponível para as larvas e tamanho das abelhas adultas ao emergirem, para uma espécie de abelha coletora de óleo: *Tetrapedia diversipes*. Para isso medimos abelhas e suas células de cria e relacionamos estas medidas. Também manipulamos a quantidade de alimento disponível para as larvas e medimos os adultos emergidos. Por fim, procuramos odores voláteis em *Byrrsonima intermedia*. Coletamos odores voláteis com a técnica de *dynamic headspace*. Analisamos as coletas com GCMS. A estrutura da rede de interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo variou espaço-temporalmente. A análise temporal mostrou que o grau

de especialização da rede foi fortemente alterado entre os anos de estudo e que a abundância foi um fator importante para explicar a ocorrência das interações. As espécies que tiveram suas abundâncias alteradas entre os anos também tiveram alteração no número de interações. Na análise espacial observamos que as interações e as espécies compartilhadas entre os locais de estudo foram aquelas com maior grau de interação (generalista). Além das interações e espécies generalistas se manterem nas cinco localidades, as espécies generalistas sustentam as espécies localmente raras. *Byrsonima intermedia* foi considerada uma espécie super-generalista nas cinco redes analisadas e 77% das interações compartilhadas envolveram esta espécie. A morfometria dos indivíduos de *Tetrapedia diversipes* estudados foi positivamente correlacionada com o volume da célula de cria e a quantidade de alimento. Quando relacionamos o volume das células de cria com as medidas corpóreas das abelhas verificamos que as abelhas maiores emergiram em células maiores. No entanto essa relação foi fraca. Após o experimento de manipulação de alimento verificamos que as abelhas emergidas de células sem manipulação foram maiores que as abelhas que tiveram o alimento retirado, e que entre as abelhas manipuladas aquelas que receberam mais alimento foram maiores. Nós não encontramos odores voláteis em flores de *Byrsonima intermedia*.

Abstract – The plant pollinator interaction forms a complex network. These networks have emergent properties that characterize the structure of network. The number, identity and species' role of the network may vary spatio-temporally and lead to changes in the structure of the networks. Moreover, the structure may vary according to the dependence degree of the interacting pairs. It is expected that interactions with a high mutual dependence degree are more stable. The interaction between oil producing plants and oil collecting bees is highly mutual dependence, since bees need oil to feed the larvae and are pollinators of these plants. The larval diet consists of pollen and oil/nectar. The amount of food available to the larvae may influence the adults' size. The oil collecting bees are solitary, i.e., there is no contact between generations. Thus, a naive emerged bee should be able to find the oil plants, using some attractive cues that could be volatile odor. In this work we want to answer if the network structure of the interaction between oil producing plants and oil collecting bees varies spatially and temporally. For the temporal analysis we carried out field work for two years at Itirapina, São Paulo. In the study of spatial variation we compare interaction networks in five areas of cerrado. In both studies we use metrics of complex networks. Furthermore, we studied the relation between size of adult bees (*Tetrapedia diversipes*) and brood cell sizes and the amount of food available for the larvae. We measured the bees and their brood cells and relate it. Also we manipulated the amount of food available for the larvae and we took measures of the adults. Finally, we search for volatile odors in *Byrsonima intermedia*. We collect volatile odors with the technique of dynamic headspace. We analyzed the samples with GCMS. The network structure of interaction between oil producing plants and oil collecting bees varied spatio-temporally. The temporal analysis showed that the specialization degree of the network changed between the years and that the abundance has a key role to explain the occurrence of interactions. Species that had changed their abundances between years were also changed in the number of interactions. Spatial analysis found out that the interactions and species ubiquitous among the study sites were those that had the greatest interaction degree (generalist specie). Moreover, generalist species maintain the

locally rare species. *Byrsonima intermedia* was regarded a super-generalist specie in the five networks analyzed and 77% of ubiquitous interactions involved this species. The morphometry of *Tetrapedia diversipes* individuals was positively correlated with the volume of the brood cells and the amount of food. When relating the volume of brood cells with measures of bees we found that larger bees emerged in larger cells. However this relationship was weak. The experiment of handling food showed that bees emerged from control cells were larger than bees that had the food removed, and between the manipulated bees those who received more food became bigger. We did not detect volatile odors in flowers *Byrsonima intermedia*.

Introdução Geral

A associação entre plantas e visitantes florais, assim como outros tipos de interação, forma uma rede complexa (Albert & Barabási 2002). As redes nas quais estão organizados os diferentes tipos de mutualismos compartilham características estruturais que são estáveis (Jordano *et al.* 2003). Através do uso da abordagem de redes complexas é possível evidenciar determinadas características de como as interações encontram-se organizadas na natureza. As métricas mais usadas dizem respeito ao número de interações que cada espécie fez e à estrutura das redes. O grau é o número de interações que uma espécie *i* fez. O número de interações é o número de espécies do outro nível trófico com as quais a espécie *i* interagiu (Jordano *et al.* 2003). De acordo com o grau, as espécies são classificadas como generalistas (aquelas que fazem muitas interações) e especialistas (aquelas que fazem poucas interações). A distribuição do grau nas redes mutualísticas segue a lei de potência ou de potência truncada, onde há um elevado número de espécies com valores de grau baixos, e poucas espécies com valores de grau elevados (Jordano *et al.* 2003). De uma forma geral, as espécies tendem a se conectar com aquelas com elevado valor de grau do outro nível trófico, o chamado anexo preferencial (Barabási & Albert 1999). A diferença no grau das espécies e a associação entre generalistas e especialistas são assimetrias que aparecem em várias redes mutualísticas (Jordano 1987). Outro padrão bastante encontrado em redes mutualísticas é a estrutura aninhada. O aninhamento surge de uma assimetria das interações e ocorre quando as espécies mais especialistas interagem com um subconjunto dos parceiros das espécies mais generalistas, e raramente as espécies especialistas interagem entre si (Bascompte *et al.* 2003). Em geral, a estrutura aninhada é encontrada em mutualismos facultativos (Bascompte *et al.* 2003, Guimarães *et al.* 2006). Em mutualismos com elevado grau de dependência entre as espécies, geralmente, encontra-se a estrutura modular (Fonseca & Ganade 1996). A modularidade ocorre quando um grupo de espécies interage mais entre si do que com as demais espécies da rede, formando um compartimento. As diferenças entre a estrutura de diferentes tipos de mutualismos mostram que o grau de intimidade das espécies interagentes resulta em diferentes formas de organização da rede. Por consequência, os mutualismos com graus diferentes de intimidade entre as espécies têm dinâmicas evolutivas distintas (Thompson 2005, Pires & Guimarães 2012). Por exemplo, a estrutura modular de interações com alto grau de dependência leva a dinâmicas evolutivas previsíveis, onde cada mudança evolutiva quase sempre gera uma resposta evolutiva na rede. Por outro lado, a estrutura aninhada de interações facultativas faz com que a maior parte das mudanças evolutivas não leve à respostas evolutivas na rede. Mas, quando um generalista apresenta uma mudança evolutiva existe uma resposta evolutiva em várias espécies na rede (Guimarães *et al.* 2007).

Entender se a topologia de redes de interação planta-polinizador varia é uma meta desejável, porque testa a hipótese de topologia constante. Bascompte *et al.* (2006) argumentam que as propriedades de redes de polinização podem dar idéias do passado da história coevolutiva, que assume interações relativamente fixas. De fato, há uma boa razão para erguer uma hipótese alternativa de topologia variável. Populações de insetos polinizadores muitas vezes oscilam entre anos (Williams *et al.* 2001), de modo que o seu papel como generalistas e especialistas poderiam flutuar anualmente como suas populações. Comunidades de plantas podem variar menos durante curtas escalas de tempo, isso se as espécies são predominantemente de vida longa. Porém, a produção de flores numa população inteira pode variar substancialmente. Tepedino & Stanton 1980 e Ollerton & Lack 1998 sugerem que as plantas podem ser tão sensíveis quanto os polinizadores à variações anuais em temperatura e precipitação. Também sabemos que as populações de planta podem experimentar qualitativamente ou quantitativamente diferentes tipos de polinizadores através do tempo (Cane *et al.* 2005, Ollerton *et al.* 2007). Essa variação poderia potencialmente alterar a estrutura de rede e resultar em mudanças nas espécies que ocupam funções ecológicas específicas. Por exemplo, o grupo de espécies generalistas com as quais a maioria dos especialistas interage. As espécies de plantas ou de polinizadores abundantes em cada ano são susceptíveis a interagir com um grande número de espécies e parceiros, sendo generalistas, enquanto que as espécies relativamente raras são susceptíveis a interagir com apenas alguns parceiros e funcionam como especialistas (Dupont *et al.* 2003, Ollerton *et al.* 2003, Vázquez & Aizen 2004). Realmente, estudos verificaram que a estrutura das redes de interação pode variar ao longo do tempo ou do espaço. De uma forma geral, o aninhamento e a modularidade não variam espaço-temporalmente (Petanidou *et al.* 2008, Dupont *et al.* 2009). No entanto, a composição, abundância e o papel das espécies nas redes de interação alteram-se espaço-temporalmente (Olesen *et al.* 2008).

As redes de interação tem um papel importante na manutenção da biodiversidade (Bascompte *et al.* 2006), mediação das respostas do ecossistema às mudanças ambientais (Brooker 2006, Suttle *et al.* 2007) e à estabilidade dos serviços ecossistêmicos (Ives & Carpenter 2007). Na estrutura das redes de interação, por exemplo, a assimetria das interações leva a uma redundância nas interações, que previne extinções (Memmott *et al.* 2004, Schleuning *et al.* 2012). A tolerância das redes de interação à extinção de espécies é maior num cenário de extinções aleatórias (Kaiser-Bunbury *et al.* 2010). No entanto, as extinções nas redes de interação não são aleatórias, as espécies e interações especialistas e menos frequentes são mais propensas à extinção (Aizen *et al.* 2012). As espécies generalistas parecem possuir papel importante na manutenção da estrutura das redes de interação, essas espécies formam um grupo central de interações, sendo conectoras das redes e

mantenedoras das interações localmente raras (Bastolla *et al.* 2009, Thébault & Fontaine 2010, Fang & Huang 2012, Mello *et al.* 2012).

Muitas Angiospermas dependem de um vetor para transferir pólen de uma flor para estigmas co-específicos (Real 1983, Bawa 1990). Os visitantes vão às flores procurando, principalmente, néctar e pólen. Em alguns casos, são oferecidos odores florais, resinas e óleo (Dressler 1982, Dafni 1992, Endress 1994). As relações entre plantas e visitantes florais produziram interações de forte dependência mútua e interações facultativas (Faegri & Van der Pijl 1971). Entre as relações de dependência mútua está a interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo (Vogel 1969, Neff & Simpson 1981). As plantas produtoras de óleo floral pertencem a 11 famílias (Renner & Schaefer, 2010). O óleo floral é produzido em glândulas chamadas de elaióforos, que podem ser de dois tipos: epitelial e tricomático. Os elaióforos epiteliais são pequenas áreas de epiderme secretora na qual o óleo se acumula embaixo da cutícula. Os elaióforos tricomáticos são tricomas glandulares que secretam óleo (Vogel 1974). As abelhas coletoras de óleo floral pertencem a mais de 330 espécies (Alves dos Santos *et al.* 2007), e possuem adaptações morfológicas e/ou comportamentais para a coleta deste recurso (Neff & Simpson 1981). O óleo é utilizado na impermeabilização dos ninhos e na alimentação larval, misturado ao pólen (Neff & Simpson 1981, Buchmann 1987). As abelhas coletoras de óleo não possuem relação estreita com as plantas fontes de néctar e pólen, apenas com as fontes de óleo. Essas abelhas são solitárias e as fêmeas nidificam em orifícios preexistentes de madeira ou no solo (Silva *et al.* 2001, Aguiar & Gaglianone 2003, Gaglianone 2005). Os ninhos são compostos por várias células de cria, onde a fêmea coloca um ovo e o alimento (Aguiar & Garófalo 2004, Alves dos Santos 2006). A quantidade de alimento que as abelhas colocam para as larvas parece ser importante para o tamanho que esses indivíduos terão quando emergirem (Johnson 1990, Rooijakkers & Sommeijer 2009, O'Neill *et al.* 2010). O tamanho das abelhas adultas está relacionado com a capacidade de voo, com o número de ovos e com defesa de território (Ribeiro 1994, Alcock 1995, Rooijakkers & Sommeijer 2009). Assim, a quantidade de alimento disponível para as larvas pode afetar seu sucesso reprodutivo quando adulto. Para as espécies de abelhas que nidificam em cavidades pré-existentes o tamanho da célula de cria é limitado pelo diâmetro da cavidade (Klostermeyer *et al.* 1973). Dessa forma, parece haver uma relação entre tamanho da célula de cria, quantidade de alimento provisionado e tamanho das abelhas adultas.

As abelhas coletoras de óleo são solitárias, ou seja, a cria não tem contato com a geração anterior (Michener 2007). Assim, as abelhas devem ser capazes de identificar e coletar as fontes de óleo que são necessárias à sobrevivência da sua prole. Em outros grupos de abelhas solitárias com

forte dependência das fontes florais foi verificado que os odores voláteis produzidos pelas plantas hospedeiras seriam o sinal responsável para as abelhas reconhecerem as plantas (Dobson & Bergstrom 2000, Burger *et al.* 2011). Os odores voláteis produzidos por uma espécie de planta produtora de óleo floral do velho mundo (*Lysimachia punctata* Myrsinaceae) atraiu indivíduos da abelha coletora de óleo (*Macropis fulvipes* - Melittidae) (Dötterl & Schächler 2007). Dessa forma, parece razoável que as espécies de plantas produtoras de óleo floral presentes no cerrado produzam odores voláteis, e que estes odores sejam um sinal de atração utilizado pelas abelhas coletoras de óleo.

Nesta tese foi investigado se a estrutura da interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo varia espaço-temporalmente, e se a abundância das plantas influencia a formação das interações. Também foi investigada a relação entre volume de célula de cria e quantidade de alimento com o tamanho dos adultos de *Tetrapedia diversipes*. Por fim, foi estudado se uma espécie de planta produtora de óleo floral (*Byrsonima intermedia*) produz odores voláteis.

Referências

- Aguiar, C.M.L. & Gaglianone, M.C. (2003) Nesting biology of *Centris* (*Centris*) *aenea* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Centridini). Revista brasileira de Zoologia 20: 601-606.
- Aguiar, C.M.L. & Garófalo, C.A. (2004) Nesting biology of *Centris* (*Hemisiella*) *tarsata* Smith (Hymenoptera, Apidae, Centridini). Revista brasileira de Zoologia 21: 477-486.
- Aizen, M., Sabatino, M. & Tylianakis, J.M (2012) Specialization and Rarity Predict Nonrandom Loss of Interactions from Mutualist Networks. Science 335: 1486 – 1489.
- Albert, R., & Barabasi, A.L. (2002). Statistical mechanics of complex networks. Review Modern Physics 74: 47–97.
- Alcock, J. (1995) Body size and its effect on male-male competition in *Hylaeus alcyoneus* (Hymenoptera: Colletidae). Journal of Insect Behavior 8:149-159.
- Alves dos Santos, I. (2006) Nidificação em abelhas coletoras de óleo. Anais do VII Encontro sobre Abelhas, Ribeirão Preto, SP. pp, 199-209.
- Alves dos Santos, I., Machado, I.C. & Gaglianone, M.C. (2007) História Natural das abelhas coletoras de óleo. Oecologia Brasiliensis 11: 544-557.
- Barabasi, A.L., & Albert, R. (1999). Emergence of scaling in random networks. Science 286: 509–512.

- Bascompte, J., Jordano, P. & Olesen, J.M. (2006) Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Science* 312: 431–433.
- Bascompte, J., Jordano, P., Melián, C.J. & Olesen, J.M. (2003) The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 9383 - 9387.
- Bastolla, U., Fortuna, M.A., Pascual–García, A., Ferrera, A., Luque, B. & Bascompte, J. (2009) The architecture of mutualistic networks minimizes competition and increases biodiversity. *Nature* 458: 1018–1021.
- Bawa, K.S. (1990) Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 399 - 422.
- Brooker, R.W. (2006) Plant–plant interactions and environmental change. *New Phytologist* 171: 271 - 284.
- Buchmann, S.L. (1987) The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review Ecology and Systematics* 18: 343-369.
- Burger, H., Dötterl, S., Häberlein, C., Schulz, S. & Ayasse, M. (2011) An arthropod deterrent attracts specialised bees to their host plants. *Oecologia* 168: 727 - 736.
- Cane, J.H., Minckley, R.O.B.E., Kervin, L.I.N.D. & Roulston, T. (2005) Temporally persistent patterns of incidence and abundance in a pollinator guild at annual and decadal scales: the bees of *Larrea tridentata*. *Biological Journal of Linnean Society* 85: 319-329.
- Dafni, A. (1992) Pollination ecology a practical approach. Oxford University Press, New York. 272 pp.
- Dobson, H.E.M. & Bergström, G. (2000) The ecology of pollen odors. *Plant Systematics and Evolution* 222: 63 - 87.
- Dötterl, S. & Schöffler, I. (2007) Flower Scent of Floral Oil-Producing *Lysimachia punctata* as attractant for the Oil-Bee *Macropis fulvipes*. *Journal of Chemical Ecology* 33: 441 - 445.
- Dressler, R.L. (1982) Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 373 - 94.
- Dupont, Y.L., Padrón, B., Olesen, J.M. & Petanidou, T. (2009) Spatio-temporal variation in the structure of pollination networks. *Oikos* 118: 1261–1269.
- Dupont, Y.L., Hansen, D.M. & Olesen, J.M. (2003) Structure of a plant–flower-visitor network in the high-altitude sub-alpine desert of Tenerife, Canary Islands. *Ecography* 26: 301–310.
- Endress, P.K. (1994) Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press. Cambridge. 511 pp.

- Faegri, K. & van der Pijl, L. (1971) The Principles of Pollination ecology. Pergamon Press. London. 242 pp.
- Fang, Q. & Huang, S.Q. (2012) Relative stability of core groups in pollination networks in a biodiversity hotspot over four years. PLoS ONE 7:e32663.
- Fonseca, C., & Ganade, G. (1996) Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. Journal of Animal Ecology 65: 339 - 347.
- Gaglianone, M.C. (2005) Nesting biology, seasonality, and flower hosts of *Epicharis nigrata* (Fries, 1910) (Hymenoptera, Apidae, Centridini), with a comparative analysis for the genus. Studies on neotropical fauna and environment 40: 191 - 200.
- Guimarães, P.R., Rico-Gray, V., Dos Reis, S.F., & Thompson, J.N. (2006) Asymmetries in specialization in ant-plant mutualistic networks. Proceedings Biological sciences / The Royal Society 273: 2041 - 7.
- Guimarães, P.R., Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., Izzo, T. J., Dos Reis, S.F., & Thompson, J.N. (2007) Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. Current biology 17: 1797 - 803.
- Ives, A.R. & Carpenter, S.R. (2007). Stability and diversity of ecosystems. Science 317: 58–62.
- Johnson, M. D. (1990) Female size and fecundity in the small carpenter bee, *Ceratina calcarata* (Robertson) (Hymenoptera: Anthophoridae). Journal of the Kansas Entomological Society 63: 414 - 419.
- Jordano, P. (1987) Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence asymmetries, and coevolution. American Naturalist 129: 657 - 677.
- Jordano, P., Bascompte, J. & Olesen, J.M. (2003) Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions. Ecology Letters 6: 69 - 81.
- Kaiser-Bunbury, C.N., Muff, S., Memmott, J., Müller, C.B. & Caflisch, A. (2010) The robustness of pollination networks to the loss of species and interactions: a quantitative approach incorporating pollinator behaviour. Ecology Letters 13: 442 – 452.
- Klostermeyer, E.C, Mech, Jr., S.J. & Rasmussen, W.B. (1973) Sex and weight of *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae) progeny associated with provision weights. Journal of the Kansas Entomological Society 46:536 - 548.
- Mello, M.A.R., Bezerra, E.L.S. & Machado, I.C. (2013) Functional roles of Centridini oil bees and Malpighiaceae oil flowers in Biome-wide pollinations networks. Biotropica 45: 45 - 53.

- Memmott, J., Waser, N.M. & Price, M.V. (2004) Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proceedings of Royal Society London Series B: Biological Sciences* 271: 2605 - 2611.
- Michener, C.D. (2007) *The bees of the world*, 2nd edn. Baltimore, MD: John Hopkins University Press. 992 pp.
- Neff, J.L. & Simpson, B.B. (1981) Oil-collecting in the Anthophoridae (Hymenoptera): morphology, function and use in systematics. *Journal of Kansas Entomological Society* 54: 95 - 123.
- O'Neill, K.M., Pearce, A.M., O'Neill, R.P. & Miller, R.S. (2010) Offspring Size and Sex Ratio Variation in a Feral Population of Alfalfa Leafcutting Bees (Hymenoptera: Megachilidae). *Annals of The Entomological Society of America* 103: 775 - 784.
- Olesen, J.M., Bascompte, J., Elberling, H., Jordano, P. & Jens, M. (2008) Temporal Dynamics in a Pollination Network. *Ecology* 89: 1573 - 1582.
- Ollerton J. & Lack, A.J. (1998) Relationships between flowering phenology, plant size and reproductive success in *Lotus corniculatus* (Fabaceae). *Plant Ecology* 139: 35 - 47.
- Ollerton, J., Johnson, S.D., Cranmer, R. & Kellie, S. (2003) The pollination ecology of an assemblage of grassland asclepiads in South Africa. *Annals of Botany* 92: 807 - 834.
- Ollerton, J., Killick, A., Lamborn, E., Watts, S. & Whiston, M. (2007) Multiple meanings and modes: on the many ways to be a generalist flower. *Taxon* 56: 717 - 728.
- Pires, M.M. & Guimaraes, P.R. (2012) Interaction intimacy organizes networks of antagonistic interactions in different ways. *Journal of the Royal Society Interface* 10: 20120649.
- Petanidou, T., Kallimanis, A.S., Tzanopoulos, J., Sgardelis, S.P. & Pantis, J.D. (2008) Long-term observation of a pollination network: fluctuation in species and interactions, relative invariance of network structure and implications for estimates of specialization. *Ecology letters* 11: 564 - 75.
- Real, L. (1983) *Pollination biology*. Academic Press, New York. 338 pp.
- Renner, S.S. & Schaefer, H. (2010) The evolution and loss of oil-offering flowers—new insights from dated phylogenies for plants and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 365: 423 - 435.
- Ribeiro, M.F. (1994) Growth in bumble bee larvae: relation between development time, mass, and amount of pollen ingested. *Canadian Journal of Zoology* 72: 1978-1985.
- Rooijackers, E.F. & Sommeijer, M.J. (2009) Gender Specific Brood Cells in the Solitary Bee *Colletes halophilus* (Hymenoptera; Colletidae). *Journal of Insect Behaviour* 22: 492 - 500.

- Schleuning, M. *et al.* (2012) Specialization of Mutualistic Interaction Networks Decreases toward Tropical Latitudes. *Current Biology* 22: 1925 - 1931.
- Silva, F.O., Viana, B.F. & Neves, E.L. (2001) Biologia e arquitetura de ninhos de *Centris* (*Hemisiella*) *tarsata* Smith (Hymenoptera: Apidae: Centridini). *Neotropical entomology* 30: 541-545.
- Suttle, K.B., Thomsen, M.A. & Power, M.E. (2007). Species interactions reverse grassland responses to changing climate. *Science* 315: 640–642.
- Thompson, J.N. (2005) The geographic mosaic of coevolution. Chicago, IL: University of Chicago Press. 400 pp.
- Tepedino, V.J. & Stanton, N.L. (1980) Spatio temporal variation in phenology and abundance of floral resources on shortgrass prairie. *The Great Basin Naturalist* 40: 197 - 215.
- Thébault, E. & Fontaine, C. (2010) Stability of Ecological Communities and the Architecture of Mutualistic and Trophic Networks. *Science* 329: 853 - 856.
- Vázquez, D.P. & Aizen, M.A. (2004) Asymmetric specialization: a pervasive feature of plant-pollinator interactions. *Ecology* 85: 1251-1257.
- Vogel, S. (1969) Flowers offering fatty oil instead of nectar. XI Proc. Intl. Bot. Congress, Seattle, p. 229.
- Vogel, S. (1974) Ölblumen und ölsammelnde Bienen. *Trop. Subtrop. Pflanzenwelt* 7: 285-547.
- Williams, N.M., Minckley, R.L. & Silveira, F. (2001) Variation in Native Bee Faunas and its Implications for Detecting Community Changes. *Conservation Ecology* 5: 7. <
<http://www.consecol.org/vol5/iss1/art7/>>

Capítulo 1 – **Variação temporal na interação estreita entre plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo.**

Capítulo 1 – Variação temporal na interação estreita entre plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo.

Resumo – Redes de interação formadas por espécies com alto grau de intimidade devem variar pouco temporalmente, conter poucas espécies e sua topologia deve ser influenciada pela principalmente história evolutiva dos parceiros. Estudamos a interação especializada entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo durante dois anos. Nosso objetivo foi analisar a estabilidade desta rede ao longo do tempo e verificar se a topologia não é influenciada pela abundância. Na rede de interação do 1º ano foram formadas 13 interações de 15 possíveis, foi e composta por três espécies de planta e cinco espécies de abelhas. No 2º ano a rede foi especialista, ocorreram apenas 14 interações de 40 possíveis, e foi composta por quatro espécies de plantas e 10 espécies de abelhas. As três espécies de plantas e três espécies de abelhas presentes na rede do 1º ano fizeram parte da rede no 2º ano. No entanto, apenas quatro interações observadas no 1º ano foram novamente observadas no 2º ano. O número de interações variou com a abundância das plantas. As espécies *Byrsonima vaccinifolia* e *B. coccolobifolia* tiveram 5 e 4 interações (grau normalizado igual a 1 e 0,8) no 1º ano, respectivamente. No 2º ano a abundância destas plantas foi menor que no 1º ano e o grau foi de 0,2 e 0,1 (2 e 1 interação), respectivamente. A abundância e o número de interações de *B. intermedia* não variaram entre os anos. A estrutura da rede com alta dependência mútua formada pelas plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo demonstrou instabilidade e ser influenciada pela abundância.

Palavras-chave: Redes de interação; Centridini; Malpighiaceae; Cerrado.

Introdução

Nos trópicos, mais de 90% das espécies vegetais dependem de um vetor para realizar a polinização, em troca deste serviço as plantas oferecem recursos florais (Real 1983, Bawa 1990). Um desses recursos florais é o óleo, produzido em glândulas chamadas de elaióforos, que podem ser tricomáticos ou epiteliais (Vogel 1969, 1974). As plantas que produzem óleo floral pertencem a 11 famílias (Renner & Schaffer 2010) e são visitadas por mais de 330 espécies que coletam óleo (Alves dos Santos *et al.* 2007). A interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo é bastante estreita (Renner & Schaffer 2010). Muitas destas plantas são polinizadas pelas abelhas coletoras de óleo, e as abelhas dependem do óleo para completar seu ciclo de vida, já que a alimentação das larvas e construção do ninho depende deste recurso (Neff & Simpson 1981, Buchmann 1987). Essa relação estreita levou a modificações comportamentais e morfológicas adaptadas para a coleta do recurso (Neff & Simpson 1981). As abelhas coletoras de óleo apresentam cerdas simples ou ramificadas que formam um “pente” e estão presentes nos basitarsos anteriores e/ou médios e servem para raspar as glândulas de óleo nas flores (Roig Alsina 1997). Algumas espécies de abelhas podem interagir mais frequentemente com plantas de um determinado tipo de elaióforo (Machado 2004). As redes de interação formadas pelas plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo tem como espécies centrais as abelhas pertencentes aos gêneros *Centris*, *Epicharis* e as plantas dos gêneros *Byrsonima* e *Banisteriopsis* (Mello *et al.* 2012).

O grau de intimidade das interações afeta a estrutura das redes de interação (Guimarães *et al.* 2007). Interações com baixo grau de intimidade são mais aninhadas, mais ricas em espécies e sua estrutura é muito influenciada pela abundância (Bascompte *et al.* 2003, Guimarães *et al.* 2006). Por outro lado, em interações com alto grau de intimidade as redes são mais especializadas (Blüthgen *et al.* 2007), têm estrutura modular e são compostas por poucas espécies, quando comparadas com interações de menor dependência mútua (Fonseca & Ganade 1996, Pires & Guimarães 2012). Em interações estreitas espera-se que a topologia da rede seja estável e que a estrutura da rede seja influenciada pela história evolutiva entre os pares de espécies e que a abundância tenha pouca importância (Fonseca & Ganade 1996, Ollerton 2006). Nós estudamos a estreita relação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo por dois anos, e fizemos as seguintes questões: 1) As redes de interação das plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo floral são modulares, pobres em espécies e especializadas? 2) A topologia da rede é estável temporalmente? 3) A abundância influencia a estrutura das redes?

Metodologia

Área de estudo

O trabalho foi realizado durante dois anos na Estação Ecológica de Itirapina (EEI) (Fig. 1), situada entre os municípios de Itirapina e Brotas (22°00' - 22°15'S, 47°45' - 48°00'W, 720-750m de altitude). As coletas foram realizadas entre setembro de 2010 e fevereiro de 2011 (1º ano) e entre setembro de 2011 e fevereiro de 2012 (2º ano). A EEI tem uma área de 2.300 hectares, a vegetação é composta por espécies de cerrado, com fisionomias principalmente de campo sujo, campo limpo e campo cerrado.

Figura 1 – Estação Ecológica Itirapina, à esquerda vista parcial de uma das parcelas de estudo.

Coleta de dados

Trinta pontos georeferenciados foram sorteados e nestes pontos foram montadas parcelas fixas de 30 x 30 metros. Mensalmente as parcelas foram vistoriadas e qualquer planta produtora de óleo floral que estivesse com flores foi observada por 5 minutos. Durante a observação, quando chegou um visitante floral ele foi acompanhado visualmente e ele pode visitar as flores. Algumas espécies de abelhas coletoras de óleo fazem visitas em sequencia e voam rapidamente entre as flores, quando essas abelhas pairam no ar por algum tempo e não vão diretamente para a próxima flor é um indicio que ela irá se deslocar da planta observada. Neste momento a abelha era capturada. Ao coletarmos o animal, ele foi colocado em câmara mortífera com acetato de etila. Após os cinco minutos de observação em uma planta foram contados e anotados o número de flores abertas, foi anotado o número de visitas florais, a espécie do visitante floral, a espécie da planta observada, a hora e o dia da observação. O número de interações representa a quantidade de indivíduos de uma espécie de abelha coletados nas flores de uma determinada espécie de planta. Por sua vez, o número

de visitas foi contabilizado como o número de flores nas quais uma abelha pousou para coleta de recursos florais antes de deixar a planta. O visitante após a coleta foi identificado e depositado na coleção entomológica CEPANN - IBUSP.

Análise da variação do número de interações e abundância da assembléia

Com os dados coletados como descrito acima, foram comparados os dados de interação e abundância das plantas entre os anos. Os dados de interação foram o número de indivíduos de abelhas que foram coletados em cada espécie de planta nas parcelas estudadas nos dois anos de estudo. O segundo dado de interação foi o número de visitas florais que cada espécie de planta recebeu nos anos de estudo. Os dados de abundância foram o número de plantas com flores de cada espécie observadas nas parcelas e o número de flores de cada espécie. Com estas informações, comparamos se a interação (número de abelhas e número de visitas florais) e a abundância (número de plantas e número de flores) variaram entre os anos. Essa análise foi feita com modelo misto de ANOVA dois fatores com medidas repetidas.

Análise de redes de interação

Foram construídas matrizes de interação qualitativa e quantitativa com as espécies de plantas e seus visitantes florais a partir dos dados coletados em campo. As linhas da matriz representam as espécies de plantas (P) e as colunas representam as espécies de abelhas (A). Havendo interação entre determinada abelha e planta, o número de indivíduos que visitaram a planta foi anotado na interseção da linha com a coluna correspondente a estas espécies. As interações nas matrizes quantitativas são informações de número de interações observadas, enquanto as matrizes qualitativas são informações binárias (houve interação ou não).

Foram calculadas três métricas que descrevem a topologia das redes: a especialização da rede (H_2'), o aninhamento e a modularidade. H_2' é uma medida de especialização da rede baseada no desvio entre o número de interações realizadas por uma espécie e o número de interações esperado para cada espécie (Blüthgen *et al.* 2006). A equação básica é a mesma para diversidade de interação (Shannon H_2), mas o valor computado para uma dada rede (H_2) é padronizada contra o mínimo (H_{2min}) e o máximo (H_{2max}) possíveis para a mesma distribuição de interações totais: $H_2' = \frac{H_{2max} - H_2}{H_{2max} - H_{2min}}$. Assim, H_2' varia de zero (sem especialização) a um (especialização completa) (Dorman *et al.* 2009). Essa métrica foi calculada com o pacote bipartite do programa R (Dormann *et al.* 2000). O aninhamento de cada rede foi analisado usando o índice NODF, que varia entre 0 e 100, com o programa aninhado (Almeida-Neto *et al.* 2008). Foram simuladas 1000 matrizes aleatórias e

calculados os valores de NODF para cada matriz aleatória. Desta forma, para as redes dos dois anos, obtivemos uma distribuição aleatória de 1000 valores de NODF e comparamos o valor observado com essa distribuição de valores simulados para obtermos a probabilidade (p-valor) de o NODF observado ser ao acaso. A modularidade de cada rede foi analisada com o programa modular (Marquitti *et al.* 2012). O valor da modularidade pode variar entre 0 e 1. Para as duas redes foram simuladas 100 matrizes aleatórias e calculadas a modularidade de cada matriz aleatória. Comparamos o valor observado da modularidade da rede com os valores das 100 matrizes simuladas para obtermos a probabilidade (p-valor) da modularidade observada ser ao acaso.

Como os valores do aninhamento e modularidade são influenciados pelo tamanho da rede, não seria possível comparar os valores observados de NODF e modularidade entre as duas redes do nosso estudo. Para que essa comparação pudesse ser feita fizemos uma padronização de efeito de tamanho (*Standardized Effect Size* - SES) (Ulrich & Gotelli 2007) para o valor do aninhamento e modularidade das duas redes. Esta medida indica o número de desvios padrões que o índice observado está acima ou abaixo da média dos índices das matrizes simuladas (Gotelli & McCabe 2002). O SES foi calculado como *Z score* ($Z = \text{NODF observado} - \text{média do NODF simulado} / \text{desvio padrão do NODF simulado}$). Valores de *Z score* menores que zero indicam que o aninhamento observado foi menor que a média dos aninhamentos da matriz aleatória. O mesmo procedimento foi feito com o índice de modularidade. O papel das espécies de plantas e abelhas presentes nas redes de interação foi analisado através de duas medidas de centralidade: grau normalizado e a centralidade por proximidade (*closeness*) (Freeman 1978). O grau normalizado é o número de ligação (interação) que um nó (espécie) possui, sendo obtido pela divisão do número de interações feitas por tal espécie pelo número de interações possíveis. A centralidade por proximidade é definido como o inverso do distanciamento de um nó focal para os demais nós da rede. O distanciamento, por sua vez, é igual à soma das distâncias para todos os outros nós. Essas métricas de centralidade foram feitas com o pacote bipartite do programa R (Dormann *et al.* 2008).

Resultados

Descrição das redes de interação

Durante os dois anos de coleta na Estação Ecológica Itirapina, quatro espécies de plantas produtoras de óleo floral foram encontradas em floração e visitadas por 12 espécies de abelhas. As redes de interação formadas nos dois anos de estudo diferiram em número de espécies de plantas e de abelhas (Fig. 2A e B). A rede de interação no 1º ano foi composta por três espécies de planta, cinco espécies de abelhas, e 13 interações qualitativas observadas (93 interações quantitativas) (Fig. 2A). A rede no 2º ano foi composta por quatro espécies de planta, 10 espécies de abelhas, e 14 interações qualitativas observadas (71 interações quantitativas) (Fig. 2B). As três espécies de plantas presentes no 1º ano também estavam presentes no 2º ano e das cinco espécies de abelhas observadas no 1º ano três interagiram novamente no 2º ano. No entanto, apenas quatro de nove interações qualitativas entre uma determinada espécie de abelha e uma determinada espécie de planta se repetiu no 2º ano: *Centris nitens* e *Byrsonima intermedia*, *C. nitens* e *B. coccolobifolia*, *C. varia* e *B. intermedia* e *Xanthopedia larocai* e *B. intermedia*. Várias interações comuns no 1º ano, como *C. nitens* e *B. vacciniifolia*, ou *C. varia* e *B. coccolobifolia* não ocorreram no 2º ano mesmo estas espécies estando presentes. Estas espécies de abelhas migraram para *B. intermedia* e *Banisteriopsis oxyclada*, as espécies de plantas mais abundantes no 2º ano. *B. coccolobifolia* e *B. vacciniifolia* foram significativamente menos abundantes no 2º ano (Fig. 3).

Figura 2 – Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo na Estação Ecológica Itirapina. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à direita) e abelhas (à esquerda) estudadas e a espessura das colunas representam o número de interações de cada espécie. As linhas brancas, que conectam as colunas pretas, são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta. A) Rede de interação do 1º ano de estudo. B) Rede de interação do 2º ano de estudo.

Figura 3 – Medidas de abundância e interação das quatro espécies de plantas produtoras de óleo floral registrados em cada parcela nos dois anos de estudo (* significa que houve diferença na medida para a espécie entre anos). A) Número de plantas com flores. B) Número de flores. C) Número de interações. D) Número de visitas florais.

Topologia das redes de interação

A topologia das redes de interação alterou temporalmente, principalmente em relação ao grau de especialização da rede. Nos dois anos a estrutura das redes não foi significativamente modular e nem aninhada (ver p-valor, Tab. 1). Os valores absolutos do NODF e da modularidade diferem entre os anos. Porém, os valores de *Z score* do NODF e da modularidade ficam próximo de zero nas duas redes. Na rede do 1º ano os valores de *Z score* são negativos para aninhamento e modularidade. Esses resultados mostram que essa rede não possui compartimentos (módulos) e não é aninhada. A ausência de aninhamento e módulos podem ser verificados pela baixa especialização da rede (Tab. 1). Como pode ser visto na Fig. 2A, quase todas as interações possíveis são realizadas, apenas *Tropidopedia punctifrons* realizou uma interação. As outras quatro espécies de abelhas interagiram com as três espécies de plantas. Ao contrário da baixa especialização no 1º ano, verificamos uma

alta especialização no 2º ano (Tab. 1). Na rede do 2º ano, o aninhamento e a modularidade não foram significativos.

Tabela 1. Índices de estrutura das redes de interações planta-abelha estudadas. Grau de especialização da rede, representada pelo H_2' , que varia de zero (sem especialização) a um (especialização completa). NODF e Modularidade das redes, quanto maior o valor mais aninhado e/ou modular é o sistema, ao lado de cada um desses índices está o seu valor de significância (p-valor) e o Z score.

Rede de interação	H_2'	NODF	p-valor	Z score	Modularidade	p-valor	Z score
1º ano	0,035	54,6	0,21	- 0,0003	0,11	0,50	- 0,009
2º ano	0,7	36,6	0,11	0,08	0,41	0,46	0,04

Papel das espécies nas redes de interação

No 1º ano as três espécies de plantas e quatro das cinco espécies de abelhas fizeram muitas interações, sendo consideradas generalistas. Entre as plantas *B. vaccinifolia* teve grau máximo, pois, foi visitada pelas cinco espécies de abelhas registradas. No 2º ano duas espécies de plantas e três espécies de abelhas foram generalistas (ver grau normalizado Tab. 2 e 3). Estas duas espécies de plantas (*B. intermedia* e *B. oxyclada*) foram as mais abundantes no 2º ano (Fig. 3). Das espécies de plantas compartilhadas entre os anos apenas *B. intermedia* foi generalista nos dois anos. *Byrsonima coccolobifolia* e *B. vaccinifolia* possuem baixo grau normalizado no 2º ano, já que interagiram com apenas uma e duas espécies de abelhas (respectivamente) das 10 espécies presentes (Tab. 2) e foram significativamente menos abundantes no 2º ano (Fig. 3). Na rede do 2º ano indivíduos de *B. oxyclada* interagiram com metade das espécies de abelhas observadas.

Tabela 2. Grau normalizado e Centralidade por proximidade das espécies de plantas produtoras de óleo floral das rede de interação do 1º ano e 2º ano. Os valores variam de zero a um e quanto maior mais generalista (grau normalizado) e/ou mais central (centralidade por proximidade) é a espécie.

Planta	Grau normalizado 1º ano	Grau normalizado 2º ano	Centralidade por proximidade 1º ano	Centralidade por proximidade 2º ano
<i>Banisteriopsis oxyclada</i>	-	0,5	-	0,06
<i>Byrsonima coccolobifolia</i>	0,8	0,1	0,37	0,05
<i>Byrsonima intermedia</i>	0,8	0,7	0,65	0,43
<i>Byrsonima vaccinifolia</i>	1	0,2	0,47	0,37

Entre as abelhas compartilhadas *Centris nitens* foi generalista nos dois anos, *Centris varia* e *Xanthopedia larocai* interagem apenas com uma espécie de planta no 2º ano (Tab. 3). Entre as espécies de abelhas presentes apenas no 2º ano, destacam-se ainda *Epicharis cockerelli* e *E. bicolor* por terem realizado interações com três e 2 espécies de plantas (das quatro), respectivamente (Tab. 3). A maioria das espécies de abelhas (sete das 10) obteve grau 0,25 e interagiram com apenas uma espécie de planta da rede (Fig. 2 e Tab. 3).

Tabela 3 Grau normalizado e Centralidade por proximidade das espécies de abelhas coletoras de óleo das redes de interação do 1º ano e 2º ano. Os valores variam de zero a um e quanto maior mais generalista (grau normalizado) e/ou mais central (centralidade por proximidade) é a espécie.

Abelha	Grau normalizado 1º ano	Grau normalizado 2º ano	Centralidade por proximidade 1º ano	Centralidade por proximidade 2º ano
<i>Arhysoceble</i> sp.	-	0,25	-	0,08
<i>Centris aenea</i>	1	-	0,13	-
<i>Centris mocsaryi</i>	-	0,25	-	0,01
<i>Centris nitens</i>	1	0,75	0,44	0,08
<i>Centris tarsata</i>	-	0,25	-	0,06
<i>Centris varia</i>	1	0,25	0,21	0,06
<i>Epicharis analis</i>	-	0,25	-	0,05
<i>Epicharis bicolor</i>	-	0,5	-	0,05
<i>Epicharis cockerelli</i>	-	0,75	-	0,01
<i>Tetrapedia diversipes</i>	-	0,25	-	0,01
<i>Tropidopedia punctifrons</i>	0,33	-	0,01	-
<i>Xanthopedia larocai</i>	1	0,25	0,27	0,07

Na rede do 1º ano as espécies estão mais próximas dos seus pares do que no 2º ano: plantas estão mais próximas de abelhas e abelhas mais próximas das plantas, já que no 1º ano as espécies precisam de menos passos (ligações) para se conectar com todas as outras espécies com as quais pudessem parear. A maior proximidade entre as espécies da rede do 1º ano é mostrada pelos valores da centralidade por proximidade (Tab. 2 e 3). No 1º ano estes valores são maiores para todas as espécies quando comparados com o 2º ano. Entre as plantas, *B. intermedia* teve a maior centralidade nos dois anos e *B. oxyclada*, que apareceu no 2º ano, teve baixo valor de centralidade (Tab. 2). Para as espécies de abelhas, *C. nitens* teve o maior valor de centralidade no 1º ano e no 2º ano, no entanto, no 2º ano um valor alto de centralidade também foi obtido por *Arhysoceble* sp. (Tab. 3).

Abundância das espécies e das interações

Ao compararmos os dados de abundância e interações entre 1º ano e 2º ano, independentemente da espécie de planta, observamos diferença significativa em todas as medidas. Quando a comparação foi feita entre as espécies de plantas, sem considerar os anos, houve diferença significativa apenas no número de indivíduos com flores e no número de flores abertas. Na comparação das medidas de abundância e interação de cada espécie entre os dois anos de estudo verificamos diferença significativa em todas as medidas (Tab. 4). No teste *a posteriori* foi observado que para *B. intermedia* não houve diferença significativa nas medidas de abundância e interação entre os anos. Já para *B. vaccinifolia* e *B. coccolobifolia* foram observados mais indivíduos, mais flores, mais interações e mais visitas florais no 1º ano (Fig. 3).

O número de plantas com flores produtoras de óleo nas 30 parcelas no 1º ano foi em média: $\bar{x} = 7,37 \pm 0,94$ ($n = 26$) e no 2º ano $\bar{x} = 3,73 \pm 1,09$ ($n = 26$). A espécie com menor número de plantas com flores nos dois anos foi *B. coccolobifolia*, já *B. intermedia* teve o maior número de plantas com

flores nos dois anos (Fig. 3 A). O número médio de flores nas parcelas foi $\bar{x} = 155,29 \pm 28,08$ no 1º ano (n = 26); 2º ano foi $\bar{x} = 92,39 \pm 31,91$ (n = 26). O número médio de interações no 1º ano foi de $\bar{x} = 2,1 \pm 0,53$ (n = 25); no 2º ano foi $\bar{x} = 1,23 \pm 0,50$ (n = 25). Nos dois anos o menor número de interações foi registrado em *B. coccolobifolia*, os maiores números de interações foram registrados para *B. intermedia* no 1º ano e *B. oxyclada* no 2º ano (Fig. 3 C). O número de visitas florais no 1º ano foi de $\bar{x} = 7,08 \pm 2,73$ (n = 25); no 2º ano foi $\bar{x} = 7,18 \pm 2,60$ (n = 25). O menor número de visitas florais nos dois anos foi registrado em *B. coccolobifolia*, e os maiores números de visitas florais foram registrados em *B. intermedia* no 1º ano e *B. oxyclada* no 2º ano (Fig. 3 D).

Tabela 4. ANOVA modelo misto para medidas repetidas de número de plantas e número de flores, número de interações e número de visitas florais registrados nas parcelas do cerrado da E.E. Itirapina.

Termos dos modelos	g.l	F-ratio	p-valor
Número de Flores			
Ano	1	20,65	< 0,0001*
Planta	2	15,25	< 0,0001*
Ano x Planta	2	8,25	0,0005*
Nº de Parcelas	25	1,1	0,35
Número de plantas			
Ano	1	21,13	< 0,0001*
Planta	2	16,35	< 0,0001*
Ano x Planta	2	4,88	0,0097*
Nº de Parcelas	25	1,29	0,18
Número de interações			
Ano	1	9,7	0,0033*
Planta	2	0,47	0,62
Ano x Planta	2	3,73	0,032*
Nº de Parcelas	24	0,88	0,61
Número de visitas florais			
Ano	1	5,92	0,01*
Planta	2	0,77	0,46
Ano x Planta	2	4,12	0,02*
Nº de Parcelas	24	0,81	0,69

* p < 0,05

Discussão

Estudos de redes de interação ao longo do tempo mostram que a composição de espécies e as interações formadas se alteram temporalmente (Olesen *et al.* 2008). Porém, características topológicas das redes como: conectância, aninhamento e modularidade permaneceram estáveis (Petanidou *et al.* 2008, Dupont *et al.* 2009). Nas redes de interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo da E.E. Itirapina verificamos uma estabilidade em algumas características topológicas das redes, já que nos dois anos o aninhamento e a modularidade não foi significativo. Por outro lado, foi observada uma alteração no grau de especialização da rede, na composição das espécies e das interações, na abundância das espécies de plantas e no papel das espécies nas redes. A abundância das espécies de plantas parece explicar boa parte das mudanças

observadas na rede de interação estudada. As plantas que sofreram uma diminuição da abundância também experimentaram uma diminuição no número de interações, fazendo com que a rede de interação no 2º ano fosse mais especializada.

A manutenção de características topológicas da rede pode estar associada à resiliência da interação ao sofrer perturbações como mudança no número de espécies, número de interações e entrada de novas espécies (Basilio *et al.* 2006, Alarcon *et al.* 2008). A estrutura aninhada surge de uma assimetria de interações, ou seja, poucas espécies têm muitas interações e muitas espécies têm poucas interações. Além disso, as espécies especialistas devem interagir com um subconjunto dos parceiros que interagem com os generalistas (Bascompte *et al.* 2003). A rede do 1º ano teve baixa especialização, e todas as espécies de plantas e quatro das cinco espécies de abelhas foram generalistas. Assim, sem assimetria nas interações não temos uma estrutura aninhada. No 2º ano o grau de especialização foi maior, resultando em uma rede assimétrica, especialmente para as espécies de abelhas. No entanto, as espécies especialistas não interagiram necessariamente com um subconjunto dos parceiros das espécies generalistas.

A variação temporal na abundância das plantas impediu que interações observadas no 1º ano ocorressem no 2º ano e, por consequência alterou o grau de especialização da rede no 2º ano. O papel da abundância nas interações entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras pode ser verificado pela diminuição no número de interações feitas por *B. coccolobifolia* e *B. vaccinifolia* no 2º ano e pelo papel de generalista de *Banisteriopsis oxyclada* no 2º ano. A não ocorrência de algumas interações pode ser atribuída à baixa abundância de algumas espécies, ou ao chamado ligações não permitidas, ou seja, desconstruídas morfológicamente ou fenologicamente (Jordano *et al.* 2003 Vázquez 2005). Vázquez (2005) sugere que algumas interações não ocorrem por que podem existir desajustes fenológicos e/ou morfológicos que impedem o encontro, independentemente da abundância destas espécies. A hipótese das ligações não permitidas (*forbidden links*) não parece explicar bem a alteração no grau de especialização da rede em Itirapina, pois todas as espécies estavam com flores em todas as observações. Além disso, algumas interações não observadas no 2º ano foram registradas no 1º ano. Por exemplo, as interações envolvendo *C. varia* e *B. coccolobifolia*, *C. varia* e *B. vaccinifolia*, e a interação entre *X. larocai* com essas duas espécies de planta ocorreram no 1º ano e não ocorreram no 2º ano, mesmo com essas espécies estando ativas no período de estudo. As interações entre *E. bicolor*, *E. cockerelli* e *C. mocsaryi* com *B. coccolobifolia* não foram observadas em nosso estudo, no entanto, a interação dessas três espécies de abelhas com esta planta já foi registrada em outros locais (Machado 2004). Assim, podemos excluir a restrição morfológica como um fator que impediria a formação dessas interações na rede.

A baixa abundância das espécies pode prevenir a formação de interações simplesmente por uma questão de probabilidade. Se uma espécie ocorre em baixa frequência, existem menos chances de encontro com um parceiro interagente (Vázquez *et al.* 2007). Quando a abundância de *B. coccolobifolia* e *B. vaccinifolia* diminuiu, o número de interações destas espécies também diminuiu. Espécies com baixa abundância (raras) fazem menos interações (Dorado *et al.* 2011).

No 2º ano foi observado, além do menor número de interações de *B. coccolobifolia* e *B. vaccinifolia*, a presença de *B. oxyclada* e seu papel de generalista. No nosso estudo observamos a presença de sete espécies de abelhas e uma espécie de planta apenas no 2º ano. Estudos de fenologia de Malpighiaceae mostram que algumas espécies podem florir em períodos diferentes em dois anos consecutivos (Barros 1992, Torezan-Silingardi 2007). Por exemplo, *Byrsonima subterranea* terminou a floração em novembro no primeiro ano, já no segundo ano iniciou a floração em novembro (Barros 1992). Estudos que observaram redes de interação por alguns anos verificaram que as espécies que entraram na rede tenderam a interagir com as generalistas já bem estabelecidas e não com as espécies recém-chegadas (Olesen *et al.* 2008, Díaz-Castelazo *et al.* 2010). A expectativa de que novas espécies devam interagir com as espécies já presentes, principalmente as generalistas, têm uma forte relação com a abundância das novas espécies, que, em geral, é baixa (Aizen *et al.* 2008). No nosso caso, algumas espécies que estavam presentes apenas no 2º ano não corresponderam a essa expectativa, talvez em consequência da abundância das plantas. *Banisteriopsis oxyclada*, por exemplo, que floriu apenas no segundo ano, teve abundância elevada e número de flores e mais interações que a própria *B. intermedia*. As sete espécies de abelhas que estavam presentes apenas no 2º ano fizeram 10 interações, quatro delas com *B. oxyclada*, e duas destas espécies de abelhas interagiram exclusivamente com *B. oxyclada*. Esta espécie de planta fez cinco interações e apenas uma destas interações foi feita com uma espécie de abelha que estava presente no 1º ano. Os estudos mostrando que espécies recém-chegadas às redes fazem poucas interações e interagem com os generalistas retratam espécies exóticas e/ou invasoras (Olesen *et al.* 2008, Díaz-Castelazo *et al.* 2010). *B. oxyclada* é uma espécie que faz parte da rede de interação entre as plantas produtoras de óleo e as abelhas coletoras. No 1º ano certamente os indivíduos estavam presentes nas parcelas. Mas, estes indivíduos floriram apenas no 2º ano. Ao florir no 2º ano, em grande abundância, foi atrativa aos visitantes florais. Por causa da alteração na abundância das espécies e a alteração no número das interações entre os anos, parece razoável propor que a variação na abundância das plantas é responsável pela variação na formação das interações.

A relação entre abundância e número de interações é bem estudada em redes de interação (Jordano 1987). Sabe-se que o número de interações é positivamente correlacionado com a

abundância das plantas (Olesen *et al.* 2008). Porém, a influência da abundância na estrutura da rede de interação não é esperada para interações com alto grau de intimidade entre os parceiros (Pires & Guimarães 2012). A interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo, por ser muito especializada e alta dependência mútua entre os parceiros (Buchmann 1987, Alves-dos-santos *et al.* 2007), deveria ser estável. A estabilidade é esperada por que interações estreitas refletem uma história evolutiva entre os parceiros, que levaria a adaptação fenotípica entre as espécies (Fonseca & Ganade 1996, Pires & Guimarães 2012). No entanto, quando olhamos para a interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo, que formam um módulo de interação muito especialista e dependente dentro de uma comunidade de plantas e visitantes, vemos que essa interação possui características de interações de baixa dependência mútua. Verificamos alteração na estrutura da interação, assimetria de interações e influência da abundância na formação das interações.

As alterações observadas nas redes nos dois anos de estudo mostram que, mesmo numa rede de interação estreita, a dinâmica temporal pode impor fortes alterações. O nosso estudo de dois anos mostrou uma variação temporal no número de espécies e interações entre essas espécies. No 2º ano de estudo foram observadas sete espécies (uma planta e seis abelhas) que não ocorreram no 1º ano. Além da alteração na composição das espécies, observamos uma alteração na abundância das espécies de plantas que alterou a formação das interações. Estudos de longo prazo podem ser mais difíceis de serem feitos por que tem custos financeiros e de esforço de coleta mais elevados quando comparados a trabalhos que retratam um momento da comunidade. No entanto, a abordagem de longo prazo pode relatar melhor as características de uma rede de interação (Chacoff *et al.* 2012). Como foi mostrado neste trabalho, a alteração na estrutura e nas interações, a influência da abundância na formação das interações e o papel das espécies generalistas na rede de interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo, parece mostrar que uma rede de interação entre parceiros com forte dependência mútua deve ser organizada da mesma forma que são as redes de interação facultativas.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pela bolsa concedida a Carlos Eduardo Pinto da Silva (143001/2009-4) e Isabel Alves dos Santos (Fapesp 2004/00274-4). Ao Laboratório de Abelhas pela infraestrutura. Ao Instituto Florestal e à Estação Ecológica Itirapina pela licença para estudar na Estação. Ao Paulo

César Fernandes e Tiago Caetano pela ajuda no trabalho de campo. Ao Bráulio Almeida Santos pela ajuda nas análises estatísticas. Ao Paulo Guimarães Jr. pelos comentários e sugestões.

Referências Bibliográficas

- Alarcón, R., Waser, N.M. & Ollerton, J. (2008) Year-to-year variation in the topology of a plant-pollinator interaction network. *Oikos* 117: 1796 - 1807.
- Almeida-Neto M., Guimaraes P., Guimaraes P.R., Loyola R.D. & Ulrich W. (2008) A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. *Oikos* (in press: doi: 10.1111/j.0030-1299.2008.16644.x).
- Alves-dos-santos, I., Machado, I. C. & Gaglianone, M. C. (2007) História natural das Abelhas coletoras de óleo. *Oecologia Brasilienses* 11: 544 - 557.
- Aizen, M.A, Morales, C.L. & Morales, J.M. (2008) Invasive mutualists erode native pollination webs. *PLoS biology* 6: 396 - 403.
- Barros, M.A.G. (1992) Fenologia da floração, estratégias reprodutivas e polinização de espécies simpátricas do gênero *Byrsonima* Rich (Malpighiaceae) *Revista Brasileira de Biologia* 57:343-353.
- Bascompte, J. & Jordano, P. (2007) Plant–animal mutualistic networks the architecture of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 38: 567–593.
- Bascompte, J., Jordano, P., Melián, C.J. & Olesen, J.M. (2003) The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 9383–9387
- Basilio, A.M., Medan, D., Torretta, J.P. & Bartoloni, N.J. (2006) A year-long plant-pollinator network. *Austral Ecology* 31: 975–983.
- Bawa, K.S. (1990) Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21: 399 - 422.
- Blüthgen, N., Menzel, F., Hovestadt, T., Fiala, B., & Blüthgen, N. (2007) Specialization, constraints, and conflicting interests in mutualistic networks. *Current biology* 17: 341–6.
- Buchmann, S. L. (1987) The Ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review Ecology and Systematics* 18: 343 – 369.
- Chacoff, N.P., Vázquez, D.P., Lomáscolo, S.B., Estavani, E.L., Dorado, J. & Padrón, B. (2012) Evaluating sampling completeness in a desert plant–pollinator network. *Journal of Animal Ecology* 81: 190–200.
- Díaz-Castelazo, C., Guimarães, P.R., Jordano, P., Thompson, J.N., Marquis, R.J. & Rico-Gray, V. (2010) Changes of a mutualistic network over time: reanalysis over a 10-year period. *Ecology*

91: 793–801.

- Dorado, J., Vázquez, D.P., Stevani, E. & Chacoff, N.P. (2011) Rareness and specialization in plant–pollinator networks. *Ecology* 92: 19–25.
- Dormann, C.F., Gruber, B. & Fründ, J. (2008) The Bipartite Package Version, 0.73. RProject for Statistical Computing, Leipzig. 146 pp.
- Dupont, Y.L., Padrón, B., Olesen, J.M. & Petanidou, T. (2009) Spatio-temporal variation in the structure of pollination networks. *Oikos* 118: 1261–1269.
- Fonseca, C. & Ganade, G. (1996) Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. *Journal of Animal Ecology* 65: 339–347.
- Freeman, L. C. (1978) Centrality in social networks: Conceptual clarification. *Social Networks* 1: 215–239.
- Gotelli, N.J. & McCabe, D.J. (2002) Species co-occurrence: a meta-analysis of J.M. Diamond's assembly rules model. *Ecology* 83: 2091–2096.
- Guimarães, P.R., Rico-Gray, V., Dos Reis, S. F., & Thompson, J.N. (2006) Asymmetries in specialization in ant-plant mutualistic networks. *Proceedings Biological sciences / The Royal Society* 273: 2041–7.
- Guimarães, P.R., Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., Izzo, T.J., Dos Reis, S.F. & Thompson, J.N. (2007) Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. *Current biology* 17: 1797–803.
- Jordano, P. (1987) Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence asymmetries, and coevolution. *American Naturalist* 129: 657–677.
- Machado, I.C. (2004) 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 & J.O.P. Pereira, (eds.), *Solitary bees, conservation, rearing and management for pollination*. Editora Imprensa Universitária, UFCE, Fortaleza. 285pp.
- Marquitti, F.M.D., Guimarães, P.R., Pires, M.M. & Bittencourt, L.F. (2012) MODULAR: Software for the Autonomous Computation of Modularity in Large Network Sets. [arXiv:1304.2917](https://arxiv.org/abs/1304.2917).
- Mello, M.A.R., Bezerra, E.L.S., & Machado, I.C. (2012) Functional roles of Centridini oil bees and Malpighiaceae oil flowers in Biome-wide pollinations networks. *Biotropica* 45: 45 – 53.
- Neff, J.L. & Simpson, B.B. (1981) Oil-collecting in the Anthophoridae (Hymenoptera): morphology, function and use in systematics. *Journal of Kansas Entomological Society* 54: 95–123.

- Olesen, J. M., Bascompte, J., Elberling, H., Jordano, P., & Jens, M. (2008) Temporal Dynamics in a Pollination Network. *Ecology* 89: 1573–1582.
- Olesen, J.M., Stefanescu, C., & Traveset, A. (2011) Strong, long-term temporal dynamics of an ecological network. *PloS one* 6: 1 - 5.
- Ollerton, J. (2006) “Biological Barter”: Patterns of specialization compared across different mutualisms. In *Plant-Pollinator Interactions: from Specialization to Generalization*, N.M. Waser and J. Ollerton, eds. (Chicago: University of Chicago Press), pp. 411–435.
- Pellmyr, O., Thompson J. N., Brown J. M. & Harrison, R.G. (1996) Evolution of pollination and mutualism in the yucca moth lineage. *American Naturalist* 148: 827–847.
- Petanidou, T., Kallimanis, A.S., Tzanopoulos, J., Sgardelis, S.P. & Pantis, J.D. (2008) Long-term observation of a pollination network: fluctuation in species and interactions, relative invariance of network structure and implications for estimates of specialization. *Ecology letters* 11: 564-75.
- Pires, M.M., & Guimarães, P.R. (2012) Interaction intimacy organizes networks of antagonistic interactions in different ways. *Journal of the Royal Society, Interface* 10: 20120649.
- Real, L. (1983) *Pollination biology*. Academic Press, New York. 338 pp.
- Renner, S.S., Schaefer, H., (2010) The evolution and loss of oil-offering flowers—new insights from dated phylogenies for plants and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 365: 423–435.
- Roig-Alsina, A. (1997) A generic study of the bees of the tribe Tapinotaspidini, with notes on the evolution of their oil-collecting structures. *Mitteilungen Muenchener Entomologischen Gesellschaft* 87: 3-21.
- Silingardi, H.M.T. (2007) A influência dos herbívoros florais, dos polinizadores e das características fenológicas sobre a frutificação de espécies da família Malpighiaceae em um cerrado de Minas Gerais. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 182 pp.
- Thompson, J. N., & Fernandez, C. C. (2006) Temporal Dynamics of Antagonism and Mutualism in a Geographically Variable Plant-Insect Interaction. *Ecology* 87: 103–112.
- Ulrich, W., & Gotelli, N.J. (2007) Null model analysis of species nestedness patterns. *Ecology* 88: 1824-1831.
- Vázquez, D.P. (2005) Degree distribution in plant animal mutualistic networks: forbidden links or

random interactions? *Oikos* 108: 421 – 426.

Vázquez, D.P., & Aizen, M.A. (2003) Null model analyses of specialization in plant–pollinator interactions. *Ecology* 84: 2493–2501.

Vázquez, D.P., & Aizen, M.A. (2004) Asymmetric specialization: a pervasive feature of plant–pollinator interactions. *Ecology* 85:1251–1257.

Vázquez, D.P., Melián, C.J., Williams, N.M., Blüthgen, N., Krasnov, B.R. & Poulin, R. (2007) Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks. *Oikos* 116: 1120–1127.

Vogel, S. (1969) Flowers offering fatty oil instead of nectar. XI Proceedings International Botanical Congress, Seattle, p. 229.

Vogel, S. (1974) Ölblumen und ölsammelnde Bienen. *Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* 7: 285–547.

Capítulo 2 – Variação espacial na interação entre plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo.*

* este manuscrito foi elaborado em colaboração com a Dra. Cynthia Pinheiro-Machado¹ e Dr. Sidnei Matheus² que coletaram os dados da Estação Ecológica Jataí e da região de Vassununga, respectivamente. Ambos serão co-autores do manuscrito que será enviado para publicação.

¹ Diretora técnica do programa do Brasil, Fauna & Flora International, UK.

² Departamento de Biologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo.

Capítulo 2 – **Variação espacial na interação entre plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo em áreas de cerrado do interior de São Paulo.**

Resumo – As espécies generalistas formam um grupo central que proporciona estabilidade e resiliência à rede de interação. As extinções de espécies e de interações ocorrem de forma não aleatória, com as espécies especialistas e menos frequentes sendo mais vulneráveis à extinção. Em redes de interação com fraca dependência mútua as espécies generalistas têm grande influência na dinâmica evolutiva, devido à assimetria das interações. Estudamos cinco redes de interação com alto grau de dependência mútua entre plantas e visitantes florais em cinco comunidades de cerrado no interior do Estado de São Paulo. O objetivo foi verificar se as interações e as espécies se mantêm entre as comunidades e se o grau das interações influencia na manutenção das espécies e interações. As cinco redes foram construídas a partir dos registros de interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo. Assim, relacionamos o número de espécies e interações compartilhadas com seus respectivos graus de interação. As interações e as espécies generalistas foram compartilhadas entre as cinco redes. Além disso, as espécies generalistas foram responsáveis por manter as interações com espécies localmente especialistas. As interações compartilhadas entre as redes, em geral, foram mantidas pela espécie *Byrrsonima intermedia*, que possui o papel de super-generalista em vários locais no cerrado. Características como floração longa e alta abundância proporcionam este papel. Em outros ecossistemas, a interação entre plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo também é mantida por uma espécie super-generalista, mudando apenas a identidade da planta. Tais espécies podem receber grande quantidade de visitas florais como consequência da oferta dos seus recursos florais. Nosso trabalho mostra que interação com alto grau de dependência mútua é formada por um grupo central de generalistas mantendo a estrutura da rede e prevenindo extinções, como já foi mostrado para interações facultativas. Isso pode indicar que interações com diferentes tipos de dependência mútua podem ser organizadas por aspectos semelhantes da biologia.

Palavras-chave: rede de interação, assimetria, redundância, generalista, mutualismo.

Introdução

A natureza é organizada em complexas e dinâmicas redes de interações de espécies, que podem influenciar a sua diversidade e a estabilidade (Thompson 1994, Bascompte *et al.* 2006, Olesen *et al.* 2007). Interações ecológicas, como mutualismo são altamente estruturadas (Bascompte *et al.* 2003), e a estrutura das redes ecológicas afeta fortemente a sua dinâmica (May 1973). A estrutura das redes de interações proporciona estabilidade e resiliência à rede (Bastolla *et al.* 2009, Thébault & Fontaine 2010). Por exemplo, várias redes mostram uma assimetria de interação, onde especialistas interagem com generalistas e generalistas interagem com especialistas e generalistas (Bascompte *et al.* 2003). Essa estrutura assimétrica das redes de interações leva a uma redundância nas interações, que previne extinções (Memmott *et al.* 2004, Schleuning *et al.* 2012). Em redes de interação que foram analisadas temporalmente (Olesen *et al.* 2011, Chacoff *et al.* 2012) e espacialmente (Aizen *et al.* 2012) as espécies generalistas formaram o grupo central e foram responsáveis por manter a estrutura da rede.

Ao invés das espécies, as interações deveriam ser o principal foco dos estudos de redes de interação (Tylianakis *et al.* 2008). Em trabalhos que simulam numericamente a perda de espécies e das interações os autores pressupõem que as espécies são extintas aleatoriamente (Memmott *et al.* 2004). Trabalhos recentes mostram que, em interação planta polinizador, existe um retardo temporal entre a extinção das interações e a das espécies: primeiro as interações são perdidas e depois as espécies (Tylianakis *et al.* 2008). Além disso, as interações não são perdidas de forma aleatória. As interações com alta especialização e baixa frequência são mais vulneráveis a extinção (Aizen *et al.* 2012).

O grau de intimidade das interações também pode influenciar a estrutura das redes de interação, e a estrutura das redes pode influenciar na dinâmica evolutiva das interações (Thompson 2005, Pires & Guimarães 2012). Por exemplo, a estrutura modular de interações com alto grau de dependência leva a dinâmicas evolutivas previsíveis, onde cada mudança evolutiva quase sempre gera uma resposta evolutiva na rede. Por outro lado, a estrutura aninhada de interações facultativas faz com que a maior parte das mudanças evolutivas não leve à respostas evolutivas na rede. Mas, quando um generalista apresenta uma mudança evolutiva existe uma resposta evolutiva em várias espécies na rede (Guimarães *et al.* 2007).

Interações com alta intimidade são compostas por espécies com adaptação morfológica e/ou comportamental entre elas, com dependência mútua para que as espécies completem seu ciclo de vida (Fonseca & Ganade 1996, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2010). Redes com este tipo de interação tendem a ser pobres em espécies, com estrutura modular, estáveis, e suas interações são

mais bem explicadas pela história evolutiva do que pela abundância (Fonseca & Ganade 1996). Na interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo, as espécies apresentam adaptação morfológica e comportamental (Vogel 1969, Neff & Simpson 1981) e dependência mútua, já que as abelhas dependem do óleo para construir o ninho e alimentar as suas larvas, e as plantas têm nessas abelhas seus principais polinizadores (Buchmann 1987, Alves dos Santos *et al* 2007). De acordo com estas características essas espécies formariam um módulo dentro de uma rede de interação entre planta-polinizador mais ampla (Olesen *et al.* 2007).

No presente estudo investigamos as redes de interação formadas pelas plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo em áreas de cerrado em cinco localidades no interior de São Paulo. Estes organismos são parceiros com associação estreita. Queríamos saber se neste tipo de associação as espécies generalistas formam o grupo central das redes e são responsáveis pela manutenção e estabilidade das redes de interação. Dessa forma, verificamos se as espécies e as interações compartilhadas entre as redes das cinco localidades são aquelas com maior grau de interação (generalistas).

Metodologia

Áreas de estudo

Os dados de interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo floral foram obtidos em cinco áreas de cerrado no Estado de São Paulo (Fig. 1): Estação Ecológica de Itirapina (E. E. Itirapina) situada nos municípios de Itirapina e Brotas (22°15'S - 48°00'W), com uma área de 2.300 ha.; Estação Ecológica de Jataí (E. E. Jataí) (21°31' S - 47°51'W), situada no município de Luiz Antonio, com uma área de 4532 ha.; Estação Ecológica Pé de Gigante (E. E. Pé de Gigante), com uma área de 1200 ha (21° 19' 48"S - 47° 22' 48" W), Fazenda Limoeiro com área de 200 ha (21° 21' S - 47° 23' 24" W), e Fragmento Posto com área de 70 ha (21° 22' 48"S - 47° 22' 48" W), situadas no município de Santa Rita do Passa Quatro.

Figura 1 – Os dados das redes de interação estudadas foram coletados em cinco áreas de cerrado do Estado de São Paulo (1 – 5). No mapa do estado de São Paulo a linha continua mostra a Rodovia Anhanguera, a linha tracejada mostra a Rodovia Washington Luis e os números mostram a localização das áreas de estudo.

Coleta de dados

Na E. E. Itirapina 30 pontos georreferenciados foram sorteados e nestes pontos foram montadas parcelas fixas de 30 x 30 metros. As coletas foram realizadas pelo 1º autor entre setembro de 2010 e fevereiro de 2011, e entre setembro de 2011 e fevereiro de 2012. Mensalmente as parcelas foram vistoriadas e qualquer planta produtora de óleo floral que estivesse com flores foi observada por 5 minutos. Na E. E. Jataí a coleta de dados foi feita em dois períodos: entre setembro de 1991 e agosto de 1993 e entre setembro de 1995 e outubro de 1996. No período entre 1991 e 1993, as coletas foram feitas por Sidnei Mateus, em um transecto com área de um hectare da borda para o interior do cerrado com cinco metros de cada lado. As plantas com flores nessa área foram observadas por cinco minutos e os visitantes florais foram coletados (Mateus 1998). As coletas na E.E. Jataí (período entre 1995-1996) e na E.E. Pé de Gigante, E.E., Fazenda Limoeiro e Fazenda Posto foram feitas por Cynthia Pinheiro Machado. Nessas localidades foram sorteadas parcelas de sete hectares e nessas áreas as plantas produtoras de óleo floral foram observadas por cinco minutos e seus visitantes florais foram coletados flores (Pinheiro-Machado 2002). As coletas foram feitas durante 12 horas por dia. As coletas dos dois períodos de Jataí foram compiladas em uma matriz para esta localidade.

Os indivíduos de coletados em Itirapina, em Santa Rita do Passa Quatro e em Luis Antonio (entre 1995 e 1996) foram depositados na coleção entomológica CEPANN – IBUSP. As abelhas coletadas em Luis Antonio (1991 e 1993) foram depositadas na coleção Padre Jesus Santiago Moure (UFPR) e na coleção entomológica João Maria Franco Camargo da Faculdade de Filosofia Ciências e Letra da USP campus Ribeirão Preto. Em Itirapina, apenas as abelhas coletoras de óleo e as plantas produtoras de óleo foram amostradas. Nas demais localidades, os estudos tratavam de toda apifauna.

Análise da abundância das plantas da Estação Ecológica Itirapina

Nos dois anos de estudo na E.E. Itirapina foram contados, mensalmente, os números de indivíduos com flores nas 30 parcelas. Para saber se a abundância variou entre as espécies de plantas e entre os anos de estudo foi comparado o número de indivíduos de plantas com flores usando o modelo misto da ANOVA dois fatores com medidas repetidas.

Análise de redes de interação

Foram construídas matrizes de interação qualitativa e quantitativa com as espécies de plantas e as abelhas coletoras de óleo que visitaram as flores de tais plantas. As linhas da matriz representam as espécies de plantas (P) e as colunas representam as espécies de abelhas (A). Havendo interação

entre determinada abelha e planta, o número de indivíduos que visitaram a planta foi anotado na interseção da linha com a coluna correspondente a estas espécies. As interações nas matrizes quantitativas são informações de número de interações observadas, enquanto as matrizes qualitativas são informações binárias (se houve ou não interação).

Foram calculadas três métricas que descrevem a topologia das redes: H_2' é uma medida de especialização da rede baseada no desvio entre o número de interações realizadas por uma espécie e o número de interações esperado para cada espécie (Blüthgen *et al.* 2006). A equação básica é a mesma para diversidade de interação (Shannon H_2), mas o valor computado para uma dada rede (H_2) é padronizada contra o mínimo (H_{2min}) e o máximo (H_{2max}) possíveis para a mesma distribuição de interações totais: $H_2' = \frac{H_{2max} - H_2}{H_{2max} - H_{2min}}$. Assim, H_2' varia de zero (sem especialização) a um (especialização completa) (Dorman *et al.* 2009). Essa métrica foi calculada com o pacote bipartite do programa R (Dormann *et al.* 2000). O aninhamento de cada rede foi analisado usando o índice NODF com o programa aninhado (Almeida-Neto *et al.* 2008). Foram simuladas 1000 matrizes aleatórias e calculados os valores de NODF para cada matriz aleatória. Desta forma, para cada rede, obtivemos uma distribuição aleatória de NODF e comparamos o valor observado com os 1000 valores simulados para obtermos a probabilidade (p-valor) de o NODF observado ser ao acaso. A modularidade de cada rede foi analisada com o programa modular (Marquitti *et al.* 2012). Para cada uma das cinco redes foram simuladas 100 matrizes aleatórias e calculadas a modularidade de cada matriz aleatória e comparado o valor observado da modularidade da rede com os valores das 100 matrizes simuladas para obtermos a probabilidade (p-valor) da modularidade observada ser ao acaso. Como os valores do aninhamento e modularidade são influenciados pelo tamanho da rede, não seria possível comparar os valores observados entre as cinco redes do nosso estudo. Assim, foi feita uma padronização de efeito de tamanho (*Standardized Effect Size* - SES) (Ulrich & Gotelli 2007) para o valor do aninhamento e modularidade de cada uma das cinco redes. Esta medida indica o número de desvios padrões que o índice observado está acima ou abaixo da média dos índices das matrizes simuladas (Gotelli & McCabe 2002). O SES foi calculado como *Z score*, onde: ($Z = \text{NODF observado} - \text{média do NODF simulado} / \text{desvio padrão do NODF simulado}$). Valores de *Z score* menores que zero indicam que o aninhamento observado foi menor que a média dos aninhamentos da matriz aleatória. O mesmo procedimento foi feito com o índice de modularidade.

O papel das espécies de plantas e abelhas presentes nas redes de interação foi analisado através de duas medidas de centralidade: o grau e a centralidade por proximidade (*closeness*) (Freeman 1978). O grau é o número de ligação (interação) que um nó (espécie) possui. A centralidade por proximidade é definida como o inverso do distanciamento de um nó focal para os

demais nós da rede. O distanciamento, por sua vez, é igual à soma das ligações (interações) entre uma espécie e os demais nós da rede. Essas métricas de centralidade foram feitas com o pacote bipartite do programa R (Dormann *et al.* 2008).

Compartilhamento de espécies e interações entre as áreas de estudo.

Com uma lista das espécies de abelhas e plantas e as interações observadas em todas as áreas, contabilizamos quantas espécies e quantas interações foram compartilhadas entre os cinco locais estudados. O teste de Mantel foi aplicado para sabermos se o número de espécies compartilhadas entre as localidades foi relacionado ao número de interações compartilhadas, da mesma forma para as plantas e para as abelhas.

Os graus de cada espécie e cada interação foram registrados. Para saber se as espécies e interações que são compartilhadas são aquelas com maior grau, relacionamos o grau da espécie e da interação com o número de vezes que a espécie e a interação foram compartilhadas, respectivamente.

Similaridade entre as áreas.

Para saber se as áreas geograficamente mais próximas são mais similares na composição de espécies e interações usamos a análise de cluster com o índice Sørensen–Dice (Wolda 1981). Foram construídas duas listas, uma composta pelas espécies de plantas e abelhas observadas e outra com as interações observadas. As células foram preenchidas com 1 (caso as espécies ou interações ocorressem na área) ou 0 (caso as espécies ou interações não ocorressem na área). Dessa forma, as tabelas mostram a presença e ausência de espécies e interações nas áreas. Com estas tabelas, foram feitas duas análises de cluster, uma com os dados de espécies e outra com os dados de interação. Para realizar as análises usamos o programa PAST versão 2.17c (Hammer *et al.* 2001).

Resultados

Das cinco comunidades de Cerrado analisadas foi registrada maior riqueza de abelhas e plantas na Estação Ecológica Jataí e a menor riqueza no Fragmento Posto, que são as áreas de maior e menor tamanho respectivamente. Todas as redes estudadas apresentaram um maior número de abelhas do que plantas (Tab. 1 e 2). O gênero *Centris* apresentou maior riqueza de espécies nas comunidades analisadas. Nas comunidades das E.E. Pé de Gigante e E.E. Jataí as espécies de *Epicharis* foram tão ricas quanto *Centris*. Entre as plantas o gênero *Byrsonima*, foi o único com

representantes em todos os locais. As redes de interação de cada localidade estão apresentadas nas figuras 2 – 6.

Existiu uma relação entre proximidade geográfica das áreas e a semelhança da composição das interações e espécies (Figs. 7 e 8). Itirapina, a área mais distante (79 Km de distância de Luis Antônio e 67 km de Santa Rita do Passa Quatro) apresentou o maior número de espécies exclusivas, cinco espécies de abelhas e três de plantas.

Tabela 1. Espécies de abelhas coletoras de óleo floral que foram coletadas em flores de plantas produtoras de óleo floral nas áreas de Cerrado estudadas.

Abelhas	E.E. Itirapina ¹	E.E. Pé de gigante ²	E.E. Jataí ^{2,3}	Frag. Posto ²	Faz. Limoeiro ²
<i>Arhysoceble</i> sp.	X				
<i>Centris</i> (<i>Amphemis</i>) <i>mocsaryi</i> Friese, 1899	X		X		
<i>Centris</i> (<i>Centris</i>) <i>aenea</i> Lepeletier, 1841	X				
<i>Centris</i> (<i>Centris</i>) <i>flavifrons</i> (Fabricius, 1775)			X		X
<i>Centris</i> (<i>Centris</i>) <i>nitens</i> Lepeletier, 1841	X	X	X	X	X
<i>Centris</i> (<i>Centris</i>) <i>spilopoda</i> Moure, 1969			X		
<i>Centris</i> (<i>Centris</i>) <i>varia</i> Erichson, 1849	X	X	X	x	X
<i>Centris</i> (<i>Hemisiella</i>) <i>tarsata</i> Smith, 1874	X		X	X	X
<i>Centris</i> (<i>Trachina</i>) <i>fuscata</i> Lepeletier, 1841				X	X
<i>Centris</i> (<i>Xanrhemisia</i>) <i>bicolor</i> Lepeletier, 1841		X	X		X
<i>Epicharis</i> (<i>Epicharana</i>) <i>flava</i> Friese, 1900			X	X	
<i>Epicharis</i> (<i>Epicharis</i>) <i>bicolor</i> Smith, 1854	X	X	X		X
<i>Epicharis</i> (<i>Epicharis</i>) <i>semiflava</i> (Moure, não publicado)		X			
<i>Epicharis</i> (<i>Epicharitides</i>) <i>cockerelli</i> Friese, 1900	X	X	X	X	
<i>Epicharis</i> (<i>Epicharitides</i>) <i>iheringi</i> Friese, 1899			X		
<i>Epicharis</i> (<i>Epicharitides</i>) <i>minima</i> Friese, 1904			X		
<i>Epicharis</i> (<i>Epicharoides</i>) <i>picta</i> (Smith, 1874)			X		
<i>Epicharis</i> (<i>Hoplepicharis</i>) <i>affinis</i> Smith, 1874		X	X		
<i>Epicharis</i> (<i>Hoplepicharis</i>) <i>fasciata</i> Lepeletier & Serville, 1828			X		
<i>Epicharis</i> (<i>Triepicharis</i>) <i>analisis</i> Lepeletier, 1841	X		X		
<i>Lophopedia</i> <i>pygmaea</i> (Schrottky, 1902)			X		
<i>Monoeca</i> <i>luteocincta</i> sp. n. (Moure, não publicado)			X		
<i>Monoeca</i> sp.1			X		
<i>Paratetrapedia</i> <i>connexa</i> (Vachal, 1909)			X		
<i>Paratetrapedia</i> <i>lineata</i> (Spinola, 1853)		X	X	X	X
<i>Paratetrapedia</i> sp.1		X	X	X	X
<i>Paratetrapedia</i> sp.1a		X			
<i>Paratetrapedia</i> sp.2			X		
<i>Paratetrapedia</i> sp.3		X	X	X	X
<i>Paratetrapedia</i> sp.4		X			X
<i>Paratetrapedia</i> sp.5					X
<i>Tetrapedia</i> <i>diversipes</i> Klug, 1810	X	X	X		
<i>Tetrapedia</i> sp.			X		
<i>Tetrapedia</i> sp.1		X	X	X	X
<i>Tetrapedia</i> sp.2			X		
<i>Tetrapedia</i> sp.3			X		
<i>Tropidopodia</i> <i>nigrocarinata</i> Aguiar & Melo, 2007			X		
<i>Tropidopodia</i> <i>punctifrons</i> (Smith, 1879)	X				
<i>Xanthopodia</i> <i>larocai</i> Moure, 1995	X				

¹ - Pinto, C.E. (2013) Interação entre plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo floral (Apidae, Hymenoptera): fenologia, ciclo de vida e sinalização química. Tese, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

² - Pinheiro-Machado, C.A (2002) Diversidade e conservação de Apoidea. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

³ - Mateus, S. (1998) Abundância relativa, fenologia e visita às flores pelos Apoidea do Cerrado da Estação Ecológica de Jataí - Luiz Antônio (SP). Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Tabela 2. Espécies de plantas produtoras de óleo floral que foram registradas com flores e visitadas por abelhas coletoras de óleo floral nas áreas de Cerrado estudadas.

Plantas	E.E. Itirapina ¹	E.E. Pé de gigante ²	E.E. Jataí ^{2,3}	Frag. Posto ²	Faz. Limoeiro ²
<i>Banisteriopsis laevifolia</i> A. Juss.		X			
<i>Banisteriopsis pubipetala</i> A. Juss.			X		
<i>Banisteriopsis oxyclada</i> A. Juss.	X				
<i>Byrsonima coccolobifolia</i> Kunth	X				
<i>Byrsonima intermedia</i> A. Juss.	X	X	X	X	X
<i>Byrsonima vacciniifolia</i> A. Juss.	X				
<i>Byrsonima verbascifolia</i> (L.) Rich. ex Juss.				X	
<i>Heteropterys byrsonimifolia</i> A. Juss.			X		X
<i>Heteropterys umbellata</i> A. Juss.			X	X	X
<i>Mascagnia cordifolia</i> (A. Juss.) Griseb.		X	X	X	
<i>Peixotoa tomentosa</i> A. Juss.			X		X

¹ - Pinto, C.E. (2013) Interação entre plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo floral (Apidae, Hymenoptera): fenologia, ciclo de vida e sinalização química. Tese, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

² - Pinheiro-Machado, C.A (2002) Diversidade e conservação de Apoidea. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.

³ - Mateus, S. (1998) Abundância relativa, fenologia e visita às flores pelos Apoidea do Cerrado da Estação Ecológica de Jataí - Luiz Antônio (SP). Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Figura 2 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo na Estação Ecológica Jataí. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 3 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo na Estação Ecológica Pé de Gigante. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 4 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo no Fragmento Limoeiro. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 5 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo no Fragmento Posto. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 6 - Interações entre as plantas produtoras de óleo floral e abelhas coletoras de óleo na Estação Ecológica Itirapina. As colunas pretas representam as espécies de plantas (à esquerda) e abelhas (à direita) estudadas e a largura das barras representam o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Figura 7 – Similaridade das interações observadas nas cinco redes baseada no índice de Sorensen-Dice.

Figura 8 – Similaridade das espécies observadas nas cinco redes baseada no índice de Sorensen-Dice.

Houve diferença nas medidas de topologia entre as cinco redes estudadas, principalmente no que diz respeito à especialização e no papel das espécies. Para todas as redes de interação estudadas o valor de H_2' foi baixo, isto significa que as interações foram bem distribuídas entre as espécies, ou seja, com pouca especialização (Tab. 3). No entanto, o valor H_2' variou entre as redes: E.E. Pé de Gigante (valor de $H_2' = 0,17$) onde o índice de especialização foi próximo ao mínimo, e rede menos generalista como a do Fragmento Posto com valor de H_2' próximo a 0,5 (Tab. 3). Nenhuma das cinco redes de interação foi significativamente aninhada, a probabilidade do valor do NODF observado não diferiu estatisticamente do NODF simulado, ($p > 0,05$ em todos os casos) (Tab. 3). Os valores de Z score de todas as redes ficou próximo a zero. As redes do Frag. Posto e da E.E. Jataí foram menos aninhadas do que a média das matrizes simuladas (com Z score negativo) e as outras redes foram mais aninhadas que a média das simulações (com Z score positivo). As cinco redes também não mostraram estrutura modular. O valor da modularidade não foi significativo em quatro redes ($p > 0,05$), e na E.E. Pé de Gigante a estrutura da rede foi estatisticamente menos modular do que esperado pelo acaso (com valor de Z score negativo e $p < 0,05$) (Tab. 3).

Tabela 3. Índices de estrutura das redes de interações planta-abelha estudadas. Grau de especialização da rede, representada pelo H_2' , que varia de zero (sem especialização) a um (especialização completa). Aninhamento (NODF) e Modularidade das redes, quanto maior o valor mais aninhado e/ou modular é o sistema, ao lado de cada um desses índices está o seu valor de significância (p-valor) e o Z score (ver métodos).

Local	Número de espécies de abelhas + plantas	H_2'	NODF	p-valor	Z score	Modularidade	p-valor	Z score
E.E. Itirapina	12 + 4	0,36	53,6	0,29	0,0003	0,29	0,63	0,1244
E.E. Pé de Gigante	14 + 3	0,17	38,12	0,77	0,0002	0,2	0,001	-2,9917
E.E. Jataí	29 + 7	0,37	20,55	0,50	-,0001	0,48	0,25	-0,6269
Fragmento Posto	10 + 4	0,46	39,45	0,26	-,0002	0,41	0,47	-0,1422
Fragmento Limoeiro	14 + 4	0,36	38,61	0,23	0,00007	0,42	0,64	0,3081

As medidas de grau normalizado e centralidade por proximidade mostraram que houve pouca variação na identidade das espécies que tiveram um papel central nas redes de interação estudadas. De uma forma geral, a abelha *Centris nitens* e a planta *Byrsonima intermedia* tiveram maiores valores de ambos os índices na maioria das redes. As duas medidas utilizadas mostraram que seis espécies de abelhas e três espécies de plantas tiveram papéis centrais nas redes (Tab. 4 e 5). De acordo com o grau normalizado, os indivíduos de *C. nitens* são generalistas para quatro das cinco redes e *P. lineata* em duas redes. Para as espécies de plantas, *B. intermedia* é a mais generalista em todas as redes (Tab. 4). A centralidade por proximidade mostrou uma variação maior para a identidade das espécies de abelhas e plantas que são importantes nas redes. Apenas *C. nitens* é importante em mais de uma rede de interação. Porém, essa espécie se destaca somente em dois

locais, E.E. Itirapina e Fragmento Limoeiro (Tab. 5). *B. intermedia* é a espécie mais central em três redes de interação (Tab. 5).

Tabela 4. O grau normalizado (interações observadas/interações possíveis) das espécies de abelhas coletoras de óleo floral e plantas produtoras de óleo floral em cada rede de polinização. O índice varia de zero a um, e quanto maior mais generalista é a espécie em questão.

Local	Espécie de abelha	Grau normalizado	Espécie de planta	Grau normalizado
E.E. Itirapina	<i>Centris nitens</i>	1	<i>Byrsonima intermedia</i>	0,66
E.E Pé de Gigante	<i>Paratetrapedia lienata</i> , <i>Tetrapedia</i> sp.	0,66	<i>Byrsonima intermedia</i>	1
E.E Jataí	<i>Centris nitens</i> , <i>Paratetrapedia lineata</i>	0,42	<i>Byrsonima intermedia</i>	0,75
Fragmento Posto	<i>Centris nitens</i>	0,75	<i>Byrsonima intermedia</i>	0,8
Fragmento Limoeiro	<i>Centris nitens</i>	0,75	<i>Byrsonima intermedia</i>	0,71

Tabela 5. Espécies de abelhas coletoras de óleo floral centrais em cada rede de polinização de acordo com a métrica centralidade por proximidade.

Local	Espécie de abelha	Centralidade por proximidade	Espécie de planta	Centralidade por proximidade
E.E. Itirapina	<i>Centris nitens</i> , <i>Tropidopedia punctifrons</i>	0,1246	<i>Byrsonima intermedia</i>	0,5929
E.E Pé de Gigante	<i>Tetrapedia</i> sp.	0,2307	<i>Banisteriopsis laevifolia</i>	0,6666
E.E Jataí	<i>Paratetrapedia lienata</i>	0,43	<i>Byrsonima intermedia</i>	0,25
Fragmento Posto	<i>Epicharis flava</i> , <i>Epicharis cockerelli</i>	0,1059	<i>Heteropterys umbellata</i>	0,3116
Fragmento Limoeiro	<i>Centris nitens</i>	0,1478	<i>Byrsonima intermedia</i>	0,1137

Considerando as cinco redes, temos um total de 74 interações distintas. Destas, 30 interações (40%) envolveram *B. intermedia* e 17 interações (23%) foram formadas entre espécies de abelha que interagiram exclusivamente com *B. intermedia*. Do total de 74 interações das cinco redes, 18 (25%) são compartilhadas entre duas ou mais localidade, e destas interações compartilhadas, 14 são formadas por *B. intermedia*. Com relação às espécies de abelhas compartilhadas entre as comunidades, apenas *Centris nitens* e *C. varia* estiveram presentes em todos os sítios. A única espécie de planta compartilhada entre as cinco localidades foi *B. intermedia* (Tab. 2). Na tabela 6 temos os números de abelhas e interações, e plantas e interações, respectivamente, compartilhados entre as redes. Não existe relação entre as espécies de plantas compartilhadas e o número de interações compartilhadas ($Z = 108$; $p > 0,05$). Por outro lado, o número de espécies de abelhas compartilhadas foi altamente relacionado com as interações compartilhadas ($Z = 514$; $p = 0,01$; $R^2 = 0,95$) (Fig. 9). Existiu relação positiva entre o grau (número de interações) e o compartilhamento de espécies de abelhas ($F = 27,97$; $p = 0,0001$; $R^2 = 0,40$), de plantas ($F = 18,47$; $p = 0,001$; $R^2 = 0,63$) e interações ($F = 55,16$; $p = 0,0001$; $R^2 = 0,42$).

Tabela 6. Na diagonal superior estão os números de interações compartilhadas entre duas redes, e na diagonal inferior estão os números de espécies de abelhas/plantas compartilhadas pelas cinco redes.

Local	E.E. Itirapina	E.E Jataí	E.E Pé de Gigante	Fragmento Posto	Fragmento Limoeiro
E.E. Itirapina		5	3	2	3
E.E Jataí	7/1		10	7	10
E.E Pé de Gigante	5/1	11/2		6	10
Fragmento Posto	3/1	8/3	7/2		6
Fragmento Limoeiro	4/1	10/2	9/2	8/2

Figura 9 – O número de espécies de abelhas compartilhadas entre as redes e o número de interações compartilhadas entre as redes foi significativamente correlacionado segundo o resultado do teste de Mantel. Os pontos são as interseções entre o número de interações compartilhadas e o número de espécies de abelhas compartilhadas entre as áreas. Ver tabela 6.

Abundância das plantas na E.E. Itirapina

Existe diferença no número de indivíduos com flores entre as espécies e entre os anos (Tab. 7). As diferenças estão no número de plantas com flores das espécies *Byrsonima vaccinifolia* e *B. coccolobifolia* no segundo ano de estudo. Estas espécies foram significativamente menos abundantes no 2º ano (Tab. 8). Por outro lado, a abundância de *B. intermedia* não diferiu entre os anos. No 1º ano de estudo não houve diferença significativa na abundância de *B. intermedia*, *B. coccolobifolia* e *B. vaccinifolia* (Tab. 8).

Tabela 7. ANOVA modelo misto para medidas repetidas de número de plantas com flores registrados nas 30 parcelas do cerrado da E.E. Itirapina.

Termos dos modelos	g.l	F-ratio	p-valor
Número de plantas			
Ano	1	21,13	< 0,0001*
Planta	2	16,35	< 0,0001*
Ano x Planta	2	4,88	0,0097*
Parcela	25	1,29	0,18

Tabela 8. Número de indivíduos com flores nas parcelas estudadas na E.E. Itirapina. Média e desvio padrão da abundância das plantas por parcela, os valores que compartilham as mesmas letras em sobrescrito não diferem significativamente (n significa número de parcelas).

Ano	<i>B. intermedia</i>	<i>B. coccolobifolia</i>	<i>B. vaccinifolia</i>	<i>B. oxyclada</i>
1º ano	10,33±6,11 ^A (n = 21)	6,84±6,93 ^A (n = 13)	9±9,54 ^A (n = 16)	-
2º ano	8,52±8,79 ^A (n = 21)	1±0 ^B (n = 4)	2,08±2,57 ^B (n = 12)	5,4±7,79 ^A (n = 5)

Discussão

As cinco redes de interação estudadas foram formadas por poucas espécies de plantas e abelhas, quando comparadas às redes de plantas com flores e seus visitantes de uma comunidade. A maior parte das interações não foi compartilhada entre as redes. As interações compartilhadas foram, essencialmente, as que envolveram *B. intermedia*. As espécies de plantas e abelhas e as interações compartilhadas entre as redes foram aquelas que apresentaram maior grau (mais generalistas). Nas redes de interação estudadas encontramos um maior número de abelhas (41) do que plantas (11), ou seja, as abelhas tiveram menos parceiros que as plantas e as abelhas dependem mais das plantas do que o contrário. Estudos que analisam interações facultativas entre planta e visitantes encontram resultados opostos: mais espécies de plantas e menos espécies de visitantes (Jordano *et al.* 2003). Fonseca & Granade (1996) propõem que as duas assimetrias são explicadas pelos mesmos fatores. O benefício recebido pelos parceiros mutualísticos é diferente, as espécies do nível trófico que recebem maior benefício são mais especialistas. Por exemplo, as abelhas coletoras de óleo tem um tempo de vida curto, menos de dois meses, se esses indivíduos não coletarem o óleo, ou coletarem

em pouca quantidade, podem ter seu sucesso reprodutivo comprometido. Por outro lado, as plantas produtoras de óleo podem manter seu sucesso reprodutivo ao serem polinizadas, mesmo que com baixa eficiência, por espécies que não coletam óleo. Além disso, também podem ser autopolinizadas, ou mesmo passarem uma estação reprodutiva sem serem polinizadas.

A diversidade de espécies e interações parece estar associada ao tamanho e proximidade geográfica das áreas estudadas. As maiores áreas apresentaram maior riqueza e as áreas mais próximas compartilharam mais espécies. Como esperávamos, a menor área estudada (Posto) foi a menor rede de interação planta-abelha (14 spp envolvidas), enquanto Jataí, a maior área, foi a maior rede com 36 espécies (16 espécies plantas e 30 de abelhas) (Figs. 2 a 6). Itirapina, a área mais distante, foi a comunidade que compartilhou o menor número de abelhas, plantas e interações com as outras áreas, e apresentou cinco espécies exclusivas de abelhas (de 12) e três espécies exclusivas de plantas (de 4). As 41 espécies de abelhas coletoras de óleo registradas no nosso trabalho representam 43% do total de espécies de abelhas deste grupo para o estado de São Paulo (Gaglianone *et al.* 2011).

A maioria (77%) das interações compartilhadas entre as cinco comunidades envolveu *B. intermedia*. Por exemplo, das 10 interações compartilhadas em Jataí e Pé de Gigante, todas envolveram *B. intermedia*. O mesmo ocorreu com as 10 interações compartilhadas entre Limoeiro e Jataí, e entre Limoeiro e Pé de Gigante, todas envolveram *B. intermedia*. A grande parcela das interações, tanto em número de espécies, quanto em frequência, realizada por *B. intermedia* nas cinco localidades pode ser vista na Fig. 10. Mello *et al.* (2013) mostraram que algumas espécies como *Byrsonima sericea*, *B. intermedia* e *Banisteriopsis muricata* são as espécies que mais fizeram interações em seus respectivos biomas e são extremamente importantes como conectores das redes. A presença de uma espécie de planta super-generalista parece ser comum na interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo. Por exemplo, em outros trabalhos realizados no cerrado paulista, *B. intermedia* apareceu como a espécie com maior número de interações com as abelhas coletoras de óleo e a espécie responsável pelas interações com as abelhas especialistas (abelhas que fizeram apenas uma interação). Em Corumbataí (SP) 78% das abelhas coletoras de óleo visitaram *B. intermedia* e 38% das abelhas visitaram apenas esta planta como fonte de óleo (Andena *et al.* 2005). Em Cajuru (SP) cerca da metade de todas as interações e 22% das interações únicas estavam envolvidas com *B. intermedia* (Pedro 1994). Em Campo Grande (MS) a elevada abundância e o longo período de floração (entre agosto e abril) de *B. intermedia* parecem ser responsáveis pela manutenção da comunidade local de visitantes florais (Vilas Boas *et al.* 2013). Nas nossas áreas de estudo a floração de *B. intermedia* ocorreu entre setembro e março, com pico de

floração entre novembro e janeiro. Nos dois anos de estudo E.E. Itirapina *B. intermedia* foi a única espécie que manteve a alta abundância de plantas com flores. Enquanto a densidade populacional desta espécie se manteve em aproximadamente nove indivíduos por parcela nos dois anos, as demais espécies variaram muito, *B. coccolobifolia*, por exemplo, variou de seis (1º ano) a um (2º ano) indivíduo por parcela. Em outros ecossistemas a presença de uma espécie super-generalista parece se repetir, mudando apenas a espécie dominante. Em áreas da Floresta Atlântica nordestina *B. sericea* é a espécie com mais interações entre as plantas produtoras de óleo floral (Ramalho & Silva 2002, Milet-Pinheiro & Schlindwein 2008, Rosa & Ramalho 2011). Na Chapada Diamantina (Bahia) todas as abelhas coletoras de óleo amostradas (24 espécies) visitaram *B. sericea* e 37% das espécies de abelhas visitaram apenas esta espécie de planta (Lua 2013).

Figura 10 – As cinco redes de interação estudadas mostram o número de interações observadas. As colunas pretas representam as espécies de plantas (abaixo), destaque para *B. intermedia* e abelhas (acima) estudadas, e a largura das barras representa o número de interações de cada espécie. As linhas cinza são as interações observadas entre uma espécie de abelha e uma espécie de planta, a largura dessas linhas é o número de indivíduos que foram observadas interagindo com a espécie de planta.

Assimetria de interações, especialistas interagindo com generalistas e generalistas interagindo com especialistas e generalistas, é um padrão bastante disseminado em redes de interação (Bascompte *et al.* 2003). Stang *et al.* (2007) sugerem que características morfológicas e abundância são responsáveis pela assimetria em redes de polinização. Segundo estes pesquisadores, características morfológicas como, largura e profundidade do tubo floral, impediriam a ocorrência de algumas interações. Assim, a abundância das espécies regulam apenas as interações possíveis dentro deste limite imposto pela morfologia. No nosso caso a morfologia das plantas não parece explicar a inexistência de algumas interações, já que a característica morfológica que restringe a ocorrência de interações na guilda de óleo é o tipo de elaióforo (Machado 2004), e no nosso estudo todas as plantas possuem elaióforo epitelial. Por exemplo, indivíduos de *C. nitens* ocorreram nas cinco áreas e em todas elas interagiram com indivíduos *B. intermedia*. Por outro lado, indivíduos de *M. cordiflora*, que foram observados em três áreas e interagiram *C. nitens* apenas em Jataí, mesmo ambas as espécies estando presentes na E.E Pé de Gigante e no Fragmento Posto. Neste caso, a morfologia parece não restringir a ocorrência de algumas interações, e a abundância pode ser importante para essa ocorrência. Quando a interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo foi analisada em dois anos seguidos, as espécies que foram significativamente menos abundantes no segundo ano também fizeram menos interações. Além disso, *B. intermedia* foi a única espécie que manteve alta abundância e foi bastante visitada nos dois anos (Capítulo 1 desta Tese).

Dáttilo *et al.* (2013) também encontraram uma elevada assimetria nas interações e um pequeno conjunto de espécies formando o grupo central da rede entre formigas e plantas com nectário extra floral. O grupo central seria formado por espécies de plantas com recurso superior e as formigas competitivamente superiores dominariam este recurso. Apesar de não termos informações sobre a qualidade e quantidade dos recursos oferecidos pelas espécies de plantas do nosso estudo, esta hipótese proposta por Dáttilo *et al.* (2013) pode nos dar uma idéia da formação do grupo central. *B. intermedia* além do óleo, parece ser uma importante fonte de pólen para as abelhas coletoras de óleo, enquanto outras plantas produtoras de óleo não são importantes como fontes de pólen, apenas de óleo (Gaglianone 2000). A planta super-generalista no semiárido nordestino (*B. sericea*) também demonstra ser mais vantajosa no seu recurso floral, as flores desta planta produzem mais óleo floral do que outras espécies simpátricas (Lua 2013).

As espécies generalistas formam um grupo central na rede de interação, se mantém estável e sustentam os serviços de polinização da comunidade (Fang & Huang 2012). Para as plantas produtoras de óleo floral as espécies com mais interações desempenham importante papel como

conectoras das redes (Mello *et al.* 2013). A correlação entre o grau e as interações e espécies compartilhadas mostra que a generalização é uma característica importante na manutenção das interações. De fato, as interações formadas pelas espécies generalistas produzem um grupo central que provêm estabilidade e resiliência a toda a rede (Bastolla *et al.* 2009, Thébault & Fontaine 2010). Além das interações centrais das redes serem formadas pelas espécies generalistas, estas espécies foram responsáveis pelas interações localmente especialistas. A estabilidade das redes promovida pelas interações generalistas está ligada a alta redundância das interações que levam a robustez da rede (Mello *et al.* 2011) e previne extinções (Schleuning *et al.* 2012). No entanto, a redundância teria efeito em evitar extinções de interações que aconteçam de forma aleatória (Memmott *et al.* 2004). Porém, interações especialistas e com baixa frequência são mais vulneráveis à extinção (Aizen *et al.* 2012). Verificamos que as interações e espécies compartilhadas entre as redes envolveram as generalistas, especialmente *B. intermedia*. A relação entre o grau de interação e o compartilhamento das interações e das espécies corrobora a ideia de Aizen *et al.* (2012) que as interações não são perdidas de forma aleatória e que o grau das interações pode predizer quais interações serão perdidas. No nosso estudo as interações especialistas como, por exemplo, a interação entre *Monoeca* sp. e *Heteropterys umbellata*, ou entre *Paratetrapedia connexa* e *Peixotoa tomentosa* estão mais susceptíveis à extinção.

Os nossos resultados retratam a interação de alta dependência mútua entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo e mostram que as redes de interação são estruturadas e sustentadas por um grupo central de espécies super-generalistas. As espécies super-generalistas são compartilhadas entre as redes, enquanto as especialistas são restritas localmente e interagem com as generalistas. Dessa forma, as espécies especialistas seriam mais vulneráveis à extinção, e as generalistas sustentam grande parte dos visitantes. Tais espécies generalistas devem ser objeto de atenção em planos de restauração, pois atraem e sustentam a maioria das espécies de visitantes florais. A extinção não aleatória das interações, e a formação de um grupo central de espécies foram mostradas previamente para interações facultativas entre plantas e visitantes (Aizen *et al.* 2012, Dáttilo *et al.* 2013). Dentro de uma comunidade de plantas com flores e visitantes florais, a interação entre as plantas produtoras de óleo e as abelhas coletoras de óleo forma um módulo. Assim como encontrado em interações facultativas, na interação estudada, que possui elevado grau de dependência mútua, as espécies generalistas formam um grupo central que sustenta e mantém as espécies localmente raras.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pela bolsa concedida a Carlos Eduardo Pinto da Silva (143001/2009-4) e Isabel Alves dos Santos (Fapesp 2004/00274-4). Ao Laboratório de Abelhas pela infraestrutura. Ao Paulo Cesar Fernandes pelo auxílio nas coletas. Ao Instituto Florestal e à Estação Ecológica Itirapina, em especial ao Paulo Rufino, pela licença para estudar na Estação. Agradecemos Dra. Esther Sebastian, Dr. Marcelo Aizen, e Dr. Marco Mello e pela leitura do manuscrito e pelos valiosos comentários e sugestões.

Referências Bibliográficas

- Aizen, M., Sabatino, M. & Tylianakis, J.M (2012) Specialization and Rarity Predict Nonrandom Loss of Interactions from Mutualist Networks. *Science* 335: 1486 – 1489.
- Almeida-Neto M., Guimaraes P., Guimaraes P.R., Loyola R.D. & Ulrich W. (2008) A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. *Oikos* 117: 1227 – 1239.
- Alves-dos-santos, I., Machado, I.C., & Gaglianone, M.C. (2007) História natural das Abelhas coletoras de óleo. *Oecologia Brasilienses* 11: 544–557.
- Andena, S.R., Bego, L.R. & Mechi, M.R. (2005) A Comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) de uma área de cerrado (Corumbataí, SP) e suas visitas às flores. *Revista Brasileira de Zoociências* 7: 55 – 91.
- Bascompte, J., Jordano, P. & Olesen, J. (2006) Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Science* 312: 431-433.
- Bascompte, J., Jordano, P., Melián, C.J. & Olesen, J.M. (2003) The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 9383–9387
- Bastolla, U., Fortuna, M.A., Pascual-García, A., Ferrera, A., Luque, B. & Bascompte, J. (2009) The architecture of mutualistic networks minimizes competition and increases biodiversity. *Nature* 458:1018–1021
- Blüthgen, N., Menzel, F. & Blüthgen, N. (2006) Measuring specialization in species interaction networks. *BMC Ecology* 6:1 – 12.
- Buchmann, S.L. (1987) The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review Ecology and Systematics* 18: 343-369.
- Dáttilo, W., MArquitti, F.M.D., Guimarães Jr. P.R. & Izzo, T.J. (2013) The structure of ant-plant ecological networks: is abundance enough? *Ecology*: doi: 10.1890/12-1647.1

- Dormann, C.F., Gruber, B. & Fründ, J. (2008) The Bipartite Package Version, 0.73.RProject for StatisticalComputing, Leipzig. 146 pp.
- Fang, Q. & Huang, S.Q. (2012) Relative stability of core groups in pollination networks in a biodiversity hotspot over four years. PLoS ONE 7:e32663.
- Fonseca, C. & Ganade, G. (1996) Asymmetries, compartments and null interactions in an Amazonian ant-plant community. Journal of Animal Ecology 65: 339–347.
- Freeman, L. C. (1978) Centrality in social networks: Conceptual clarification. Social Networks 1, 215-239.
- Gaglianone, M. C. (2000) Interações de *Epicharis* (Apidae, Centridini) e flores de Malpighiaceae em um ecossistema de cerrado. In: M. M. G. Bitondi & K. Hartfelder (eds.), Anais do 4º. Encontro sobre Abelhas. Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. pp. 246- 252.
- Gaglianone, M.C. (2003) Abelhas da tribo Centridini na Estação Ecológica de Jataí (Luis Antônio, SP): composição de espécies e interações com flores de Malpighiaceae. In: Melo, G.A.R. and Alves-dos Santos, I. (Eds.). Apoidea Neotropica: Homenagem aos 90 anos de Jesus Santiago Moure. Editora UNESC, Criciúma. pp.279-284.
- Gaglianone, M.C., Aguiar, A.J.C., Vivallo, F. & Alves-dos-santos, I. (2011) Checklist das abelhas coletoras de óleos do Estado de São Paulo, Brasil. Biota Neotropica 11: <http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1a/en/abstract?inventory+bn0331101a2011>.
- Gotelli, N.J. & McCabe, D.J. (2002) Species co-occurrence: a meta-analysis of J.M. Diamond's assembly rules model. Ecology 83: 2091-2096.
- Guimarães, P.R., Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., Izzo, T.J., Dos Reis, S.F. & Thompson, J.N. (2007) Interaction intimacy affects structure and coevolutionary dynamics in mutualistic networks. Current biology 17: 1797–803.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4: 9 pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Jordano, P., Bascompte, J. & Olesen, J.M. (2003) Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions. Ecology Letters 6: 69–81.
- Lua, S. (2013) Guilda de abelhas coletoras de óleo (Apoidea) associada à *Byrsonima sericea* e *Byrsonima cydoniifolia* (Malpighiaceae). Dissertação. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana. 42 pp.

- Machado, I.C. (2004) 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 & J.O.P. Pereira, (eds.), Solitary bees, conservation, rearing and management for pollination. Editora Imprensa Universitária, UFCE, Fortaleza. 285pp.
- Marquitti, F.M.D., Guimarães, P.R., Pires, M.M. & Bittencourt, L.F. (2012) MODULAR: Software for the Autonomous Computation of Modularity in Large Network Sets. [arXiv:1304.2917](https://arxiv.org/abs/1304.2917).
- Mateus, S. (1998) Abundância relativa, fenologia e visitas às flores pelos Apoidea do cerrado da estação Ecológica Jataí – Luiz Antônio – SP. Dissertação. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 164 pp.
- May, R.M. (1973) Qualitative Stability in Model Ecosystems. *Ecology* 3: 638 – 641.
- Mello, M.A.R., Bezerra, E.L.S., & Machado, I.C. (2013) Functional roles of Centridini oil bees and Malpighiaceae oil flowers in Biome-wide pollinations networks. *Biotropica* 45: 45 – 53.
- Mello, M.A.R., Marquitti, F.M.D., Guimarães, P.R., Kalko, E., Jordano, P. & Aguiar, M. (2011) The modularity of seed dispersal: Differences in structure and robustness between bat– and bird–fruit networks. *Oecologia* 167: 131–140.
- Memmott, J, Waser, N.M & Price, M.V (2004) Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proceedings of Royal Society London Series B: Biological Science* 271: 2605–2611.
- Milet-Pinheiro, P. & Schlindwein, C. (2008) Comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e plantas em uma área do Agreste pernambucano, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia* 52: 625-636.
- Milet-Pinheiro, P. & Schlindwein, C. (2010) Mutual reproductive dependence of distylic *Cordia leucocephala* (Cordiaceae) and oligolectic *Ceblurgus longipalpis* (Halictidae, Rophitinae) in the Caatinga. *Annals of Botany* 106: 17–27.
- Neff, J.L. & Simpson, B.B. (1981) Oil-collecting in the Anthophoridae (Hymenoptera): morphology, function and use in systematics. *Journal of Kansas Entomological Society* 54: 95-123.
- Olesen, J. M., Stefanescu, C. & Traveset, A. (2011) Strong, long-term temporal dynamics of an ecological network. *PloS one* 6: 1 - 5.
- Olesen, J.M., Bascompte, J., Dupont, Y.L. & Jordano, P. (2007) The modularity of pollination networks. *PNAS* 104: 19891–19896.
- Pedro, S.R.M. (1994) Interações entre abelhas e flores em uma área de cerrado no NE do estado de São Paulo: abelhas coletoras de óleo (Hymenoptera: Apoidea: Apidae), pp. 243-255. In: R.

- Zucchi et al. (org.), Anais do 1º. Encontro sobre Abelhas. Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto.
- Pinheiro-Machado, C.A (2002) Diversidade e conservação de Apoidea: relações entre riquezas e alteração ambiental no Brasil. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo. 142 pp.
- Pires, M. M. & Guimaraes, P.R. (2012) Interaction intimacy organizes networks of antagonistic interactions in different ways. *Journal of the Royal Society Interface* 10: 20120649.
- R Development Core Team (2008) R: a Language and Environment for Statistical Computing. URL. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, ISBN 3-900051-07-0. <http://www.R-project.org>. 1706 pp.
- Ramalho, M. & Silva, M. (2002) Flora oleífera e sua guilda de abelhas em uma comunidade de restinga tropical. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* 2: 34 - 43.
- Rosa, J.F. & Ramalho, M. (2011) The spatial dynamics of diversity in Centridini bees: the abundance of oil-producing flowers as a measure of habitat quality. *Apidologie* 42: 669-678.
- Schleuning, M. *et al.* (2012) Specialization of Mutualistic Interaction Networks Decreases toward Tropical Latitudes. *Current Biology* 22: 1925 – 1931.
- Stang, M., Klinkhamer, P.G.L. & van der Meijden, E. (2007) Asymmetric specialization and extinction risk in plant–flower visitor webs: a matter of morphology or abundance? *Oecologia* 151:442–453
- Thébault, E. & Fontaine, C. (2010) Stability of Ecological Communities and the Architecture of Mutualistic and Trophic Networks. *Science* 329: 853 – 856.
- Thompson, J.N. (2005) The geographic mosaic of coevolution. University of Chicago press, Chicago. 400 pp.
- Thompson, J.N. (1994) The coevolutionary process. University of Chicago press, Chicago. 383 pp.
- Tylianakis, J.M., Didham, R.K., Bascompte, J. & Wardle, D.A. (2008) Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11: 1351–1363.
- Ulrich, W. & Gotelli, N.J. (2007) Null model analysis of species nestedness patterns. *Ecology* 88: 1824-1831.
- Vilas Boas, J.C., Fava, W.S., Laroca, S. & Sigrist, M.R. (2013) Two sympatric *Byrsonima* species (Malpighiaceae) differ in phenological and reproductive patterns. *Flora* 208: 360–369.
- Vogel, S. (1969) Flowers offering fatty oil instead of nectar. XI Proc. Intl. Bot. Congress, Seattle: p. 229.
- Wolda, H. (1981) Similarity indices, sample size and diversity. *Oecologia* 50:296-302.

Capítulo 3 - Análise morfométrica de indivíduos de *Tetrapedia diversipes* Klug, 1810 provenientes de populações da Floresta Atlântica do Estado de São Paulo.*

* Esse manuscrito foi feito em colaboração com Adriana da Silva¹ que foi responsável por coletar parte das medidas das abelhas e o experimento de manipulação de alimento, e Guaraci D. Cordeiro², responsável pela coleta das abelhas estudadas. Ambos serão co-autores do manuscrito a ser enviado para publicação.

¹ Graduação em Biologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. São Paulo – SP.

² Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, São Paulo

Capítulo 3 – Análise morfométrica de indivíduos de *Tetrapedia diversipes* Klug, 1810 provenientes de populações da Floresta Atlântica do Estado de São Paulo.

Resumo - O tamanho do corpo das abelhas pode afetar o seu *fitness* de várias formas. Existe uma relação indireta entre o tamanho da mãe e o tamanho corpóreo da progene. Isso é possível por que mães maiores usam ninhos e células de cria maiores, tem maior capacidade de forrageio, conseqüentemente as mães maiores vão aprovisionar uma maior quantidade de alimento, e larvas com acesso a mais alimento são maiores. Nós analisamos a relação entre o tamanho corpóreo de indivíduos de *Tetrapedia diversipes* e o tamanho de suas células de cria provenientes de Boracéia e Ilhabela. Além disso, manipulamos 26 células de cria de uma população do campus, retirando alimento de 13 delas. Neste caso, verificamos a relação entre o tamanho corpóreo destas abelhas e a quantidade de alimento consumida. Foram medidos 241 indivíduos, sendo 135 machos e 106 fêmeas. As fêmeas foram maiores que os machos. Houve uma fraca relação entre o tamanho corpóreo e o volume da célula de cria, possivelmente em virtude da baixa variação nos tamanho das células de cria. No experimento de manipulação de alimento os indivíduos que receberam menos alimento cresceram menos. Verificamos que para os indivíduos de *T. diversipes* existe uma relação entre tamanho da célula de cria, quantidade de alimento e tamanho da abelha.

Palavras-chave: abelha solitária, tamanho corpóreo, pólen, cuidado parental, ninho armadilha.

Introdução

O tamanho corpóreo das abelhas afeta fortemente a sua aptidão (*fitness*). Indivíduos maiores podem produzir mais ovos (Tengo & Baur 1993), sobreviver melhor a diapausa (Tepedino & Torchio 1982), machos maiores podem defender mais eficientemente os territórios e ter mais oportunidades de acasalamento (Alcock 1995), em espécies sociais as fêmeas maiores podem se tornar dominantes (Buckle 1982).

O tamanho corpóreo das abelhas é fortemente correlacionado com o de seus pais. Mas, o tamanho, provavelmente, não é passado por herança genética e, se ocorrer, é bastante fraca (Tepedino *et al.* 1984). O tamanho corpóreo das abelhas adultas é correlacionado com o da progene através da sua contribuição na quantidade de alimento provido para as larvas (Johnson 1990, Ribeiro 1994). Indivíduos maiores constroem ninhos com células maiores e com maiores quantidade de alimento (Rooijakkers & Sommeijer 2009, O'Neill *et al.* 2010). Nas espécies de abelhas que nidificam em cavidade pré-existente, o tamanho da célula de cria é relacionado com o diâmetro da cavidade, por sua vez, o diâmetro da cavidade pode ser relacionado com a quantidade de alimento aprovocado (Klostermeyer *et al.* 1973).

As abelhas do gênero *Tetrapedia* (Klug 1810) (Tetrapediini, Apidae) são coletoras de óleo floral e possuem caracteres morfológicos e comportamentais para a obtenção deste recurso (Alves dos Santos *et al.* 2007). As fêmeas deste gênero fazem ninhos em cavidade de madeira pré-existent, em ocos de bambu e em ninhos-armadilha de diferentes tamanhos (Camillo 2000, Garófalo *et al.* 2004). Em geral, os ninhos possuem entre 6 e 15 células e o período de construção pode variar de 3 a 6 semanas (Alves dos Santos *et al.* 2002).

Nesse estudo, analisamos a relação do tamanho das abelhas com o tamanho de suas células de cria e com a quantidade de alimento disponível. Dessa forma, comparamos as medidas morfológicas dos indivíduos de duas populações de *Tetrapedia diversipes* e correlacionamos com o tamanho das células de cria. Além disso, manipulamos a quantidade de alimento disponível para as larvas de *T. diversipes* e comparamos as medidas corpóreas dessas abelhas após emergirem com outros indivíduos que não foram manipulados, correlacionando as medidas obtidas com a quantidade de alimento ingerida.

Metodologia

Os indivíduos de *Tetrapedia diversipes* utilizados na análise nasceram em ninhos armadilhas provenientes de três áreas sob domínio de Floresta Atlântica: 1 Parque Estadual da Ilhabela (23°45'S – 45°27'W; altitude 7 metros); 2 Estação Biológica de Boracéia (23°38'S – 45°52'W; altitude 492 metros) e 3 Campus da Universidade de São Paulo (23°33'S, 46°43'W). Os indivíduos das populações de Ilhabela e Boracéia foram obtidos em um levantamento com ninhos armadilha realizado por Cordeiro (2009). Indivíduos do Campus da Universidade de São Paulo foram obtidos de ninhos armadilha mantidos permanentemente no Laboratório de Abelhas da Universidade de São Paulo. Os ninhos armadilha foram compostos por blocos de madeira furados preenchidos com tubo de cartolina preta, com diâmetro de 0,6 cm e 5,8 cm de comprimento (dois ninhos um de cada localidade tinham diâmetro de 0,8cm).

Morfometria de indivíduos e células de duas populações

As medidas efetuadas nos espécimes foram: a largura da cabeça, a distância do ocelo central à fissura do labro e a distância inter-tegular (Fig. 1) para estimar a massa seca das abelhas com um auxílio da seguinte fórmula $ITS = 0,77 DM^{0,405}$, onde ITS é a distância intertegular e DM é a massa seca (Bullock 1999). As abelhas foram fotografadas com uma máquina digital acoplada ao estereomicroscópio e as estruturas foram medidas com o *software* Gimp. Os indivíduos foram separados quanto ao local de coleta, sexo e ninho de procedência. No total, foram medidos 135 indivíduos machos e 106 fêmeas das populações de Ilhabela (105 machos e 69 fêmeas) e Boracéia (30 machos e 37 fêmeas). Os comprimentos das células de cria foram medidos com auxílio de paquímetro digital, e o volume das células foi estimado (considerando o diâmetro dos ninhos, como descrito no tópico anterior). As comparações dos tamanhos dos indivíduos entre as populações e sexo foram feitas usando ANOVA. A relação entre tamanho dos indivíduos e volume das células de crias foi feita para os indivíduos das populações de Ilhabela e Boracéia usando teste de regressão. As análises foram feitas com o programa R (R Development Core Team, 2009).

Experimento de manipulação de alimento e morfometria

Testamos a influência da quantidade de alimento disponível aos imaturos no seu tamanho. Durante quatro meses entre novembro 2010 e fevereiro de 2011, acompanhamos ninhos-armadilha que foram ocupados por fêmeas de *T. diversipes* no Laboratório de Abelhas. Ao observar o término da construção de uma célula (após acompanhar o comportamento da fêmea por uns dias), o tubo contendo o ninho foi retirado do bloco de madeira e foi examinado. Com auxílio de paquímetro

digital foi medido o espaço da carga de pólen contida em cada célula, e a última célula da série construída teve uma parte de sua carga polínica retirada. A carga polínica retirada foi pesada em balança de precisão (Explorer OHAUS) e armazenada em eppendorf no freezer. Também foi retirado e pesado todo pólen de cinco células para obter a quantidade de alimento depositada para uma larva ($N = 5$). Os ninhos manipulados foram acondicionados em tubos de ensaio e acompanhados diariamente até a emergência. Como controle, foram acompanhados células de imaturos que não tiveram o alimento manipulado. Após a emergência, os indivíduos de *T. diversipes* foram mortos com acetato de etila, alfinetados, etiquetados e depositados na Coleção Entomológica Paulo Nogueira Neto (CEPANN). Desses indivíduos foram tomadas as mesmas medidas mencionadas no item anterior (Fig. 1). Foram feitas análises de ANOVA para avaliar a diferença morfométrica entre indivíduos que tiveram o alimento manipulado e não manipulado, e análise de regressão para verificar a influência da quantidade de alimento e o tamanho dos indivíduos.

Figura 1. Medidas feitas nos indivíduos de *Tetrapedia diversipes*. A – Largura da cabeça entre os olhos (seta pontilhada) e comprimento da cabeça (do ocelo central à fissura do labro). B – Distância intertegular.

Resultados

Morfometria dos indivíduos de Ilhabela e Boracéia

Nos 241 indivíduos medidos, 67 da Estação Biológica de Boracéia e 174 da Ilhabela (Tab. 1), verificamos diferença no comprimento da cabeça das abelhas entre as duas populações ($F = 69,39$; $g.l = 1$; $p = 0,0001$) (Fig. 2).

Tab. 1. Valor médio e desvio padrão das medidas tomadas nos machos e fêmeas de *Tetrapedia diversipes* das populações de Ilhabela e Boracéia.

Localidade	Sexo	N	Comprimento da cabeça (mm)	Largura da cabeça (mm)	Distância inter-tegular (mm)	Massa seca (mg)
Ilhabela	♂	105	2,07 ± 0,13	2,73 ± 0,10	2,09 ± 0,11	22,98 ± 0,11
	♀	69	2,11 ± 0,16	2,74 ± 0,11	2,13 ± 0,12	23,02 ± 0,12
Boracéia	♂	30	1,86 ± 0,17	2,7 ± 0,11	2,07 ± 0,12	22,96 ± 0,12
	♀	37	1,92 ± 0,09	2,74 ± 0,18	2,09 ± 0,10	22,99 ± 0,10

Figura 2. Comprimento da cabeça de indivíduos de *Tetrapedia diversipes* emergentes das populações estudadas. O *box plot* mostra a mediana, os *quartis* e o máximo e mínimo dos valores obtidos para este comprimento.

Na população de Ilhabela as fêmeas são maiores que os machos no que se refere à massa seca ($F = 5,114$; $g.l = 1$; $p = 0,02$). Na Boracéia não foi verificada diferença significativa entre os sexos. Quando comparamos todas as fêmeas com todos os machos, independente da população de origem, verificamos que a massa seca das fêmeas de *T. diversipes* foram estatisticamente maiores que a dos machos ($F = 4,989$; $p = 0,026$) (Fig. 3). As demais medidas não apresentaram diferenças entre os sexos.

Figura 3. Massa seca (mg) dos indivíduos do sexo masculino e feminino das duas populações de *Tetrapedia diversipes* estudadas. A medida é referente aos valores médios de todos os indivíduos de cada sexo, independente da população de origem.

As 241 células de *T. diversipes* das populações de Ilhabela (174) e Boracéia (67) tinham volume semelhante (Tab. 2). Nas duas populações a maioria das células (> 80%) tinham volume próximo ao valor médio (entre 22 mm³ e 30 mm³).

Não foi verificada relação entre as medidas corpóreas das abelhas e volume das células de cria para os indivíduos de Ilhabela. Na população de Boracéia verificamos uma relação entre a massa seca e volume da célula ($F = 9,751$; g.l = 65; $p = 0,002$, $R^2 = 0,11$) e entre largura da cabeça e volume ($F = 8,955$; g.l = 65; $p = 0,003$, $R^2 = 0,10$).

Tabela 2. Medidas das células de *T. diversipes*, das quais os indivíduos analisados emergiram.

Local	Número de células	Comprimento das células (mm)	Média do volume das células (mm ³)
Boracéia	64*	$0,97 \pm 0,07$	$0,27 \pm 0,035$
Ilhabela	171*	$0,89 \pm 0,09$	$0,25 \pm 0,03$

* Foram retiradas desta análise quatro células de Boracéia e três de Ilhabela cujo diâmetro dos ninhos foi de 0,8 cm.

Experimento de manipulação de alimento e morfometria

Vinte e seis indivíduos de *T. diversipes* emergiram das células acompanhadas: 13 foram de células com alimento manipulado e 13 sem manipulação (controle) (Anexo 1). Os indivíduos provenientes de células controle foram estatisticamente maiores que os indivíduos com alimento retirado em todas as medidas analisadas: largura da cabeça ($F = 55,53$; g.l = 25; $p = 0,0001$), comprimento da cabeça ($F = 31,03$; g.l = 25; $p = 0,0001$) e massa seca ($F = 59,11$; g.l = 25; $p = 0,0001$) (Fig. 4). O alimento dos indivíduos das células controle pesaram em média $89,28 \text{ mg} \pm 8,13$.

Entre os indivíduos emergentes de células manipuladas verificamos que aqueles que receberam mais alimento (os que tiveram menor quantidade de alimento retirada da célula) foram maiores com relação a todas as medidas analisadas: largura da cabeça ($R^2 = 0,27$; g.l = 11; $p = 0,03$); comprimento da cabeça ($R^2 = 0,14$; g.l = 11; $p = 0,11$); e massa seca ($R^2 = 0,72$; g.l = 11; $p = 0,0001$) (Fig. 5). No entanto, o valor de R^2 foi alto apenas quando analisamos a medida de massa seca ($R^2 = 0,72$).

Figura 4. Comparação das medidas morfológicas dos indivíduos de *T. diversipes* emergentes do Laboratório de Abelhas no município de São Paulo do experimento com manipulação de alimento (n = 26, sendo 13 controles e 13 manipulados). O *box plot* mostra a mediana, os quartis e o máximo e mínimo da: A) Largura da cabeça; B) Comprimento da cabeça; C) Massa seca.

Figura 5. Regressão linear entre as medidas morfológicas de indivíduos de *T. diversipes* emergentes (n = 13) e o peso do pólen retirado de cada célula. A) Largura da cabeça; B) Comprimento da cabeça; C) Massa seca.

Discussão

Indivíduos de *Tetrapedia diversipes* diferiram no comprimento da cabeça entre as duas populações estudadas. Também foi verificado que abelhas que tiveram acesso a uma maior quantidade de alimento atingiram maiores tamanhos. Os indivíduos controle foram maiores que os manipulados, e entre os manipulados os que receberam mais alimento também foram maiores. No entanto, quando relacionamos as medidas dos indivíduos das duas populações com o volume de suas células de cria não achamos uma forte correlação.

Abelhas de diferentes populações podem exibir pequenas modificações morfológicas. De uma forma geral, as diferenças morfométricas são encontradas em populações de abelhas que não mantêm fluxo gênico e são separadas como subespécies (Amssalu *et al.* 2004, Borsuk & Olszewski 2010). As populações estudadas estão separadas por 52 Km, e altitudes de 499 m em Boracéia e 7 m em Ilhabela, assim não há fluxo gênico entre elas, o que pode provavelmente explicar a diferença no comprimento da cabeça entre os indivíduos de *T. diversipes* nas populações estudadas. Para esta mesma espécie de abelhas, Neves (2012) encontrou na Bahia que indivíduos de três populações de *T. diversipes* separadas por até 500 metros apresentaram distintos padrões morfológicos baseados na morfometria das asas, a autora sugere que o baixo fluxo gênico entre as populações pode explicar a diferença encontrada.

Roulston & Cane (2000) sugerem que para espécies de abelhas que nidificam em cavidades naturais, o tamanho da cavidade utilizada é muito importante para a quantidade de alimento provisionado. As fêmeas de *T. diversipes* nidificam em cavidades naturais (Camillo 2000). Mas, no caso das populações estudadas, a ausência de relação entre o tamanho das abelhas com o tamanho das células de cria pode ser explicada pela falta de variação entre os tamanhos das células construídas. Os ninhos armadilhas oferecidos tiveram um diâmetro padrão (0,6 cm), portanto o espaço disponível para as abelhas construírem os ninhos tende a ser semelhante. Mesmo as abelhas emergidas nas sete células (dois ninhos) cujos diâmetros dos ninhos foi de 0,8cm não encontramos grande diferença. As medidas corpóreas dos indivíduos que emergiram destas células foram similares à média da população. A quantidade de alimento armazenado pode variar caso a fêmea construa células mais longas. Porém, não temos os dados da quantidade de alimento disponível para as abelhas de Ilhabela e Boracéia. Isso fica mais claro se analisarmos os volumes das células construídas. Nas duas áreas a maior parte das células construídas (aproximadamente 80%) teve um volume próximo da média. Assim, a fraca relação entre o tamanho das abelhas e o volume das células pode ser consequência de grande parte das células terem volumes próximos.

O tamanho corpóreo das abelhas pode estar relacionado ao seu sucesso reprodutivo de várias formas. Abelhas maiores têm maior capacidade de vôo, maior potencial de aprovisionamento, e provavelmente ingeriram maior quantidade de alimento destinada aos indivíduos quando larvas (Johnson 1990, Ribeiro 1994, Araújo *et al.* 2004, Rooijakkers & Sommeijer 2009). A variação no tamanho corpóreo, em muitos casos é associada ao sexo. Fêmeas de *T. diversipes* foram maiores que os machos em todas as medidas analisadas, porém, apenas a massa seca foi significativamente diferente. No caso da variação intersexual, de uma forma geral, as fêmeas são maiores que os machos (e.g *Lassioglossum zephyrum* - Klostermeyer *et al.* 1973, *Ceratina calcarata* - Johnson 1990, *Colletes halophilus* - Rooijakkers & Sommeijer 2009).

Variação nas medidas morfológicas do corpo das abelhas provavelmente não são hereditárias (Tepedino *et al.* 1984), mas tem ligação com o tamanho da mãe através de mecanismos não genéticos. Existem registros de relação entre o tamanho da mãe com o tamanho da célula de cria (Kamm 1974, Tepedino & Torchio 1989), entre o tamanho da mãe com a quantidade de alimento aprovisionado (Boomsma & Eickwort 1993), entre o tamanho da célula de cria e a quantidade de alimento aprovisionado (Krombein 1967, Johnson 1990), entre a quantidade de alimento e o tamanho das abelhas emergidas (Klostermeyer *et al.* 1973, Danforth 1990, Johnson 1990) e entre o tamanho da célula de cria e tamanho das abelhas emergidas (Klostermeyer *et al.* 1973, Kamm 1974, Alcock 1979, 1999, Tepedino & Torchio 1982). Fêmeas maiores de *Centris palida* demonstraram maior capacidade de aprovisionamento (Alcock 1979). A maior capacidade de forrageio das abelhas maiores pode ser constatada em indivíduos de seis espécies de Meliponini, onde abelhas maiores atingem maiores distâncias de vôo (Araújo *et al.* 2004).

O experimento de manipulação de alimento mostrou que a retirada de porções do alimento aprovisionado resultou, como esperado, em indivíduos menores, já que as larvas tiveram acesso à menor quantidade de alimento. A influência na quantidade de alimento ingerido e o tamanho das abelhas emergidas já foi reportada para algumas espécies. Em *Megachile rotundata* há uma forte relação entre o peso da provisão e o peso e sexo da progênie resultante (Klostermeyer *et al.* 1973, O'Neill *et al.* 2010), nesse caso as fêmeas foram relacionadas com as células com maiores provisões. O mesmo resultado foi encontrado em indivíduos de *Calliopsis persimilis* (Danforth 1990). Em *Ceratina calcarata* abelhas maiores foram as que receberam mais alimento quando larva e as fêmeas maiores têm uma maior capacidade de forrageio e constroem células com mais alimentos (Johnson 1990). Os nossos dados de manipulação da quantidade de alimento ingerida por indivíduos de *T. diversipes* corroboram a nossa expectativa de que abelhas maiores ingeriram mais alimento quando larvas.

Concluímos que para os indivíduos de *T. diversipes* existe uma relação positiva entre o volume da célula de cria, quantidade de alimento destinado às larvas e tamanho das abelhas adultas que emergem destas células. As abelhas provenientes das populações de Ilhabela e Boracéia mostraram uma tendência de relação entre abelhas maiores emergirem de células de cria maiores. No entanto, a relação foi fraca devido à pouca variação no tamanho das células. Quando foi retirado alimento das abelhas, a relação do tamanho corpóreo, em especial massa seca, com a quantidade de alimento disponível foi maior. Em células de cria com mais alimento emergem abelhas maiores.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pela bolsa concedida a Carlos Eduardo Pinto da Silva (143001/2009-4), a Fapesp pela bolsa de Guaraci Duran Cordeiro (2011/06811-5) e Isabel Alves dos Santos (Fapesp 2004/00274-4). Ao Laboratório de Abelhas pela infra-estrutura. Ao Dr. Tiago M. Franco por disponibilizar o seu laboratório para que as fotos fossem feitas. À Ms. Katia Aleixo pela confecção das fotos do esquema 1.

Referências Bibliográficas

- Alcock, J. (1979) The relation between female body size and provisioning behavior in the bee *Centris pallida* Fox (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 52:623-632.
- Alcock, J. (1995) Body size and its effect on male-male competition in *Hylaeus alcyoneus* (Hymenoptera: Colletidae). *Journal of Insect Behavior* 8:149-159.
- Alcock, J. (1999) The nesting behavior of Dawson's burrowing bee, *Amegilla dawsoni* (Hymenoptera: Anthophorini), and the production of offspring of different sizes. *Journal of Insect Behavior* 12: 363-384.
- Alves dos santos, I., Machado, I.C. & Gaglianone, M.C. (2007). História natural das Abelhas coletoras de óleo. *Oecologia Brasilienses* 11: 544–557.
- Alves dos Santos, I., Melo, G.A.R. & Rozen, J.G. (2002) Biology and Immature Stages of the Bee Tribe Tetrapediini (Hymenoptera: Apidae). *American Museum Novitates* 3377: 1-45.
- Amssalu, B., Nuru, N., Radloff, S.E. & Hepburn, H.R. (2004) Multivariate morphometric analysis of honeybees (*Apis mellifera*) in the Ethiopian region. *Apidologie* 35: 71–81.
- Araújo, E.D., Costa, M., Chaud-Netto, J. & Fowler, H.G. (2004) Body size and flight distance in stingless bees (Hymenoptera: Meliponini): inference of flight range and possible ecological implications. *Brazilian Journal of Biology* 64: 563-568.

- Boomsma, J.J. & Eickwort, G.C. (1993) Colony structure, provisioning and sex allocation in the sweat bee *Halictus ligatus* (Hymenoptera: Halictidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 48:355-377.
- Borsuk, G. & Olszewski, K. (2010) Morphometric traits of Buckfast and Caucasian bees. *Journal of Apicultural Science* 54: 43-48.
- Buckle, G.R. (1982) Differentiation of queens and nestmate interactions in newly established colonies of *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Halictidae). *Sociobiology* 7: 8–20.
- Bullock, S.H. (1999) Relationships among Body Size, Wing Size and Mass in Bees from a Tropical Dry Forest in Mexico. *Journal of the Kansas Entomological Society* 72: 426-439.
- Camillo, E. (2000) Biologia de quatro espécies de *Tetrapedia* em ninhos armadilha (Hymenoptera, Apidae, Tetrapediini). Tese de Livre Docência, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 85pp.
- Cordeiro, G. D. (2009) Abelhas solitárias nidificantes em ninhos-armadilha em quatro áreas de Mata Atlântica do Estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 78 pp.
- Danforth, B. N. (1990) Provisioning behavior and the estimation of investment ratios in a solitary bee, *Calliopsis (Hypomacrotera) persimilis* (Cockerell) (Hymenoptera: Andrenidae). *Behavioural Ecology and Sociobiology* 27:159-168.
- Garófalo, C.A., Martins, C.F. & Alves dos Santos, I. (2004) The Brazilian solitary bee species caught in trap nests *In*: International Workshop on solitary bees and their role in pollination, Beberibe, CE. Solitary Bees: conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza: Imprensa Universitária. p.77 – 84.
- Johnson, M.D. (1990) Female size and fecundity in the small carpenter bee, *Ceratina calcarata* (Robertson) (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 63:414-419.
- Kamm, D.R. (1974) Effects of temperature, day length, and number of adults on the sizes of cells and offspring in a primitively social bee (Hymenoptera: Halictidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 47:8-18.
- Klostermeyer, E.C, Mech, Jr. S.J. & Rasmussen, W.B. (1973) Sex and weight of *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae) progeny associated with provision weights. *Journal of the Kansas Entomological Society* 46: 536-548.
- Krombein, K.V (1967) *Trap-Nesting Wasps and Bees*. Smithsonian Press, Washington, D.C. 569 pp.

- Michener, C.D. & Lange, R.B. (1958) Observations on the ethology of neotropical Anthophorine bees (Hymenoptera: Apoidea). University of Kansas Science Bulletin 39: 69-96.
- Neves, C.M.L. (2012) Nidificação, recursos polínicos e caracterização morfométrica de *Tetrapedia diversipes* KLUG, 1810 (Hymenoptera: Apidae) no Recôncavo da Bahia. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. 84 pp.
- O'Neill, K.M., Pearce, A.M., O'Neill, R.P. & Miller, R.S. (2010) Offspring size and sex ratio variation in a feral population of alfalfa leafcutting bees (Hymenoptera: Megachilidae). Annals of The Entomological Society of America 103: 775-784.
- R Development Core Team (2009) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Ribeiro, M.F. (1994) Growth in bumble bee larvae: relation between development time, mass, and amount of pollen ingested. Canadian Journal of Zoology 72:1978-1985.
- Rooijackers, E.F. & Sommeijer, M.J. (2009) gender specific brood cells in the solitary bee *Colletes halophilus* (Hymenoptera; Colletidae). Journal of Insect Behaviour 22: 492–500.
- Roulston, T.H. & Cane, J.H. (2000) The effect of diet breadth and nesting ecology on body size variation in bees (Apiformes). Journal of the Kansas Entomological Society 73:129-142.
- Tengo, J. & Baur, B. (1993) Number and size of oocytes in relation to body size and time of day in the kleptoparasitic bee *Nomada lathburiana* (Hymenoptera: Anthophoridae). Entomologia Generalist 18:19-24.
- Tepedino, V.J. & Torchio, P.F. (1989) Influence of nest hole selection on sex ratio and progeny size in *Osmia lignaria propinqua* (Hymenoptera: Megachilidae). Annals of the Entomological Society of America 82:355-360.
- Tepedino, V.J. & Torchio, P.F. (1982) Phenotypic variability in nesting success among *Osmia lignaria propinqua* females in a glasshouse environment (Hymenoptera: Megachilidae). Ecological Entomology 7:453-462.
- Tepedino, V.J., Thompson, R. & Torchio, P.F. (1984) Heritability for size in the megachilid bee *Osmia lignaria propinqua*. Apidologie 15:83-88.

Anexo

Anexo 1. Indivíduos de *Tetrapedia diversipes* emergidos de ninhos armadilhas no Campus da Universidade de São Paulo. Dos 26 indivíduos emergidos, o alimento não foi manipulado (controle) em 13 e em outros 13 o alimento foi retirado (manipulado). As abelhas foram medidas e a valor do peso do pólen é referente à quantidade de massa polínica retirada de cada célula. As abelhas de células controle não tiveram alimento retirado.

Ninho	Largura da cabeça (mm)	Comprimento da cabeça (mm)	Massa seca (mg)	Peso do pólen retirado (mg)
controle	3,16	2,16	23,20	-
controle	2,83	1,83	22,97	-
controle	3,16	2	23,27	-
controle	3,08	2,08	23,20	-
controle	3	2	23,20	-
controle	3,04	2,99	23,22	-
controle	3,14	3,13	23,28	-
controle	3,09	3,1	23,05	-
controle	3,24	3,34	23,18	-
controle	3,16	3,05	23,29	-
controle	3,13	3,14	23,12	-
controle	3,05	2,98	23,2	-
controle	3,1	2,99	23,35	-
manipulado	2,83	1,83	23,04	5,3
manipulado	2,83	1,91	22,89	5,7
manipulado	2,91	1,83	22,97	6
manipulado	2,91	2	22,81	7,3
manipulado	2,62	1,67	22,88	7,4
manipulado	2,83	2	22,89	10,2
manipulado	2,4	1,77	22,85	10,9
manipulado	2,55	1,76	22,77	12,4
manipulado	3	1,62	22,64	12,5
manipulado	2,57	1,75	22,54	14,5
manipulado	2,41	1,66	22,51	14,8
manipulado	2,58	1,8	22,73	15,7
manipulado	2,58	1,75	22,58	16,3

Capítulo 4 – **Plantas produtoras de óleo floral produzem odores?***

* Este manuscrito foi elaborado em colaboração com a Dra. Anita Marsaioli¹ e o Dr. Muhammad Haleem¹ que foram responsáveis pelas análises químicas dos odores voláteis.

¹ Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas - São Paulo.

Capítulo 4 – Plantas produtoras de óleo floral produzem odores voláteis?

Resumo – Existe uma dependência mútua entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo. Essas espécies de abelhas são solitárias e precisam achar as fontes de óleo para alimentar as larvas e/ou construir o ninho. Outras associações de dependência mútua entre plantas e abelhas solitárias mostram que as abelhas utilizam odores florais produzidos pelas plantas para localizar a planta fonte de recurso. Para saber se as plantas produtoras de óleo floral produzem odores voláteis e se esses odores são atrativos para as abelhas coletoras de óleo, nós procuramos voláteis em indivíduos de uma espécie: *Byrsonima intermedia*. As coletas de odores voláteis foram feitas com a técnica de *dynamic headspace*. O material foi analisado em GCMS e as substâncias foram identificadas. Após as análises não encontramos produção de odores voláteis nos indivíduos de *B. intermedia*. No entanto, plantas produtoras de óleo de outras famílias e algumas espécies de Malpighiaceae produzem estes compostos. Para outras espécies de plantas produtoras de óleo verificou-se a produção de odores voláteis nas flores e no óleo. Se indivíduos de *B. intermedia* produzirem voláteis, provavelmente, os esses compostos não são produzidos pela flor.

Palavras-chave: abelha solitária; Centridini; interação; cerrado; Malpighiaceae; *Byrsonima*.

Introdução

A interação entre plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo foi inicialmente descrita por Vogel (1969). Aproximadamente 2400 espécies de plantas pertencentes a 10 famílias produzem óleo floral que são produzidos e armazenados em glândulas denominadas elaióforos (Vogel 1974). O óleo é o principal recurso floral destas espécies e é coletado por cerca de 330 espécies de abelhas especializadas que polinizam suas flores (Neff & Simpson, 2005). Estas espécies de abelhas coletam óleo floral e utilizam-no na construção do ninho e no alimento larval, misturado com pólen (Buchmann 1987). As abelhas coletoras de óleo floral são solitárias, ou seja, a cria não tem contato com a geração anterior (Michener 2007). Dessa forma, as fêmeas ao emergirem devem ser hábeis para encontrar os recursos necessários à sobrevivência e para sua prole. As adaptações morfológicas e comportamentais que permitem a este grupo coletar os óleos florais já foram descritas (Neff & Simpson 1981). No entanto, não é conhecido como as abelhas identificam as fontes de óleo.

Voláteis florais desempenham um papel de destaque na atração de visitantes florais, que preferem flores com odor em detrimento das sem odor (Knudsen *et al.* 1999, Kunze & Gumbert 2001, Raguso & Willis 2002, Schiestl 2004, Ayasse 2010, Ayasse *et al.* 2011). Bioensaios mostram que visitantes florais podem discriminar qualitativamente e quantitativamente a composição do aroma floral (e.g., Heath *et al.* 1992, Ômura *et al.* 1999, Andersson 2003, Andersson & Dobson 2003). Em espécies de abelhas que restringem a coleta de pólen a plantas de um mesmo gênero ou família (abelhas oligoléticas), foi verificado que voláteis florais altamente específicos seriam a chave para o reconhecimento das plantas hospedeiras (Dobson & Bergström 2000, Burger *et al.* 2011). Recentemente, foi verificado que os odores florais de *Lysimachia punctata* (Myrsinaceae), planta que oferece óleo floral como recompensa, foi responsável pela atração da abelha coletora de óleo floral do Velho Mundo: *Macropis fulvipes* - Melittidae (Dötterl & Schäffler 2007). Assim como as abelhas oligoléticas, as abelhas coletoras de óleo floral são solitárias e tem forte dependência do recurso floral para completar seu ciclo de vida. Como já foi demonstrada a importância dos voláteis florais na atração de espécies de abelhas oligoléticas e abelhas coletoras de óleo floral do velho mundo, nós esperamos que as espécies de plantas produtoras de óleo floral no cerrado brasileiro produzam voláteis e que estes voláteis sejam reconhecidos pelas abelhas coletoras de óleo floral e o utilizem como sinal de atração. Desta forma, investigamos se *Byrsonima intermedia* produz odores voláteis.

Metodologia

Área de estudo

O trabalho foi realizado na Estação Ecológica de Itirapina (EEI), situada nos municípios de Itirapina e Brotas (22°00' - 22°15'S, 47°45' - 48°00'W, 720-750m de altitude). As coletas foram nos dias 14 de outubro e 10 de dezembro de 2010 e 27 de janeiro, 25 de novembro e 20 de dezembro de 2011. A EEI tem uma área de 2.300 hectares, a vegetação é composta por espécies de cerrado, com fisionomias principalmente de campo sujo, campo limpo e campo cerrado.

Extração e teste de atratividade dos odores florais

A extração dos odores voláteis foi feita com a técnica de *dynamic-headspace*. A coleta de odores florais usando esta técnica consistiu em fechar uma inflorescência usando sacos de polietileno (Toppits®) por uma hora. O ar contido nesse espaço foi sugado por uma bomba de membrana, e os voláteis emitidos foram armazenados em uma mistura (1:1) de Tenax-TA (mesh 60–80, Supelco) e Carbopack X (mesh 40–60, Supelco) contidos em tubos de vidro (100 mm de comprimento, 4 mm de diâmetro interior) e fixados entre lã de vidro. As coletas foram realizadas em cinco dias. Foram feitas cinco coletas (cinco dias). Em cada dia foi realizada a coleta do odor floral das inflorescências (em flores recém-abertas, de uma inflorescência com 10 a 20 flores), de ramos sem flores e uma amostra do ambiente (controle). As amostras obtidas foram armazenadas no freezer até a realização das análises químicas de cromatografia gasosa e espectrometria de massa segundo protocolo apresentado em (Ayasse *et al.* 2000, 2003). Posteriormente, as amostras obtidas foram analisadas em cromatógrafo gasoso e espectrômetro de massa (GCMS). As análises de GCMS foram realizadas no Departamento de Química Orgânica da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

Resultados

Após as análises do conteúdo das flores de *Byrsonima intermedia* que foi coletado com a mistura (1:1) de Tenax-TA e Carbopack X fixadas encontramos quatro compostos químicos, todos ácidos associados ao óleo, não foi verificado a presença de voláteis (Fig. 1).

Figura 1. Os gráficos mostram o resultado da análise de GCMS, no qual é possível verificar o tempo de retenção e os picos dos voláteis que foram armazenados na mistura de Tenax-TA e Carbopack X. de etila das flores de *Byrsonima intermedia*. Os números indicados nos picos dos gráficos são as substâncias identificadas, elas são: 1) 3,7 Ácido diacetoxycosanoico. 2)- Nonacosano, 3) – Ácido byrsonico. 4) – 5 Hidroxi – 4,7 dimetoxylavonona.

Discussão

Ao contrário da nossa expectativa não encontramos odores voláteis nas amostras de *Byrsonima intermedia*, apenas achamos ácidos e componentes do óleo. É bem conhecido que as abelhas não utilizam apenas o sinal visual para a orientação, a sinalização olfativa também é importante para encontrar as fontes florais. Isso é válido para visitantes florais em busca de pólen (Milet-Pinheiro *et. al.* 2012), óleo (Dötterl & Schächler 2007). Os odores florais são considerados importantes para a sinalização à longa distancia (Knudsen *et. al.* 1999), e para abelhas sem experiência de forrageio (Roy & Raguso 1997, Dötterl *et. al.* 2005).

Algumas espécies de abelhas especialistas no recurso floral utilizam odores florais para discriminar a fonte de recurso (Dobson & Bergstrom 2000). Machos da tribo Euglossini coletam odores voláteis em flores, especialmente em Orchidaceae, e são atraídos por esses odores (Eltz *et. al.* 2006, Teichert *et. al.* 2009). Odores florais também são sinais chave para a atração de espécies de abelhas oligoléticas (Dobson 1987, Milet-Pinheiro *et. al.* 2012). Em muitos destes casos os odores voláteis são do pólen, originários do *pollenkitt*, e contrasta com os odores produzidos em outras partes florais (Dobson & Bergström 2000). As abelhas oligoléticas são solitárias e estreitamente dependentes das fontes de pólen (Cane & Sipes 2006). Estudos de interação entre abelhas oligoléticas e suas fontes de pólen mostraram que as plantas produzem odores que são o sinal de atração para suas abelhas especialistas, e que para as abelhas sem experiência de forrageio a resposta aos odores florais é mais forte (Dobson & Bergström 2000, Dötterl *et. al.* 2005, Andrews *et. al.* 2007).

As abelhas coletoras de óleo são solitárias e dependem do óleo para completar o ciclo de vida. O óleo é utilizado junto ao pólen como alimento larval e é utilizado para impermeabilização dos ninhos (Buchmann 1987). A alta dependência do recurso floral e o comportamento solitário obrigam a abelha a ser hábil para encontrar o recurso mesmo sem experiência previa de forrageio. Na Europa apenas algumas espécies de *Lysimachia* (Myrsinaceae) produzem óleo floral, que é coletado por abelhas do gênero *Macropis* (Mellitinae) (Vogel 1986). Estudos de ecologia química da interação entre *Lysimachia punctata* e *Macropis fulvipes* verificaram que as plantas produzem odores florais e esses odores atraem os indivíduos de *M. fulvipes* (Dötterl *et. al.* 2005, Dötterl, & Schächler 2007, Schächler *et al.* 2012). No entanto, nós não encontramos produção de odores voláteis nos indivíduos de *Byrsonima intermedia* estudados. No trabalho de Dötterl, & Schächler (2007), eles verificaram que os odores voláteis foram produzidos nas flores e no óleo e que esses odores foram importantes na atração das fêmeas de *M. fulvipes*. As coletas dos odores florais no trabalho de Dötterl, & Schächler (2007) foram feitas com a técnica de *dynamic headspace*, que foi a mesma

utilizada por nós e é bastante estabelecida e utilizada em trabalhos para analisar odores florais em outras espécies de plantas (Dobson *et al.* 2005, Ayasse 2010). Acreditamos em duas explicações para não encontramos odores voláteis em *B. intermedia*: indivíduos desta espécie não produzem voláteis; ou os voláteis não são produzidos pela flor, mas em outra parte, provavelmente o óleo. Recentemente Dötterl (com. pessoal) afirmou que extraiu de algumas espécies de Malpighiaceae compostos atrativos para as abelhas coletoras de óleo. Dessa forma, estudos de ecologia química com espécies de Malpighiaceae podem tentar coletar odores florais vinculados ao óleo.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pela bolsa concedida a Carlos Eduardo Pinto da Silva (143001/2009-4), a Fapesp pela bolsa de Isabel Alves dos Santos (Fapesp 2004/00274-4). A Dra. Ainta Marsaioli e ao Dr. Muhammad Haleem por colaborarem com as análises químicas. Ao laboratório de abelhas pela infra-estrutura.

Referências Bibliográficas

- Andersson, S. & Dobson, H.E.M. (2003) Behavioral foraging responses by the butterfly *Heliconus melpomene* to *Lantana camara*. *Journal of Chemical Ecology* 29: 2303–2318.
- Andersson, S. (2003) Foraging responses in the butterflies *Inachisio*, *Aglais urticae* (Nymphalidae), and *Gonepteryx rhamni* (Pieridae) to floral scents. *Chemoecology* 13: 1–11.
- Andrews, E.S., Theis, N. & Adler, L.S. (2007) Pollinator and herbivore attraction to *Cucurbita* floral volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 33: 1682–1691.
- Ayasse, M (2010) Chemical Ecology in deceptive orchids. *Chemoecology* 20:171–178.
- Ayasse, M., Stökl, J. & Francke, W. (2011) Chemical Ecology and speciation in sexually deceptive orchids. *Phytochemistry* 72:1667–1677.
- Ayasse, M., Schiestl, F. P., Paulus, H. F., Löfstedt, C., Hansson, B., Ibarra, F. & Francke, W. (2000) Evolution of reproductive strategies in the sexually deceptive orchid *Ophrys sphegodes*: how does flower-specific variation of odor signals influence reproductive success? *Evolution* 54: 1995–2006.
- Ayasse, M., Schiestl, F., Paulus, H. F., Ibarra, F. & Francke, W. (2003) Pollinator attraction in a sexually deceptive orchid by means of unconventional chemicals. *Proceedings of the Royal Society of London* 270: 517-522.

- Buchmann, S.L. (1987) The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review Ecology and Systematics* 18: 343-369.
- Burger, H., Dötterl, S., Häberlein, C., Schulz, S. & Ayasse, M. (2011) An arthropod deterrent attracts specialised bees to their host plants. *Oecologia* 168: 727–736.
- Cane, J.H. & Sipes, S. (2006) Floral specialization by bees: analytical methodologies and a revised lexicon for oligolecty. pp. 99-122. *In* Plant-Pollinator Interactions: From Specialization to Generalization. N. Waser and J. Ollerton, (eds.), Univ. Chicago Press
- Dobson, H.E.M. (1987) Role of flower and pollen aromas in host-plant recognition by solitary bees. *Oecologia* 72: 618-623.
- Dobson, H.E.M. & Bergström, G. (2000) The ecology of pollen odors. *Plant Systematics and Evolution* 222: 63-87.
- Dobson HEM, Raguso RA, Knudsen JT, Ayasse M (2005) Scent as an attractant. In: Dafni A, Kevan PG, Husband BC (eds) *Practical Pollination Biology*. Enviroquest Ltd., Cambridge, ON, Canada. 315 pp.
- Dötterl, S. & Schöffler, I. (2007) Flower Scent of Floral Oil-Producing *Lysimachia punctata* as attractant for the Oil-Bee *Macropis fulvipes*. *Journal of Chemical Ecology* 33: 441–445.
- Dötterl, S., Füssel, U., Jürgens, A. & Aas, G. (2005) 1,4 – Dimethoxybenzene, a floral scent compound in willows that attracts an oligolectic bee. *Journal of Chemical Ecology* 31: 2993-2998.
- Eltz, T., Ayasse, M. & Lunau, K. (2006) Species-specific antennal response to tibial fragrances in male orchid bees. *Journal of Chemical Ecology* 32:71-79.
- Heath, R.R., Landolt, P.J., Dueben, B. & Lenczewski, B. (1992) Identification of floral compounds of night-blooming jessamine attractive to cabbage looper moths. *Environmental Entomology* 21: 854–859.
- Knudsen, J.T., Andersson, S. & Bergman, P. (1999) Floral scent attraction in *Geonoma macrostachys*, an understorey palm of the Amazonian rain forest. *Oikos* 85: 409–418.
- Kunze, J. & Gumbert, A. (2001) The combined effect of color and odor on flower choice behavior of bumble bees in flower mimicry systems. *Behavioral Ecology* 12: 447–456.
- Michener, C. D. 2007 *The bees of the world*, 2nd edn. Baltimore, MD: John Hopkins University Press. 992 pp.
- Milet-Pinheiro, P., Ayasse, M., Schlindwein, C., Dobson, H. E. M. & Dötterl, S. (2012) Host location by visual and olfactory floral cues in an oligolectic bee: innate and learned behavior. *Behavioral Ecology* 23: 531-538.

- Neff, J.L. & Simpson, B.B. (1981) Oil-collecting in the Anthophoridae (Hymenoptera): morphology, function and use in systematics. *Journal of Kansas Entomological Society* 54: 95–123.
- Neff, J.L. & Simpson, B.B. (2005) Rewards in flowers. Other rewards: Oils, resins, and gums, pp. 314–328, *In*: Dafni, A., Kevan, P.G. & Husband, B.C. (eds.). *Practical Pollination Biology*. Enviroquest Ltd., Cambridge. 315 pp.
- Ômura, H., Honda, K. & Hayashi, N. (1999) Chemical and chromatic bases for preferential visiting by the cabbage butterfly, *Pieris rapae*, to rape flowers. *Journal of Chemical Ecology* 25: 1895–1906.
- Raguso, R.A. & Willis, M.A. (2002) Synergy between visual and olfactory cues in nectar feeding by naive hawkmoths, *Maduca sexta*. *Animal Behaviour* 64: 685–695.
- Roy, B. & Raguso, R.A. (1997) Olfactory vs. visual cues in a floral mimicry system. *Oecologia* 109: 414–426.
- Schäffler, I., Balao, F. & Dötterl, S. (2012) Floral and vegetative cues in oil-secreting and non-oil-secreting *Lysimachia* species. *Annals of Botany* 110: 125–138.
- Schiestl, F.P. (2004) Floral evolution and pollinator mate choice in a sexually deceptive orchid. *Journal of Evolutionary Biology* 17: 67–75.
- Teichert, H., Dötterl, S., Zimma, B., Ayasse, M. & Gottsberger, G. (2009) Perfume-collecting male euglossine bees as pollinators of a basal angiosperm: the case of *Unonopsis stipitata* (Annonaceae). *Plant Biology* 11:29–37
- Vogel, S. (1969) Flowers offering fatty oil instead of nectar. XI Proc. Intl. Bot. Congress, Seattle, p. 229.
- Vogel, S. (1974) Ölblumen und ölsammelnde Bienen. *Tropischen und Subtropischen Pflanzenwelt* 7: 285–547.
- Vogel S. 1986. Ölblumen und ölsammelnde Bienen, Zweite Folge: *Lysimachia* und *Macropis*. Mainz, Stuttgart, Akademie der Wissenschaft und der Literatur, Franz Steiner Verlag Wiesbaden GmbH.

Conclusão Geral

A interação entre as plantas produtoras de óleo floral e as abelhas coletoras de óleo variou espaço-temporalmente. Essa interação foi influenciada pela abundância das plantas. A presença da espécie super-generalista *Byrsonima intermedia* estruturou a rede de interação e manteve as interações das espécies localmente raras. Além disso, as espécies e interações compartilhadas entre as áreas foram aquelas com maior grau de interação.

Indivíduos de *Tetrapedia diversipes* emergidos em células maiores foram maiores nas medidas de massa seca e largura da cabeça. Indivíduos de *T. Diversipes* que receberam mais alimento quando larva foram maiores ao emergirem.

A coleta de odores voláteis das flores de *Byrsonima intermedia* não revelou a presença de compostos voláteis.