

JOEL ARAÚJO QUEIROZ

**FLORES DE ANTESE NOTURNA E SEUS POLINIZADORES EM
ÁREA DE CAATINGA: REDES E SISTEMAS MISTOS DE
POLINIZAÇÃO**

RECIFE

2014

JOEL ARAÚJO QUEIROZ

**FLORES DE ANTESE NOTURNA E SEUS POLINIZADORES EM
ÁREA DE CAATINGA: REDES E SISTEMAS MISTOS DE
POLINIZAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Botânica, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Isabel Cristina S. Machado (UFPE)

Coorientador: Prof. Dr. Marco A. R. Mello (UFMG)

RECIFE

2014

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Queiroz, Joel Araújo

Flores de antese noturna e seus polinizadores em área de caatinga: redes e sistemas mistos de polinização / Joel Araújo Queiroz. – Recife: O Autor, 2014.
140 f.: il.

Orientadores: Isabel Cristina S. Machado, Marco A. R. Mello
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Pós-graduação em Biologia Vegetal, 2014.
Inclui referências

1. Fertilização de plantas 2. Plantas da Caatinga 3. Caatinga. I. Machado, Isabel Cristina (orient.) II. Mello, Marco A. R. III. Título.

571.8642

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2016-320

JOEL ARAÚJO QUEIROZ

**“FLORES DE ANTESE NOTURNA E SEUS POLINIZADORES EM
ÁREA DE CAATINGA: REDES E SISTEMAS MISTOS DE
POLINIZAÇÃO”**

APROVADO EM: 21/02/2014

BANCA EXAMINADORA:

TITULARES:

Profa. Dra. Isabel C. S. Machado (Orientadora) - UFPE

Prof. Dr. Marcelo Sobral Leite - UESPI

Profa. Dra. Cibele Cardoso de Castro (UFRPE)

Dr. Enrico Bernard (UFPE)

Prof. Dr. Bráulio A. Santos (UFPB)

RECIFE

2014

AGRADECIMENTOS

À professora Isabel Machado, pelos ensinamentos, conversas estimulantes e acima de tudo por ter contribuído tanto para meu crescimento profissional e pessoal.

À professora Zelma Quirino, pela amizade, confiança depositada e por ter me guiado quando eu iniciava nos caminhos da biologia floral.

Ao professor Marco A.R. Mello, por seus valiosos conhecimentos sempre compartilhados, coorientação e boa vontade nos ensinamentos sobre redes.

Ao professor Diego P. Vázquez pela acolhida durante meu estágio em Mendoza, pelas discussões acadêmicas extremamente produtivas e por sua sempre boa vontade em ajudar.

Ao professor Francisco Assis pelo acolhimento no seu lab, em Feira de Santana, pelos conhecimentos sobre pólen e sobre a vida compartilhados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, todos os professores e demais funcionários, principalmente, Hildebrando, que contribuíram de maneira muito significativa para minha formação nos últimos anos.

À Vanessa, pela amizade verdadeira, palavras de incentivo e pelo companheirismo nos bons e nos difíceis momentos de coleta, que não seriam as mesmas sem sua presença.

Às minhas amigas e irmãs de vida, Cris, Gi e Manu, pessoas pelas quais sinto um amor tão especial e verdadeiro e que me fizeram entender ainda mais o verdadeiro sentido da palavra - AMIZADE.

À minha família, em especial à minha mamusca (Dona Reny), minha irmãzinha (Rosângela) e irmãos (Sérgio e Josinaldo) por serem exemplos de honestidade, bom caratismo, e por sempre, sempre mesmo, estarem presentes na minha vida.

Aos meus amados sobrinhos Lázaro, João Vitor e minha mais recente princesinha,

Maria Júlia, que vocês possam crescer e saber que eu estarei sempre presente na vida de vocês.

Aos meus amigos e minhas amigas do Cariri: Cidinha, Elias, Seu Chico, Edjane, Conceição... que tanto contribuíram numa das fases mais duras e ao mesmo tempo gratificantes do meu trabalho científico, as loooonngas coletas.

Ao CNPq, que financiou parte deste estudo através do Projeto PELD (Caatinga Estrutura e Funcionamento) e pela bolsa de doutorado concedida.

À FACEPE pelo financiamento de parte dos trabalhos de campo.

À CAPES pela bolsa sanduiche concedida.

RESUMO

As espécies de plantas com flores de antese noturna e seus polinizadores, principalmente, morcegos e mariposas Sphingidae (mariposas de aparelho bucal longo e de hábito predominantemente noturno) foram estudadas no presente trabalho através de abordagens de teoria de redes complexas e de biologia floral (para três espécies de plantas: *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae); e duas espécies de *Ipomoea* (Convolvulaceae). Entre janeiro/2011 e dezembro/2012 foram realizadas expedições mensais a um remanescente de Caatinga hiperxerófila situada no Nordeste do Brasil, para coleta de esfingofauna (com auxílio de armadilha luminosa) e de morcegos (com redes de neblina). A carga polínica presente no corpo desses polinizadores foi coletada e os tipos polínicos identificados e quantificados, sendo tais dados usados para construir matrizes qualitativas (presença/ausência) e quantitativas (frequência de indivíduos com pólen de determinada espécie de planta) para análise interanual de modularidade e robustez da rede de interações. Para as espécies *E. spectabile*, *Ipomoea marcellia* e *I. aff. marcellia* foram coletados dados de morfometria floral (comprimento e largura de corola), antese (início, término e duração total), atributos de néctar (volume, concentração, mg de açúcares, padrão de produção e efeito de remoção) e frequência de visitantes florais diurnos e noturnos. Para as espécies de *Ipomoea* a eficiência de morcegos e beija-flores foi estimada através de experimentos de exposição seletiva de flores. A rede de interações entre plantas e polinizadores noturnos foi formada por 24 espécies de plantas, 4 morcegos e 15 esfingídeos, sendo registradas 766 conexões totais. A rede apresentou estrutura modular de 0.36, sendo observados três módulos distintos: dois exclusivos de esfingídeos e um misto (morcegos + esfingídeos). No entanto, foi observada intensa frequência de conexões inter-módulos o que pode indicar uma fronteira não tão bem delimitada da guilda de plantas quiropterófilas. A rede apresentou robustez à extinção de espécies variável entre os dois anos de coleta, o que pode ser o resultado do menor tamanho (Rede₂₀₁₁: 42 espécies; Rede₂₀₁₂: 29 espécies) e menor quantidade de conexões (Rede₂₀₁₁: 573; Rede₂₀₁₂: 193) registrados no ano mais seco. As espécies *E. spectabile*, *I. marcellia* e *I. aff. marcellia*, de modo geral, apresentaram atributos de morfometria floral mais relacionados à quiropterofilia (polinização por morcegos). No entanto, a morfologia floral e períodos de antese e de disponibilidade de néctar prolongados para além da noite, possibilitaram a beija-flores acessarem néctar e transferirem, com certo grau de sucesso, pólen para o estigma, garantindo um serviço de polinização complementar. Esse sistema de polinização, denominado polinização mista, parece ser uma estratégia recorrente para algumas espécies de Caatinga primariamente relacionadas à polinização por morcegos, podendo garantir maior sucesso reprodutivo para tais plantas.

Palavras-chaves: Redes mutualísticas. Modularidade. Robustez. Esfingofilia. Quiropterofilia. Opossum. Sistemas mistos de polinização. Caatinga.

ABSTRACT

Plant species with nocturnal flowers and their pollinators, especially bats and hawkmoths were studied in this work through complex networks theory approaches and floral biology (for three species of plants: *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae), and two *Ipomoea* taxa (Convolvulaceae). Between January/2011 and December/2012 were carried out monthly mailings to a remnant of Caatinga hyperxerophilic located in northeastern Brazil, to moth collect (with aid of light trap) and bats (with mist nets). the pollen load present in the body of these pollinators were collected, identified, and quantified pollen types, and such data used to construct qualitative (presence / absence) and quantitative matrices (frequency of individuals with pollen) to analysis of modularity and robustness of network. To *E. spectabile*, *Ipomoea marcellia* and *I. aff. marcellia* were collected floral morphometry (length and width corolla), anthesis (start, end and total duration), nectar attributes (volume, concentration, sugars, pattern of production and removal effect) and frequency flower visitors day and night. To *Ipomoea*, bats and hummingbirds efficiency was estimated by experiments of selective exposure flowers. The mutualistic network plants and pollinators was formed by 24 plant species, 15 hawkmoths and 4 bats. It was recorded 766 connections. That network presented modular structure, 0.36, with three distinct modules: two exclusive hawkmoths and a mixed hawkmoths and bats). However, there was intense frequency of inter-module connections, which may indicate a boundary not as well defined Guild chiropterophilous plants. The network showed variable robustness between years (2011: $R_{\text{plant}} = 0.96$; $R_{\text{animal}} = 0.92$; 2012: $R_{\text{plant}} = 0.33$; $R_{\text{animal}} = 0.33$), which may be the result of the smaller size (2011: 42 species; 2012: 29 species) and fewer connections. *E. spectabile*, *I. marcellia* and *I. aff. marcellia* showed more attributes related to chiropterophily (pollinated by bats). However, the floral morphology and anthesis periods and prolonged nectar availability in addition to the night, made it possible to access hummingbirds nectar and transfer, with some degree of success, pollen to the stigma, ensuring a supplementary pollination service. This pollination system called mixed pollination, seems to be a recurring strategy for some species of Caatinga primarily related to pollination by bats and can ensure greater reproductive success for such plants.

Key-words: Mutualistic networks. Modularity. Robustness. Sphingophily. Chiropterophily. Opossum. Mixed pollination sistem. Caatinga.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Sazonalidade de chuvas para o Município de São José dos Cordeiros, onde se localiza a Fazenda Almas. A) Diagrama climático com precipitação histórica (1961 – 1990), e B) Precipitação para o período de estudo (2011 e 2012). (Dados de temperatura e precipitação da AESA – Agencia Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba).....66

Figura 2. Espécies de plantas com atributos florais relacionadas à esfingofilia (polinização por esfingídeos) e quiropterofilia (polinização por morcegos) ocorrentes na Fazenda Almas, Paraíba, Brasil. A) *Aspidosperma pyrifolium*; B) *Tocoyena formosa*; C) *Helicteres baruensis*; D) *Ceiba glaziovii*; E) *Cereus jamacaru*; F). *Ipomoea marcellia*; G) *Pilosocereus gounellei*; H) *P. chrysostele*; e I) *Pseudobombax marginatum*.....67

Figura 3. Modularidade da rede de interações plantas-polinizadores noturnos em uma área de Caatinga, Brasil. A) matriz e representações da rede de interações através de grafos, energizado (B) e bipartido (C) com os três módulos detectados. Em A, quanto mais escuro o preenchimento da célula da matriz maior o número de indivíduos registrados com pólen; em B nodos com mesmas cores pertencem ao mesmo módulo; e em C, retângulos superiores e inferiores representam plantas e animais, respectivamente e a espessura das linhas é proporcional à intensidade de interações.68

Figura 4. Conectividade dentro dos módulos (valor de z) e entre os módulos (valor de c) de plantas (A) e polinizadores (B) na rede de polinização noturna na Fazenda Almas, Caatinga, Brasil.....79

Figura 5. Variação temporal na conectividade intra e inter módulos da rede de interações plantas e polinizadores noturnos da Caatinga. A) e B) conectividade de plantas e polinizadores entre os módulos, C e D) conectividade de plantas e polinizadores dentro os módulos. Linhas horizontais, boxes e barras representam mediana, quantis e intervalo de confiança de 95%, respectivamente.....70

CAPÍTULO 2

Figura 1. Disposição espacial de flores de duas espécies simpátricas de *Ipomoea* L. (Convolvulaceae). A) e B) Vista lateral de flores de *I. marcellia* e *I. aff. marcellia*, evidenciando as disposições vertical e horizontal, respectivamente, de corolas, anteras e estigmas. C) e D) vista frontal das flores de *I. marcellia* e *I. aff. marcellia*, respectivamente, notar que estames e estigma nessas flores diferem quanto a distância do tubo da corola, o que deve ocasionar em deposição diferencial de pólen no visitante floral.....98

Figura 2. Atributos do néctar de flores de duas espécies de *Ipomoea* L. simpátricas e endêmicas de Caatinga, Brasil. A) volume, B) concentração e C) mg de açúcar do néctar de flores de *I. marcellia*.; D) volume, E) concentração e F) mg de açúcar no néctar de flores de *I. aff. marcellia* ao longo da antese. Linhas horizontais correspondem as medias de cada horário de medição e barras verticais ao desvio padrão.....99

Figura 3. Partilha de polinizadores diurnos e noturnos em duas espécies de *Ipomoea* L. simpátricas e endêmicas de área de Caatinga, Brasil. *Heliomaster squamosus* acessando flores de *Ipomoea marcellia*, com deposições de pólen no seu pescoço, forma de polinização efetiva (A), e na sua testa, forma não efetiva de polinização (B), note que o estigma permanece distante do pescoço do beija-flor (seta); C) Glossophagíneo

acessando flor de *I. marcellia*, com deposição de pólen no seu pescoço; D) *Heliomaster squamosus* acessando sequencialmente flores de *I. aff. marcellia*, com deposição de pólen exclusivamente no seu pescoço; E) Glossophagíneo acessando flor de *I. aff. marcellia* e F) com detalhe para a carga polínica depositada no seu pescoço e face.....100

CAPÍTULO 3

Figura 1. População de *Encholirium spectabile* sobre afloramentos rochosos em uma área de Caatinga, Paraíba, nordeste do Brasil (a), (b) inflorescência, evidenciando a dinâmica de abertura das flores, da base ao ápice, (c) flor completamente aberta, com anteras deiscentes, e (d) detalhes da apresentação de néctar (setas) na base das flores (as anteras foram removidas para melhor visualização).....132

Figura 2. Volume (a), concentração de açúcares (b), e quantidade de açúcar (c) no néctar de flores de *Encholirium spectabile* sobre afloramentos rochosos em uma área de Caatinga, Paraíba, nordeste do Brasil. Linhas horizontais correspondem as médias de cada horário de medição e barras verticais ao desvio padrão.....133

Figura 3. Distribuição temporal de diferentes grupos de polinizadores diurnos e noturnos de *E. spectabile* em uma área de Caatinga, Paraíba, nordeste do Brasil. Linhas cheias representam os períodos de pico de floração e de registros de polinizadores; Linhas rachuradas representam o início e o final da fenofase de floração de *E. spectabile*, e linha rachurada (cinza) representa as precipitações mensais (mm). Es = *Encholirium spectabile*, Cl = *Chlorostilbon lucidus*, Hs = *Heliomaster squamosus*, Am = *Anopetia macroura*, Sw = *hawkmoths species*, Gs = *Glossophaga soricina*, Lm = *Lonchophylla mordax*, Pd = *Phyllostomus discolor*, and Da = *Didelphis albiventris*.....134

Figura 4. Polinizadores diurnos de *Encholirium spectabile* em uma área de Caatinga, Paraíba, nordeste do Brasil. Visitas por trochilídeos: (a) *Chlorostilbon lucidus*, (b) *Anopetia macroura*, e (c) macho e (d) fêmea ou macho jovem de *Heliomaster squamosus*, e por dois passeriformes: (e) *Coereba flaveola* e (f) *Icterus jamacaii*.....135

Figura 5. Polinizadores noturnos de *Encholirium spectabile* em uma área de Caatinga, Paraíba, nordeste do Brasil. (a) *Glossophaga soricina* em visita pairada ao tomar néctar, (b) *Phyllostomus discolor* agarrando-se na inflorescência ao tomar néctar, (c) carga polínica concentrada no focinho de *G. soricina* (c) e espalhada no abdomen e focinho de *P. discolor* (d), (e) *Didelphis albiventris* tomando néctar em flores de *E. spectabile* (seta), e (f) carga polínica sobre seus focinho e pescoço.....136

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Tabela 1. Polinização por mamíferos não voadores noturnos nas Américas Central e do Sul.....	38
---	----

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Grau (k) e índice de importância (I_j) de plantas em uma rede de plantas-polinizadores noturnos de Caatinga, NE, Brasil. As espécies estão ordenadas segundo suas guildas e em ordem decrescente de índice de importância.....	64
---	----

Tabela 2. Grau (k) e índice de importância (I_i) de esfingídeos e morcegos em uma rede de plantas-polinizadores noturnos de Caatinga, NE, Brasil. As espécies estão ordenadas segundo o grupo de polinizadores e em ordem decrescente índice de importância.....	65
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Atributos florais (mm) e de néctar de duas espécies de <i>Ipomoea</i> endêmicas de Caatinga, Nordeste, Brasil.....	96
---	----

Tabela 2. Formação de frutos e sementes em espécies de <i>Ipomoea</i> sob diferentes condições de polinização em uma área de Caatinga, Brasil.....	97
---	----

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Miligramas de açúcar no néctar (mean $\pm$ SD) de flores de <i>Encholirium spectabile</i> submetidas a sucessivas remoções ao longo da antese.....	131
---	-----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
2.1. <i>Sistemas de polinização em espécies com flores de antese noturna - esfingofilia x quiropterofilia x terofilia.</i>	<i>17</i>
2.2. <i>Redes de interação: estado da arte em comunidades neotropicais, com ênfase em espécies com antese noturna.</i>	<i>24</i>
3 REFERÊNCIAS	27
 CAPÍTULO 1. Rede de interações entre plantas esfingófilas e quiropterófilas e polinizadores noturnos em uma área de vegetação tropical seca: conexões entre guildas e robustez à perda de espécies	 38
 CAPÍTULO 2. Atributos florais e isolamento reprodutivo em dois taxa de <i>Ipomoea</i> : floração e partilha de vertebrados polinizadores.	 72
 CAPÍTULO 3. Sistema de polinização misto por vertebrados em <i>Encholirium spectabile</i> : uma bromélia polinizada por morcegos, gambá e beija-flores em uma floresta tropical seca	 103
 CONCLUSÕES GERAIS	 137

1 INTRODUÇÃO

A polinização biótica é um tipo de mutualismo em que, na maioria dos casos, planta e animal se beneficiam. A planta adquire um vetor de pólen, enquanto o polinizador, uma variedade de recursos (*e.g.* partes florais, néctar, fragrância) produzida pelas plantas (Jordano, 1987). Esse tipo de interação tem profunda influência na diversidade e na dinâmica de comunidades, uma vez que representa papel central na reprodução das plantas e na história de vida dos animais (Jordano et al., 2003), consistindo, então, em um componente chave da biodiversidade, já que está diretamente relacionado com a manutenção e funcionamento dos ecossistemas (Jordano, 1987; Machado e Lopes, 2002; Wright, 2002; Bascompte et al., 2006; Bronstein et al., 2006; Bascompte e Jordano, 2007).

Dois grupos taxonomicamente distantes de animais, esfingídeos (Família: Sphingidae) e morcegos (Família: Phyllostomidae, Subfam. Glossophaginae) estão entre os polinizadores noturnos de maior importância ecológica. No entanto, de modo geral, as frequências de plantas polinizadas por esses animais noturnos são baixas, podendo variar entre 5 e 10% para esfingofilia e de 1.8 a 3.6% para quiropterofilia em diferentes ecossistemas (Silberbauer-Gottsberger e Gottsberger, 1988; Haber e Frankie, 1989; Kress e Beach, 1994; Kato, 1996; Oliveira e Gibbs, 2000; Oliveira et al., 2004). Especificamente, para a Caatinga, ecossistema semiárido brasileiro, cerca de 22% das plantas dependem de animais noturnos, principalmente morcegos e esfingídeos, como vetores de pólen, sendo registradas com frequências elevadas particularmente para quiropterofilia, cerca de 13% (Machado e Lopes, 2002; Machado e Lopes, 2004; Quirino, 2006).

Apesar de sistemas de polinização por morcegos e esfingídeos apresentarem frequências elevadas em espécies de plantas da Caatinga, sendo comparativamente mais

elevadas que em outros ecossistemas (Machado e Lopes, 2004; Quirino e Machado no prelo), esses sistemas são de longe os menos estudados nesse ecossistema. Esses sistemas noturnos foram abordados pioneiramente por Machado e Lopes (2004) e posteriormente por Quirino e Machado (no prelo) onde tais autoras descreveram as frequências dos sistemas de polinização ocorrentes em diferentes comunidades de Caatinga. Recentemente, Rocha (2006) descreveu a biologia floral de espécies de *Pilosocereus* Byles & Rowley polinizadas por morcegos ou esfingídeos. Outros dois trabalhos investigaram sistemas de polinização noturnos em espécies endêmicas desse ecossistema, como esfingofilia em *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (Apocynaceae) (Queiroz, 2009) e polinização por morcegos em *Pilosocereus tuberculatus* (Werdem.) Byles & Rowley (Rocha et al., 2007).

Nesta Tese, foram investigadas as interações mutualísticas de plantas com flores noturnas e seus polinizadores (principalmente morcegos e esfingídeos) em uma área de Caatinga, no nível multiespecífico, com foco nas plantas esfingófilas e quiropterófilas e polinizadores relacionados (capítulo 1) e através de estudos de caso, com foco em três espécies de plantas endêmicas de Caatinga com sistemas mistos de polinização: duas espécies de *Ipomoea* (Convolvulaceae) polinizadas por morcegos glossophagíneos e beija-flores (capítulo 2) e *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae) polinizada por morcegos, beija-flores, marsupial e esfingídeos (capítulo 3). Estudar as interações entre plantas e polinizadores no nível de população (*e.g.* interações locais entre planta e polinizadores) e no de multiespécies (*e.g.* interações plantas e polinizadores de uma ou várias comunidades) tem permitido identificar mecanismos ecológicos e evolutivos responsáveis por gerar e manter tal mutualismo (Vázquez et al., 2007; Bezerra *et al.*, 2009; Stang et al., 2009; Mello et al., 2012).

Assim, as seguintes perguntas gerais foram direcionadas aos três capítulos que compõem a tese: **Capítulo 1:** (i) como é a estrutura da rede de interação entre plantas com antese noturna e seus polinizadores (morcegos e esfingídeos)? (ii) como essa rede é afetada temporalmente? **Capítulo 2:** (i) há divergências de morfologia, horário e duração de antese entre duas espécies de *Ipomoea*? (ii) qual o horário de produção de néctar entre as espécies de *Ipomoea*? (iii) o volume, concentração e mg de açúcares e o padrão de produção diferem nessas duas espécies de *Ipomoea*? (iv) morcegos e beija-flores polinizam ambas as espécies de *Ipomoea*? (v) qual a frequência de visitas e (vi) a eficiência de polinização desses animais? **Capítulo 3:** (i) flores de *Encholirium spectabile* apresentam néctar compatível com requerimentos de diferentes grupos de polinizadores? (ii) o número de remoções de néctar nas flores de *E. spectabile* afeta a quantidade de substância produzida? e (iii) o comportamento do marsupial (*Didelphis albiventris*) promove eficiente e frequente fluxo de pólen em flores de *E. spectabile*?

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Sistemas de polinização em espécies com flores de antese noturna - esfingofilia x quiropterofilia x terofilia.

2.1.1. Polinização por esfingídeos (esfingofilia)

As interações mutualistas entre flores e esfingídeos que as polinizam tem servido como modelos clássicos de especialização e coevolução, representando exemplos extremos de especialização morfológica recíproca (Cocucci et al., 2009). Os esfingídeos, de ampla distribuição mundial e com cerca de 1300 espécies e 203 gêneros (Moré et al., 2005), são considerados eficientes polinizadores (Faegri e Pijl, 1979; D'Abrera, 1986; Haber e Frankie, 1989; Endress, 1994; Proctor et al., 1996, Locatelli e Machado, 1999; Kitching e Cadiou, 2000; Moré et al., 2005) de uma rica flora relacionada ao grupo das Asteridae, principalmente, Apocynaceae, Rubiaceae, Solanaceae, Campanulaceae e Lobelioideae (Endress, 1994), mas, também relacionados a outras famílias botânicas como em Bignoniaceae, Bombacaceae, Cactaceae, Convolvulaceae, Fabaceae, Gesneriaceae, Martyniaceae, Onagraceae e Orchidaceae (Moré et al., 2005).

Algumas características de esfingídeos justificam seu papel ecológico como polinizadores eficientes, incluindo o fato desses pairarem ao sugar o néctar das flores, o que exige uma alta taxa metabólica (Faegri e Pijl, 1979), e, conseqüentemente, a necessidade de visitar muitas flores por noite (Moré et al., 2005). Também a capacidade de percorrer grandes distâncias os tornam eficientes polinizadores para plantas raras (Endress, 1994), além da capacidade de carregarem grandes quantidades de pólen em partes específicas de seu corpo (Haber e Frankie, 1989), principalmente, sob a probóscide e a cabeça (Faegri e Pijl, 1979).

Como a maioria dos esfingídeos são ativos no crepúsculo ou na noite (Kitching e Cadiou, 2000; Moré et al., 2005), as flores polinizadas por essas mariposas, frequentemente, abrem-se durante esse período, são brancas ou de uma coloração clara que possibilita o seu reconhecimento na escuridão, têm, geralmente, os tubos ou esporões mais longos, e, ainda, caracterizam-se por suas fragrâncias doces e intensas, frequentemente, mais fortes durante a noite (Faegri e Pijl, 1979; Endress, 1994; Proctor et al., 1996). A estrutura de pouso nessas flores, quando presente, está associada a funções outras como a atração visual, dispersão de odor, ou ainda como guias para inserção da probóscide (Faegri e Pijl, 1979).

Tem sido evidenciado que esfingídeos com probóscides longas podem visitar um espectro maior de plantas independentemente do comprimento do tubo floral dessas, em contra partida, aqueles animais com probóscides mais curtas são limitados a forragear em flores sem tubos ou com tubos curtos (Haber e Frankie, 1989; Darrault e Schlindwein, 2002). Esse fato foi observado nas flores de tubos curtos (4.76 ± 0.41 mm) de *Aspidosperma pyrifolium* Mart., uma espécie arbórea endêmica de Caatinga, que pode ser visitada e polinizada por esfingídeos com probóscides de diferentes comprimentos (Queiroz, 2009). No entanto, Agosta e Janzen (2005) encontraram frequência de distribuição de tamanho de corpo e comprimento de probóscide relacionadas à distribuição de frequências de comprimentos de corola em flores esfingófilas, indicando ajustes morfológicos entre plantas e polinizadores.

Em contrapartida, espécies de plantas que apresentam flores de grande longitude operativa, a distância que separa as partes férteis da flor do néctar (*sensu* Cocucci et al., 2009) utilizam apenas uma fração reduzida dos polinizadores de uma determinada esfingofauna (Nilsson et al., 1987; Haber e Frankie, 1989; Agosta e Janzen, 2005).

O padrão de floração comumente encontrado para guildas de plantas polinizadas por esfingídeos é contínuo, com espécies apresentando picos de floração sequenciais ao longo do tempo (Haber e Frankie, 1989; Primo, 2008). No entanto, para ecossistemas com sazonalidade de chuvas acentuadas (com estação seca mais longa que chuvosa) o padrão de floração da guilda esfingófila tem se mostrado mais associado ao período de maior precipitação, com uma maior concentração de espécies floridas no período chuvoso (Quirino, 2006; Primo et al., 2013; Quirino e Machado, no prelo).

Em ecossistemas de florestas secas, tem-se observado forte sazonalidade na distribuição temporal de esfingofauna, com correlação positiva significativa entre abundância e riqueza de esfingídeos com períodos de maior precipitação (Haber e Frankie, 1989; Darroult e Schlindwein, 2002; Duarte e Schlindwein, 2005; Lopes et al., 2006; Amorim et al., 2009; Cruz-Neto et al., 2011; Primo et al., 2013), o que parece estar relacionado com maior disponibilidade de plantas hospedeiras durante a estação chuvosa (Haber e Frankie, 1989).

2.1.2. Polinização por morcegos (quiropterofilia)

Quirópteros visitantes de flores nos neotrópicos pertencem à família de morcegos com nariz de folha (Phyllostomidae), principalmente os da subfamília Glossophaginae (von Helversen et al., 2002; Muchhala, 2006; Fleming e Muchhala, 2008; Fleming et al., 2009). Esses morcegos são altamente especializados para exploração de néctar, (i.e. capacidade de vôo pairado e língua comprida), o que os tornam importantes polinizadores de um grande número de famílias de plantas (Dobat e Peikert-Holle, 1985; von Helversen, 1993; von Helversen et al., 2002).

A polinização por morcegos tem sido investigada tanto em estudos de caso envolvendo plantas pertencentes a diferentes categorias taxonômicas e formas de vida e

morcegos primariamente adaptados a nectarivoria (Heithaus et al., 1974; Sazima e Sazima, 1980; Locatelli et al., 1997; Machado et al., 1998; Sazima et al., 2003; Machado e Vogel, 2004; Rocha et al., 2007) quanto em estudos com enfoque nas interações de comunidades de plantas e de morcegos Glossophaginae em floresta úmida na Costa Rica (Tschapka, 2004), floresta de montanha no Equador (Muchhala e Jarrín-V, 2002) e em áreas de Mata Atlântica no sudeste (Sazima et al., 1999) e mais recentemente no nordeste do Brasil (Primo, 2008).

Ao comparar duas assembleias de plantas polinizadas por morcegos, em duas localidades de diferentes altitudes de Floresta Atlântica no sudeste do Brasil, Sazima et al. (1999) observaram padrão de floração contínuo. Comportamento de floração semelhante foi observado por Primo (2008) para um remanescente de Mata Atlântica estacional semidecidual no nordeste brasileiro, caracterizada por marcada sazonalidade de chuvas, no entanto, apesar da sequencialidade dos picos de floração das espécies o autor observou maior número de espécies floridas no período de estiagem.

Esse comportamento de floração, comumente observado para guildas quiropterófilas (Heithaus et al., 1975; Muchhala e Jarrín-V, 2002), deve ser importante para a manutenção de populações de morcegos residentes (Sazima et al., 1999) uma vez que possibilita a disponibilidade de recursos florais durante todo o ano, e pode até interferir nos hábitos alimentares de certos morcegos.

Flores adaptadas à polinização por morcegos apresentam antese total ou parcialmente restrita ao período noturno (Faegri e Pijl, 1979; Dobat e Peikert-Holle, 1985; Proctor et al., 1994; Amorim et al., 2013; Christianini et al., 2013) e atributos de odor e coloração fortemente relacionados para atração de animais noturnos, como o forte odor desagradável mais fortemente emitido durante o início da noite e colorações esbranquiçadas que melhor contrastam com o ambiente noturno (Dobat e Peikert-Holle,

1985; Tschapka e Dressler, 2002; Fleming et al., 2009). No entanto, casos que não se ajustam a esses padrões gerais, como espécies apresentando flores com pouco ou sem odor, ao menos a percepção humana (Machado et al., 1998; Machado e Vogel, 2004; Christianini et al., 2013) ou espécies quiropterófilas com coloração variável (Fleming et al., 2009), desde avermelhadas a amareladas (Sazima et al., 1999) tem sido descritas recentemente em importantes trabalhos.

A acessibilidade às flores durante a noite parece ser um caractere importante na interação plantas-morcegos. Por isso flores relacionadas à polinização por esses quirópteros são expostas livres das folhagens ou obstáculos que poderiam afetar seu acesso às flores uma vez que esses animais são relativamente grandes se comparados a outros polinizadores como abelhas, por exemplo, (Tschapka e Dressler, 2002). Então, tais flores podem ser expostas diretamente nos troncos em espécies arbóreas (cauliflora); ou suspensas em galhos ou pedúnculos em espécies de plantas epífitas (flageliflora), como em *Mucuna holtonii* (Fabaceae) (von Helversen e von Helversen, 1999) ou ainda em hastes alongadas como em *Weberocereus nervosa* (Cactaceae) (Tschapka et al., 1999).

Muchhala (2003) testou se diferentes graus de acessibilidade às flores de *Burmeistera cyclostigmata* e *B. tenuiflora* (Campanulaceae) afetavam a polinização por morcegos. Para isso, ele categorizou três níveis de acessibilidade às flores segundo a presença-ausência de obstáculos naturais (*e.g.* folhagens de outras plantas ou vegetação rasteira). Esse autor demonstrou categoricamente que a acessibilidade às flores afeta diretamente a polinização por morcegos, resultando em diminuição de quantidades de visitas e de pólen depositados no estigma por morcegos em flores menos acessíveis.

Tem sido recentemente estudado o papel de animais diurnos como polinizadores de espécies primariamente adaptadas à polinização por morcegos. Tais sistemas de

polinização, denominados de sistemas mistos ou generalistas, envolvem geralmente espécies de plantas que apresentam antese estendida para além do período diurno e beija-flores, que exercem papel de polinizadores secundários (Amorim et al., 2013; Christianini et al., 2013; Muchhala., 2007; Muchhala et al., 2008). Nas coletas de campo da presente Tese, frequentemente foram registradas visitas de beija-flores a espécies primariamente quiropterófilas, principalmente a flores de *Ipomoea* spp., (Convolvulaceae), *Encholirium* sp., (Bromeliaceae), *Ceiba* sp. e *Helicteres* sp., (Malvaceae). Tais flores têm em comum o fato de apresentarem morfologia floral que permite acesso ao néctar e transferência de pólen também por beija-flores, e, principalmente, antese e disponibilidade de néctar noturna-diurna.

Em flores de *Inga sessilis* (Vell.) Mart. (Fabaceae), por exemplo, foi registrada produção ativa de néctar em períodos noturno e diurno, além de mudanças na composição de açúcares no néctar ao longo da antese que podem estar associadas a sistemas mistos de polinização (Amorim et al., 2013).

No entanto, apesar do aparente ajuste à polinização complementar por beija-flores, de fato, os morcegos desempenham papéis mais importantes como polinizadores em sistemas mistos de polinização envolvendo ambos os vertebrados. Muchhala e Thomson (2010) através de experimentos realizados em gaiolas com flores artificiais e flores de *Aphelandra acanthus* (Acanthaceae) demonstraram que a transferência de pólen por beija-flores é significativamente menor que por morcegos. Comprovando que para essa planta e nesse sistema misto de polinização, penas são menos eficientes que pêlos na transferência de pólen entre flores (Muchhala e Thomson, 2010).

2.1.3. Polinização por mamíferos não - voadores (terofilia)

Mamíferos não voadores foram provavelmente os primeiros a consumirem néctar e inadvertidamente transportar pólen entre flores (Tschapka e Dressler, 2002).

Polinização por mamíferos não - voadores ocorrem na Austrália, África e Américas Central e do Sul e envolvem principalmente animais de hábitos noturnos (*e.g.* gambás, roedores, musaranhos e lêmures) e alguns de hábitos diurnos, principalmente macacos (Willmer, 2011) e mais raramente esquilos (Yumoto et al., 1999). As flores polinizadas por esses animais, cerca de 85 espécies de plantas, pertencem principalmente as famílias Proteaceae, Myrtaceae, Bombacaceae, Capparidaceae, Leguminosae e Euphorbiaceae, e, dependendo do hábito do animal (*e.g.* noturno ou diurno), apresentam atributos semelhantes aos observados em flores ornitófilas ou quiropterófilas (Willmer, 2011). Aqui, foram discutidos exclusivamente estudos envolvendo interações entre flores e mamíferos não - voadores noturnos.

A maioria dos grupos de mamíferos não - voadores citados como visitantes florais é onívora, e, portanto, não especialista em néctar, visitando, desse modo, as flores oportunisticamente (Janson et al., 1981; Tschapka e von Helversen, 1999; Tschapka e Dressler, 2002). Por isso, segundo Carthew e Goldingay (1997), para determinar se tais animais são de fato polinizadores efetivos, as seguintes questões básicas devem ser respondidas: (i) qual a frequência com que visitam flores? (ii) promovem fluxo de pólen entre flores de plantas coespecíficas? e (iii) as visitas resultam em formação de frutos?

Durante muito tempo a polinização por mamíferos voadores nos Neotrópicos foi considerada inexistente (Sussman e Raven, 1978) e permaneceu pouco estudada, principalmente a polinização por mamíferos não - voadores de hábitos noturnos (Carthew e Goldingay, 1997). Para as Américas Central e do Sul têm sido registrados principalmente casos de polinização por marsupiais pertencentes à família Didelphidae (Tabela 1) e apenas um caso de polinização por roedores (Cocucci e Sérísic, 1998).

A maioria das visitas de gambás às flores tem sido considerada oportunística, com tais animais desempenhando papel de polinizadores complementares em flores primariamente adaptadas à polinização por morcegos (Janson et al., 1981; Steiner, 1981; Gribel, 1988; Vieira e Carvalho-Okano, 1996; Gribel et al., 1999; Martins e Gribel, 2007; Sperr et al., 2009; Queiroz et al., submetido, capítulo 3 desta Tese). Apenas em um caso, registrado para *Marcgravia nepenthoides* (Marcgraviaceae) que apresenta flores com distância entre partes férteis e néctar que impossibilita a polinização por morcegos, espécies de gambás (*Caluromys derbianus* e *Didelphis marsupialis*) têm sido descritas como polinizadores principais (Tschapka e von Helversen, 1999).

2.2. Redes de interação: estado da arte em comunidades neotropicais, com ênfase em espécies de antese noturna.

Estudos de redes de interações mutualistas têm se mostrado uma abordagem chave para o entendimento de processos ecológicos e evolutivos no contexto ecológico no qual tais interações ocorrem, trazendo à tona conhecimentos importantes sobre a organização de mutualismos planta-animal (Vázquez et al., 2009).

Tais estudos têm revelado padrões de organização de redes de mutualismos que são aparentemente comuns, como: (i) elevada heterogeneidade: com muitas espécies especialistas e poucas generalistas extremas (Jordano et al., 2003; Vázquez e Aizen, 2003); (ii) elevada assimetria de interações: com desproporcionalidade no número e força de interações entre espécies (*e.g.* enquanto a espécie de planta *j* é polinizada por um único animal *i*, esse animal *i* pode visitar várias outras espécies de plantas na rede) (Bascompte et al., 2003; Bascompte et al., 2006; Vázquez e Aizen, 2004), o que pode facilitar a coexistência de espécies (Bascompte et al., 2006); (iii) aninhamento: em que espécies especialistas se conectam com generalistas e essas generalistas, por sua vez, se conectam mais frequentemente entre si, formando um núcleo de interações denso na

rede e conferindo maior estabilidade ao sistema como um todo (Bascompte et al, 2003; Lewinsohn e Prado, 2006; Bascompte e Jordano, 2007); e (iv) modularidade: a existência de grupos de espécies (compartimentos ou módulos) dentro da rede com muitas interações intra porém poucas intergrupos (Olesen et al., 2007). Tais módulos são constituídos por espécies filogeneticamente relacionadas e o estudo de sua estrutura tem sido importante para se testar teorias ecológicas clássicas como de síndromes de polinização (Faegri e Pijl, 1979).

Com o crescente número de estudos envolvendo abordagens de redes, tem-se acumulado conhecimento e identificado os principais mecanismos que influenciam diretamente os padrões gerais encontrados para redes de mutualismos planta-animal. Assim, tem-se evidenciado que múltiplos fatores podem ser importantes na previsão da estrutura dessas redes, incluindo o fenótipo e a distribuição temporal das espécies, a própria estrutura das comunidades (*e.g.* riqueza, composição e abundância relativa) além de efeito de esforço e método de amostragem de dados (para revisão sobre padrões e processos em redes de mutualismos, ver Vázquez et al., 2009).

Estudos com abordagens de redes têm sido realizados para alguns tipos de interações em comunidades Neotropicais, tais como: lianas-forófitos (Sfair et al., 2010); plantas-formigas (Dáttilo et al., 2013); plantas-dispersores (Mello et al., 2011a; Mello et al., 2011b) e plantas-polinizadores, principalmente, envolvendo polinização por abelhas (Bezerra et al., 2009; Santos et al., 2010; Dorado et al., 2011; Mello et al., 2012; Vázquez et al., 2012) e raramente interações noturnas (Cocucci et al., 2009).

Ao estudar redes de flores de óleo (família Malpighiaceae) e abelhas coletoras de óleo (tribo Centridini) localmente (Bezerra et al., 2009) e entre diferentes biomas brasileiros (Mello et al., 2012), esses autores têm observado que tais sub-redes apresentam propriedades diferentes de outras redes de polinização completas, sendo

significativamente mais aninhadas, menos modular e mais resiliente a perturbações. Tais resultados reforçam a ideia de que cada serviço ecológico é um mosaico de diferentes subserviços com uma estrutura hierárquica (Bezerra et al., 2009).

Mutualismos noturnos raramente têm sido abordados em estudos de redes, sendo encontrados apenas os importantes trabalhos de Mello et al. (2011a; 2011b), envolvendo dispersão por morcegos e de Amorim (2008) e Cocucci et al. (2009), ambos envolvendo polinização por esfingídeos. Uma importante parte desses mutualismos noturnos, a polinização por morcegos, tem sido deixada de lado nessas análises de redes.

Entretanto, os trabalhos com redes de interação entre plantas esfingófilas e esfingídeos têm mostrado que essas apresentam estrutura aninhada (Amorim, 2008; Cocucci et al., 2009) e elevado grau de assimetria nas interações, com as espécies de plantas apresentando elevada dependência de esfingídeos, e, espécies de esfingídeos apresentando baixa dependência de plantas. (Cocucci et al., 2009). As abundâncias das espécies e desacoplamentos fenológico e morfológico (*e.g.* divergências de comprimentos de tubo floral e de probóscide de esfingídeos) entre flores esfingófilas e esfingídeos têm sido considerados como as principais causas da assimetria das interações nesse sistema (Amorim, 2008; Cocucci et al., 2009).

3. REFERÊNCIAS

- Agosta S.J., & D.H. Janzen. 2005. Body size distributions of large Costa Rican dry forest moths and the underlying relationship between plant and pollinator morphology. *Oikos* 108: 183-193.
- Amorim F.W., Ávilla R.S., Camargo A.J.A., Vieira A.L., & P.E. Oliveira. 2009. A hawkmoth crossroads? Species richness, seasonality and biogeographical affinities of sphingidae in brazilian Cerrado. *Journal of Biogeography* **36**: 662-674.
- Amorim F.W., Galetto L., & M. Sazima. 2013. Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). *Plant Biology* **15**: 317-327.
- Amorim F.W. 2008. A comunidade de esfingídeos (Lepidoptera, Sphingidae) e plantas esfingófilas numa área de Cerrado no sudeste do Brasil: biogeografia e associações mutualísticas. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Uberlândia.
- Bascompte J., Jordano P., Melián C.J., & J.M. Olesen. 2003. The nested assembly of plant-animal mutualistic network. *PNAS* **16**: 9383-9287.
- Bascompte J., & P. Jordano. 2007. Plant-animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* **38**: 567-593.
- Bascompte J., Jordano P., & J. M. Olesen. 2006. Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Science* **312**: 431-433.
- Bezerra E.L.S., Machado I.C.S., & M.A.R. Mello. 2009. Pollination networks of oil-flowers: A tiny world within the smallest of all worlds. *Journal of Animal Ecology* **78**: 1096–1101.

- Bronstein J.L., Alarcón R., & M. Geber. 2006. The evolution of plant-insect mutualisms. *New Phytologist* **172**: 412-428.
- Carthew S.M., & R.L. Goldingay. 1997. Non-flying mammals as pollinators. *Tree* **12**: 104-108.
- Christianini A.V., Forzza R.C., & S. Buzato. 2013. Divergence on floral traits and vertebrate pollinators of two endemic *Encholirium* bromeliads. *Plant Biology* **15**: 360-368.
- Cocucci A.A., Moré M., & A.N. Sérsic. 2009. Restricciones mecánicas en las interacciones planta-polinizador: estudio de casos en plantas polinizadas por esfíngidos. *In: Ecología y evolución de interacciones planta-animal*. Medel R., Aizen M.A., & R. Zanora (Eds.). Editorial Universitaria, Santiago de Chile, 399p.
- Cocucci A.A., & A. Sérsic. 1998. Evidence of rodent pollination in subtropical South America. *In: Owens S.J., & P.J. Rudall (eds). Reproductive biology*, Royal Botanical Gardens, Kew, pp 113-121.
- Cruz-Neto O., Machado I.C., Duarte J.A., & A.V. Lopes. 2011. Synchronous phenology of hawkmoths (Sphingidae) an *Inga* species (Fabaceae-Mimosoidae): implications for the restoration of the Atlantic forest of northeastern Brazil. *Biodiversity and Conservation* **20**: 751-765.
- D'Abrera B. 1986. Sphingidae Mundi. Hawkmoths of the world. Faringdon, UK E. W. Classey Ltd., 226p.
- Darrault R.O., & C. Schlindwein. 2002. Esfingídeos (Lepidoptera, Sphingidae) no Tabuleiro paraibano, Nordeste do Brasil: abundância, riqueza e relação com plantas esfingófilas. *Revista Brasileira de Zoologia* **19**: 429-443.

- Dáttilo W., Izzo T.J., Vasconcelos H.L., & V. Rico-Gray. 2013. Strength of the modular pattern in Amazonian symbiotic ant-plant networks. *Arthropod-Plant Interactions* doi 10.1007/s11829-013-9256-1.
- Dobat K., & T. Peikert-Holle. 1985. Blüten und Fledermäuse. Bestäubung durch Fledermäuse und Flughunde (Chiroptephulie). Frankfurt: Waldemar Kramer.
- Dorado J.D., Vázquez D.P., Stevani E.L.D., & N.P.P.A. Chaco. 2011. Rareness and specialization in plant-pollinator networks. *Ecology* **92**: 19-25.
- Duarte J.A., & C. Schlindwein. 2005. The highly seasonal hawkmoth fauna (Lepidoptera: Sphingidae) of the Caatinga of northeast Brazil: a case study in the state of Rio Grande do Norte. *Journal of the Lepidopterologist* **59**: 212-218.
- Endress P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge. 499 p.
- Faegri K., & L. van der Pijl. 1979. The principles of pollination ecology. London: Pergamon Press. 479p.
- Fleming T.H., Geiselman C., & W.J. Kress. 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany* **104**: 1017-1043.
- Fleming T.H., & N. Muchhala. 2008. Nectar-feeding bird and bat niches in two worlds: pantropical comparisons of vertebrate pollination systems. *Journal of Biogeography* **35**: 764-780.
- Gribel R. 1988. Visits of *Caluromys lanatus* (Didelphidae) to flowers of *Pseudobombax tomentosum* (Bombacaceae): a probable case of pollination by marsupials in central Brazil. *Biotropica* **20**: 344-347.

- Gribel R., Gibbs P.E., & A.L. Queiróz. 1999. Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. *Journal of Tropical Ecology* **15**: 247-263.
- Haber W.A., & G.M. Frankie. 1989. A tropical hawkmoth community: Costa Rica dry forest (Sphingidae). *Biotropica* **21**: 155-172.
- Heithaus E.R., Opler P.A., & H.G. Baker. 1974. Bat activity and the pollination of *Bauhinia pauletia*: plant-pollinator coevolution. *Ecology* **55**: 412-419.
- Heithaus E.R., Fleming T.H., & P.A. Opler. 1975. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* **56**: 841-854.
- von Helversen D., & O. von Helversen. 1999. Acoustic guide in bat-pollinated flower. *Nature* **398**: 759-760.
- von Helversen D., Holderied M.W., & O. von Helversen. 2002. Echoes of bat-pollinated bell-shaped flowers: conspicuous for nectar-feeding bats? *The Journal of Experimental Biology* **206**: 1025-1034.
- von Helversen O. 1993. Adaptations of flowers to the pollination by glossophagine bats. In: Barthlott W., Naumann C.M., Schmid-Loske K., & K.L. Schuchmann (Eds.) Plant-animal interactions in tropical environments. Bonn: Museum Alexander Koenig.
- Janson C.H., Terborgh J., & L.H. Emmons. 1981. Non-flying mammals as pollinating agents in the amazonian forest. *Biotropica* **13**: 1-6.
- Jordano P. 1987. Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence asymmetries, and coevolution. *The American Naturalist* **129**: 657-677.

- Jordano P., Bascompte J., & J.M. Olesen. 2003. Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions. *Ecology Letters* **6**: 69–81.
- Kato M. 1996. Plant–pollinator interactions in the understory of a lowland mixed dipterocarp forest in Sarawak. *American Journal of Botany* **83**: 732–743.
- Kitching I.J., & J.M. Cadiou. 2000. Hawkmoth of the world: an annotated and illustrated revisionary checklist (Lepidoptera: Sphingidae). London Cornell Univ. Press. 226 p.
- Kress W.J., J.H. Beach. 1994. Flowering plant reproductive systems. *In*: McDade L.A., Bawa K.S., Hespenheide H., G. Hartshorn. (Eds.). *La Selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest*. Chicago: University of Chicago Press, 161–182.
- Lewinsohn T.M., & P.I. Prado. 2006. Structure in plant-animal interaction assemblages. *Oikos* **113**: 174-184.
- Locatelli E., Machado I.C.S., & P. Medeiros. 1997. Floral biology and bat pollination in *Pilosocereus catingicola* (Cactaceae) in northeastern Brazil. *Bradleya* **15**: 28-34.
- Locatelli E., & I.C.S. Machado. 1999. Floral biology of *Cereus fernambucensis*: a sphingophilous cactus of Restinga. *Bradleya* **17**: 86-94.
- Lopes A.V., Medeiros P.C., Aguilar Neto A. V., & I.C.S. Machado. 2006. Esfingídeos. *In*: Porto K. C., Cortez J. A., & M. Tabarelli. (Orgs.). *Diversidade biológica e conservação da floresta Atlântica ao norte do rio São Francisco*. 1ª Ed. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, p. 228-235.
- Machado I.C., Sazima I., & M. Sazima. 1998. Bat pollination of the terrestrial herb *Irlbachia alata* (Gentianaceae) in northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* **209**: 231-237.

- Machado I.C.S., & A.V. Lopes. 2002. A polinização em ecossistemas de Pernambuco: Uma revisão do estado atual do conhecimento. *In*: Tabarelli M., & J. M. C. Silva (Orgs.). Diagnóstico da diversidade de Pernambuco, p. 583-595.
- Machado I.C., & A.V. Lopes. 2004. Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a brazilian tropical dry forest. *Annals of Botany* **94**: 365-376.
- Machado I.C., & S. Vogel. 2004. The North-east-brazilian liana, *Adenocalymna dichilum* (Bignoniaceae) pollinated by bats. *Annals of Botany* **93**: 609-613.
- Martins R.L., & R. Gribel. 2007. Polinização de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. (Caryocaraceae) uma árvore emergente da Amazônia Central. *Revista Brasileira de Botânica* **30**: 37-45.
- Mello M.A.R., Marquitti M.F.D., Guimarães P.R., Kalko E.K.V., Jordano P., & M.A.M. Aguiar. 2011a. The missing part of seed dispersal networks: structure and robustness of bat-fruit interactions. *Plos One* **6**: e17395.
- Mello M.A.R., Marquitti M.F.D., Guimarães P.R., Kalko E.K.V., Jordano P., & M.A.M. Aguiar. 2011b. The modularity of seed dispersal: differences in structure and robustness between bat- and bird-fruit networks. *Oecologia* **167**: 131-140.
- Mello M.A.R., Bezerra E.L.S., & I.C. Machado. 2012. Functional roles of centridini oil bees and Malpighiaceae oil flowers in biome-wide pollination networks. *Biotropica* **45**: 45-53.
- Moré, M., Kitching I.J., & A.A. Cocucci. 2005. Esfíngidos de Argentina. 1^a Ed. Buenos Aires: L.O.L.A., 184 p.
- Muchhala N., & P. Jarrin-V. 2002. Flower visitation by bats in cloud forests of western Ecuador. *Biotropica* **34**: 387-395.

Muchhala N. 2003. Exploring the boundary between pollination syndromes: bats and hummingbirds as pollinators of *Burmeistera cyclostigmata* and *B. tenuiflora* (Campanulaceae). *Oecologia* **134**: 373-380.

Muchhala N. 2006. Nectar bat stows huge tongue in its rib cage. *Nature* **444**: 701-702.

Muchhala N. 2007. Adaptive trade-off in floral morphology mediates specialization for flowers pollinated by bats and hummingbirds. *American Naturalist* **169**: 494–504.

Muchhala N., Caiza A., Vizuite J.C., & J.D. Thomsom. 2008. A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*. *Annals of Botany* **103**: 1481-1487.

Muchhala N., & J.D. Thomsom. 2010. Fur versus feathers: pollen delivery by bats and hummingbirds and consequences for pollen production. *The American naturalist* **175**: 717-726.

Nilsson L.A., Jonsson L., Ralison L., & E. Randrianjohany. 1987. Angraecoid orchids and hawkmoths in central Madagascar: specialized pollination systems and generalist foragers. *Biotropica* **19**: 310-318.

Olesen J.M., Bascompte J., Dupont Y.L., & P. Jordano. 2007. The modularity of pollination networks. *PNAS* **104**: 19891-19896.

Oliveira P.E., & P.E. Gibbs. 2000. Reproductive biology of woody plants in Cerrado community of Central Brazil. *Flora* **195**: 311-329.

Oliveira P.E., Gibbs P.E., & A.A. Barbosa. 2004. Moth pollination of woody species in the Cerrados of Central Brazil: a case of so much owed to so few? *Plant Systematics and Evolution* **245**: 41-54.

Primo L.M. 2008. Guilda de plantas esfingófilas e quiropterófilas em remanescente de floresta atlântica estacional semidecidual em Pernambuco: sazonalidade de recursos e biologia reprodutiva. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Primo L.M., Duarte J.A., & I.C. Machado. 2013. Hawkmoth fauna (Sphingidae, Lepidoptera) in a semi-deciduous rainforest remnant: composition, temporal fluctuations, and new species records for northeastern Brazil. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences* **85**: 1177-1188.

Proctor M., Yeo P., & A. Lack. 1996. The natural history of pollination. London: Harper Collins Publishers. 479p.

Queiroz J.A. 2009. Esfingofilia e polinização por engano em *Aspidosperma pyrifolium* Mart., uma Apocynaceae arbórea endêmica de Caatinga. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Quirino Z.G.M. 2006. Fenologia, síndromes de polinização e dispersão e recursos florais de uma comunidade de Caatinga no cariri paraibano. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Quirino Z.G.M., & I.C. Machado. 2014. Pollination syndromes and seasonal availability of floral resources in a Caatinga plant community in northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology (in prelo)*.

Rocha, E.L., 2006. Fenologia, biologia da polinização e da reprodução de *Pilosocereus Byles & Rowley* (Cactaceae) no nordeste do Brasil. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

- Rocha E.A., Machado I.C., & Zappi D.C. 2007. Floral biology of *Pilosocereus tuberculatus* (Werderm.) Byles & Rowley: a bat pollinated cactus endemic from the “Caatinga” in northeastern Brazil. *Bradleya* **25**: 129-144.
- Santos G.M., Aguiar C.M.L., & M.A.R. Mello. 2010. Flower-visiting guild associated with the Caatinga flora: trophic interaction networks formed by social bees and social wasps with plants. *Apidologie* **41**: 466-475.
- Sazima M., & I. Sazima. 1980. Bat visits to *Marcgravia myriostigma* Tr. Et. Planch. (Marcgraviaceae) in Southeastern Brazil. *Flora* **169**: 84-88.
- Sazima M., Buzato S., & I. Sazima. 1999. Bat-pollinated flowers assemblages and bat visitors at two atlantic Forest sites in Brazil. *Annals of Botany* **83**: 705-712.
- Sazima M., Buzato S., & I. Sazima. 2003. *Dyssochroma viridiflorum* (Solanaceae): a reproductively bat-dependent epiphyte from the Atlantic Rainforest in Brazil. *Annals of Botany* **92**: 725-730.
- Sfair J.C., Rochelle A.L.C., Rezende A.A., van Melis J., Weiser V.L., & F.R. Martins. 2010. Nested liana-tree network in three distinct neotropical vegetation formations. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **12**: 277-281.
- Silberbauer-Gottsberger I., & G. Gottsberger. 1988. A polinização de plantas do Cerrado. *Revista Brasileira de Biologia* **48**: 651–663.
- Sperr E.B., Fronhofer E.A., M. Tschapka. 2009. The mexican mouse opossum (*Marmosa mexicana*) as a flower visitor at a neotropical palm. *Mammalian Biology* **74**: 76-80.
- Stang M., Klinkhamer P.G.L., Waser N.M., Stang I., & E. van der Meijden. 2009. Size-specific interaction patterns and size matching in a plant–pollinator interaction web. *Annals of Botany* **103**: 1459-1469.

- Steiner K.E. 1981. Nectarivory and potential pollination by a neotropical marsupial. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **4**: 505-513.
- Sussman R. & P. Raven. 1978. Pollination by lemurs and marsupials: an archaic coevolutionary system. *Science* **200**: 731-736.
- Tschapka M., & O. von Helversen. 1999. Pollinators of syntopic *Marcgravia* species in Costa Rican lowland rain forest: bats and opossums. *Plant Biology* **1**: 382-388.
- Tschapka M., von Helversen O., & W. Barthlott. 1999. Bat-pollination in epiphytic rainforest cactus *Weberocereus tunilla*. *Plant Biology* **1**: 554:559.
- Tschapka M., & S. Dressler. 2002. Chiropterophily: on bat-flowers and flower-bats. *Curtis's Botanical Magazine* **19**: 114-125.
- Tschapka M. 2004. Energy density patterns of nectar resources permit coexistence within a guild of Neotropical flower-visiting bats. *Journal of Zoology* **263**: 7-21.
- Vázquez D.P., & M.A. Aizen. 2003. Null model analyses of specialization in plant–pollinator interactions. *Ecology* **84**: 2493–2501.
- Vázquez D.P., & M.A. Aizen. 2004. Asymmetric specialization: a pervasive feature of plant–pollinator interactions. *Ecology* **85**: 1251–1257.
- Vázquez D.P., Blüthgen N., Cagnolo L., & N.P. Chacoff. 2009. Uniting pattern and process in plant–animal mutualistic networks: a review. *Annals of Botany* **103**: 1445–1457.
- Vázquez D.P., Lomáscolo S.B.P., Maldonado M.B.L., Chacoff N.P.PA., Dorado J.D., Stevani E.L.D., & N.L.D. Vitale. 2012. The strength of plant-pollinator interactions. *Ecology* **93**: 719-725.

Tabela 1. Polinização por mamíferos não voadores noturnos nas Américas Central e do Sul.

Família/Espécie	Local de registro	Espécies de opossum	Resultado da visita	Outros polinizadores	Referências
Bromeliaceae					
1. <i>Encholirium spectabile</i>	Caatinga/Brasil	<i>Didelphis albiventris</i>	PC	morcegos	Queiroz et al., submetido
Caryocaraceae					
2. <i>Caryocar villosum</i>	Cerrado/Brasil	<i>Caluromys lanatus</i> , <i>C. philander</i>	PC	morcegos e esfingídeos	Martins e Gribel, 2007
Euphorbiaceae					
3. <i>Mabea occidentalis</i>	Barro Colorado/Panamá	<i>Caluromys derbianus</i>	PC	morcegos	Steiner, 1981
4. <i>Mabea fistulifera</i>	Área urbana/Brasil	<i>Didelphis marsupialis</i>	PC	morcegos, beija-flores	Vieira e Carvalho-Okano, 1996
Malvaceae					
5. <i>Ceiba pentandra</i>	Floresta Amazônica/Brasil	<i>Didelphis marsupialis</i> , <i>Caluromys philander</i>	PC	morcegos	Gribel et al., 1999
6. <i>Pseudobombax tomentosum</i>	Cerrado/Brasil	<i>Caluromys lanatus</i>			Gribel, 1988
7. <i>Quararibea cordata</i>	Floresta Amazônica/Peru	<i>Caluromysiops irrupta</i> , <i>Didelphis marsupialis</i> , <i>Caluromys lanatus</i>	PC	morcegos e esfingídeos	Janson et al., 1981
Marcgraviaceae					
8. <i>Marcgravia nepenthoides</i>	Floresta Atlântica/Costa Rica	<i>Didelphis marsupialis</i> , <i>Caluromys derbianus</i>	PE	-	Tschapka e Helversen, 1999
Arecaceae					
9. <i>Calyptrogyne ghiesbreghtiana</i>	Floresta Atlântica/Costa Rica	<i>Marmosa mexicana</i>	PC	morcegos	Sperr et al., 2009

PE= polinizador efetivo; PC= polinizador complementar.

CAPÍTULO 1

**Rede de interações entre plantas esfingófilas e quiropterófilas e
polinizadores noturnos em uma área de vegetação tropical seca:
conexões entre guildas e robustez à perda de espécies**

(Manuscrito a ser enviado para o periódico – PLOS Biology)

Rede de interações entre plantas esfingófilas e quiropterófilas e polinizadores noturnos em uma área de vegetação tropical seca: conexões entre guildas e robustez à perda de espécies

Joel A. Queiroz¹, Diego P. Vázquez³, Zelma M. Quirino⁴, Francisco A.R. Santos⁵, Marco A.R. Mello² e Isabel C. Machado^{1,6*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, 50372-970, Recife, PE, Brasil

² Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Brasil

³ Instituto Argentino de Investigaciones de las Zonas Áridas, CONICET, Mendoza, Argentina

⁴ Departamento de Engenharia e Meio Ambiente, CCAE, Universidade Federal da Paraíba, 58000-000, Rio Tinto, PB, Brasil

⁵ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, 44036-900, Feira de Santana, BA, Brasil

⁶ Departamento de Botânica, CCB, Universidade Federal de Pernambuco, 50372-970, Recife, PE, Brasil

* For correspondence. e-mail imachado@ufpe.br

Resumo

A guilda noturna de plantas quiropterófilas, juntamente com a esfingófila, tem frequência elevada em vegetação seca de Caatinga, podendo ser até quatro vezes mais frequente que em outros ecossistemas tropicais. No entanto, a maior parte dos estudos sobre redes de interações tem focado quase que exclusivamente nas interações entre plantas e polinizadores diurnos. No presente trabalho foi analisado pela primeira vez o sistema de polinização envolvendo os dois principais vetores de pólen noturnos (morcegos e esfingídeos) para uma área de vegetação seca, na Caatinga, NE, Brasil. Foram construídas matrizes de pólen oriundo de esfingídeos e morcegos coletados mensalmente durante dois anos. Foram analisadas a modularidade, as frequências de interações intra e inter-módulos, o índice de importância e os papéis funcionais (*e.g.* periféricas, hubs, conectoras) das espécies de plantas e polinizadores na rede. A robustez da rede a perda de espécies foi analisada comparativamente entre os dois anos de coletas de dados. Apesar da frequência elevada de inter-conexões entre módulos, a rede de interações entre plantas e polinizadores noturnos apresentou estrutura significativamente modular ($M_Q = 0.36$; $IC = 0.11 - 0.16$). Sendo constituída de dois módulos exclusivos de esfingídeos e um terceiro de morcegos. A rede de interação plantas e polinizadores apresentou variabilidade temporal no tamanho e número de interações (Rede₂₀₁₁: 24 plantas, 18 polinizadores, 573 interações; Rede₂₀₁₂: 14 plantas, 15 polinizadores, 193 interações) e principalmente na robustez à extinção (Rede₂₀₁₁: $R_{plantas} = 0.96$; $R_{animais} = 0.92$; Rede₂₀₁₂: $R_{plantas} = 0.33$; $R_{animais} = 0.33$). Tais resultados indicam que os padrões de interação na rede plantas e polinizadores noturnos na Caatinga são fortemente influenciados pela sazonalidade de chuvas.

Palavras-chave – quiropterofilia, esfingofilia, módulos mutualísticos, conectividade entre módulos, guildas, robustez.

Introdução

Interações mutualísticas entre plantas e polinizadores são vitais para o funcionamento e manutenção dos ecossistemas (Machado e Lopes 2002; Bascompte et al. 2006; Bronstein et al. 2006; Bascompte e Jordano 2007). Nas últimas décadas, ecólogos têm se utilizado de ferramentas da teoria de redes complexas para abordar tais interações em um contexto multiespecífico (Jordano 1987; Bascompte et al. 2003; Bezerra et al. 2009; Mello et al. 2012; Vázquez et al. 2012). O que tem possibilitado identificar propriedades importantes nesse e em outros tipos de mutualismos (para revisão, Vázquez et al. 2009). Tais como a modularidade, observada em diferentes tipos de mutualismos, como plantas-formigas (Dáttilo et al. 2013), plantas-dispersores (Mello et al. 2011a,b) e plantas-polinizadores (Olesen et al. 2007).

Redes modulares são formadas por subgrupos ou módulos pobremente conectados entre si e altamente conectados internamente (Olesen et al. 2007). Dentro dos módulos mutualísticos (*sensu* Jordano 1987) as espécies podem desempenhar papéis ecológicos semelhantes (Mello et al. 2011), e, provavelmente, devem exercer pressões de seleção semelhantes sob outras espécies com que interagem. Nesse sentido, esses módulos mutualísticos têm sido relacionados a teóricas ecológicas importantes, como de guildas (*sensu* Blondel 2003), definidas como subunidades estruturais, temporais ou permanentes, de espécies em uma comunidade, que usam os mesmos recursos de uma forma similar (Blondel 2003).

Guildas noturnas de polinização nos Neotrópicos envolvem principalmente dois sistemas especializados que estão relacionados a dois diferentes vetores de pólen, esfingídeos e morcegos (Johnson e Steiner 2000). Interações mutualísticas entre plantas e esfingídeos estão entre as mais frequentes nas regiões tropicais (Haber e Frankie 1989, Moré et al. 2005), alcançando entre 8 a 12% da flora em diferentes ecossistemas (Bawa

et al. 1985; Oliveira 1991). Por sua vez, interações entre plantas e morcegos nectarívoros estão entre as menos frequentes, entre 1.8 e 3.6% (Bawa et al. 1985; Ormond et al. 1993; Oliveira e Gibbs 2000), porém, alcançando até 13.1% em ecossistema de floresta seca no nordeste do Brasil (Machado e Lopes 2004; Quirino e Machado no prelo).

Flores adaptadas à polinização por esfingídeos estão entre os casos mais extremos de especialização (Nilsson 1988; Martins e Johnson 2007). No entanto, se por um lado flores esfingófilas tubulares podem limitar acesso ao néctar apenas a esfingídeos de aparelhos bucais de comprimentos correspondentes ou mais longos, por outro esses animais podem ser altamente generalistas e acessarem néctar de vários outros tipos florais (Nilsson et al. 1987; Haber e Frankie 1989; Darrault e Schlindwein 2002). Dessa forma as interações flores esfingófilas e esfingídeos podem ser fortemente assimétricas (Coccuci et al, 2009). Por sua vez, apesar de flores associadas à polinização por morcegos apresentarem conjunto de atributos mais associados a morcegos (para revisão ver Fleming et al. 2009), essas podem ser acessadas e polinizadas efetivamente por outros tipos de polinizadores, como esfingídeos e beija-flores (Fleming et al. 2001; Muchhala et al. 2008; Amorim et al. 2013).

Recentemente, as interações mutualísticas noturnas têm sido incluídas nas análises de rede, no entanto, tem se investigado apenas as interações envolvendo mariposas Sphingidae e plantas esfingófilas (Cocucci et al. 2009; Devoto et al. 2011). No presente trabalho foi analisada pela primeira vez, a estrutura de rede de interações entre plantas e polinizadores noturnos incluindo ambas as guildas noturnas (i.e., guildas esfingófila e quiropterófila). Duas principais perguntas foram respondidas: (i) a rede apresenta estrutura modular? (ii) graus de modularidade e robustez variam temporalmente? Sendo testadas as seguintes hipóteses: (i) uma vez que espécies de

plantas relacionadas à polinização por esfingídeos apresentam morfologia floral mais restritiva que aquelas polinizadas por morcegos, alguns módulos devem conter exclusivamente mariposas, enquanto outros devem misturar mariposas e morcegos; (ii) módulos mutualísticos devem ser menos separados ou até mesmo ausentes em períodos mais secos; e (iii) a rede deve ser menos robusta em anos mais secos, devido ao menor tamanho e menor frequência de interações intra e inter-módulos.

Material e Métodos

Área e sistema mutualístico de estudo

As expedições para coletas de mariposas Sphingidae e morcegos nectarívoros foram realizadas ao longo de 2011 e 2012 na Fazenda Almas (7°28'45"S e 36°54'18"W), uma área de proteção ambiental particular situada na região denominada de Cariris Velhos, Paraíba, NE, Brasil. Essa área localiza-se em um dos pólos xéricos do nordeste brasileiro, onde se registra índices pluviométricos muito inferiores ao restante do país, com médias que não ultrapassam 600mm/ano e que podem alcançar em alguns anos valores próximos a 300mm (Moreira 1996). As chuvas são concentradas durante três a quatro meses do ano (Figura 1A), resultando em um período de seca prolongado, o que caracteriza a sazonalidade dessa região. Os anos de coletas de dados mostraram-se discrepantes quanto ao acúmulo anual de precipitação (Figura 1B). Segundo Prado (2003) períodos chuvosos intensos na Caatinga, como o registrado para 2011 (1.136,3mm), são menos frequentes, sendo mais comuns ciclos anuais com quantidades de chuvas menores, como registrado para 2012 (199,1mm).

A Fazenda Almas apresenta uma extensão de 3.505 hectares, vegetação com fisionomia arbustiva-arbórea, caducifólia e predominância de componentes suculentos, características típicas de Caatinga hiperxerófila (Andrade-Lima 1981; Rodal e Sampaio

2002). Como já registrado para outras áreas de Caatinga (Machado e Lopes 2004), a área de estudo apresenta frequências elevadas de espécies polinizadas por esfingídeos e morcegos, 13% e 11%, respectivamente (Quirino e Machado no prelo). Nesse estudo, foi utilizada uma lista de espécies com atributos florais relacionados à polinização por animais noturnos, baseada em trabalhos anteriores (Machado e Lopes 2003, 2004) e principalmente no trabalho de Quirino e Machado (no prelo) que descreveram a frequência de síndromes de polinização para a Fazenda Almas. Nessa lista, as famílias Cactaceae, Malvaceae, Rubiaceae e Leguminosae se destacam como as principais em número de espécies com atributos relacionados à esfingofilia e à quiropterofilia (Figura 2).

Coleta das interações plantas-polinizadores noturnos

As interações entre plantas e polinizadores noturnos foram amostradas através de análise de carga polínica presente em espécies de morcegos e de esfingídeos capturadas em campo, tratando-se desse modo de uma amostragem zoocêntrica (Jordano et al. 2009). Optou-se por esse tipo de amostragem devido a impossibilidade de identificar as espécies visitantes noturnas através apenas de observações focais. As capturas foram realizadas mensalmente, entre 18:00 – 4:00h e estenderam-se durante 24 meses, entre janeiro de 2011 e dezembro de 2012, totalizando 24 meses de captura.

Para morcegos foram realizadas capturas com redes de neblina (uma rede de 12 x 3m; e quatro redes de 7 x 2,5m), sendo realizadas entre três e cinco noites de captura para cada mês. Uma vez que a vegetação em estudo apresenta uma fisionomia aberta, optou-se por distender as redes em frente aos indivíduos floridos, para aumentar o sucesso de captura. O pólen no corpo do animal (*e.g.* cabeça, asas e ventre) foi coletado com gelatina glicerizada para a confecção e posterior identificação de lâminas de pólen. Alguns indivíduos foram sacrificados em câmara mortífera com éter e identificados com

auxílio de chaves de identificação em campo e consultas a especialistas. Todos os exemplares coletados encontram-se depositados na coleção de mamíferos do Departamento de Zoologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

A captura de esfingídeos foi realizada com o auxílio de armadilha luminosa, composta por um tecido branco de dimensões de 2,0 x 1,5m e iluminado por uma lâmpada de luz mista de 250w. Foram realizadas duas noites de captura/mês, totalizando 48 noites, exclusivamente em noites de lua nova, para aumentar a eficiência de atratividade da armadilha. Os pontos escolhidos para realizar as coletas eram áreas abertas em afloramentos rochosos, possibilitando uma extensa área de exposição da armadilha luminosa. Os esfingídeos eram coletados manualmente e sacrificados com injeção letal na porção ventral do tórax com acetato de etila. Cada animal coletado foi acondicionado em envelopes individuais para posterior montagem e análise de carga polínica em microscópio estereoscópico. Todos os exemplares coletados foram identificados no nível de espécie com auxílio de literatura especializada (D'Abrera 1986; Kitching e Cadiou 2000) e comparações com a coleção do Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva (POLINIZAR) no Departamento de Botânica da UFPE, estando os mesmos depositados na coleção de esfingídeos do POLINIZAR.

Foram eliminadas das análises interações que de fato não resultam em polinização efetiva, por exemplo, quando se encontrou pólen de uma espécie de planta que apresenta flor muito grande (*e.g. Pseudobombax marginatum*, ver Figura 2G) em esfingídeos muito pequenos (*e.g. Callionima grisescens*), onde claramente ocorreram interações de pilhagem de néctar. Além disso, tipos polínicos encontrados nas lâminas em quantidades muito reduzidas, em número inferior a cinco grãos de pólen, foram considerados como sendo contaminação e também eliminados da análise.

A identificação do pólen coletado nos animais capturados foi realizada através de comparação com coleção de laminário de pólen das espécies de plantas da Fazenda Almas descritas como sendo polinizadas por morcegos ou esfingídeos. Alguns materiais diferentes dessa coleção de referência foram enviados para identificação por especialista em palinologia da UEFS (Universidade Estadual de Feira de Santana-Bahia).

Métricas de rede calculadas

Os dados de pólen foram utilizados para organizar uma matriz binária de adjacência ($A \times P$), em que as linhas correspondem às espécies de animais (i.e. morcegos ou esfingídeos) e as colunas correspondem às plantas. Cada célula a_{ij} da matriz assumiu valores de 0 ou 1, para ausência ou presença, respectivamente, de indivíduos da espécie animal i com pólen da espécie de planta j . Através dessa matriz binária foram calculados os seguintes descritores de rede: (i) tamanho da rede de interação (S) - soma do número de linhas (animais) e o número de colunas (plantas); (ii) grau (k) - o número de interações de cada espécie (Jordano et al. 2003); (iii) índice de importância das espécies de plantas (I_j) e de animais (I_i), a partir do qual se avalia a dependência de cada espécie de planta para cada espécie de polinizador e vice e versa (Murray 2000); e a (iv) conectância (C) - razão entre as interações observadas e as interações possíveis em toda a rede (Jordano 1987).

Para análise de modularidade foi utilizado o algoritmo QuaBiMo (Dormann e Strauss 2013) que permite análise em redes bipartidas com interações quantitativas. Sendo assim, foi usada uma versão ponderada da matriz de interações entre plantas e polinizadores noturnos ($A \times P$), onde os valores das células representam o número de indivíduos amostrados de cada espécie de polinizador com pólen de cada espécie de planta. Por exemplo, a célula a_{ij} pode ser igual a 0, na ausência de indivíduos da espécie

de animal i com pólen da espécie de planta j ; ou ≥ 1 , quando a espécie de animal i apresenta indivíduo(s) com pólen da espécie de planta j .

Segundo Dormann e Strauss (2013), o QuaBiMo é baseado no conceito de grafos randômicos hierárquicos de Clauset et al. (2008), em que uma matriz de interação entre plantas e polinizadores é representada como um gráfico (i.e. dendograma), onde os ramos (i.e. espécies) próximos interagem mais comumente. Os ramos desse dendograma são então aleatorizados, através de um procedimento de anelamento simulado de Monte Carlo, gerando várias versões que são comparadas com a matriz real. Dormann e Strauss (2013) ponderaram os ramos entre as espécies e consideraram que não se pode haver interação entre espécies dentro do mesmo grupo, ou seja, numa matriz plantas-polinizadores, os animais só podem interagir com as plantas e vice-versa. Dessa forma, o algoritmo QuaBiMo identifica os módulos em redes bipartidas ponderadas, baseando-se numa representação hierárquica das interações e na otimização da alocação dos módulos. A modularidade, denominada no presente trabalho de modularidade M_Q , pode assumir valores entre 0 – 1, sendo 0 quando a comunidade não apresentou mais interações dentro dos módulos do que o esperado ao acaso (Dormann e Strauss 2013).

Para estimar a significância da modularidade observada foram geradas 1000 matrizes randômicas a partir da matriz real e pressupostos do modelo nulo utilizado por Vázquez et al. (2007). Nesse modelo, as interações são distribuídas proporcionalmente aos totais marginais da matriz real, não sendo requerido que esses totais marginais das matrizes aleatorizadas sejam iguais aos da matriz real, no entanto, requerendo-se que os valores de conectância sejam iguais em ambas as matrizes (i.e. aleatórias e real). A partir dos valores de modularidade das matrizes randômicas foi calculado o intervalo de confiança (para $p=0.05$) para comparação com o valor de M_Q da matriz real.

A análise da topologia da rede permite inferir sobre o papel das espécies para a estrutura da rede de interação (Olesen et al. 2007). Assim, foram calculados o grau para cada espécie dentro dos módulos (z) e a conectividade de espécies entre módulos (c), através de um algoritmo de detecção de modularidade SA (Olesen et al. 2007). Foi adotada a classificação de Olesen et al. (2007), o qual reconhece quatro tipos de papéis para as espécies: (i) periféricas: especialistas com valores de $c < 0.6$ e $z < 2.0$; (ii) module hubs: generalistas com valor de $z > 2.0$ e de $c < 0.6$; (iii) conectoras: generalistas com valor de $z < 2.0$ e de $c > 0.6$; e (iv) network hubs: supergeneralistas com valores de $z > 2.0$ e $c > 0.6$.

Todas as análises foram realizadas no pacote bipartite para o R (Dormann et al. 2008) e para fazer a representação gráfica da rede de interação utilizou-se o programa Pajek 2.3 (Batagelj e Mrvar 1998).

Temporalidade na rede noturna: modularidade, robustez e valores de c e z

Uma vez que durante os dois anos de coleta de campo foram registrados acúmulos anuais de precipitação discrepantes (ver Figura 1B) e que possivelmente esses ciclos distintos de precipitação podem afetar a estrutura da rede, optou-se por separar os dados coletados nos dois anos em duas matrizes e realizar análises comparativas. Então, foram analisadas comparativamente as redes de 2011 e 2012, calculando-se de forma semelhante ao descrito no item anterior, a modularidade M_Q , conectância, robustez e frequências de interações intra e inter-módulos entre as espécies na rede.

Para permitir comparações dos valores de modularidades entre as redes 2011 e 2012 e controlar o efeito do tamanho da rede sobre a modularidade, foram calculadas para ambos os anos as modularidades relativas, definidas como: $M_{QR} = (M_Q - M_{Q*})/M_{Q*}$, onde M_Q e M_{Q*} , equivalem, respectivamente, a modularidade para a matriz original (2011 ou 2012) e a modularidade média obtida para as matrizes randômicas.

Desse modo, foram comparadas as modularidades relativas (M_{QR}) dos dois anos, corrigindo-se o efeito do tamanho da rede.

A robustez (R) das redes de interações a perturbações foi avaliada através de simulações de extinções de espécies (plantas ou polinizadores) aleatórias e cumulativas (Memmot et al. 2004; Rezende et al. 2007). A remoção de uma espécie i (extinção primária), por exemplo, pode levar a extinção secundária de uma espécie j , caso j apresente apenas um link com i , podendo gerar uma cascata de extinções a medida que novas espécies vão sendo removidas da rede de interação. No presente trabalho, foram medidos separadamente o efeito de extinções de espécies de plantas e de polinizadores para ambos os anos. Como as remoções são cumulativas o sistema de interações irá colapsar no exato momento em que a última espécie será removida. Sendo assim, esse sistema foi representando graficamente como uma curva de extinção, através da relação entre o número de espécies removidas e o número de espécies remanescentes e a robustez foi estimada como uma medida do tamanho da área abaixo da curva de extinção. Valores de R (que variam de 0 a 1) próximos a 0 indicam sistemas menos robustos (que colapsam mais rapidamente) e próximos a 1, sistemas mais robustos.

Para investigar se o papel de plantas e polinizadores poderia ser afetado temporalmente, foram analisadas comparativamente a configuração das interações das espécies dentro da rede, através dos valores de z e c (Olesen et al. 2007).

Resultados

Características gerais da rede plantas-polinizadores noturnos

A rede de interações entre plantas e polinizadores noturnos na área de Caatinga estudada foi formada por 43 espécies, sendo 24 plantas e 19 polinizadores (*i.e.* 4 espécies de morcegos e 15 de esfingídeos) (Figura 3). Foram registradas 766 interações

totais na rede. A conectância, ou seja, a proporção de interações observadas, foi de 0.25. Cerca de 42% das espécies de plantas (11 plantas) apresentaram conexões exclusivamente com esfingídeos. No entanto, seis destas plantas são descritas na literatura como relacionadas a polinização por insetos diurnos, apresentando grau ($k_{min}=1$; $k_{max}=2$) e valores de importância muito baixos ($Ij_{min}=0.003$; $Ij_{max}=0.015$) (tabela 1). As demais cinco espécies de plantas que interagiram exclusivamente com esfingídeos (*Aspidosperma pyrifolium*, *Guettarda angelica*, *Tocoyena formosa*, *Amburana cearencis* e *Cereus jamacaru*) são descritas na literatura com sendo esfingofilas, apresentando valores de grau entre 3 e 7; e de índice de importância entre 0.025 e 0.071.

Por outro lado, 11 espécies de plantas (42%) apresentaram conexões com ambos os grupos de polinizadores noturnos, valores elevados de grau ($k_{min}=3$; $k_{max}=16$), e, sobretudo, os maiores índices de importância para a rede ($Ij_{min}=0.015$; $Ij_{max}=0.198$). *Pilosocereus gounellei*, por exemplo, apresentou o maior índice de importância registrado para a rede ($Ij=0.198$). Apenas duas espécies de plantas (8.33%), *Pilosocereus chrysostele* e *Pseudobombax marginatum*, apresentaram conexões exclusivamente com morcegos. Essas espécies apresentaram valores baixos de grau e índice de importância, *P. marginatum* ($k=3$ e $Ij=0.032$) e *P. chrysostele* ($k_{min}=3$ e $Ij=0.022$).

Duas espécies de esfingídeos, *Callionima griseus* e *Erinnyis ello*, foram os polinizadores mais generalistas na rede, apresentando os maiores valores de grau e de índice de importância (*C. griseus*: $k=14$; $Ii=0.226$; e *E. ello*: $k=13$ e $Ii=0.157$). As demais espécies de esfingídeos apresentaram valores de grau e índice de importância, comparativamente, mais inferiores, variando de 1 a 8 e 0.002 a 0.057, respectivamente. As duas principais espécies de morcegos nectarívoros registradas na rede também apresentaram valores de grau e índices de importância elevados, *Lonchophylla mordax*

($k = 12$ e $Li = 0.099$) e *Glossophaga soricina* ($k = 11$ e $Li = 0.082$), enquanto as duas outras espécies de morcegos nectarívoras oportunistas apresentaram grau e principalmente valores de índice de importância muito baixos (Tabela 2).

A rede de interações apresentou estrutura modular ($M_Q = 0.36$) significativamente maior do que o esperado pelo acaso ($IC = 0.11 - 0.16$). Três módulos foram identificados na rede (Figura 3 A e B). Dois módulos foram constituídos exclusivamente por espécies de esfingídeos e por plantas com atributos florais relacionados à esfingofilia e ou relacionados à polinização por insetos diurnos. Enquanto o terceiro módulo foi constituído exclusivamente por espécies de morcegos e espécies de plantas com atributos florais mais relacionados à quiropterofilia.

A maior parte das espécies na rede de interação é periférica (plantas: 66.6%; polinizadores: 84.2%), apresentando valores de c e z menores que 0.6 e 2.0, respectivamente (Figura 4), não sendo observadas espécies altamente conectadas dentro dos módulos. As demais espécies são conectoras (plantas: 33.3%; polinizadores: 15.7%), apresentando valores de $c > 0.6$. Essas espécies podem conectar tanto módulos de morcegos e esfingídeos, como *Helicteres baruensis* ($c = 0.72$, $z = -1.22$), *Bauhinia cheilantha* ($c = 0.71$; $z = -0.36$), *Encholirium spectabile* ($c = 0.61$, $z = 0.57$) e *Ipomoea marcellia* ($c = 0.61$; $z = -0.44$); quanto diferentes módulos de esfingídeos, como *Combretum* sp. ($c = 0.66$; $z = -0.74$) e *Croton* sp. ($c = 0.61$; $z = 0.74$).

Apenas três espécies de esfingídeos apresentaram valores de $c \geq 0.6$, *Erinnyis swainsoni* ($c = 0.62$; $z = 0.38$); *Erinnyis ello* ($c = 0.60$, $z = 0.75$) e *Xylophanes tersa* ($c = 0.62$; $z = -0.98$), sendo importantes conectores entre módulos dentro da rede. No entanto, algumas espécies de polinizadores foram importantes dentro de seus respectivos módulos, tais como as espécies de morcegos, *Glossophaga soricina* ($c =$

0.52 $z = 1.22$) e *Lonchophylla mordax* ($c = 0.56$ $z = 1.22$) e a espécie de mariposa esfingídea *Callionima grisescens* ($c = 0.50$; $z = 1.33$).

As espécies de *Pilosocereus* amostradas na rede de interação apresentaram papéis distintos, enquanto, *P. gounellei* ($c = 0.67$; $z = 1.36$) conecta módulos de morcegos e esfingídeos, com papel que se aproxima ao descrito como supergeneralista; *P. chrysostele* ($c = 0.00$; $z = -0.44$) apresenta conexões exclusivamente dentro do módulo de morcegos, sendo extremamente periférica dentro da rede.

Temporalidade na rede noturna: modularidade, robustez e conexões intra e inter-módulos

O tamanho, o número de interações, a conectividade entre módulos e principalmente a robustez da rede de polinização variaram temporalmente. A rede amostrada em 2011 foi maior (24 plantas e 18 animais e 573 interações) que a rede 2012 (14 plantas, 15 polinizadores e 193 interações), no entanto, a conectância nos dois anos não diferiu ($C_{2011} = 0.245$; $C_{2012} = 0.242$). Apesar da modularidade ter sido maior na rede do ano mais seco ($M_Q_{2011} = 0.36$, IC = 0.15 – 0.21; $M_Q_{2012} = 0.49$, IC = 0.21 – 0.33), não foi observadas diferenças significativas após correção do efeito do tamanho das redes ($M_{QR_{2011}} = 1.01$, IC = 0.71 - 1.40; $M_{QR_{2012}} = 0.84$, IC = 0.46 – 1.30). Foi observada tendência, ainda que não significativa, a uma redução das interações entre módulos (valores de c) (Figura 5). Sendo observada, tanto para as plantas (Figura 5A) quanto para os polinizadores (Figura 5B), menor conectividade entre os módulos no ano mais seco. Por sua vez, as conexões dentro dos módulos não sofreram alterações entre os anos (Figura 5 C e D).

De modo geral, as redes de 2011 e 2012 responderam de forma semelhante à extinção de plantas e animais, no entanto, a robustez a extinções de espécies foi

altamente variável temporalmente (rede 2011: $R_{\text{plantas}} = 0.96$; $R_{\text{animais}} = 0.92$; e rede 2012: $R_{\text{plantas}} = 0.33$; $R_{\text{animais}} = 0.33$).

Discussão

O presente trabalho abordou o sistema de polinização noturno completo (*i.e.* plantas quiropterófilas e esfingófilas) de ecossistema de Caatinga com análise de redes pela primeira vez. A estrutura modular da rede de interação entre plantas e polinizadores noturnos, de modo geral, corrobora a previsão inicial e os estudos anteriores que utilizavam unicamente conjunto de dados de atributos florais como critério para agrupar ou separar espécies em diferentes síndromes de polinização (Machado e Lopes 2004; Quirino e Machado no prelo). Desse modo, já se esperava encontrar módulos mutualísticos na rede (*sensu* Jordano 1987) relacionados aos conceitos ecológicos de guildas (Blondel 2003) e de síndromes de polinização (Faegri e Pijl 1979). No entanto, a rede como um todo apresentou frequência elevada de conectividade entre módulos, o que pode indicar que apesar de distintas, as guildas esfingófilas e quiropterófilas podem apresentar uma zona de sobreposição importante. Explorar essas interações entre fronteiras dos módulos pode fornecer um melhor entendimento da estrutura e funcionamento desse sistema mutualístico noturno.

A maior parte das flores apresentou morfologia que permite interação com ambos os grupos de vetores de pólen noturnos (*e.g.* *Encholirium spectabile*, *Ipomoea marcellia*, *Pilosocereus gounellei*, *Helicteres baruensis*, *Ceiba glaziovii*, *Bauhinia cheilantha*) o que pode explicar a presença de módulos na rede menos isolados, principalmente, o módulo em que os morcegos estão inseridos, e também a conectividade entre módulos mais elevada no nosso sistema de estudo que em outras redes mutualistas (Olesen et al. 2007). Além disso, uma vez que espécies de esfingídeos adultos são generalistas quanto a tipos de flores que visitam (Kitching e Cadiou 2000) e

que espécies de plantas quiropterófilas não restringem o acesso ao néctar para outros tipos de polinizadores, era esperado encontrar frequência de interações entre os módulos elevadas na rede noturna.

A conectância observada na rede de polinização noturna foi de modo geral inferior à registrada para outras redes mutualistas (Jordano 1987; Mello et al. 2011), o que poderia ser esperado levando-se em consideração o grau de modularidade encontrado na rede de estudo. No entanto, essa elevada proporção de interações que não ocorrem na rede pode ser consequência do método e esforço de amostragem usado no nosso estudo (*i.e.* interações perdidas); ou da história de vida das espécies, que pode resultar em desacoplamentos fenológicos e fenotípicos entre plantas-polinizadores (*i.e.* interações proibidas) (Jordano et al. 2003; Olesen et al. 2011).

Espécies de plantas com floração parcial ou totalmente restrita à estação seca, tais como *Aspidosperma pryrifolium*, *Ipomoea marcelia* e *Encholirium spectabile*, geralmente tiveram menor número de interações na rede uma vez que não sobrepõem sua fenologia com grande parte da esfingofauna da Caatinga, que apresenta dinâmica fenológica fortemente influenciada pela distribuição de chuvas (Duarte e Schlindwein 2005). Por outro lado, espécies de plantas com período de floração durante a estação de chuvas geralmente apresentaram maior grau. A espécie de cactaceae, *Pilosocereus gounellei*, que exibe floração continua com pico em período chuvoso (Quirino e Machado no prelo), foi a principal espécie de planta da rede, o que ser devido sobreposição de sua fenologia com polinizadores. Por outro lado, mesmo com o aumento do esforço de coleta, determinadas interações entre plantas e polinizadores noturnos seriam impossíveis de ocorrerem, devido a fortes restrições morfológicas entre algumas espécies de plantas com flores tubulares longas (*e.g.* *Tocoyena formosa*, *Cereus jamacaru*) e morcegos ou esfingídeos de probóscides mediana a curta.

Sobreposição de fenologias e ajustamento morfológico entre plantas e polinizadores não são suficientes para explicar importantes ausências de algumas interações na rede de plantas e polinizadores noturnos. Como por exemplo, a ausência de interação entre *Pilosocereus chrysostele* e esfingídeos. *Pilosocereus chrysostele* apresenta padrões fenológicos e morfologia floral semelhantes a *P. gounellei* (Quirinho e Machado no prelo), no entanto, diferentemente de sua congênere, apresentou interações exclusivamente com morcegos. Semelhantemente, a espécie de planta *Pseudobombax marginatum* que floresce em período de maior umidade e apresenta flores grandes do tipo pincel, também apresentou interações exclusivamente com morcegos, no entanto, poderia ser facilmente acessada por esfingídeos de probóscides longas. Provavelmente essas ausências não estão relacionadas com esforço de amostragem, tendo em vista que foram dedicados dois anos de coletas de polinizadores nessa comunidade de estudo e ainda realizadas observações focais para confirmar presença ou ausência de mariposas nas flores dessas espécies de plantas. Em um estudo de biologia floral com *P. chrysostele* foi registrado visitas exclusivas de morcegos (Rocha 2006), corroborando nossos resultados.

Outros fatores que ainda não foram estudados como determinantes de particularidades das redes mutualísticas, podem estar por trás dessas ausências de interações destacadas anteriormente. O odor pode ser um desses fatores, uma vez que é um atrativo primário de longa distância muito importante para sistemas de polinização noturnos e caracteristicamente distinto entre as flores esfingófilas (*i.e.* odor extremamente forte e agradável) e as quiropterófilas (*i.e.* odor extremamente forte, desagradável, lembrando alho em fermentação) (Faegri e Pijl 1979; Proctor et al. 1996). Ambas as espécies, *Pilosocereus chrysostele* e *Pseudobombax marginatum*, exalam

intenso odor característico de flores quiropterófilas ao longo da noite, o que pode levar a pensar provavelmente que o odor dessas flores não seja tão atrativo para esfingídeos.

A rede plantas-polinizadores noturnos mostrou-se fortemente variável temporalmente quanto ao tamanho, número total de interações, conectividade entre módulos e principalmente quanto à robustez a extinção de espécies. De modo geral, tem-se identificado em diferentes redes de polinização importantes variações diárias, inter-estacionais ou inter-anuais na abundância de espécies e na ocorrência de interações (Olesen et al. 2008; Díaz-Castelazo et al. 2010; Baldock et al. 2011; Devoto et al. 2011; Fründ et al. 2011; Burkle et al. 2013).

As condições de sazonalidade observadas na Caatinga, na qual a vegetação encontra-se sem folhas durante parte do ano como resultado de 6 a 8 meses de seca, afeta a história de vida de esfingídeos, uma vez que larvas de esfingídeos se alimentam de folhas (Haber e Frankie 1989). De fato na Caatinga a esfingofauna apresenta maiores riqueza e abundância durante período de maior umidade (Duarte e Schlindwein 2005). No presente estudo, a menor quantidade de interações e a menor conectividade entre os módulos registrados para rede do ano mais seco podem ser consequência da menor quantidade de esfingídeos coletados nesse ano, uma vez que esses animais têm papel importante na rede como conectores.

A menor robustez da rede no ano mais seco pode claramente estar relacionada a menor complexidade (*i.e.* menor número de espécies e de interações) e ao maior isolamento módulos nesse período. Recentes trabalhos têm mostrado correlação negativa entre o tamanho da rede mutualista e a robustez, sendo visto que redes menores colapsam mais rapidamente diante da perda cumulativa de espécies (Mello et al. 2011). Além disso, o fato da rede no ano mais seco apresentar módulos mais definidos e menor frequência de conexões entre módulos pode torná-la menos robusta a extinção de

espécies, tendo em vista que a remoção de espécies que apresentam papéis importantes, como hubs (*i.e.* espécies com grau elevado dentro dos módulos) ou conectores (*i.e.*, espécies que mantêm a rede como um todo, unida) pode afetar grandemente a estrutura da rede como um todo (Mello et al. 2011). Entender possíveis respostas da rede de interações entre plantas e polinizadores noturnos a perturbações (*i.e.* extinção de espécies) e diagnosticar quais espécies são mais importantes para a manutenção desse sistema tem relevantes implicações ecológicas e conservacionistas. Essa relevância se torna ainda maior diante de cenários de mudanças climáticas previstas (GEO 2007), com diminuição de chuvas, aumento de frequência de anos mais secos e aridização de áreas de vegetação seca como na Caatinga.

Referências

- Amorim FW, Galetto L, Sazima M (2013) Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). *Plant Biology* 15: 317-327.
- Andrade-Lima D (1981) The Caatingas dominium. *Revista Brasileira de Botânica* 4: 149-163.
- Baldock KCR, Memmott J, Ruiz-Guajardo JC, Roze D, Stone GN (2011) Daily structure in african savanna flower visitation networks and consequences for network sampling. *Ecology* 92: 687-698.
- Bascompte J, Jordano P, Melián CJ, Olesen JM (2003) The nested assembly of plant-animal mutualistic network. *PNAS* 100: 9383-9287.
- Bascompte J, Jordano P, Olesen JM (2006) Asymmetric coevolutionay networks facilitate biodiversity maintenance. *Science* 312: 431-433.

- Bascompte J, Jordano P (2007) The structure of plant-animal mutualistic networks: the architecture of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 38: 567-593.
- Batagelj V, Mrvar A (1998) Pajek – Program for Large Network Analysis. *Connections* 21: 47-57.
- Bawa KS, Bullock SH, Perry DR, Coville RE, Grayum MH (1985) Reproductive biology of tropical lowland forest tree. II. Pollination systems. *Am J Bot* 72: 346-456.
- Bezerra ELS, Machado IC, Mello MAR (2009) Pollination networks of oil-flowers: a tiny world within the smallest of all worlds. *Journal of Animal Ecology* 78: 1096-1101.
- Bronstein JL, Alarcón R, Geber M (2006) The evolution of plant-insect mutualisms. *New Phytologist* 172: 412-428.
- Burkle LA, Marlin JC, Knight TM (2013) Plant-pollinator interactions over 120 years: loss of species, co-occurrence, and function. *Science* 339: 1611-1615. doi: 10.1126/science.1232728
- Cocucci AA, Moré M, Sérsic AL (2009) Restricciones mecánicas en las interacciones planta-polinizador: estudio de casos en plantas polinizadas por esfíngidos. In: Medel R, Aizen MA, Zamora R (eds.). *Ecología y evolución de interacciones planta-animal*. Editora universitaria Santiago de Chile, 399p.
- D'Abrera B (1986) *Sphingidae mundi: hawkmoths of the world*. Farindon, UK: E.W. Classey Ltd.
- Darrault RO, Schlindwein C (2002) Esfingídeos (Lepidoptera, Sphingidae) no tabuleiro paraibano, nordeste do Brasil: abundância, riqueza e relação com plantas esfingófilas. *Revista Brasileira de Zoologia* 19: 429-443.

- Dáttilo W, Izzo TJ, Vasconcelos HL, Rico-Gray V (2013) Strength of the modular pattern in Amazonian symbiotic ant-plant networks. *Arthropod-Plant Interactions*. DOI 10.1007/s11829-013-9256-1
- Devoto M, Bailey S, Memmott J (2011) The 'night shift': nocturnal pollen-transport networks in a boreal pine forest. *Ecological Entomology* 36: 25-35.
- Díaz-Castelazo C, Guimarães PP, Jordano P, Thompson JN, Marquis RJ, Rico-Gray V (2010) changes of a mutualistic network over time: reanalysis over a 10-year period. *Ecology* 91: 793-801.
- Dormann CF, Gruber B, Fründ J (2008) Introducing the bipartite Package: Analysing ecological networks. *R news* 8: 8-11.
- Dormann CF, Strauss R (2013) Detecting modules in quantitative bipartite networks: the QuaBiMo algorithm. arXiv:1304.3218v1
- Duarte JA, Schlindwein C (2005) The highly seasonal hawkmoth fauna (Lepidoptera: Sphingidae) of the Caatinga of northeast Brazil: a case study in the state of Rio Grande do Norte. *Journal of the Lepidopterologist* 59: 212-218.
- Faegri K, van der Pijl L (1979) *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, London.
- Fleming TH, Sahley CT, Holland JN, Nason JD, Hamrick JL (2001) Sonoran desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. *Ecological Monographs* 71: 511-530.
- Fleming TH, Geiselman C, Kress WJ (2009) The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Ann Bot* 104: 1017-1043.
- Fründ J, Dormann CF, Tschardt T (2011) Linné's floral clock is slow without pollinators-flower closure and plant-pollinator interaction webs. *Ecology Letters* 14: 896-904. doi: 10.1111/j.1461-0248.2011.01654.x

- GEO (2007) Global Environmental Outlook Year Book 2007/8. UNEP, Nairobi, Kenya
- Haber WA, Frankie GW (1989) A tropical hawkmoth community: costa Rican dry forest sphingidae. *Biotropica* 21: 155-172.
- Johnson SD, Steiner KE (2000) Genralization versus specialization in plant pollination systems. *Tree* 15: 140-143.
- Jordano P (1987) Patterns of mutualistic interactions in pollination and seed dispersal: connectance, dependence asymmetries, and coevolution. *The American Naturalist* 129: 657-677.
- Jordano P, Bascompte J, Olesen JM (2003) Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions. *Ecology Letters* 6: 69-81.
- Jordano P, Vázquez DP, Bascompte J (2009) Redes complejas de interacciones planta-animal. In: Medel R, Aizen M, Zamora R (eds). *Ecología y evolución de las interacciones planta-animal: conceptos y aplicaciones*. Editorial Universitaria, Santiago, Chile.
- Kitching IJ, Cardiou JM (2000) Hawkmoth of the world: An annotated and illustrated revisionary checklist (Lepidoptera: Sphingidae). London Cornell Univ. Press.
- Machado ICS, Lopes AV (2002) A polinização em ecossistemas de Pernambuco: Uma revisão do estado atual do conhecimento. Pp. 583-595. In: Tabarelli M, Silva JMC (orgs). *Diagnóstico da diversidade de Pernambuco*.
- Machado IC, Lopes AV (2003) Recursos florais e sistemas de polinização e sexuais em Caatinga. In: Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC (eds). *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Recife: Editora Universitária, UFPE, 515-563.
- Machado IC, Lopes AV (2004) Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a brazilian tropical dry forest. *Ann Bot* 94: 365-376.

- Martins DJ, Johnson SD (2007). Hawkmoth pollination of aerangoid orchids in Kenya, with special reference to nectar sugar concentration gradients in the floral spurs. *American Journal of Botany* 94: 650-659.
- Mello MAR, Marquitti MFD, Guimarães PR, Kalko EKV, Jordano P, Aguiar MAM (2011) The missing part of seed dispersal networks: structure and robustness of bat-fruit interactions. *Plos One* 6.
- Mello MAR, Marquitti MFD, Guimarães PR, Kalko EKV, Jordano P, Aguiar MAM (2011) The modularity of seed dispersal: differences in structure and robustness between bat- and bird-fruit networks. *Oecologia* 167: 131-140.
- Mello MAR, Bezerra ELS, Machado IC (2012) Functional roles of centridini oil bees and malpighiaceae oil flowers in biome-wide pollination networks. *Biotropica* 0: 1-9.
- Memmott J, Waser NM, Price MV (2004) Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proceedings of the Royal Society London B* 271: 2605-2611.
- Moré MI, Kitching J, Cocucci AA (2005) *Esfíngidos de Argentina*. 1ª edição. Buenos Aires: L.O.L.A. 166p.
- Moreira H M (1996) Estudos fenológicos em um remanescente de caatinga no sertão paraibano. Monografia de Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- Muchhala N, Caiza A, Vizuite JC, Thomsom JD (2008) A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*. *Annals of Botany* 103: 1481-1487.
- Murray KG (2000) The importance of different bird species as seed dispersers. In: Nadkarni NM, Wheelwright NT (eds.). *Monteverde: ecology and conservation of a tropical cloud forest*. Oxford University Press, New York, pp. 294-295.

- Nilsson LA, Jonsson L, Ralison L, Randrianjohany E (1987) Angraecoid orchids and hawkmoths in central Madagascar: specialized pollination systems and generalist foragers. *Biotropica* 19: 310-318.
- Nilsson LA (1988). Evolution of flowers with deep corolla tubes. *Nature* 334:147-149.
- Olesen JM, Bascompte J, Dupont YL, Jordano P (2007) The modularity of pollination networks. *PNAS* 104: 19891-19896.
- Olesen JM, Bascompte J, Elberling H, Jordano P (2008) Temporal dynamics in a pollination network. *Ecology* 89: 1573-1582.
- Olesen JM, Bascompte J, Dupont YL, Elberling H, Jordano P (2011) Missing and forbidden links in mutualistic networks. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 278: 725-732. doi: 10.1098/rspb.2010.1371.
- Oliveira PE (1991) The pollination and reproductive biology of a Cerrado woody community in BBrasil. PhD Thesis. University of St. Andrews, Scotland.
- Oliveira PE, Gibbs PE (2000) Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of central Brazil. *Flora* 195: 311-329
- Oliveira PE, Gibbs PE, Barbosa AA (2004) Moth pollination of woody species of Brazil Central: a case of so much owed to so few? *Plant Systematic and Evolution* 245: 41-54.
- Ormond WT, Pinheiro MCB, Lima AH, Correia MCR, Pimenta ML (1993) Estudo de recompensas florais das plantas de restinga de Marica – Itaipaçu, Rj. I-Nectaríferas. *Bradea* 6: 179-195.
- Prado DE (2003) As Caatingas da América do Sul. In: Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC (eds) *Ecologia e Conservação da Caatinga*, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, pp 3-73.

- Proctor M, Yeo P, Lack A (1996) The natural history of pollination. Harper Collins Publishers, London.
- Quirino ZGM, Machado IC (2014) Pollination syndromes and seasonal availability of floral resources in a Caatinga plant community in northeastern Brazil. *Braz J Biol* (no prelo).
- Rezende EL, Lavabre JEP, Guimarães JR, Jordano P, Bascompte J (2007) Non-random coextinctions in phylogenetically structured mutualistic networks. *Nature* 448: 925-929.
- Rocha EL (2006) Fenologia, biologia da polinização e da reprodução de *Pilosocereus* Byles & Rowley (Cactaceae) no nordeste do Brasil. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- Rodal MJN, Sampaio EVSB (2002) A vegetação do bioma Caatinga. In: Sampaio EVSB, Giullietti AM, Virgínio J, Rojas CFLG (eds). *Vegetação e flora da Caatinga*, Recife, pp 11-24.
- Vázquez DP, Mélian CJ, Williams NM, Blüthgen N, Krasnov BR, Poulin R. 2007. Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks. *Oikos* **116**: 1120-1127.
- Vázquez DP, Blüthgen N, Cagnolo LI, Chaco NPPA (2009) Uniting pattern and process in plant-animal mutualistic networks: a review. *Annals of Botany* 103: 1445-1457.
- Vázquez DP, Lomáscolo SBP, Maldonado MBL, Chaco NPPA, Dorado JD, Stevani ELD, Vitale NLD (2012) The strength of plant-pollinator interactions. *Ecology* 93: 19-725.

Tabela 1. Grau (k) e índice de importância (Ij) de plantas em uma rede interações entre plantas e polinizadores noturnos de Caatinga, NE, Brasil. As espécies estão ordenadas segundo suas guildas e em ordem decrescente de índice de importância.

Espécies	Grau (k)	Índice de importância (Ij)
<i>Guilda esfingófila*</i>		
<i>Pilosocereus gounellei</i> (Weber) Byl. & G.D. Rowley	16	0,198
<i>Amburana cerarencis</i> A.C. Smith	6	0,071
<i>Guettarda angelica</i> Mart.	7	0,055
<i>Tocoyena formosa</i> (Cham. & Schltdl.) K.	7	0,054
<i>Cereus jamacaru</i> DC.	5	0,042
<i>Lirium</i> sp.	4	0,026
<i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart.	3	0,025
<i>Guilda quiropterófila*</i>		
<i>Bauhinia cheilantha</i> Steud.	11	0,087
<i>Ceiba glaziovii</i> (Kuntze) K.Schum.	8	0,085
<i>Encholirium spectabile</i> Martius ex Schultes	7	0,061
<i>Ipomoea marcellia</i> Meisn.	7	0,063
<i>Helicteres baruensis</i> Jacq.	6	0,033
<i>Pseudobombax marginatum</i> (St Hil) Rob	4	0,032
<i>Pilosocereus chrysostele</i> (Vaupel) Byl. & G.D. Rowley	3	0,022
<i>Guildas diurnas*</i>		
<i>Croton</i> sp.	6	0,053
<i>Piptaenia stipulacea</i> (Benth.) Ducke	4	0,016
<i>Combretum</i> sp.	3	0,015
<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	2	0,011
<i>Alibertia</i> sp.	1	0,004
<i>Poincianella</i> sp.	1	0,004
<i>Allophylus</i> sp.	1	0,003
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	1	0,003
<i>Guilda(s) indeterminada(s)</i>		
Indet. 1	4	0,022
Indet. 2	1	0,003

*= segundo Lopes e Machado, 2004 e Quirino e Machado, 2013.

Tabela 2. Grau (*k*) e índice de importância (*Ii*) de esfingídeos e morcegos em uma rede interações entre plantas e polinizadores noturnos de Caatinga, NE, Brasil. As espécies estão ordenadas segundo o grupo de polinizadores e em ordem decrescente índice de importância.

Espécies	Grau (k)	Índice de importância (<i>Ii</i>)
Esfingídeos		
<i>Callionima grisescens</i> (Rothschild, 1894)	14	0,226
<i>Erinnyis ello</i> (Linnaeus, 1758)	13	0,157
<i>Eumorpha analis</i> (Rothschild e Jordan, 1803)	7	0,057
<i>Agrius cingulata</i> (Fabricius, 1775)	8	0,054
<i>Eumorpha vitis</i> (Linnaeus, 1758)	7	0,049
<i>Erinnyis swainsoni</i> (Felder, 1862)	8	0,046
<i>Manduca rustica</i> (Fabricius, 1775)	6	0,032
<i>Aellopus</i> sp.	3	0,026
<i>Xylophanes tersa</i> (Linnaeus, 1771)	4	0,020
<i>Manduca sexta</i> (Linnaeus, 1763)	4	0,020
<i>Callionima parse</i> (Fabricius, 1775)	2	0,013
<i>Protambulyx strigilis</i> (Linnaeus, 1771)	3	0,013
<i>Erinnyis obscura</i> (Fabricius, 1775)	3	0,013
<i>Cocytius antaeus</i> (Drury, 1773)	3	0,012
<i>Pseudosphinx tetrio</i> (Linnaeus, 1771)	1	0,002
Morcegos		
<i>Lonchophylla mordax</i> (Thomas, 1903)	12	0,099
<i>Glossophaga soricina</i> (Pallas, 1766)	11	0,082
<i>Phyllostomus discolor</i> (Wagner, 1843)	5	0,035
<i>Artibeus planirostris</i> (Spix, 1823)	4	0,032

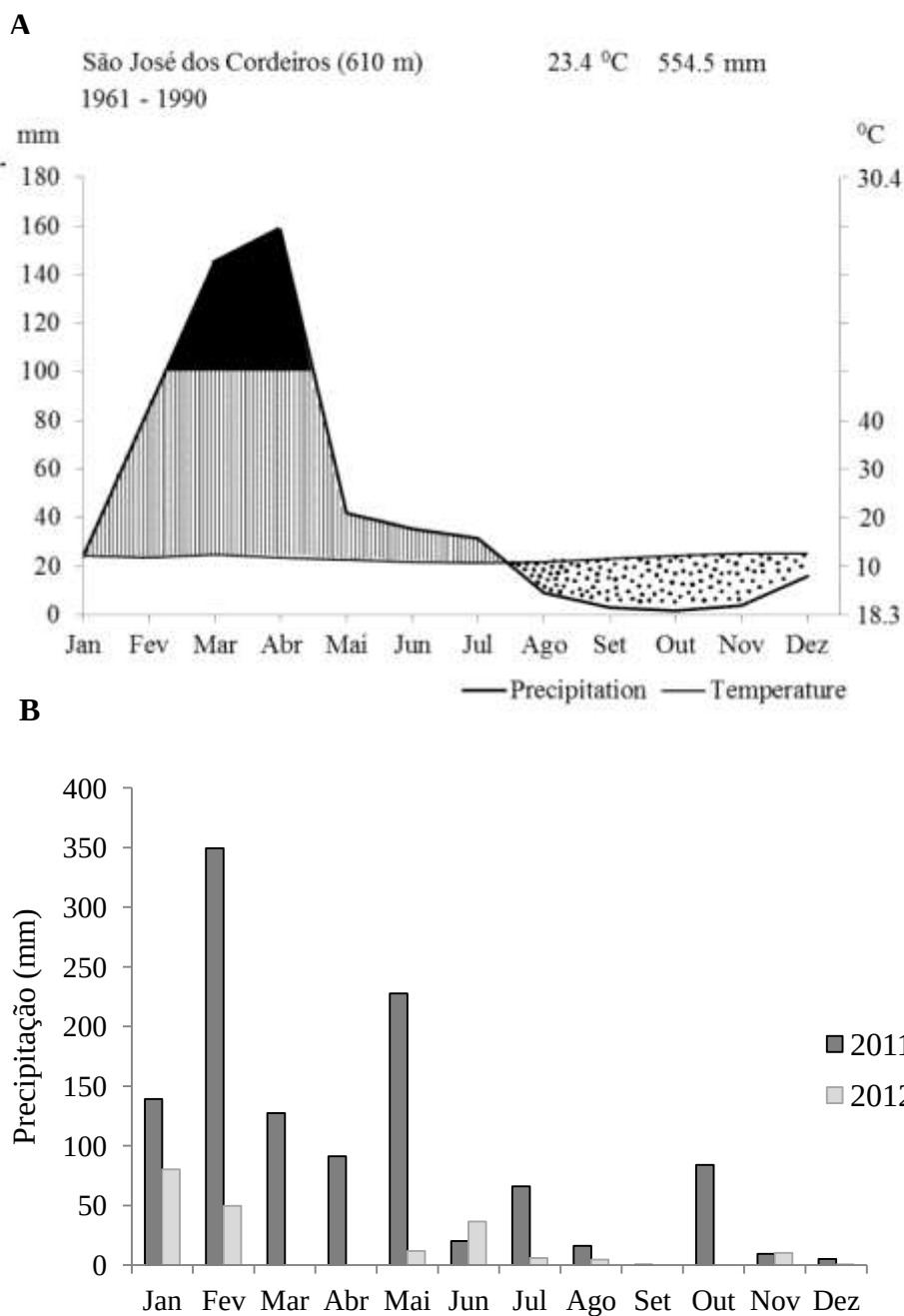


Figura 1. Sazonalidade de chuvas para o Município de São José dos Cordeiros, onde se localiza a Fazenda Almas. A). Diagrama climático com precipitação histórica (1961 – 1990), e B) precipitação para o período de estudo (2011 e 2012). (Dados de temperatura e precipitação da AESA – Agencia Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba).



Figura 2. Espécies de plantas com atributos florais relacionadas à esfingofilia (polinização por esfingídeos) e quiropterofilia (polinização por morcegos) ocorrentes na Fazenda Almas, Paraíba, Brasil. A) *Aspidosperma pyriforme*; B) *Tocoyena formosa*; C) *Helicteres baruensis*; D) *Ceiba glaziovii*; E) *Cereus jamacaru*; F) *Ipomoea marcellia*; G) *Pilosocereus gounellei*; H) *P. chrysostele*; e I) *Pseudobombax marginatum*.

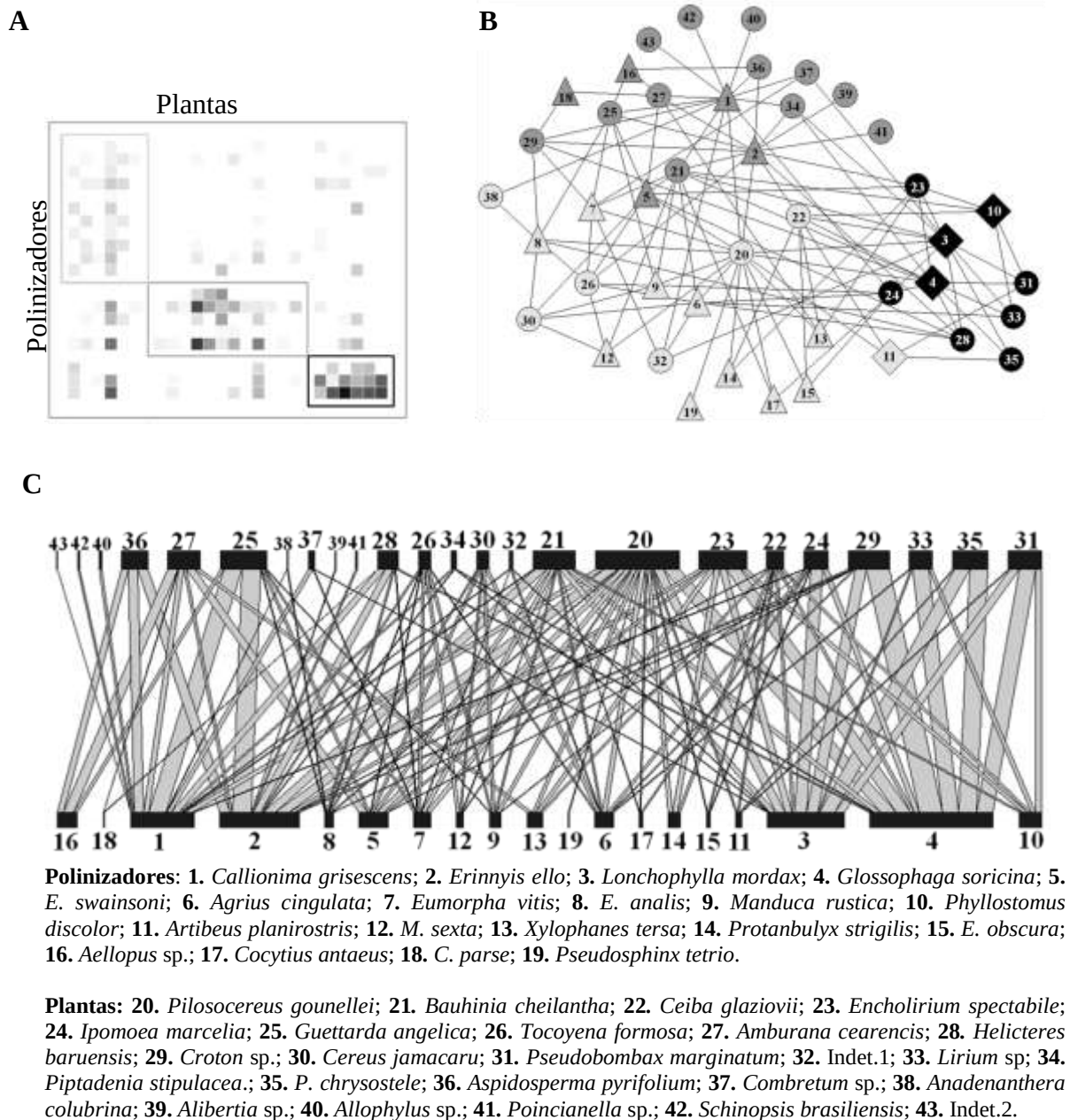


Figura 3. Modularidade da rede de interações plantas-polinizadores noturnos em uma área de Caatinga, Brasil. A) matriz e representações da rede de interações através de grafos, energizado (B) e bipartido (C) com os três módulos detectados. Em A, quanto mais escuro o preenchimento da célula da matriz maior a frequência de indivíduos registrados com pólen; em B nodos com mesmas cores pertencem ao mesmo módulo; e em C, retângulos superiores e inferiores representam plantas e animais, respectivamente, sendo o comprimento das linhas proporcional à intensidade de interações.

○ = plantas; △ = esfingídeos; ◇ = morcegos.

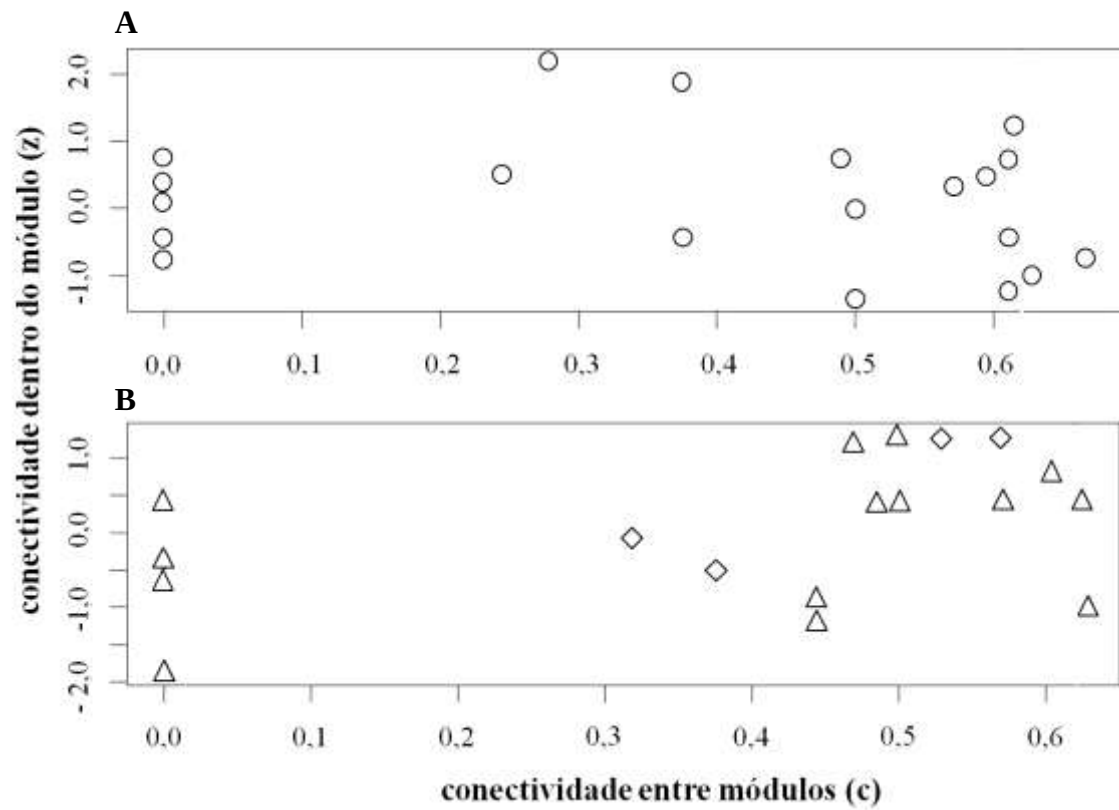


Figura 4. Conectividade dentro (valores de z) e entre (valores de c) módulos de plantas (A) e polinizadores (B) na rede de interações plantas-polinizadores noturnos em uma área de Caatinga, NE, Brasil. ○ = plantas; △ = esfingídeos; ◇ = morcegos.

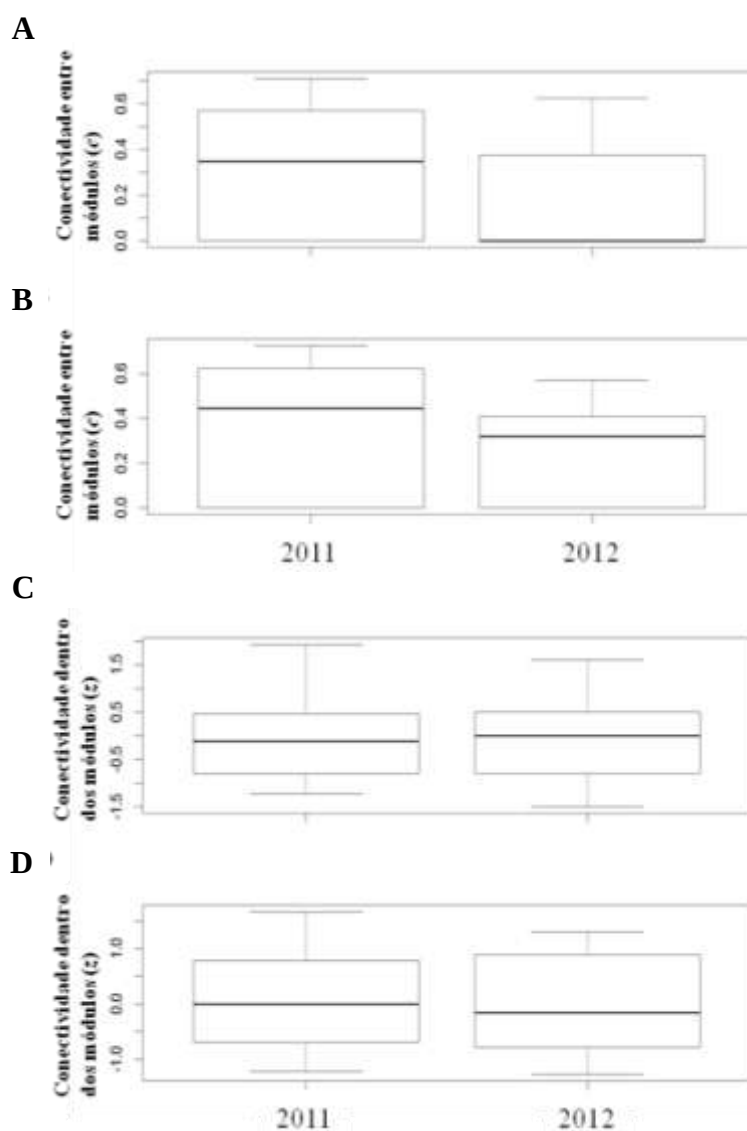


Figura 5. Variação temporal na conectividade intra e inter módulos da rede de interações plantas e polinizadores noturnos da Caatinga. A) e B) conectividade de plantas e polinizadores entre os módulos, C e D) conectividade de plantas e polinizadores dentro os módulos. Linhas horizontais, boxes e barras representam mediana, quantis e intervalo de confiança de 95%, respectivamente.

CAPÍTULO 2

Atributos florais e isolamento reprodutivo em dois taxa de *Ipomoea* que florescem e partilham polinizadores vertebrados

(Manuscrito publicado no periódico – AoPlants)

ORIGINAL ARTICLES

**Atributos florais e isolamento reprodutivo em dois taxa de *Ipomoea*
que florescem e partilham polinizadores vertebrados**

Joel Araújo Queiroz¹, Zelma Glebya Maciel Quirino², e Isabel Cristina Machado^{3,*}

¹*Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Botânica, CCB, Universidade Federal de Pernambuco, 50372-970, Recife, PE, Brazil;* ²*Departamento de Engenharia e Meio Ambiente, CCAE, Universidade Federal da Paraíba, Rio Tinto, PB, Brazil e* ³*Departamento de Botânica, CCB, Universidade Federal de Pernambuco, 50372-970, Recife, PE, Brasil*

** For correspondence. e-mail imachado@ufpe.br*

RESUMO

- *Contexto e objetivos* Espécies cujas flores são polinizadas por diferentes grupos de animais podem apresentar adaptações florais (morfometria, comprimento de antese, disponibilidade de néctar) mais relacionadas aos seus polinizadores mais efetivos. No presente trabalho foi investigado o sistema misto de polinização por morcegos e beija-flores em duas espécies de *Ipomoea* simpátricas e endêmicas de Caatinga e os fatores promotores de fluxo interespecífico de pólen nessas espécies.
- *Métodos* Foram analisadas comparativamente a duração de antese, comprimento e largura de corola, volume, concentração, mg de açúcar, duração e padrão de produção de néctar. Foram realizadas observações naturalísticas diurnas e noturnas (80 horas de observações) em plantas focais para identificar os visitantes florais e estimar a frequência de visitas. Foi realizada exposição seletiva de flores para determinar eficiência de polinização por morcegos e por beija-flores.
- *Resultados Principais* As flores das duas espécies de *Ipomoea* divergiram quanto a tamanho e largura de corola, horário de abertura e duração de antese e todos os atributos de néctar medidos. Foram registrados os mesmos visitantes diurnos e noturnos em ambas as espécies de *Ipomoea*. *Heliomaster squamosus* (Trochilidae) foi o único beija-flor visitante diurno, apresentando frequências discrepantes entre as duas espécies de plantas (*Ipomoea marcellia*: 1.90 visitas h⁻¹ e *I. aff. marcellia*: 0.57 visitas h⁻¹). Os visitantes noturnos foram principalmente os morcegos *Glossophaga soricina* e *Lonchophylla mordax* (Glossophaginae), os quais apresentaram frequência de visitas semelhantes em ambas *Ipomoea* (*I. marcellia*: 0.57 visitas h⁻¹ e *I. aff. marcellia*: 0.64 visitas h⁻¹).

¹). Polinização por morcegos foi mais eficiente para *I. aff. marcellia*, resultando significativamente em maior frequência de frutos e maior número semente/fruto que por beija-flores. Sendo observado o oposto para *I. marcellia*, havendo tendência de maior formação de frutos nas flores expostas a beija-flores que a morcegos.

- **Conclusões** A segregação nos atributos florais estudados entre as espécies de *Ipomoea* pode influenciar o papel ecológico de morcegos e de beija-flores, diminuindo a probabilidade de fluxo de pólen entre espécies e favorecendo a ocorrência das espécies. O sistema misto de polinização apresentado pelas espécies de *Ipomoea* maximiza o número de potenciais vetores de pólen e pode garantir sucesso reprodutivo mesmo sob condições de flutuações na disponibilidade de polinizadores, como se observa na Caatinga.

Palavras chave: Glossophaginae, Trochilidae polinização por vertebrados, partilha de polinizadores, quiropterofilia, sistemas mistos de polinização, traços florais

INTRODUÇÃO

Em certos ecossistemas tropicais, cerca de 98 - 99% das plantas com flores dependem de animais para reprodução sexuada (Bawa, 1990). A polinização por vertebrados, morcegos e beija-flores, principalmente, representa geralmente uma parcela pequena desse total quando comparada à polinização por insetos, com frequências variando entre 3 a 11% (Devy e Davidar, 2003; Kress e Beach, 1994; Oliveira e Gibbs, 2000), porém, podendo atingir, por exemplo, 28.1% em ecossistema de Caatinga no nordeste do Brasil (Machado e Lopes, 2004; Quirino e Machado, no prelo). Polinização por beija-flores é mais frequente que por morcegos, ocorrendo em cerca de 311 gêneros e 95 famílias de plantas (Schuchmann, 1999), enquanto que a quiropterofilia em cerca de 250 gêneros e 67 famílias de angiospermas (Fleming et al., 2009).

Espécies de plantas polinizadas por beija-flores ou por morcegos exibem conjuntos de atributos florais distintos sendo reunidas tradicionalmente em duas síndromes de polinização, ornitofilia e quiropterofilia, respectivamente (Faegri e Pijl, 1979; Proctor et al., 1996). Flores ornitófilas são diurnas, vermelhas, amarelas ou alaranjadas, não têm odor e com morfologia tubular (Faegri e Pijl, 1979). Enquanto flores quiropterófilas são noturnas, esverdeadas ou brancas, têm forte odor desagradável e morfologia variável (*e.g.* tubular, campanulada ou aberta tipo escova) (von Helversen, 1993; Tschapka e Dressler, 2002).

Entretanto, espécies que apresentam antese floral e disponibilidade de néctar que se antecipam ou se prolongam para além do período noturno (Muchhala et al., 2009; Amorim et al., 2013; Christianini et al., 2013) podem utilizar os serviços de polinização tanto de morcegos quanto de beija-flores. Sugerindo que apesar das divergências entre

ornitofilia e quiropterofilia, pode haver uma importante fronteira entre essas síndromes (Muchhala, 2003).

No presente trabalho foram analisados comparativamente atributos florais (*e.g.* morfometria, antese e néctar) e componentes quantitativos (*e.g.* frequência de visitas) e qualitativos (*e.g.* efetividade de polinização) de morcegos e beija-flores para duas espécies simpátricas de *Ipomoea* Linnaeus (Convolvulaceae). Esse gênero é predominantemente melitófilo (Gottsberger et al., 1988; Galetto e Bernardello, 2004; Pick e Schlindwein, 2011), sendo registrados poucos casos de polinização por aves (Machado e Sazima, 1987; Galetto e Bernardello, 2004) e raríssimos por morcegos (Fleming et al., 2009). As seguintes questões foram analisadas: (i) há divergências de morfometria floral (*e.g.*, comprimento e largura de corola); (ii) qual o horário de início e duração total de antese? (iii) o néctar difere entre as espécies? (iv) há disponibilidade diurna e noturna de néctar? (v) quais são os polinizadores das espécies de *Ipomoea*? (vi) qual a frequência de visitas e (vii) quais as taxas de formação de frutos e sementes por polinização por beija-flores e morcegos?

Uma vez que *Ipomoea marcellia* e *Ipomoea aff. marcellia* são simpátricas, florescem no mesmo período e apresentam os mesmos vetores de pólen (morcegos glossophagíneos e beija-flores) espera-se encontrar: (i) divergências em atributos florais, principalmente morfológicos e de antese, para minimizar transferência interespecífica de pólen entre as flores de *Ipomoea*. Como em espécies de plantas com sistemas mistos de polinização por morcegos e beija-flores, os pêlos desses mamíferos têm sido mais eficientes do que as penas das aves no transporte de pólen (Muchhala e Thomson, 2010) e os fenótipos florais tendem a evoluir em resposta a polinizadores mais eficientes (Stebbins, 1970), espera-se que: (ii) atributos florais (*e.g.*, comprimento e largura de corola) das duas espécies de *Ipomoea* sejam mais relacionados à

quiropterofilia; e que (iii) polinização por morcegos seja mais efetiva que por beija-flores nas duas espécies de *Ipomoea*.

MÉTODOS

Local de estudo e taxa de Ipomoea estudado

As atividades de campo foram realizadas entre julho e outubro de 2012, na Fazenda Almas (7°28'45"S e 36°54'18"W), uma reserva particular de 3,505 hectares situada em área semiárida do nordeste brasileiro. Essa área apresenta os menores índices pluviométricos do Brasil, ca 600mm/ano, e estações bem definidas, sendo a chuvosa concentrada nos primeiros três 3 meses do ano e a seca com duração de 6-9 meses, o que caracteriza um clima sazonal muito forte (Prado, 2003). A vegetação da área é arbustiva-arbórea, espinhosa, xerofítica e caducifólia (Rodal e Sampaio, 2002).

Ipomoea L. é um gênero de plantas com aproximadamente 650 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicais (Austin, 1998). Aproximadamente 140 espécies de *Ipomoea* são conhecidas no Brasil (Ferreira et al., 2013). Essas espécies podem ocorrer em diferentes tipos de vegetação, de vegetação seca de Caatinga a mais úmidas como na Amazônia (Paz et al., 2013). Este gênero é predominantemente melitófilo (Bullock et al., 1987; Gottsberger et al., 1988; Galetto e Bernardello 2004; Pick e Schlindwein 2001). Há apenas poucos casos de polinização por aves (Machado e Sazima 1987; Galetto e Bernardello 2004) e raros casos estudados de polinização por morcegos (Caballero-Martínez et al., 2012).

As *Ipomoea* selecionadas como modelos de estudo são trepadeiras que apresentam sobreposição de distribuição na Fazenda Almas. Elas sobrepõem seus períodos de floração, os quais ocorrem no final da estação chuvosa e início da seca, entre julho e outubro. Os indivíduos amostrados estavam distribuídos ao longo de

2.500m, frequentemente em áreas abertas, em trilhas e em bordas de afloramentos rochosos.

Não há informações sobre se ambas *Ipomoea* estudadas neste trabalho, tem sobreposição de distribuição em outras áreas, considerando-se que apenas um dos dois taxa aparece em listas florísticas identificada como *I. marcellia* (Buriel et al., 2013). O outro táxon não tem sido descrito ainda, ou tem sido identificado como *I. marcellia*, e poderia ser nova para a ciência. Aqui, esse táxon foi denominado como *Ipomoea* aff. *marcellia*, devido a sua similaridade como *I. marcellia*. Diferenças entre essas duas plantas, na morfologia floral e ecologia da polinização, que foram avaliadas neste estudo, justificam considerá-las como dois taxa separados. As flores de ambas *Ipomoea* são ‘cup-shaped’ (*sensu* Fleming et al., 2009), verde esbranquiçadas, e tem uma corola tubular. Elas são horizontalmente arrançadas em *I. marcellia*, e em uma posição voltada para cima, quase vertical, em *Ipomoea* aff. *marcellia* (Figura 1).

Morfometria e antese floral

As coletas foram conduzidas de julho a outubro de 2012, cobrindo um o período inteiro de floração das *Ipomoea* estudadas. Para investigar diferenças interespecíficas nos atributos florais entre as duas espécies de *Ipomoea* foram comparados dados de comprimento e diâmetro de tubo de corola e comprimentos de estilete e pistilo em flores (n = 20 flores/espécie) coletadas em indivíduos (n= 20 indivíduos/espécie) de populações de ambas as espécies. A antese nessas espécies foi acompanhada (n = 20 flores/espécie) através de registro dos horários de abertura das flores e de término de antese, para obter a duração total da antese. Para testar a receptividade do estigma (n = 20 flores/espécie) foi utilizado peróxido de hidrogênio (Zeisler, 1938), sendo realizados testes em flores de diferentes indivíduos e em diferentes horários ao longo da antese.

Néctar: volume, concentração e mg de açúcares

Foram verificados volume total (μl), concentração (%) e quantidade (mg) de açúcares no néctar (Galletto e Bernardello, 2005) em ambas as espécies de *Ipomoea*. Botões forais foram ensacados em fase de pré-antese, sendo as medições realizadas em distintos horários ao longo da antese floral, para *I. marcellia* entre 9:00h - 4:00h (n = 105 flores) e para *I. aff. marcellia* entre 16:00 - 7:00 h (n = 90 flores).

Experimentos de polinização

Para verificar o sistema reprodutivo das espécies de *Ipomoea* foram realizados testes de polinização controlados em campo (Radford et al., 1974). Botões em fase de pré-antese foram ensacados, sendo realizados os seguintes procedimentos após a abertura destes: autopolinização espontânea, sem qualquer transferência manual de pólen para o estigma; autopolinização manual, com transferência manual de pólen para o estigma da própria flor; polinização cruzada intraespecífica, com transferência manual de pólen entre flores de indivíduos geneticamente distintos e da mesma espécie; e polinização cruzada interespecífica, com transferência manual de pólen entre flores de indivíduos das duas espécies de *Ipomoea*.

Polinização por morcegos e beija-flores: número de visitas, frequência e eficiência

A identidade das espécies de polinizadores e a frequência de visita as flores de *Ipomoea* spp. foram determinadas através de observações naturalísticas diurnas e noturnas, realizadas em plantas focais de *I. marcellia* (n= 10 indivíduos) e *I. aff. marcellia* (n= 10 indivíduos). As observações foram realizadas em diferentes dias ao longo dos meses de floração, totalizando 30 horas (observação diurna = 13 horas; observação noturna = 17 horas) e 26.5 horas (observação diurna = 11 horas; observação noturna = 15.5 horas) para *I. marcellia* e *I. aff. marcellia*, respectivamente. Registros

fotográficos foram realizados para auxiliarem na identificação dos visitantes florais e na visualização dos locais de contato com anteras e estigma das flores nos animais.

As espécies de glossophagineos visitantes de flores de *Ipomoea* foram capturadas para identificação. Para as capturas foram utilizadas redes de neblina (quatro redes de 7 m x 2.5 m, Ecotone Inc., Spot, Poland) as quais foram posicionadas ao redor de indivíduos floridos, sendo as capturas realizadas durante intervalo de maior frequência de visitas de morcegos (18:00 h - 21:00 h), entre os meses de julho-outubro, totalizando 48 horas de captura para cada espécie. Os animais coletados foram identificados em campo com auxílio de fichas de identificação ou através de consultas a especialistas. Alguns exemplares foram sacrificados, com auxílio de câmara mortífera com éter, encontrando-se depositados na coleção de zoologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Para investigar divergências entre morcegos e beija-flores quanto a eficiência de polinização nas espécies de *Ipomoea*, foram realizados experimentos de exposição seletiva de flores a esses animais. A exposição diurna de flores variou segundo a duração de antese da espécie, para *I. marcellia* (n = 27 flores) foi realizada em intervalo único, 10:00 - 17:30 h, e para *I. aff. marcellia* (n = 33 flores) foi realizada em dois intervalos, entre 16:00 – 17:30 h e entre 5:00 – 7:30h, tais flores permaneciam ensacadas durante período noturno. A exposição noturna para *I. marcellia* (n = 21 flores) e para *I. aff. marcellia* (n = 27 flores) foi realizada no mesmo intervalo, entre 18:00 e 4:30 h. Após o intervalo de exposição as flores foram identificadas segundo o tipo de exposição, novamente ensacadas, sendo realizado acompanhamento para verificação de formação de frutos.

Análises estatísticas

Diferenças entre atributos de morfometria floral (p.ex. comprimento e largura de corola e comprimento de estames e pistilo) e de néctar (volume, concentração e mg de açúcar) entre as duas espécies de *Ipomoea* foram testadas com uma série de testes t. A frequência de formação de frutos nos diferentes tratamentos foi comparada usando teste G, com exceção dos tratamentos de exclusão seletiva de polinizadores em *I. aff. marcellia*, testada através de estatística qui-quadrada. Comparações do número de sementes formadas nos tratamentos de polinização controlados e nos experimentos de exclusão seletivas de visitantes diurnos e noturnos foram realizadas com o teste Kruskal-Wallis, seguido por teste *a posteriori* de Dunn. Os dados foram analisados quanto a normalidade e homocedasticidade de variâncias quando era necessário. Todos os testes seguiram Sokal e Rohlf (1995).

RESULTADOS

Morfometria e antese floral

As flores das duas espécies de *Ipomoea* são verde-amareladas a esbranquiçadas, com estruturas reprodutivas apresentando a mesma coloração da corola (Fig. 1). As flores de *I. aff. marcellia* apresentaram dimensões de corola e de estames e pistilo inferiores as de *I. marcellia*. Essas medidas foram estatisticamente distintas entre as duas espécies (tabela 1). Além das maiores dimensões apresentadas pelas flores de *I. marcellia* a borda da corola nessa espécie é mais intensamente dobrada se comparada a *I. aff. marcellia*, permitido maior exposição de anteras e estigma e possivelmente deposição diferencial de pólen no corpo de polinizadores (Fig 1).

A duração total de antese e principalmente o horário de abertura das flores diferiram em ambas as espécies. As flores de *I. aff. marcellia* começaram a abrir aproximadamente às 16:00 h, apresentando duração total de antese de 16 horas. A

antese de *I. marcellia* iniciou-se ainda durante a primeira parte do dia, entre 9:00 h e 10:00 h, tendo uma duração total de cerca de 20 horas. Em ambas as espécies observou-se receptividade estigmática durante todo o período de antese.

Néctar: volume, concentração e mg de açúcares

A produção de néctar foi contínua e teve início no momento de abertura das flores, para *I. marcellia* as 9:00-10:00 h e para *I. aff. marcellia* as 16:00 h, com declínio de produção de néctar às 4:00 h e as 7:00 h, respectivamente (Fig. 2). O volume e a quantidade total de açúcar no néctar de *I. aff. marcellia* ($117.40 \pm 15.55\mu\text{l}$; $55.90 \pm 14.97\text{mg}$) foram significativamente maiores que os valores encontrados em *I. marcellia* ($74.70 \pm 18.88\mu\text{l}$ e $23.48 \pm 9.44\text{mg}$). A concentração média de açúcares no néctar também foi significativamente diferente entre as espécies de *Ipomoea*, sendo registrada maior concentração de açúcares no néctar em *I. aff. marcellia* ($36.44 \pm 2.15\%$) quando comparado com *I. marcellia* ($32.95 \pm 1.89\%$) (tabela 1).

Experimentos de polinização

As duas espécies de *Ipomoea* estudadas são xenogâmicas obrigatórias (*sensu* Cruden 1977): sendo observada formação de frutos e sementes exclusivamente nos tratamentos de polinização cruzada manual (tabela 2). Entretanto, apesar da maior produção de frutos e sementes na polinização cruzada intrataxa que em intertaxa em *I. marcellia* ($Z=1.1$; $gl=1$; $P>0.05$) e em *I. aff. marcellia* ($Z=2.14$; $gl=1$; $P>0.05$), essas diferenças não foram estatisticamente significativas. Produção natural de sementes, em ambas *Ipomoea*, ambos os tratamentos de xenogamia (intra e interespecíficos) ter havido formação de frutos e sementes, observou-se maior frequência de frutos formados nos tratamentos de polinização cruzada intraespecíficos (tabela 2).

Polinização por morcegos e beija-flores: número de visitas, frequência e eficiência

As duas espécies de *Ipomoea* compartilharam as mesmas espécies de polinizadores diurnos e noturnos (Fig. 3 e 4). *Heliomaster squamosus* (Família Trochilidae) foi o único visitante diurno registrado em ambas as espécies de plantas (Fig. 3). Para *Ipomoea marcellia*, *Heliomaster squamosus* foi observado acessando suas flores durante maior intervalo de tempo (entre 9:00 - 17:30 h), sendo registradas 42 visitas totais ($1.90 \text{ visitas h}^{-1}$) e deposição de pólen na testa (Fig. 3 A e B) e no pescoço (Fig. 3 C e D). As visitas de *H. squamosus* em flores de *I. aff. marcellia* ocorreram em dois intervalos (17:00 – 17:30 h e 5:30 – 7:30 h). Foram registradas 11 visitas durante todo o período de observação, ($0.57 \text{ visitas h}^{-1}$) e deposição de pólen exclusivamente no pescoço do beija-flor (Fig. 3 E e F).

Os principais visitantes noturnos foram os morcegos *Glossophaga soricina* e *Lonchophylla mordax* (Subfamília: Glossophaginae). Visitas de esfingídeos foram ocasionais, sendo registradas uma visita de *Agrius cingulata* para ambas *Ipomoea*. As visitas de morcegos às flores foram concentradas entre 18:00 - 20:00 h: a) para *I. marcellia*, foram registradas 11 visitas totais ($0.57 \text{ visitas h}^{-1}$) e deposição de pólen na região distal do pescoço e início de peitoral (Fig. 4 A e B), e b) para *Ipomoea aff. marcellia*, 12 visitas ($0.64 \text{ visitas h}^{-1}$) e deposições de pólen no pescoço e na face (Fig. 4 C e D). Foram coletados 13 espécimes de morcegos com pólen de *Ipomoea*, *L. mordax* (oito indivíduos) e *G. soricina* (cinco indivíduos). A carga polínica encontrada em 100% dos morcegos analisados era uma mistura de pólen de *Ipomoea* com pólen de outras plantas que estavam floridas. Entre essas plantas estavam *Pilosocereus chrysostele* (Cactaceae), *Pseudobombax marginatum* (Bombacaceae) e *Encholirium spectabile* (Bromeliaceae).

Em *I. aff. marcellia*, a polinização por morcegos resultou em maior frequência de formação de frutos do que na polinização por beija-flores ($G = 5.47$; $df = 1$; $P = 0.01$). O número médio de sementes por fruto em *I. aff. marcellia* na polinização natural não diferiu de polinização por morcegos ($Z = 1.80$; $df = 1$; $P < 0.05$) ou por beija-flores ($Z = 1.91$; $df = 1$; $P < 0.05$). Entretanto, a produção de sementes foi maior na polinização por morcegos quando comparadas com polinização por beija-flores neste táxon ($Z = 3.19$; $df = 1$; $P < 0.05$). Embora não tenhamos observado diferenças significativas entre polinização por morcegos e beija-flores em termos de produção de frutos em *I. marcellia* ($G = 2.53$; $df = 1$; $P > 0.05$), em termos de produção de sementes, polinização por beija-flores foi mais efetiva e significativamente diferiu de polinização por morcegos ($Z = 3.00$; $df = 1$; $P < 0.05$). Adicionalmente, o número de sementes por fruto em *I. marcellia* no tratamento de polinização natural não diferiu daqueles encontrados na polinização por morcegos ($Z = 2.07$; $df = 1$; $P > 0.05$) ou beija-flores ($Z = 1.59$; $df = 1$; $P > 0.05$).

DISCUSSÃO

No presente trabalho, foi descrito dois casos de partilha de polinização por vertebrados (morcegos e beija-flores) em *Ipomoea*. Polinização por vertebrados tem sido reportada para o gênero (veja McDonald *et al.*, 2011). Entretanto, *Ipomoea* consiste em um grupo polinizado predominantemente por insetos (Galletto *et al.*, 2002; Galletto e Bernardello 2004; McDonald *et al.*, 2011). Embora, a polinização por morcegos tenha sido sugerida para *I. albivenia*, *I. ampullacea*, *I. arborescens* e *I. neei* (Dobat e Peikert-Holle 1985; Fleming *et al.*, 2009), tem sido raramente confirmada por observações diretas (Sánchez e Medellín 2007; Caballero-Martínez *et al.*, 2012).

Se os sistemas de polinização são conceituados como um *continuum*, poderíamos ter de um lado sistemas muito especializados, tais como em flores tubulares

longas de *Centropogon nigricans* polinizadas por uma única espécie de morcego (Muchhala 2006b), e noutro lado, sistemas generalistas com espécies de plantas e seus numerosos visitantes florais (Johnson e Steiner 2000; Fenster et al., 2004; Maldonado et al., 2013; Avila et al., 2015). Neste *continuum*, o sistema de polinização morcegos–beija-flores poderia estar mais próximo àqueles mais especializados. Alguns sistemas de polinização morcego-beija-flores tem sido considerados como mais generalizados (Muchhala et al., 2009) ou intermediários entre ornitofilia e quiropterofilia (Sazima et al., 1994). Aponhamos o último ponto de vista, uma vez que as *Ipomoea* estudadas tiveram, em geral, um conjunto de atributos florais (e.g. ‘*cup-shaped*’ ou forma de taça, verde-esbranquiçadas e flores acessíveis, antese e néctar de dia e de noite) que favorecem a polinização por apenas dois grupos de vertebrados, morcegos e beija-flores.

A coloração verde esbranquiçada das flores das taxa de *Ipomoea* não é uma coloração tipicamente ornitófila, mas mais associada com a quiropterofilia (Faegri e van der Pijl 1979; Tschapka e Dressler 2002; Willmer 2011). Entretanto, similarmente, ao que foi observado para flores de *Burmeistera* (Muchhala 2006a), não isso não impede a visita de beija-flores. Outro fator, disponibilidade de nectar durante o dia e a noite, também favorece polinização por morcegos e beija-flores (Sazima et al., 1994; Muchhala et al., 2009; Christianini et al., 2013). Esse tipo de sistema de polinização tem um elevado custo energético, tanto morcegos quanto beija-flores mostram elevadas taxas metabólicas, devido ao tamanho e ao vôo pairado (Nicolson e Fleming 2003; Tschapka 2004). De fato, a concentração de néctardas das *Ipomoea* estudadas foi mais elevada do que o que é descrito para plantas quiropterófilas (2–29 %; von Helversen 1993; Fleming et al., 2009) e ornitófilas (15–25 %; Hainsworth e Wolf 1972; Baker 1975; Baker e Baker 1983; Proctor et al., 1996).

Os valores elevados de concentração e quantidade de açúcares no néctar das flores das duas espécies de *Ipomoea* estudadas no presente trabalho, podem indicar condição relacionada à melitofilia, que é o tipo de polinização predominante (Gottsberger et al., 1988; Davalt e Thien, 1989, Jaramilho e Bullock, 2002; Galetto e Bernardello 2004; Pick e Schlindwein, 2011) e provavelmente basal no gênero *Ipomoea*. No entanto, como há poucos dados de néctar para espécies de *Ipomoea*, relacionar néctar com tipo de polinizador nessas plantas, ainda é meramente especulativo, sendo necessários acúmulos de mais dados para diferentes espécies de *Ipomoea* para que generalizações mais seguras possam ser feitas (Galetto e Bernardello, 2004).

As divergências registradas na largura e comprimento de corola e comprimentos de estames e estigma entre as duas flores de *Ipomoea* podem resultar em deposição diferenciada de pólen no corpo dos visitantes, e, desse modo, em divergências nos serviços de polinização de morcegos e beija-flores. Comumente, em sistemas mistos de polinização, morcegos e beija-flores apresentam componentes quantitativos (*i.e.*, taxa de visitas) e qualitativos (*i.e.* eficiência na transferência de pólen) divergentes (Muchhala et al., 2007). Além disso, nesses sistemas mistos, a exemplo do encontrado em espécies de *Burmeistera* (Campanulaceae) (Muchhala, 2003) e *Encholirium* (Bromeliaceae) (Christianini et al., 2013), flores mais largas são mais ajustadas a morcegos que a beija-flores. Muchalla e Thomson (2010) demonstraram experimentalmente *trade off* adaptativo entre flores de *Burmeistera* e seus polinizadores, sendo observado que com o aumento da largura da corola, há aumento de eficiência na transferência de pólen por morcegos e diminuição por beija-flores, com tendência oposta quando há diminuição da largura da corola.

No entanto, polinização por *Heliomaster squamosus* (Trochilidae) resultou em maior formação de frutos e sementes do que por morcegos glossophagíneos nas flores mais largas de *Ipomoea marcellia*, sendo observado o oposto para as flores mais estreitas de *I. aff. marcellia*. O que pode ser devido às flores de *I. marcellia* apresentarem início de antese no período da manhã, comprimento de antese diurno maior que noturno e taxa de visitas de beija-flores aproximadamente três vezes maior que de morcegos. No entanto, a deposição de pólen no pescoço de *H. squamosus*, deve diminuir sua eficiência de polinização, uma vez que nesse tipo de deposição de pólen não ocorre praticamente transferência para o estigma das flores. Essa diminuição na eficiência do polinizador principal torna a polinização complementar por glossophagíneos em *I. marcellia* ainda mais importante e favorece a ocorrência de sistema misto de polinização (Muchhala et al., 2009).

Por outro lado, apesar das flores de *I. aff. marcellia* terem apresentado comprimento de antese noturna maior que diurna, as taxas de visitas de glossophagíneos e *Heliomaster squamosus* foram semelhantes, o que indica que para essa espécie de *Ipomoea* polinização por morcegos é mais adequada, uma vez que gera taxa de formação de frutos duas vezes maior que por beija-flores e significativamente maior número de sementes/fruto. O que indica que essa flor está mais relacionada à polinização por morcegos e corrobora com o postulado por Stebbins (1970) que sugere que o fenótipo floral de uma planta deve estar mais relacionado ao polinizador principal.

Outros trabalhos têm investigado sistemas de polinização mistos envolvendo morcegos e beija-flores e plantas como: *Siphocampylus sulfureus* (Campanulaceae) (Sazima e Buzato, 1994), *Abutilon* (Malvaceae) (Buzato et al., 1994), *Burmeistera* (Muchhala, 2003), *Aphelandra acanthus* (Acanthaceae) (Muchhala et al., 2009) e mais recentemente espécies de *Encholirium* (Christianini et al., 2013; Queiroz et al.,

submetido, capítulo 3 desta Tese). Tais sistemas têm sido interpretados como casos de transição de ornitofilia à quiropterofilia (Buzato *et al.*, 1994; Sazima *et al.*, 1994) ou como sistemas generalistas que já representam uma condição evolutiva final (Muchhala, 2003).

A versatilidade de determinadas espécies de plantas para explorar serviços de polinização de morcegos e de beija-flores, garantindo maior número de potenciais vetores de pólen e possivelmente maior sucesso reprodutivo, pode ser altamente favorável em ambientes onde há flutuações na disponibilidade de polinizadores. Uma vez que as espécies de *Ipomoea* estudadas florescem durante o período de seca na Caatinga, caracterizado por menor disponibilidade de polinizadores (Aguiar *et al.*, 1997; Duarte e Schlindwein, 2005), o sistema misto de polinização por morcegos e beija-flores parece ser a estratégia de polinização mais adequada.

CONCLUSÕES

As *Ipomoea* estudadas apresentaram mesmo período de floração, ocorreram simultaneamente em machas vegetacionais mistas, partilharam os mesmos vertebrados polinizadores e formaram frutos e sementes em cruzamentos intertaxa. Entretanto, nós consideramos que alguns desses fatores poderiam minimizar o fluxo de pólen entre taxa e, conseqüentemente, favorecendo seu isolamento reprodutivo, como, variações na morfologia e morfometria floral, orientação floral, diferenças na antese e deposição de pólen em diferentes locais do corpo do polinizador, tanto em morcegos (*I. marcellia*: peito/*I. aff. marcellia*: queixo e garganta) e beija-flores (*I. marcellia*: garganta e testa /*I. aff. marcellia*: queixo). Embora se tenha classificado as *Ipomoea* desse estudo em um sistema de polinização por morcegos e beija-flores, estas plantas parecem apresentar diferentes graus de especialização: os atributos florais de *I. aff. marcellia* são mais consistentes com quiropterofilia, o que poderia explicar a maior efetividade de

morcegos na polinização desse táxon, e a maior parte dos atributos de *I. marcellia*, como suas flores mais largas e comprimento de antese maior, não parecem restringir beija-flores ou morcegos. Talvez, *I. aff. marcellia* possa ser comparativamente mais especialista do que *I. marcellia*.

LITERATURA CITADA

- Aguiar CML, Martins CF. 1997.** Relative abundance, diversity and bees phenology (Hymenoptera, Apoidea) at caatinga, São João do Cariri, Paraíba, Brazil. *Iheringia* **83**: 151-163.
- Amorim FW, Galetto L, Sazima M. 2013.** Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). *Plant Biology* **15**: 317-327.
- Austin, DF. 1998.** Convolvulaceae. Morning Glory family. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science* **30**: 61-83.
- Avila R, Pinheiro M, Sazima M. 2015.** The generalist *Inga subnuda* subsp. *luschnathiana* (Fabaceae): negative effect of floral visitors on reproductive success? *Plant Biology* **17**: 728–733.
- Barbosa MRV. 2008.** Estudos ecológicos de longa duração na Caatinga: uma adaptação da metodologia Peld para o semi-árido. In: Loiola MIB, Baseia IG, Lichston JE (eds) Atualidades, desafios e perspectivas da botânica no Brasil, Natal, 175.
- Bawa, K. S. 1990.** Plant–pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual Review of Ecology and Systematics* **21**: 399–422.
- Baker HG. 1975.** Sugar concentration in nectars from hummingbird flowers. *Biotropica* **7**: 37-41.

Baker HG, Baker I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type.

In: Jones CE, Little RJ (eds) Handbook of experimental pollination biology, Van Nostrand Reinhold, New York, 117-141.

Bullock SH, Ayala R, Baker I, Baker HG. 1987. Reproductive biology of the tree *Ipomoea wolcottiana* (Convolvulaceae). *Madrono* **34**: 304–314.

Buril MT, Delgado G, Barbosa MRV, Alves M. 2013. Convolvulaceae do cariri paraibano, PB, Brasil. *Revista Nordestina de Biologia* **21**: 3–26.

Buzato S, Sazima M, Sazima I. 1994. Pollination of three species of *Abutilon* (Malvaceae) intermediate between bat and hummingbird flower syndromes. *Flora* **189**: 327-334.

Caballero-Martínez LA, Aguilera-Gómez LI, Rivas-Manzano IV, Aguilar-Ortigoza CJ, Lamus-Molina V. 2012. Biología floral y polinización de *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. (Convolvulaceae) en Ixtapan del Oro, Estado de México (México). *Anales de Biología* **43**: 65–76.

Christianini AV, Forzza RC, Buzato S. 2013. Divergence on floral traits and vertebrate pollinators of two endemic *Encholirium* bromeliads. *Plant Biology* **15**: 360-368.

Cruden RW. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* **31**:32–46.

Dobat K, Peikert-Holle T. 1985. Blüten und Fledermause. Frankfurt: Waldemar Kramer Verlag.

- Devy MS, Davidar P. 2003.** Pollination systems of trees in Kakachi - a mid-elevation wet evergreen forest in Western Ghats, India. *American Journal of Botany* **90**: 650-657.
- Duarte JA, Schlindwein C. 2005.** The highly seasonal hawkmoth fauna (Lepidoptera, Sphingidae) of the caatinga of northeast Brazil: a case study in the state of rio grande do norte. *Journal of the Lepidopterist Society* **59**: 212-218.
- Faegri K, van der Pijl L. 1979.** The principles of pollination ecology. Pergamon Press, London.
- Ferreira PPA, Simão-Bianchini R, Miotto STS. 2013.** Three new species of Convolvulaceae Juss. from South America. *Phytotaxa*: 135: 27-34.
- Fleming TH, Geiselman C, Kress WJ. 2009.** The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany* **104**: 1017-1043.
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, Dudash MR, Thomson JD. 2004.** Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **35**:375–403.
- Galetto L, Bernardello G. 2004.** Floral nectaries, nectar production dynamics and chemical composition in six Ipomoea species (Convolvulaceae) in relation to pollinators. *Annals of Botany* **94**: 269–280.
- Galetto L, Bernardello G. 2005.** Rewards in flowers: nectar. In: Dafni A, Kevan PG, Husband BC (eds) *Practical Pollination Biology*, Cambridge, Ontario, pp 261-312.
- Gottsberger G, Camargo JMF, Silberbauer-Gottsberger I. 1988.** A bee-pollinated tropical community: the beach dune vegetation of Ilha de São Luis, Maranhão, Brasil. *Botanische Jahrbuecher fuer Systematik* **109**: 469-500.

- von Helversen O. 1993.** Adaptations of flowers to the pollination by glossophagine bats. In: Barthlott W, Naumann CM, Schmidt-Loske K, Schuchmann KL, eds. Animal–plant interactions in tropical environments. Bonn: Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, 41–59.
- Hainsworth FR, Wolf LL. 1972.** Crop volume, nectar concentration and hummingbird energetics. *Comp Biochem Phys* 42:359-366.
- Jaramilho AC, Bullock SH. 2002.** Sistema reproductivo de doce species de *Ipomoea* (Convolvulaceae). In: Noguera FA, Vega Rivera JH, García Aldrete AN, Quesada AM (eds) Historia de Camela, Instituto de Biología, UNAM, México. pp. 137-142.
- Johnson SD, Steiner KE. 2000.** Generalization *versus* specialization in plant pollination systems. *Trends in Ecology & Evolution* 15: 140–143.
- Kress W, Beach JH. 1994.** Flowering plant reproductive systems. In: McDade L.A, Bawa KS, Hespeneide HA, Hartshorn GS (eds), La Selva: ecology and natural history of neotropical rain forest. University of Chicago Press, Chicago, IL, USA, pp 161–182.
- Machado IC, Lopes AV. 2004.** Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a brazilian tropical dry forest. *Annals of Botany* 94: 365-376.
- Machado CS, Sazima M. 1987.** Estudo comparativo da biologia floral em duas espécies invasoras: *Ipomoea hederifolia* e *I. quamoclit* (Convolvulaceae). *Revista Brasileira de Biologia* 47: 425–436.
- Maldonado MB, Lomáscolo SB, Vázquez DP. 2013.** The importance of pollinator generalization and abundance for the reproductive success of a generalist plant. *PLoS ONE* 8:e75482.

- Muchhala N. 2003.** Exploring the boundary between pollination syndromes: bats and hummingbirds as pollinators of *Burmeistera cyclostigmata* and *B. tenuiflora* (Campanulaceae). *Oecologia* **134**: 373-380.
- Muchhala N. 2006a.** The pollination biology of *Burmeistera* (Campanulaceae): specialization and syndromes. *American Journal of Botany* **93**: 1081–1089.
- Muchhala N. 2006b.** Nectar bat stows huge tongue in its rib cage. *Nature* **444**:701–702.
- Muchhala N. 2007.** Adaptive trade-off in floral morphology mediates specialization for flowers pollinated by bats and hummingbirds. *American Naturalist* **169**: 494–504.
- Muchhala N, Caiza A, Vizuite JC, Thomsom JD. 2009.** A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*. *Annals of Botany* **103**: 1481-1487.
- Muchhala N, Thomson JD. 2010.** Fur versus feathers: pollen delivery by bats and hummingbirds and consequences for pollen production. *American Naturalist* **175**: 717–726.
- Nicolson SW, Fleming PA. 2003.** Nectar as food for birds: the physiological consequences of drinking dilute sugar solutions. *Plant Systematics and Evolution* **238**:139–153.
- Oliveira PE, Gibbs PE. 2000.** Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of central Brazil. *Flora* **195**: 311-329.
- Paz, JRL, Gimenes M, Pigozzo CM. 2013.**Three diurnal patterns of anthesis in *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* (Convolvulaceae): Implications for temporal, behavioral and morphological characteristics of pollinators? *Flora* **208**: 138-146.
- Pick RA, Schlindwein C. 2011.** Pollen partitioning of three species of Convolvulaceae among oligolectic bees in the Caatinga of Brazil. *Plant Systematics and Evolution* **293**: 147–159.

- Prado DE. 2003.** As Caatingas da América do Sul. In: Leal IR, Tabarelli M, Silva JMC (eds) *Ecologia e Conservação da Caatinga*, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, pp 3-73.
- Proctor M, Yeo P, Lack A. 1996.** The natural history of pollination. Harper Collins Publishers, London.
- Quirino ZGM, Machado IC. 2014.** Pollination syndromes and seasonal availability of floral resources in a Caatinga plant community in northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* (in prelo).
- Radford AE, Dickinson WCJ, Massey R, Bell CR. 1974.** Vascular plant systematic. Harper & How publishers, New York.
- Rodal MJN, Sampaio EVSB. 2002.** A vegetação do bioma Caatinga. In: Sampaio EVSB, Giuliatti AM, Virgínio J, Rojas CFLG (eds) *Vegetação e flora da Caatinga*, Recife, pp 11-24.
- Sánchez R, Medellín RA. 2007.** Food habits of the threatened bat *Leptonycteris nivalis* (Chiroptera: Phyllostomidae) in a mating roost in Mexico. *Journal of Natural History* **41**:1753–1764.
- Sazima M, Buzato S. 1994.** Nectar by day and night: *Siphocampylus sulfureus* (Lobeliaceae) pollinated by hummingbirds and bats. *Plant Systematics and Evolution* **191**: 237-246.
- Schuchmann KL. 1999.** Family Trochilidae (hummingbirds). Handbook of the birds of the world, vol. 5, Lynx Editions, Barcelona, pp. 468–680.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1995.** Biometry. WH Freeman & Co., New York, NY, USA, pp. 887.

- Souza VC, Lorenzi H. 2008.** Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- Stebbins GL. 1970.** Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. I. Pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics* **1**: 307–326.
- Tschapka M. 2004.** Energy density patterns of nectar resources permit coexistence within a guild of Neotropical flower-visiting bats. *Journal of Zoology* **263**:7–21.
- Tschapka M, Dressler S. 2002.** Chiropterophily: on bat-flowers and flower-bats. *Curtis's Botanical Magazine* **19**: 114-125.
- von Helversen O. 1993.** Adaptations of flowers to the pollination by glossophagine bats. In: Barthlott W, Naumann CM, Schmidt-Loske K, Schuchmann KL (eds) *Animal–plant interactions in tropical environments*, Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn, pp 41–59.
- Willmer P. 2011.** Pollination and floral ecology. Princeton: Princeton University Press.
- Zeisler M. 1938.** Über die Abgrenzung der eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. *Beiheft Botanisches Zentralblatt* **58**: 308-318.

Tabela 1. *Atributos florais (mm) e de néctar de duas espécies de Ipomoea simpátricas e endêmicas de Caatinga, Nordeste, Brasil.*

Atributos	n	<i>Ipomoea marcellia</i>	<i>Ipomoea aff. marcellia</i>	Comparações
Comprimento de tubo floral	30	57.52±5.99	46.05±3.36	t=4.85; <i>P</i> <0.001
Largura de tubo floral	30	22.73±3.37	18.42±2.16	t=5.05; <i>P</i> <0.0001
Comprimento de estame	30	55.45±6.54	45.50±2.63	t=8.72; <i>P</i> <0.0000001
Comprimento de estigma	30	55.94±5.78	42.33±2.31	t=10.38; <i>P</i> <0.00000001
Volume de néctar (µl)	30	74.70±18.88	117.40±15.55	t=-8.29; <i>P</i> <0.00001
Concentração do nectar (%)	30	32.95±1.89	36.44±2.15	t=-6.73; <i>P</i> <0.00001
Total de açúcar no néctar (mg)	20	23.48±9.44	55.90±14.97	t=8.19; <i>P</i> <0.000001

Tabela 2. Formação de frutos e sementes em duas espécies de *Ipomoea* sob diferentes condições de polinização em uma área de Caatinga, Brasil.

Tratamento	<i>Ipomoea marcellia</i>			<i>Ipomoea aff. marcellia</i>		
	n	Frutos (%)	Sementes/fruto*	n	Frutos (%)	Sementes/fruto*
Autopolinização espontânea	44	0 (0)	0 (0)	30	0 (0)	0 (0)
Autopolinização manual	20	0 (0)	0 (0)	15	0 (0)	0 (0)
Polinização cruzada (intraespecífica)	19	12 (63.15) ^a	2.72 ± 1.19 ^{bc}	22	6 (27,27) ^d	3.5± 0.54 ^{ef}
Polinização cruzada (interespecífica)	11	4 (36.36) ^a	2.66 ± 1.63 ^{bc}	16	2 (12.5) ^d	2.0±1.41 ^{ef}
Polinização natural	-	-	2.88 ± 0.76 ^{bc}	-	-	3.26±0.45 ^{ef}
Polinização por morcegos	21	2 (9.52) ^a	2.00 ± 0.0 ^b	27	12 (44.44) ^d	3.77±0.44 ^f
Polinização por beija-flores	27	9 (33.33) ^a	3.57 ± 0.78 ^c	33	6 (18.18) ^d	2.50 ± 0.54 ^e

Valores dentro da mesma coluna seguidos de mesmo símbolo não são estatisticamente diferentes (p<0.05); - = valores não amostrados; *= média ± s.d.

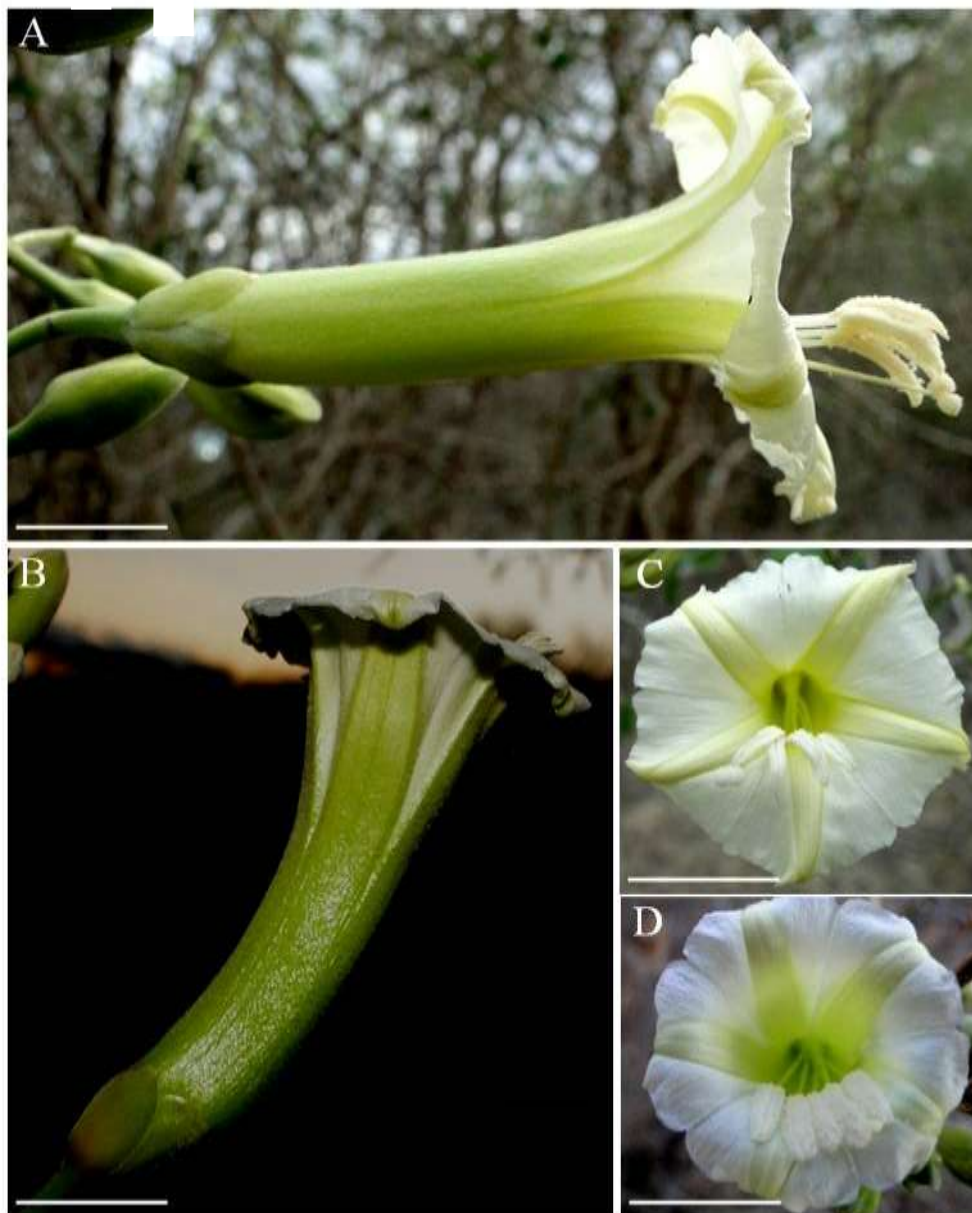


Fig. 1. Arranjos florais divergentes em duas *Ipomoea* (Convolvulaceae) na Caaatinga, nordeste do Brasil. As flores de *I. marcellia* são arranjadas horizontalmente (A); e as flores de *Ipomoea* aff. *marcellia* são arranjadas verticalmente (B); vista frontal da abertura da corola e arranjos de anteras e estigma em *I. marcellia* (C); e de *Ipomoea* aff. *marcellia* (D). Escalas: A, B, C e D = 1 cm.

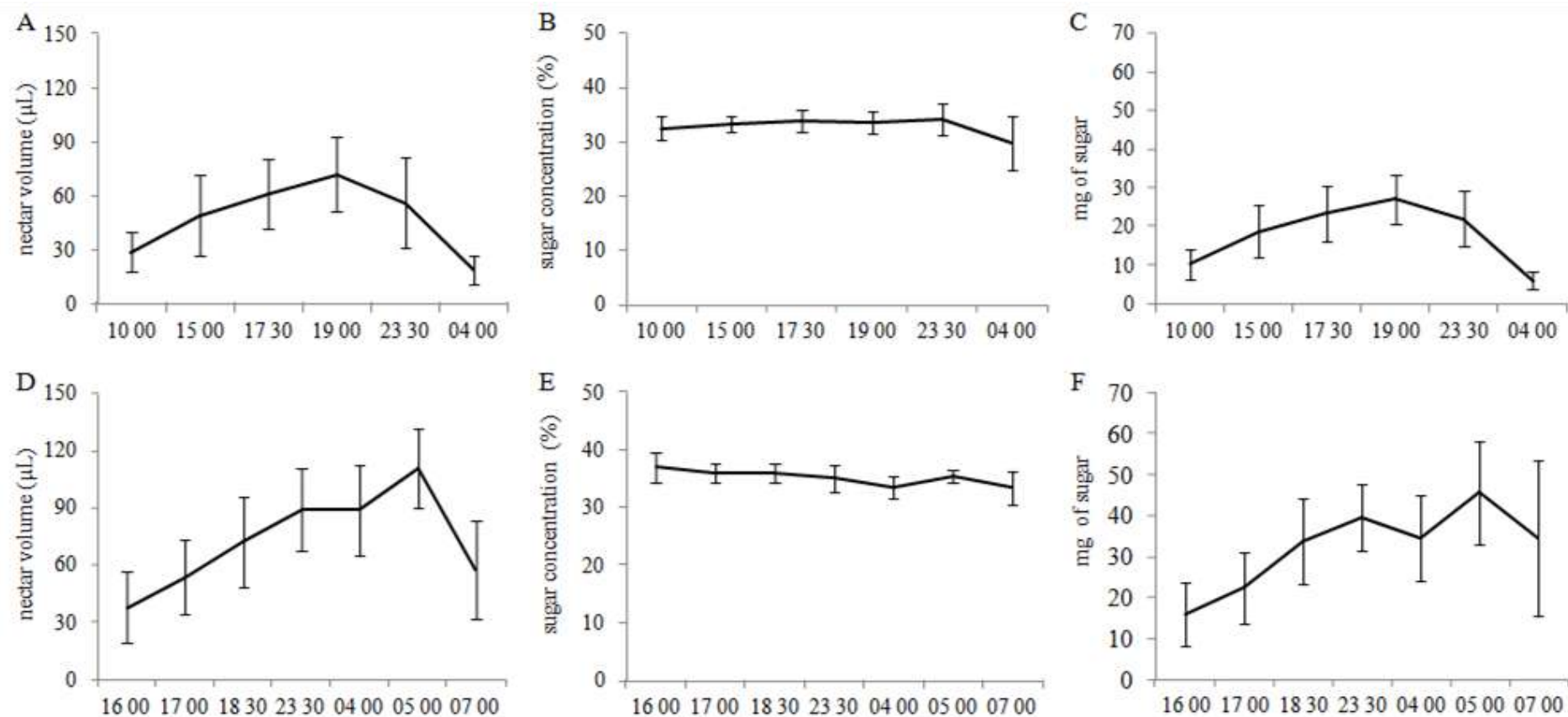


Fig. 2. Característica do néctar em períodos diurnos e noturnos da antese em flores de duas *Ipomoea* L. simpátricas, em área de Caatinga, nordeste do Brasil. A) volume, B) concentração e C) mg de açúcar em flores de *I. marcellia*.; e D) volume, E) concentração e F) mg de açúcar em *I. aff. marcellia*. Linhas horizontais correspondem as medias de cada horário de medição e barras verticais ao desvio padrão.

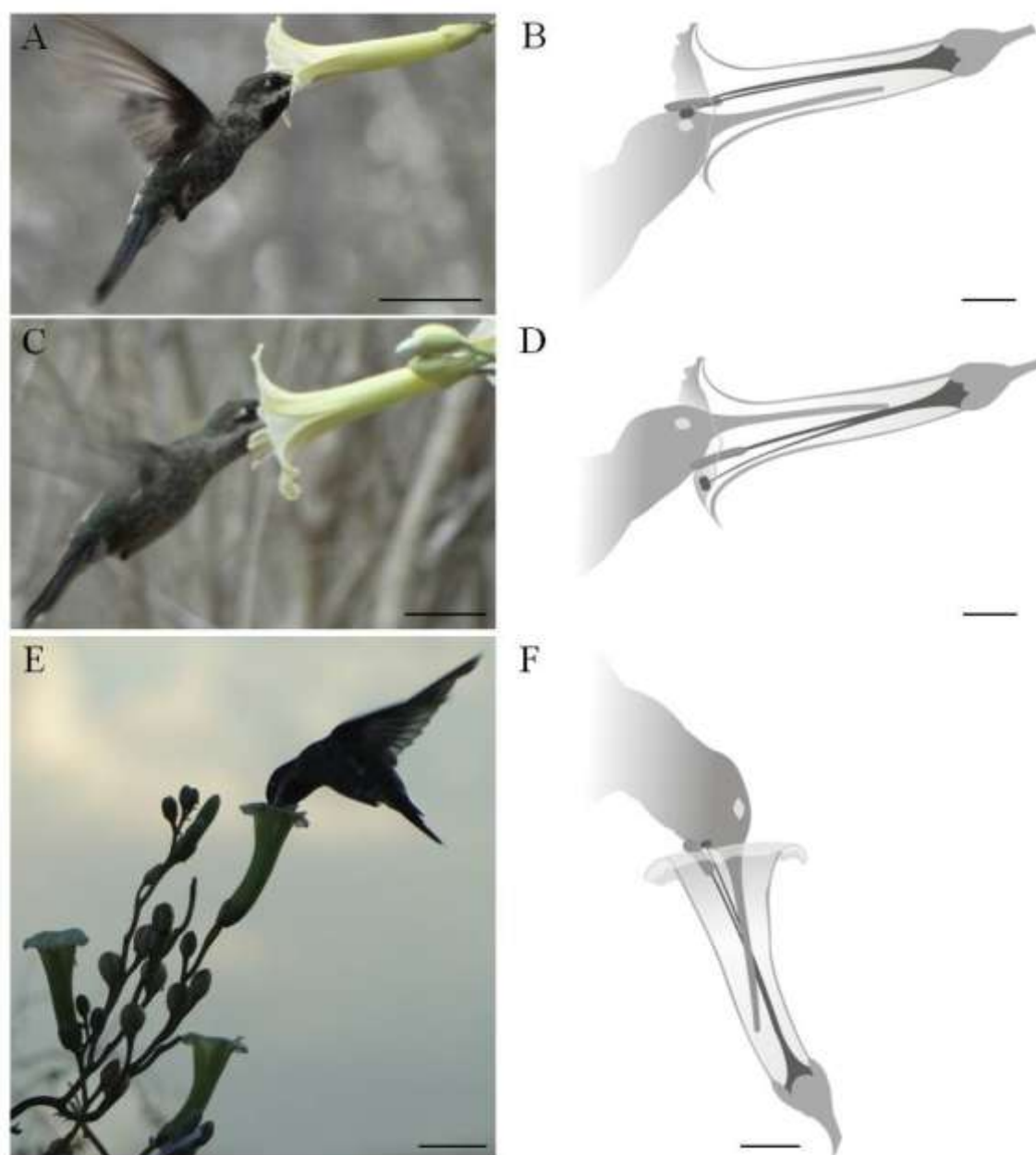


Fig. 3. Polinização por beija-flores em duas *Ipomoea* em área de Caatinga, nordeste do Brasil. *Heliomaster squamosus* acessando flores horizontalmente arranjadas de *I. marcellia*, com nototribica (A e B) e esternotribica deposição de pólen (C e D), e acessando flor de *Ipomoea* aff. *marcellia*, com deposição de pólen exclusivamente esternotribica (E e F). Escalas: A, C e E = 3 cm, B, D e F = 1 cm.

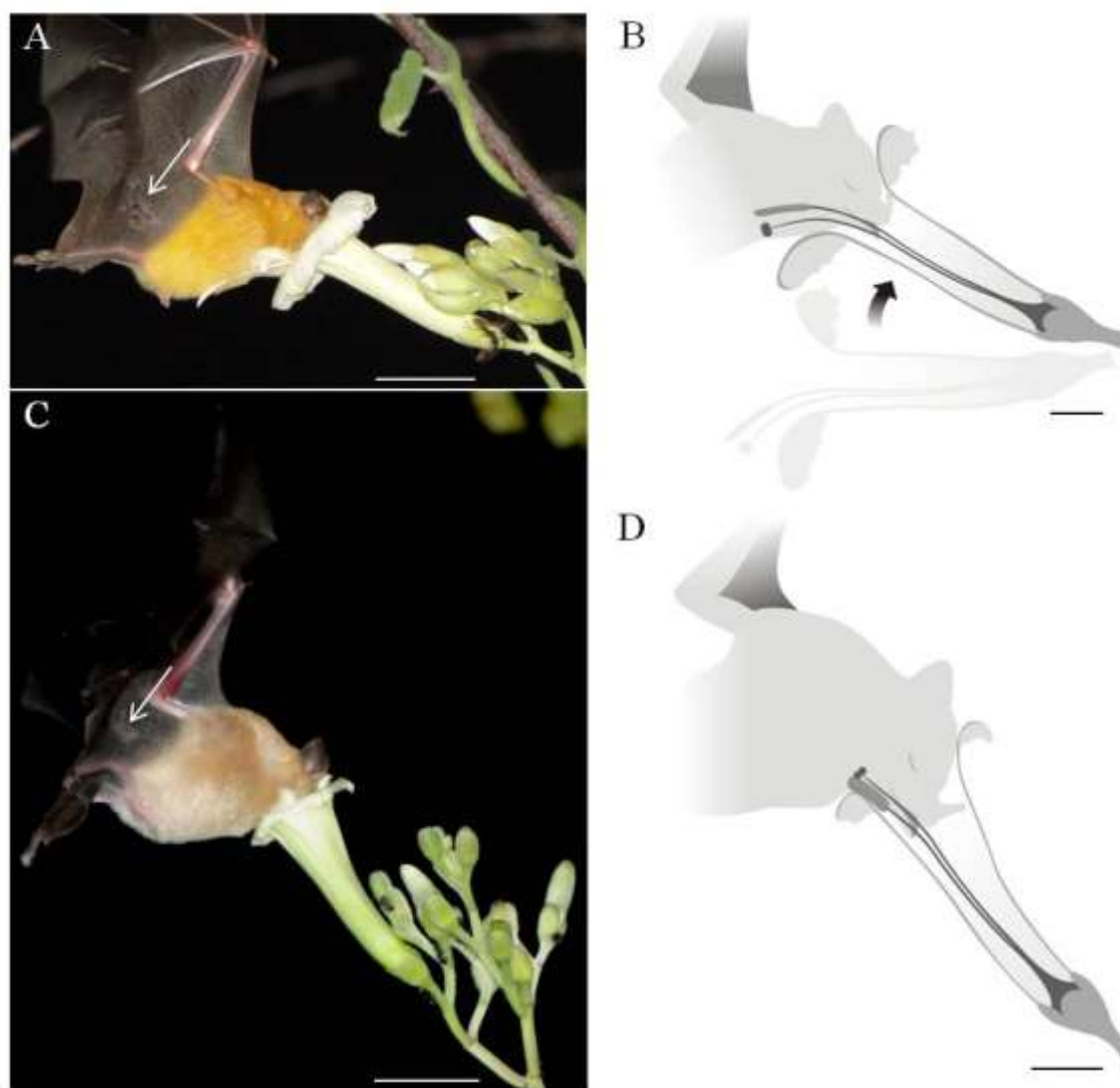


Fig. 4. Polinização por morcegos glossophaginae em duas *Ipomoea* em área de Caatinga, nordeste do Brasil. Morcegos glossophagine acessando flor de *I. marcellia* com deposição esternotribca de pólen no pescoço e peito (A e B); e acessando flor arranjada verticalmente de *Ipomoea* aff. *marcellia* com deposição de pólen exclusivamente esternotribica no pescoço (C e D). Setas brancas indicam marcas em sobre o patágio de individuo registrado em diferentes noites em flres de indivíduos de *Ipomoea* proximos. Isto é uma evidencia de que o mesmo individuo dessa espécie de morcego pode acessa flores de ambos taxa de *Ipomoea*. Escalas: A e C = 2 cm, B e D = 1 cm.

CAPÍTULO 3

Sistema de polinização misto por vertebrados em *Encholirium spectabile*: uma bromélia polinizada por morcegos, gambá e beija-flores em uma floresta tropical seca

(Manuscrito publicado no periódico – *Journal of Arid Environments*)

Vertebrate mixed pollination system in *Encholirium spectabile*: a bromeliad pollinated by bats, opossum and hummingbirds in a tropical dry forest

J.A. Queiroz^a, Z.G.M. Quirino^b, A.V. Lopes^{a,c}, I.C. Machado^{a,c*}

^aPrograma de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, 50372-970, Recife, PE, Brazil

^bDepartamento de Engenharia e Meio Ambiente, CCAE, Universidade Federal da Paraíba, Rio Tinto, PB, Brazil

^cDepartamento de Botânica, CCB, Universidade Federal de Pernambuco, 50372-970, Recife, PE, Brazil

Correspondence: I. C. Machado. Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco. CEP 50372-970, Recife, Pernambuco, Brazil. e-mail imachado@ufpe.br

Abstract

Mixed or generalized pollination systems tend to establish when the benefits of the pollination services to the plant are higher than the losses. In this context, selective pressures are likely to favor the presence of floral traits adequate to a variety of pollinators. In this paper, we document the pollination ecology of *Encholirium spectabile*, focusing on nectar production pattern, and on the frequency, behavior and effectiveness of day- and nighttime pollinators. We have addressed two main questions: (1) Are the flowers traits of *E. spectabile* favorable to a mixed pollination system? and (2) Do diurnal and nocturnal visitors behave as effective pollinators? Nectar traits of *E. spectabile* were similar to other chiropterophilous and ornithophilous bromeliads, and the main pollinators were exclusively vertebrates, both nocturnal (bats and opossum), and diurnal (hummingbirds and Passeriformes). Despite *E. spectabile* is primarily chiropterophilous, its flowers were open during the entire day and night, with continuous nectar production, what is favorable to the occurrence of a mixed pollination system, involving a unique richness of vertebrate as pollinators of a single plant species. This strategy has assured to *E. spectabile* high frequency of visits along flowering with high reproductive success.

Keywords Caatinga; Bromeliaceae; chiropterophily; generalist pollination; nectar secretion pattern; non-flying pollinators.

1. Introduction

Generalization in plant-pollinator interactions is more common than previously thought and has been demonstrated in ecological studies of diverse levels, from those involving a single or a few species of plants and their pollinators (e.g., Wolff et al.,

2003; Muchhala et al., 2008; Maruyama et al., 2010; Amorim et al., 2013; Maldonado et al., 2013), to studies considering communities (e.g., Waser et al., 1996; Johnson and Steiner, 2000). While generalist pollination systems seem to be common (e.g., Johnson and Steiner, 2000; Olesen and Jordano, 2002; Fenster et al., 2004), they are still poorly investigated in tropical forests (Cruz-Neto et al., 2015). Generalist pollination systems can evolve from specialized ones (e.g., Tripp and Manos, 2008), but the notion that plant-pollinator interactions tend to diversification and specialization in tropical ecosystems is widespread in pollination biology (e.g., Ollerton, 1996; Olesen and Jordano, 2002; Fenster et al., 2004; Alcantara and Lohmann, 2010).

Mixed or generalized pollination systems may be well established in plant species with predominantly nocturnal anthesis, but that can also be extended to daytime, allowing primary pollination by bats or hawkmoths, and secondary pollination by hummingbirds (Buzato et al., 1994; Sazima et al., 1994; Muchhala et al., 2008; Amorim et al., 2013; Cruz-Neto et al., 2015). Those systems may be beneficial in detriment of a specialized by enhancing the number of pollen vectors along the flower lifespan, also increasing the flexibility of setting seeds, even if one of the pollinator taxa become scarce (Muchhala, 2003).

In the case of mixed pollination systems involving bats and hummingbirds, it has been identified that these pollinators vectors differ in two main components, both quantitative (rate of visits) and qualitative (efficiency in pollen transfer) (Muchhala et al., 2008; Muchhala and Thomson, 2010; Amorim et al., 2013; Cruz-Neto et al., 2015). Such divergence in quantitative and qualitative components between pollinators may, in some cases, favor and select mixed pollination systems (Waser et al., 1996). This has been observed for *Aphelandra acanthus* (Acanthaceae) that is primarily pollinated by bats (Muchhala et al., 2008). Despite the bats transfer great amounts of cospecific

pollen, they do transfer also large quantities of inter-specific pollen, what reduces the quality of its pollination service to *A. acanthus*. In this case, the secondary pollination by hummingbirds is beneficial to the plant, thus favoring the occurrence of a mixed/generalized pollination system (Muchhala et al., 2008).

Nectar is the main floral resource in flowering plants and it is collected by diverse floral visitors (Proctor et al., 1996). Because it has a crucial role in plant-animal interactions, the comprehension of its ecology may help to understand the evolutionary relationship between plants and animals (Galetto and Bernardello, 2005). In mixed pollination systems, differences between nocturnal and diurnal pollinators may select and influence some floral traits as, for instance, nectar traits (e.g., secretion patterns, milligrams of sugar, sugar composition, see Amorim et al., 2013; Cruz-Neto et al., 2015). In *Inga sessilis*, nectar traits varied according to nocturnal and diurnal pollinators (Amorim et al., 2013), while in other three species of *Inga*, data on nectar secretion patterns, together with floral morphology, and pollination ecology suggest an evolutionary trend towards specialization for nocturnal pollinators in crepuscular or nocturnal flowers (Cruz-Neto et al., 2015).

The Bromeliaceae is one of the largest plant families in the Neotropics (Gentry and Dodson, 1987) with 57 genera and 3086 species (Luther, 2006). It is among the few plant families in which pollination by vertebrates predominates (Sazima et al., 1989; Siqueira-Filho and Machado, 1998). Birds, more specifically hummingbirds (Sazima et al., 1989; Kessler, 2002; Siqueira-Filho and Machado, 2006), and bats (Sazima et al., 1989) are their main pollinators guilds. Floral diversification in *Encholirium* Martius ex Schultes f. has been associated to pollination by bats (Christianini et al., 2013). Although, the role of hummingbirds as pollen vectors of *Encholirium* needs to be better understood given that some studies have documented effective pollination by those

animals in some of these bromeliads (Forzza et al., 2003; Christianini et al., 2013). These reports reinforce the idea of some floral trait overlapping between chiropterophily and ornithophily (e.g., Buzato et al., 1994; Sazima et al., 1994; Muchhala, 2003; Muchhala et al., 2008).

In the present study we analyze the mixed pollination system of *Encholirium spectabile* Martius ex Schultes f., a bromeliad of rocky outcrops in northeastern Brazil, pollinated by three different groups of vertebrates (bats, birds and opossum). We answer the following questions: (1) Are nectar attributes of *E. spectabile* compatible with the requirements of the different groups of pollinators? (2) Does the number of nectar removals during the anthesis affect the volume and the total amount of sugar produced by the flowers? (3) Is nectar available for day and night visitors? (4) Are there fluctuations in the number of visitors throughout the flowering of *E. spectabile*? (5) Do diurnal and nocturnal visitors differ in pollination effectiveness?

In this work we also register for the first time visits of an opossum to a flower of a bromeliad, and also for the Caatinga. To confirm whether the marsupial can be considered indeed an effective pollinator of *E. spectabile*, two main issues were assessed: (1) Does the behavior of the marsupial promotes efficient and frequent pollen flow? and (2) How frequent it is on *E. spectabile* flowers?

2. Materials and methods

2.1. Study area and species

We carried out field observations during two flowering cycles, in 2010 and 2011, in the Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Almas (7° 28' 45" S and 36° 54' 18" W, hereafter RPPN Fazenda Almas), state of Paraíba, northeastern Brazil. This reserve, with approximately 3505 ha, harbors a Caatinga remnant composed by a shrubby-arboreous vegetation (Andrade-Lima, 1981), which is remarkably xerophytic

and characterized by deciduousness, succulent plants and discontinuity in the canopy (Rodal and Sampaio, 2002; Prado, 2003). These characteristics are associated with the climatic conditions of this ecosystem, such as high radiation, low relative humidity, and low nebulosity (Prado, 2003). In addition, local rainfall is one of the lowest in Brazil, with annual averages around 600 mm, concentrated during the first months of the year (Feb-May), which characterizes a strong seasonality of climate in the region. The average annual temperature is high, varying from 26 to 30°C (Prado, 2003).

The genus *Encholirium* (Bromeliaceae, subfamily Pitcairnioideae) is endemic to Brazil (Forzza, 2001) and includes ca., 30 terrestrial and xerophytic species (Sazima et al., 1989). *Encholirium spectabile* occurs in sandy or rocky soils and in rocky outcrops in the Cerrado and mainly in the Caatinga (Smith and Downs, 1999), and is considered as the species with the widest geographic distribution in the genus (Forzza, 2005). In RPPN Fazenda Almas, individuals of *E. spectabile* may reach up to 2.5 m in height and are abundantly distributed in monospecific patches (Fig. 1a) occupying large areas (Porto et al., 2008). Field activities were conducted in three sub-populations of *E. spectabile* distributed in different rocky outcrops, away 1-3km from each other.

2.2. Phenology, floral and reproductive biology

During monthly expeditions carried out between 2010 and 2011, we recorded the presence or absence of individuals in blossom (begin, peak, and end of flowering) in the populations of two rocky outcrops. We carried out observations ($n = 30$ flowers) to describe flower anthesis and longevity, the functional period of stamens through direct observation of anther dehiscence and pollen availability, and the functional period of the stigma through reaction with hydrogen peroxide (Zeisler, 1938). We counted on 20 plant individuals the total number of flowers/inflorescence and the total number of open

flowers per day, to estimate the duration of resource supply of the individual plant or inflorescence.

To describe the reproductive system of *E. spectabile* (Radford et al., 1974) we selected 30 individuals to monitor fruit formation in flowers submitted to spontaneous and manual self-pollination ($n = 50$ flowers) and ($n = 21$ flowers) respectively, cross-pollination ($n = 25$ flowers), and natural pollination ($n = 35$ flowers). We recorded the total number of fruits/inflorescence ($n = 10$ inflorescence), and estimated the frequency of fruit-set/inflorescence and the reproductive success in natural conditions (frequency of fruit-set/inflorescence).

2.3. Nectar: production pattern, removal effects and standing crop

Nectar volume (μl) and sugar concentration in sucrose equivalents (% mass/mass) were measured with microsyringes (Hamilton®, NV, USA) and handheld refractometers (0 - 32%, 28-62%; Atago®, Tokyo, Japan), respectively. Since the nectar of *E. spectabile* is completely exposed due to its floral morphology, volume and sugar concentration may vary considerably along the anthesis due to evaporation, what is prominent in rocky outcrop microclimates (e.g., wind, temperature). Therefore, those parameters were not considered as good indicators of nectar production in this species. In this case, milligrams of sugar in the nectar (mg), which is not affected by evaporation, was quantified using values of volume and sugar concentration (Kearns and Inouye, 1993; Bernardello and Galetto, 2005) and used to estimate the nectar secretion pattern in this species (Galetto and Bernardello 2005). In order to carry on those measurements, the inflorescence of individuals ($n = 10$) with flowers at pre-anthesis were isolated with voile bags to prevent pollinator visits. Then, we began measuring the parameters at the beginning of anthesis, at 17:00 h, and repeated the procedure after every three hours, during the period of nectar availability, summing up

seven events of nectar extraction. At each measuring time, we selected flowers previously not sampled and one from each individual ($n = 10$ flowers/measuring time) to include possible variations inter-plant, and collected their accumulated nectar. Data for each measuring time was included in a histogram to obtain the nectar secretion pattern along the anthesis (e.g., continuous or not-continuous, see Galetto and Bernardello, 2005).

To test for a possible effect of nectar removal during anthesis on the pattern of nectar production, we used 105 flowers ($n = 15$ flowers /treatment), which had been bagged since the day before the onset of anthesis, and submitted them to successive removal during the period of nectar secretion, simulating the activities of floral visitors. The successive nectar removals protocol followed Galetto and Bernardello (2005), in the following scheme: *seven removals*: the first removal during flower opening (17:00 h) and the others at 3 h intervals; *six removals*: a removal at 20:00 h, and the others at 3 h intervals; *five removals*: the first removal at 23:00 h and the others at 3 h intervals; *four removals*: the first removal at 2:00 h and the others at 3 h intervals; *three removals*: the first removal at 5:00 h and the others at 3 h intervals; *two removals*: the first removal at 8:00 h and the second at 11:00 h and *control group*: nectar accumulation for 18 h and a single removal at 11:00 h.

To check the availability of nectar during the day period of anthesis, we performed measurements of volume, concentration and mg sugar in flowers that were freely visited by nocturnal visitors. For nectar measurements we use a single flower per individual measured at two different times, at 6:00- 6:30 h ($n = 30$ flowers) and at 11:00h ($n = 20$ flowers).

We analyzed nectar data normality with a Kolmogorov-Smirnov test and variance homogeneity with a Levene test. The values of volume, concentration and amount of

sugar for each treatment were compared with an one-way ANOVA (Bernardello and Galetto, 2005).

2.4. Diurnal and nocturnal visitors: visits, behavior and effectiveness

To record the flower visitors and pollinators of *E. spectabile* and the time, total number, and frequency of visits, we carried out diurnal and nocturnal observations at focal plants. We carried out 66 h of observation, including 12 h for diurnal visitors (6 h/day and 2 inflorescence/day), 24 h for bats (6h/night and 1 inflorescence/night) and 30 h to record the behavior of opossums. The observations were distributed as follows: from 6:00 h to 12:00 h for hummingbirds, from 18:00 h to 00:00 h for bats, and during 3 nights for opossums.

To minimize interference the behavior of nocturnal pollinators during field observations, we used flashlights only when the animal was moving to inflorescences of individuals located closer to the center of population. However, after finding the animal and during its stay in the inflorescence, it was possible to observe him without flashlights, since the populations of *E. spectabile* are distributed in open and therefore more visible environments. We photographed the animals while they visited the flowers to support the behavioral analysis and to identify the contact zone of the animals with the reproductive structures of plants. During another seven additional nights photographs were taken. Observations of behavior and pollen transfer between plants and photographic recording were carried out on different nights, in order to avoid any interference of photographing with the behavior of *D. albiventris*.

Floral visitors of *E. spectabile* were identified by comparing our photographic registers (images captured when the animals were visiting the flowers) with checklists of species to the study site and specialized literature. Our registers were then sent to specialists to confirm the identification. In order to help a more precise identification of

bats, we also collected some specimens with mist-nets (7 m x 2.5 m, Ecotone Inc., Spot, Poland) along four nights during flowering. The mist-nets were placed close to flowered individuals of *E. spectabile* and some of the captured bats were included in the collection of the Departamento de Zoologia of the Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

We selectively exposed a group of flowers to nocturnal visitors ($n = 20$ flowers), thus excluding diurnal visitors, and another group of flowers to diurnal visitors ($n = 20$ flowers), now excluding visits by nocturnal visitors, and compared the average values with a Wilcoxon T test.

3. Results

3.1. Phenology, floral and reproductive biology

Flowering of *E. spectabile* in the study area occurred mainly between June and September, and lasted until October, a period that coincides with the last rains (June-July) and with part of the dry season in the Caatinga. The flowers of *E. spectabile* were densely distributed along the inflorescence, which has 760.4 ± 373.4 flower buds (mean $\pm$ SD). Anthesis began in the afternoon (15:00 h), and at each night 28.55 ± 6.60 flowers opened, surrounding the inflorescence (Fig. 1b). The flowers were light green, except for the anthers that were yellow (Fig. 1c), and lasted ca. 20 h. The anthers were dehiscent from 18:00 h or 19:00 h and the stigma remained functional during the whole life of the flower (Fig. 1c).

Encholirium spectabile is self-compatible, but no spontaneous/automatic fruit-set occur. Fruit-set after manual self-pollination was high (71.42%) and 100% after manual cross-pollination. The average number of fruit-set per inflorescence was high (635.71 ± 298.80), resulting in a naturally reproductive success of $85.28 \pm 9.08\%$.

3.2. Nectar: production pattern, removal effects and standing crop

Nectar production in *E. spectabile* (Fig. 1d) occurred during the whole anthesis, beginning in the afternoon, approximately at 17:00 h, with the flower partially open, lasted all night long and also part of the following day, up to 11:00 h. Data on volume, sugar concentration, and sugar amount are presented in Figs. 2, a, b, and c, respectively. The average maximum volume accumulated in a bagged flower during its life time was 190.34 ± 98.52 μ l. The sugar concentration increased after anthesis start and with beginning of nectar production towards 17 h and stayed relatively constant with an average value of $16.58 \pm 8.56\%$. However, sugar concentration increased towards the end of the flowers life time in the morning hours and reached its peak of $36.21 \pm 10.74\%$ at 14:00 h. The quantity of sugars produced by the flowers showed a gradual increase during anthesis, with a peak at 11:00 h in the following morning after the beginning of anthesis (28.2 ± 13.2 mg).

The quantity of removals during anthesis did not affect the production pattern of this species (Table 1). We did not observe any significant increase or decrease in the total quantity of sugar produced by flowers submitted to different removal intensities ($F = 0.239$; $P > 0.05$). We found availability of nectar in flowers of *E. spectabile* also during daytime. In flowers visited freely during the night, we recorded average values of volume, concentration and mg of sugar in the nectar at 6:00 and 11:00 h of 12.59 ± 2.86 μ l, $11.11 \pm 1.51\%$, 3.90 ± 11.78 mg, and 10.05 ± 2.03 μ l, $11.53 \pm 1.57\%$ and 7.28 ± 20.64 mg, respectively.

3.3. Diurnal and nocturnal floral visitors: visits, behavior and effectiveness

We observed a large number of nocturnal and diurnal animals drinking nectar in flowers of *E. spectabile* throughout the flowering period (Fig. 3). Among the most frequent diurnal visitors, there were three hummingbird species of the family Trochilidae: *Chlorostilbon lucidus* (Shaw, 1812), *Helimaster squamosus* (Temminck,

1823), and *Anopetia macroura* (Gmelin, 1788), and three passerine birds: *Coereba flaveola* (Canalis, 1850), (Family Coerebidae), *Cyanocorax cyanopogon* (Wied, 1821) (Corvidae), and *Icterus jamacaii* (Vigors, 1825), (Icteridae).

We observed hummingbirds collecting nectar at two different periods of the anthesis of *E. spectabile*: one in the afternoon, when the flowers began to open and already presented a small amount of nectar, but still had indehiscent anthers; and the other during the following morning, when the flowers were still producing nectar, but had a reduced amount of pollen. We recorded ca 650 hummingbird visits. The most frequent species were *H. squamosus* (8.18 visits/inflorescence/h) and *C. lucidus* (3.90 visits/inflorescence/h), followed by *A. macroura* (1.51 visits/inflorescence/day).

The foraging behavior of these animals was similar: they touched all open flowers on the inflorescence each time they reached an individual in blossom, and repeated this cycle once or twice before leaving for another individual. This sequence of visits to the same individual plant was frequently broken by territorial conflicts with other hummingbirds. We saw *C. lucidus* (Fig. 4a), for example, driving out any hummingbird that came closer. We observed *H. squamosus* (Figs. 4c and 4d) on bunches close to individuals of *E. spectabile*, where it was foraging, preventing the approximation of other hummingbirds.

Some passerine species were observed perching on the inflorescence, such as *C. flaveola* (Fig. 4e) and *I. jamacaii* (Fig. 4f), which were casual visitors and pollinators. We observed them only early in the morning (6:00 to 7:00 h) making legitimate visits (ca. 32 visits during the total period of observation) on inflorescences of individuals close to each other.

The main nocturnal visitors were the bats *Glossophaga soricina* (Pallas, 1766), *Lonchophylla mordax* (Thomas, 1903), (Subfamily Glossophaginae), and *Phyllostomus*

discolor (Wagner, 1843), (Subfamily Phyllostominae), and the opossum *Didelphis albiventris* (Lund, 1840), (Family Didelphidae). We also observed sporadic visits by sphingid moths and found pollen grains of *E. spectabile* in captured individuals of *Erinnyis ello* (Linnaeus, 1758), *E. swainsoni* (Schaus, 1898), *Protambulyx strigilis* (Linnaeus, 1771) and *Xylophanes tersa* (Linnaeus, 1771), (J.A. Queiroz, unpubl. res.).

Glossophagine bats, *G. soricina* and *L. mordax*, summed up 661 visits, with a frequency of 27.54 visits/inflorescence/h, whereas for *P. discolor* we recorded 278 visits, with a frequency of 11.58 visits/inflorescence/h. We observed remarkable differences in approaching behavior between glossophagine bats and *P. discolor*. Glossophagines hovered while drinking nectar (Fig. 5a), touching the reproductive structures of the flowers mainly with their muzzle, snout, and head (Fig. 5c), whereas *P. discolor*, when approaching the flowers, hung upside down on the inflorescence, perching on flowers located immediately above those from which it drank nectar (Fig. 4b). The behavior of *P. discolor* allowed the contact of its entire abdomen, muzzle (snout, head), and wings with the anthers and stigma. *Phyllostomus discolor* individuals captured with mist nets had their abdomens covered with pollen of *E. spectabile* (Fig. 5d).

We recorded the opossum *Didelphis albiventris* accessing nectar of several flowers of *E. spectabile* (Fig. 5e), while it climbed up and down the inflorescences. During these movements, its entire abdomen, tail, and snout were covered with pollen grains (Fig. 5f). *Didelphis albiventris* was observed visiting flowers of *E. spectabile* in 10 nights along two months of flowering. Each night the opossum visited 5-10 inflorescences and was able to visit inflorescences of individual plants up to 20 m apart from each other on a single night. The visits lasted about 10-15min/inflorescence.

Both groups of floral visitors, nocturnal and diurnal, promoted high frequency of fruit-set after their selective visits to the flowers of *E. spectabile* (nocturnal exposition = 19/19; diurnal exposition = 19/17). Although the seed-set/fruit have differed between the selective exposition treatments ($t = 19$; $P < 0.001$), the reproductive success was elevated in both groups of flowers, the exposed only to nocturnal visitors (290.42 ± 34.35 seeds/fruits) and in those exposed only to diurnal visitors (193.42 ± 101.42 seeds/fruits).

4. Discussion

4.1. Phenological pattern and floral attributes vs mixed pollination systems

The annual flowering pattern (*sensu* Newstrom et al., 1994) of *E. spectabile*, with different individuals opening flowers each night and during 30 consecutive days, and the steady state flowering dynamic (*sensu* Gentry 1974), with the succession of individuals flowering during four months on rocky outcrops, may aid the visual memory of pollinators, ensuring constancy and fidelity of visits during the entire flowering period. This pattern allowed a constant flow of floral visitors (bats, opossum, hawkmoths and hummingbirds) throughout the entire flowering period of *E. spectabile*. This high diversity of vertebrate pollinators, which characterizes a mixed or generalized pollination system, is not common to this genus of the Bromeliaceae. Despite previous studies have documented vertebrate pollination in *Encholirium*, they have registered certain specialization to bats (Sazima et al., 1989; Christianini et al., 2013) or hummingbirds (Christianini et al., 2013).

The floral attributes of *E. spectabile* (e.g., crepuscular/nocturnal anthesis, robust greenish flowers, grouped in racemose inflorescences in the shape of brush or paintbrush) are in general more closely related to bat pollination (*sensu* Faegri and van der Pijl, 1979). However, despite the higher tendency to chiropterophily, the guild of

flower visitors of *E. spectabile* is diversified. This is mainly due to the easy access to its nectar and the fact that its nectar secretion extends beyond the night.

The nectar attributes of *E. spectabile* may also favor a mixed/generalized pollination system. Although nectar volume and sugar concentration are consistent with values estimated for bat-pollinated species (e.g., Opler, 1983; von Helversen, 1993; Sazima et al., 1999; Sazima et al., 2003; Vogel et al., 2004; Vogel et al., 2005; Fleming et al., 2009; Christianini et al., 2013) and very close to the observed for other chiropterophilous bromeliads, such as *Vriesea* spp. (196 - 200.2 μ l) (Sazima et al., 1999), the flowers are attractive to other animal groups (nocturnal and diurnal). Plants that extend nectar availability beyond the nighttime can be visited by hummingbirds and other diurnal animals (Muchhala et al., 2008; Amorim et al., 2013; Aguilar-Rodríguez et al., 2015). In *E. spectabile* besides the nectar availability during the day, we observed an increase in diurnal sugar production (22.65 ± 10.96 mg at 5:00 h, 26.57 ± 12.54 mg at 8:00 h, and 28.20 ± 13.21 mg at 11:00 h). These daytime increases in the concentration and amount of mg of sugar in the nectar of *E. spectabile*, favors regular visits of hummingbirds and, similar to changes found in diurnal and nocturnal nectar composition in flowers of *Inga sessilis* (see Amorim et al., 2013), could be interpreted as floral adaptation to different groups of pollinators.

Furthermore, since a single inflorescence of *E. spectabile* produces many flowers every night, the total volume of nectar produced per night per plant reaches high values (3.4 – 7.2 ml). This large amount of nectar/inflorescence seems to be enough to meet the energy requirements of small vertebrates that are morphologically specialized in nectar-feeding, like bats and hummingbirds, as well as another larger mammals, like the opossum *Didelphis albiventris*.

4.2. Diurnal and nocturnal floral visitors: visits, behavior and effectiveness

In quantitative terms, i.e., frequency of visits to flowers of *E. spectabile*, hummingbirds were equivalent to bats, due to anthesis length and availability of nectar during day and nighttime. However, hummingbirds may have less efficiency in the deposition of pollen on the stigma of primarily chiropterophilous flowers, as observed in *Aphelandra acanthus* (Muchhala et al., 2008), or perform illegitimate visits, as in flowers of *Inga* species (Amorim et al., 2013). In the present study, hummingbirds seem to play a secondary role in the pollination of *E. spectabile*.

On the other hand, the higher efficiency of bats when compared to hummingbirds in qualitative terms, i.e., fruit- and seed-set successes, must be due to the best fit between corolla width and bats head. Species of *Encholirium* with wide corollas, similar to *E. spectabile*, seem to be better adapted to pollination by bats, while narrow corollas, as in *E. heloisae*, to hummingbirds (Christianini et al., 2013). The role played by the corolla width in determining effective pollination by bats or hummingbirds was experimentally confirmed to species of *Burmeistera* (Campanulaceae) (see Muchhala, 2007). Those glossophagine bats are usually the main pollinators of chiropterophilous bromeliads (Sazima et al., 1989; Sazima et al., 1999; Christianini et al., 2013). Among other characteristics, these bats can hover, what enables them to explore more delicate flowers, which are inaccessible to bats that hang themselves to drink nectar (Machado et al., 1998). In this work, these animals were considered the main pollinators of *E. spectabile*.

However, non-hovering bats may also access the flowers of some bromeliad species, as predicted for *E. glaziovii* (Sazima et al., 1989), and observed here in *E. spectabile* flowers. Differences among pollinating bats of *E. spectabile* in their ability to hover while drinking nectar should affect their pollination efficiency. For example, *P. discolor*, which grabs the flowers while drinking nectar and by doing so is able to carry

a higher load of pollen than *G. soricina* and *L. mordax*, should deposit a higher amount of self-pollen on the stigma of more flowers, contributing to geitonogamy. Nevertheless, as in most cases pollen attaches itself only to the muzzle of glossophagine bats, geitonogamy should be lower. This possible flux of self-pollen could be maximized by the fact that those bats use to sequentially visit all flowers of an inflorescence before departing to other individuals (see Sazima et al., 1989).

In addition, the presence of inter-specific pollen in the body of the bat pollinators of *E. spectabile* (J.A. Queiroz, unpubl. res.) may reduce the quality of the pollination service of these animals if they deposit inter-specific pollen on the stigma. Both bats and hummingbirds, due to opportunism on the exploitation of nectar, can carry pollen loads composed by different pollen types (Murcia and Feinsinger, 1996; Muchhala and Jarrín-V, 2000). According to Muchhala et al. (2008), this scenery may be favorable to generalization or pollination by diverse groups of animals in detriment of specialization to bat pollination. In spite of this, it is expected that the inter-specific pollen mixture is not very intense, since the pollen loads of *E. spectabile* found in the body of the bats is massive, making their fur completely yellow. This, therefore, would increase the ratio of self-pollen/inter-specific pollen placed in the stigma.

Since the observed sphingid moths hover while visiting *E. spectabile* flowers, the attachment of pollen grains to their proboscis and the transfer of pollen grains to the stigma occurs only occasionally, which makes them less effective pollinators. This observation corroborates the reduced importance of sphingid moths in the pollination of chiropterophilous flowers (Sazima and Buzato, 1994; Machado et al., 1998; Machado et al., 2006; Christianini et al., 2013).

4.3. *Opossum visits*

The record of visits of the white-eared opossum - *Didelphis albiventris* and its role as a pollen vector of a bromeliad are novel. The main families with records of regular visits to flowers by non-flying mammals are the Proteaceae, Myrtaceae, Bombacaceae, Capparidaceae, Leguminosae, and Euphorbiaceae (Willmer, 2011). On the other hand, high frequency of pollination by nocturnal animals have been documented to the Caatinga (chiropterophily: 13,1%; sphingophily: 7,2%; e phalenophily: 1,3%) (Machado and Lopes, 2004; Quirino and Machado, 2014). We should point out that pollination by non-flying mammals, as the opossums, until now, have never been referred to this semi-arid biome. The lack of this kind of information for the Caatinga, which harbors other plant species that could be potentially accessed by non-flying mammals, such as species of *Pseudobombax* and *Cavanillesia* (Bombacaceae) (J.A. Queiroz, pers. com.), points to the need for more studies focused on nocturnal pollination in this ecosystem (Machado and Lopes, 2004; Rocha et al., 2007; Quirino and Machado, 2014).

Opossums are able to cover distances of up to 100 m in a single night, and may be responsible for interpopulation pollen flow, as observed for *Quararibea cordata* (Malvaceae) (Janson et al., 1981), and even play the role of main pollinators, as observed for *D. marsupialis* visiting flowers of *Marcgravia nepenthoides* (Marcgraviaceae) (Tschapka and von Helversen, 1999) and *Marmosa mexicana* visiting *Calypstrogyne ghiesbreghtiana* (Arecaceae) (Sperr et al., 2009). However, they are frequently described as complementary pollinators of plants that have adaptations for bat pollination (Steiner, 1981; Vieira and Carvalho-Okano, 1996; Carthew and Goldingay, 1997).

This is so probably because the plant species on which these animals were recorded are trees and have several flowers spread in their canopy (Janson et al. 1981; Steiner,

1981; Gribel, 1988; Vieira and Carvalho-Okano, 1996; Gribel et al., 1999; Martins and Gribel, 2007), which could increase the time of visit at a single individual and reduce the chances of inter-individual pollen transfer and cross-pollination. However, *E. spectabile* shows a population of short individuals distributed in clusters that are close to each other, and each individual has a single inflorescence.

The high frequency of visits by bat should affect the availability of nectar to *D. albiventris*, forcing the displacement of this opossum among plants and subpopulations, and maximizing the efficiency and the role of this mammal as a pollinator. (which would compromise its role as a pollinator.) Because we did not capture opossums during the nights that we were carrying out our observations, we could not quantify the number of individuals of this *Didelphis albiventris* visiting the flowers of *E. spectabile*. In this way, we cannot confirm if our registers are of the same individual of *D. albiventris* or not. Nevertheless, our observations were carried out in diverse grouping of *E. spectabile*, along various nights and in diverse months of the flowering period. In addition, the flowers of *E. spectabile* represent an abundant source of nectar with easy access, what allied to the very opportunistic food behavior of this opossum (see Emmons and Feer, 1990), are enough evidences that this kind of interaction may not be rare in the Caatinga.

4.4. Concluding remarks

The evolution of mixed pollination systems involving the two main neotropical vertebrate pollinators (e.g., hummingbirds and bats) have received different interpretations: (i) as a transition system between ornithophily and chiropterophily (Buzato et al., 1994; Sazima et al., 1994), or (ii) as an evolutionary endpoint (Muchhala, 2003; Muchhala et al., 2008). The floral traits of *Encholirium spectabile*, for instance: (1) the production of copious nectar with easy access and amount of sugar

(mg) that meet the requirements of several types of pollinators; and (2) continuous production and availability of nectar that are not limited to nighttime and are not affected by the intense foraging of the bats, allowing frequent visits of hummingbirds during the day; suggests the occurrence of a mixed pollination system extremely advantageous in a strongly seasonal ecosystem, such as the Caatinga, as shown by the high rate of fruit-set and abundance of individuals of *E. spectabile* in the studied rocky outcrop.

Plasticity in using pollinator services of diverse pollinators (hummingbirds, bats and opossum) can be one of the responsible factors to the success of *E. spectabile* in efficiently colonizing rocky outcrops, thus leading this species to have a wide geographic distribution in the semi-arid region of the Brazilian northeastern (Forzza, 2005). Future studies should explore more questions related to pollinator quality, as the composition of the pollen loads deposited by bats, opossum and hummingbirds in the stigma of the flowers (see Muchhala et al., 2008). This could help to a better understanding of the gain and losses for the species involved in this mixed pollination system, which is characterized by a high and uncommon richness of vertebrate pollinators to a single plant species.

Acknowledgments

We thank Hélder Araújo for identifying the hummingbirds, Marco A.R. Mello and Enrico Bernard for identifying the bats; Vanessa Nobrega for helping in the field work and for identifying the Passeriformes. Eunice Braz (*in memorian*) for her example of conservation, as she transformed her property, our study area, into a legally protected area. The PELD–CNPq (Long-term Ecological Program) and the FACEPE (APQ-1096-2.03/08) for funding the present study. The CNPq for grants to J. Queiroz, I. Machado and A. Lopes.

References

- Alcantara, S., Lohmman, L.G., 2010. Evolution of floral morphology and pollination system in Bignoniaceae (Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 97, 782-796
- Aguilar-Rodríguez, P.A., Krömer, T., García-Franco, J.G., MacSwiney, M.C.G., 2015. From dusk till dawn: nocturnal and diurnal pollination in the epiphyte *Tillandsia heterophylla* (Bromeliaceae). *Plant Biology* 17, 1-9.
- Amorim, F.W., Galetto, L., Sazima, M., 2013. Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive success of *Inga sessilis* (Fabaceae). *Plant Biology* 15, 317-327.
- Andrade-Lima, D., 1981. The Caatingas dominium. *Revista Brasileira de Botânica* 4, 149-163.
- Bernardello, L.M., Galetto, L., 2005. Nectar secretion pattern and removal effects in Argentine *Lycium* (Solanaceae). *Monograph in systematic botany* 104, 301-314.
- Buzato, S., Sazima, M., Sazima, I., 1994. Pollination of three species of *Abutilon* (Malvaceae) intermediate between bat and hummingbird flower syndromes. *Flora* 189, 327-334.
- Carthew, S.M., Goldingay, R.L., 1997. Non-flying mammals as pollinators. *Tree* 12, 104-108.
- Christianini, A.V., Forzza, R.C., Buzato, S., 2013. Divergence on floral traits and vertebrate pollinators of two endemic *Encholirium* bromeliads. *Plant Biology* 15, 360-368.
- Cruz-Neto, O., Machado, I.C., Galetto, L., Lopes, A.V., 2015. The influence of nectar production and floral visitors on the female reproductive success of *Inga* (Fabaceae): a field experiment. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177, 230-245.

- Emmons, L.H., Feer, F., 1990. Neotropical rainforest mammals: a field guide. Chicago Press, Chicago.
- Faegri, K., van der Pijl, L., 1979. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, London.
- Fenster, C.B., Armbruster, W.S., Wilson, P., Dudash, M.R., Thomson, J.D., 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review in Ecology, Evolution and Systematics* 35, 375–403.
- Fleming, T.H., Geiselman, C., Kress, W.J., 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany* 104, 1017-1043.
- Forzza, R.C., 2001. Filogenia da tribo Puyeeae Wittm. e revisão taxonômica do gênero *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. F. (Pitcairnioideae-Bromeliaceae). PhD Thesis, Universidade de São Paulo.
- Forzza, R.C., Christianini, A.V., Wanderley, M.G.L., Buzato, S., 2003. *Encholirium* (Pitcairnioideae - Bromeliaceae): conhecimento atual e sugestões para a conservação. *Vidalia* 1, 7-20.
- Forzza, R.C., 2005. Revisão taxonômica de *Encholirium* Mart. ex Schult. & Schult. f. (Pitcairnioideae – Bromeliaceae). *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 23, 1-49.
- Galetto, L., Bernardello, G., 2005. Rewards in flowers: nectar, in: Dafni, A., Kevan, P.G., Husband B.C. (Eds.), *Practical Pollination Biology*. Cambridge, Ontario, pp. 261-312.
- Gentry, A.H., 1974. Flowering and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6, 64-68.
- Gentry, A.H., Dodson, C.H., 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74, 205-233.

- Gribel, R., 1988. Visits of *Caluromys lanatus* (Didelphidae) to flowers of *Pseudobombax tomentosum* (Bombacaceae): a probable case of pollination by marsupials in central Brazil. *Biotropica* 20, 344-347.
- Gribel, R., Gibbs, P.E., Queiróz, A.L., 1999. Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. *Journal of Tropical Ecology* 15, 247-263.
- von Helversen, O., 1993. Adaptations of flowers to the pollination by glossophagine bats, in: Barthlott, W., Naumann, C.M., Schmidt-Loske, K., Schuchmann, K.L. (Eds.), *Animal-plant interactions in tropical environments*. Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn, pp. 41-59.
- Janson, C.H., Terborgh, J., Emmons, L.H., 1981. Non-flying mammals as pollinating agents in the Amazonian forest. *Biotropica* 13, 1-6.
- Johnson, S.D., Steiner, K.M., 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Tree* 15, 140-143.
- Kearns, C.A., Inouye, D.W., 1993. *Techniques for pollination biologists*. Univ. Press Colorado, Niwot.
- Kessler, M., 2002. Environmental patterns and ecological correlates of range size among bromeliad communities of Andean forest in Bolivia. *The Botanical Review* 68, 100-127.
- Kessler, M., Krömer, T., 2000. Patterns and ecological correlates of pollination modes among bromeliad communities of Andean forests in Bolivia. *Plant Biology* 2, 659-669.
- Kramer, M., Schmitt, U., Schuchmann, K.L., 1993. Notes on the organization of a neotropical high-altitude hummingbird-flower community, in: Barthlott, W.,

- Naumann, C.M., Schmidt-Loske, K., Schuchmann, K.L. (Eds.), Animal-plant interactions in tropical environments. Germany, pp. 61-65.
- Luther, H.E., 2006. An Alphabetical List of Bromeliad Binomials. 10th edn. The Bromeliad Society International, Orlando.
- Machado, I.C., Lopes, A.V., 2004. Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest. *Annals of Botany* 94, 365-376.
- Machado, I.C., Lopes, A.V., Leite, A.V., Neves, C.B., 2006. *Cleome spinosa* (Capparaceae): polygamodioecy and pollination by bats in urban and Caatinga areas, northeastern Brazil. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 127, 69-82.
- Machado, I.C., Sazima, I., Sazima, M., 1998. Bat pollination of the terrestrial herb *Irlbachia alata* (Gentianaceae) in northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 209, 231-237.
- Maldonado, M.B., Lomáscolo, S.B., Vázquez, D.P., 2013. The importance of pollinator generalization and abundance for the reproductive success of a generalist plant. *Plos One* 10, e75482.
- Martins, R.L., Gribel, R., 2007. Polinização de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. (Caryocaraceae) uma árvore emergente da Amazônia Central. *Revista Brasileira de Botânica* 30, 37-45.
- Maruyama, P.K., Amorim, F.W., Oliveira, P.E., 2010. Night and day service: distyly and mixed pollination system in *Faramea cyanea* (Rubiaceae). *Flora* 205, 818-824.
- Muchhala, N., Jarrín-V, P., 2002. Flower visitation by bats in cloud forests of western Ecuador. *Biotropica* 34, 387 – 395.

- Muchhala N., 2003. Exploring the boundary between pollination syndromes: bats and hummingbirds as pollinators of *Burmeistera cyclostigmata* and *B. tenuiflora* (Campanulaceae). *Oecologia* 134, 373-380.
- Muchhala, N., 2007. Adaptive trade-off in floral morphology mediates specialization for flowers pollinated by bats and hummingbirds. *The American Naturalist* 169, 494-504.
- Muchhala, N., Caiza, A., Vizúete, J.C., Thomson, J.D., 2008. A generalized pollination system in the tropics: bats, birds and *Aphelandra acanthus*. *Annals of Botany* 103, 1481-1487.
- Muchhala, N., Thomson, J.D., 2010. Fur *versus* feathers: pollen delivery by bats and hummingbirds and consequences for pollen production. *The American Naturalist* 175, 717-726.
- Murcia, C., Feinsinger, P., 1996. Interspecific pollen loss by hummingbirds visiting flower mixtures: effects of floral architecture. *Ecology* 77, 550 – 560.
- Newstrom, L.E., Frankie, G.W., Baker, H.G., 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 26, 141-159.
- Ollerton, J., 1996. Reconciling ecological processes with phylogenetic patterns: The apparent paradox of plant-pollinator systems. *Journal of Ecology* 84, 767-769.
- Olesen, J.M., Jordano, P., 2002. Geographic patterns in plant-pollinator mutualistic networks. *Ecology* 83, 2416-2424.
- Opler, P.A., 1983. Nectar production in a tropical ecosystem, in: Bentley, B., Elias, T. (Eds.), *The biology of nectaries*. Columbia University Press, New York, pp. 30-79.

- Porto, P.A.F., Almeida, A., Pessoa, W.J., Trovão, D., Felix, L.P., 2008. Composição florística de um inselbergue no agreste paraibano, município de Esperança, nordeste do Brasil. *Revista Caatinga* 21, 214-221.
- Prado, D.E., 2003. As Caatingas da América do Sul, in: Leal, I.R., Tabarelli, M., Silva, J.M.C. (Eds.), *Ecologia e Conservação da Caatinga*, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, pp. 3-73.
- Proctor, M., Yeo, P., Lack, A., 1996. *The natural history of pollination*. Harper Collins, London.
- Quirino, Z.G.M., Machado, I.C., 2014. Pollination syndromes and seasonal availability of floral resources in a Caatinga plant community in northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 74, 62-71.
- Radford, A.E., Dickinson, W.C.J., Massey, R., Bell, C.R., 1974. *Vascular plant systematics*. Harper & How Publishers, New York.
- Rocha, E.A., Machado, I.C., Zappi, D.C., 2007. Floral biology of *Pilosocereus tuberculatus* (Werderm.) Byles & Rowley: a bat pollinated cactus endemic from the “Caatinga” in northeastern Brazil. *Bradleya* 25, 129-144.
- Rodal, M.J.N., Sampaio, E.V.S.B., 2002. A vegetação do bioma Caatinga, in: Sampaio, E.V.S.B., Giuliatti, A.M., Virgínio, J., Rojas, C.F.L.G. (Eds.), *Vegetação e flora da Caatinga*, Recife, PP. 11-24.
- Sazima, I., Vogel, S., Sazima, S., 1989. Bat pollination of *Encholirium glaziovii*, a terrestrial bromeliad. *Plant Systematics and Evolution* 168, 167-179.
- Sazima, M., Sazima, I., Buzato, S., 1994. Nectar by day and night: *Siphocampylus sulfureus* (Lobeliaceae) pollinated by hummingbirds and bats. *Plant Systematics and Evolution* 191, 237-246.

- Sazima, M., Buzato, S., Sazima, I., 1999. Bat-pollinated flowers assemblages and bat visitors at two Atlantic Forest sites in Brazil. *Annals of Botany* 83, 705-712.
- Sazima, M., Buzato, S., Sazima, I., 2003. *Dyssochroma viridiflorum* (Solanaceae): a reproductively bat-dependent epiphyte from the Atlantic Rainforest in Brazil. *Annals of Botany* 92, 725-730.
- Siqueira-Filho, J.A., Machado, I.C., 1998. Biologia floral de *Hohenbergia ridleyi* (Baker) Mez (Bromeliaceae). *Bromelia* 5, 1-13.
- Siqueira-Filho, J.A., Machado, I.C., 2006. Floração e polinização das bromélias da mata Atlântica nordestina, in: Leme, E., Siqueira-Filho, J.A. (Org.), Fragmentos de mata Atlântica. Andrea Jakobsson Estudio LTDA, Rio de Janeiro, pp. 159-189.
- Smith, L.B., Downs, R.J., 1999. Bromeliaceae (Pitcairnioideae). *Flora Neotropica Monograph* 14, New York Botanical Garden, New York.
- Sperr, E.B., Fronhofer, E.A., Tschapka, M., 2009. The Mexican mouse opossum (*Marmosa mexicana*) as a flower visitor at a neotropical palm. *Mammalian Biology* 74, 76-80.
- Steiner, K.E., 1981. Nectarivory and potential pollination by a Neotropical marsupial. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 4, 505-513.
- Tripp, E.A., Manos, P.S., 2008. Is floral specialization an evolutionary dead-end? Pollination system transitions in *Ruellia* (Acanthaceae). *Evolution* 62, 1712-1737.
- Tschapka, M., von Helversen, O., 1999. Pollinators of syntopic *Marcgravia* species in Costa Rican lowland rain forest: bats and opossums. *Plant Biology* 1, 382-388.
- Vieira, M.F., Carvalho-Okano, R.M., 1996. Pollination biology of *Mabea fistulifera* (Euphorbiaceae) in southeastern Brazil. *Biotropica* 28 61-68.
- Vogel, S., Machado, I.C., Lopes, A.V., 2004. *Harpochilus neesianus* and other novel cases of chiropterophily in neotropical Acanthaceae. *Taxon* 53, 55-60.

- Vogel, S., Machado, I.C., Lopes, A.V., 2005. Bat pollination in the NE Brazilian endemic *Mimosa lewisii*: an unusual case and first report for the genus. *Taxon* 54, 693-700.
- Waser, M.W., Chittka, L., Price, M.V., Willians N.M., Ollerton, J., 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77, 1043-1060.
- Willmer, P., 2011. Pollination and floral ecology. Princeton University Press, Princeton and Oxford.
- Wolff, D., Braun, M., Liede, S. 2003. Nocturnal *versus* diurnal pollination success in *Isertia laevis* (Rubiaceae): a sphingophilous plant visited by hummingbirds. *Plant Biology* 5, 71-78.
- Zeisler, M., 1938. Über die Abgrenzung der eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. Beihefte zum Botanischer Zentralblatt 58, 308-318.

Table 1 Miligramas of sugar in the nectar (mean±SD) of *Encholirium spectabile* flowers submitted to successive removals along anthesis

Removals	Times measurements (h)							Total*
	17 00	20 00	23 00	02 00	05 00	08 00	11 00	
7	3.03 ± 2.88	5.60 ± 2.21	5.45 ± 2.42	5.31 ± 2.38	5.27 ± 2.65	4.23 ± 2.86	1.37 ± 1.90	30.35 ± 14.00
6		8.57 ± 4.14	6.78 ± 2.62	6.45 ± 2.46	5.84 ± 2.44	5.14 ± 2.82	2.35 ± 2.34	35.33 ± 14.91
5			12.72 ± 4.67	6.35 ± 3.66	5.00 ± 1.86	4.45 ± 2.57	2.03 ± 1.88	30.9 ± 11.60
4				18.91 ± 9.43	5.26 ± 2.63	4.38 ± 3.10	2.03 ± 1.81	30.8 ± 15.38
3					22.65 ± 10.96	4.11 ± 3.08	2.17 ± 6.64	30.15 ± 16.95
2						26.57 ± 12.54	3.34 ± 2.52	29.91 ± 12.64
Control (one removal)							28.20 ± 13.21	28.20 ± 13.21

*The total nectar mg values showed no significant differences, $P < 0.05$

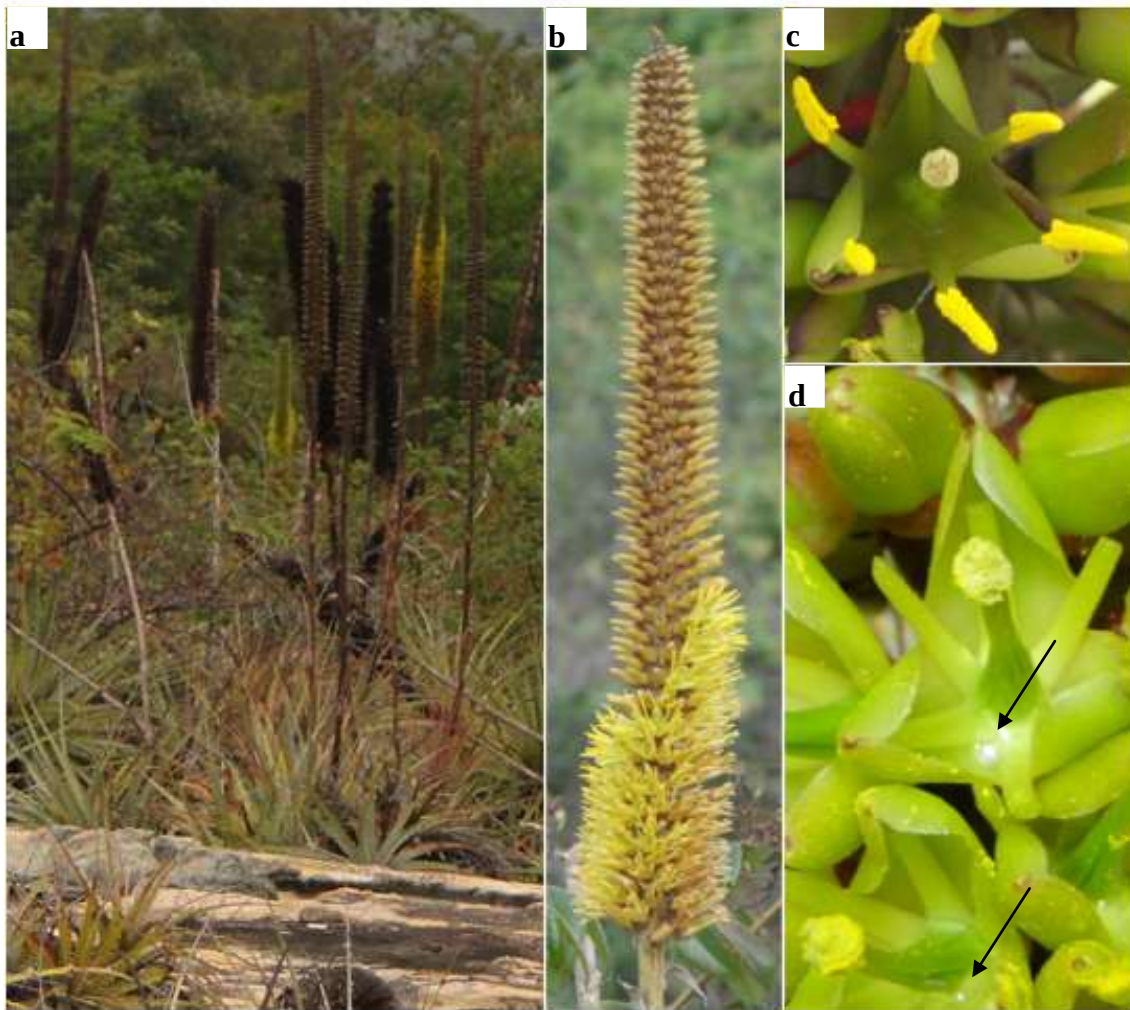


Fig. 1. Population of *Encholirium spectabile* on a rocky outcrop in a Caatinga of Paraíba, northeastern Brazil (a), inflorescence, evidencing the dynamics of flower opening, from the base to the apex (b); entirely open flower, with dehiscent anthers (c); and (d) detail of nectar display (arrows) at the base of the flowers (the anthers were removed for better visualization).

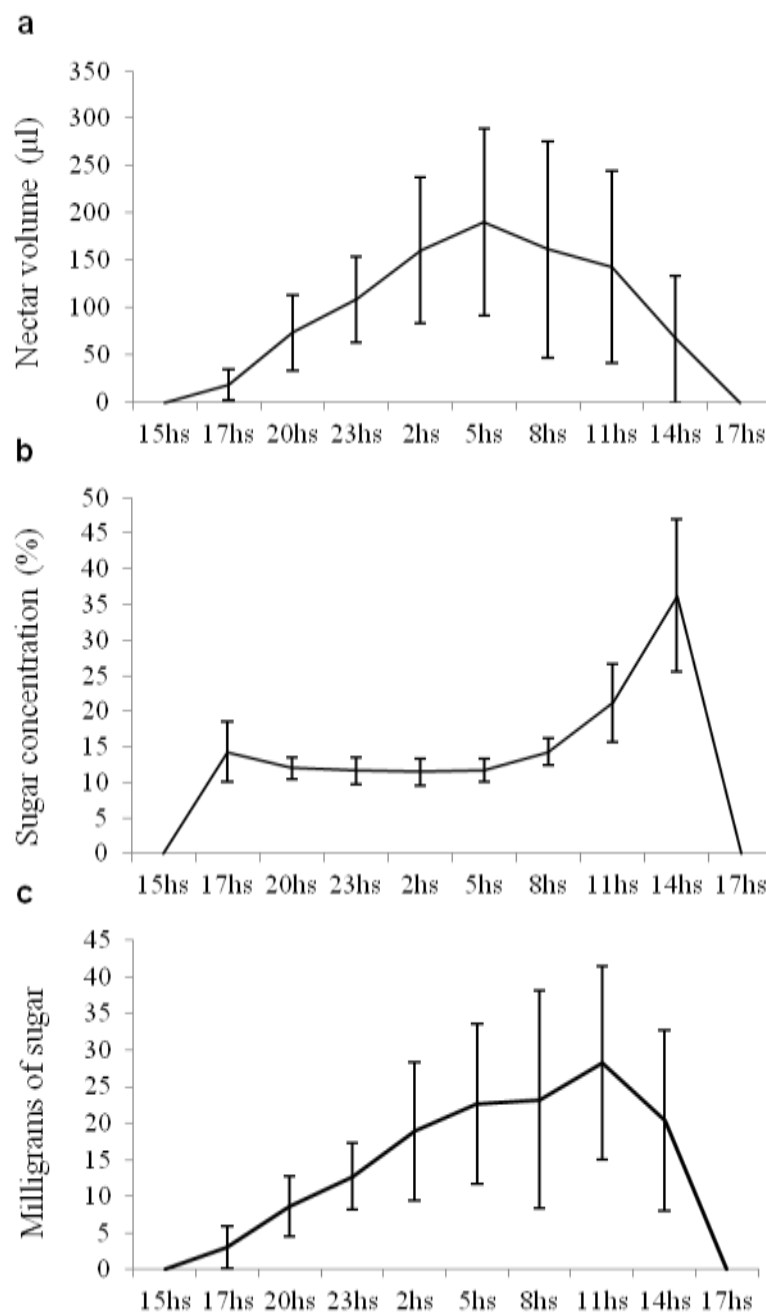


Fig. 2. Nectar volume (a), sugar concentration (b), and sugar quantity (c) on flowers of *Encholirium spectabile* on rocky outcrops in a Caatinga of Paraíba, northeastern Brazil. Square = mean, and bars = standard deviation.

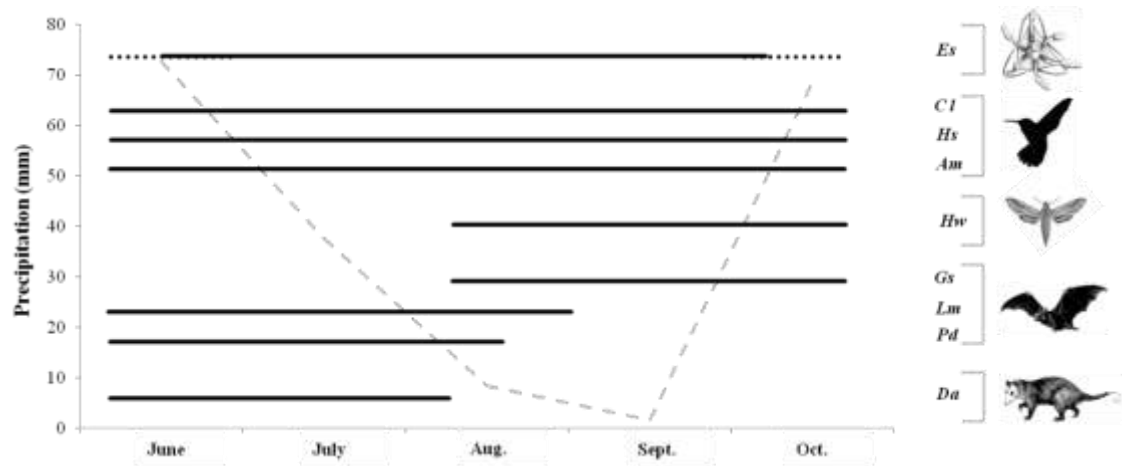


Fig. 3. Temporal distribution of different groups of diurnal and nocturnal pollinators of *E. spectabile* in a Caatinga of Paraíba, northeastern Brazil. Full lines represent the period of flowering peak and the period of record of pollinator visits; Dotted line represents the beginning and the end of the flowering phenophase of *E. spectabile*, dashed line (grey) represents rainfall in the period. **Es** = *Encholirium spectabile*, **Cl** = *Chlorostilbon lucidus*, **Hs** = *Heliomaster squamosus*, **Am** = *Anopetia macroura*, **Sw** = hawkmoths species, **Gs** = *Glossophaga soricina*, **Lm** = *Lonchophylla mordax*, **Pd** = *Phyllostomus discolor*, and **Da** = *Didelphis albiventris*.

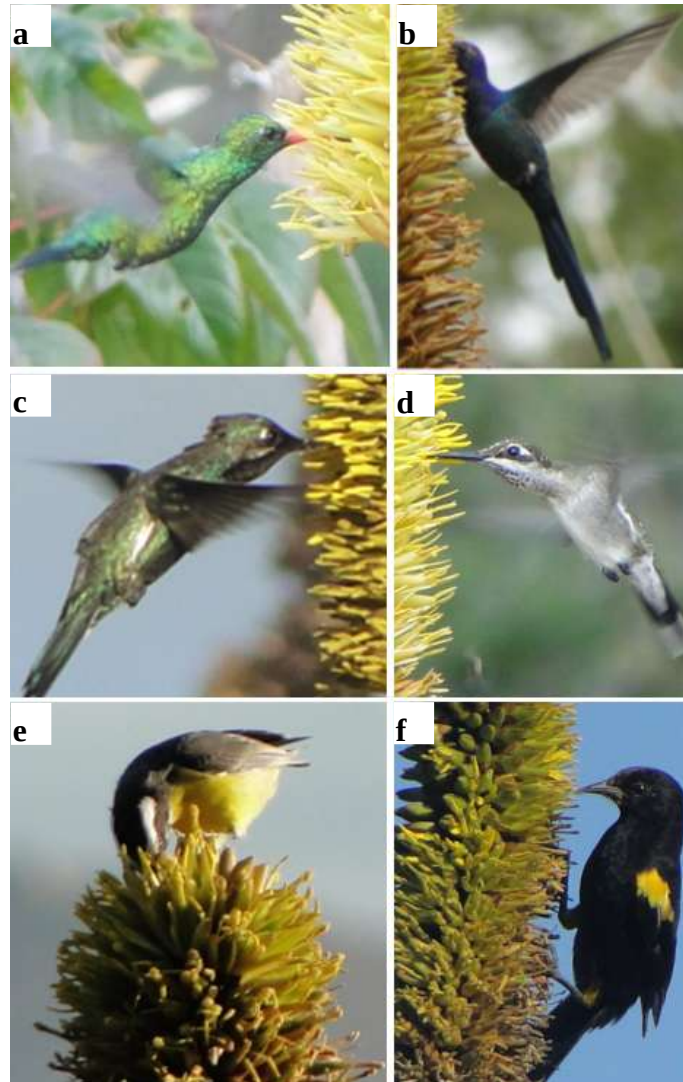


Fig. 4. Diurnal pollinators of *Encholirium spectabile* in a Caatinga of Paraíba, northeastern Brazil. Visits by trochilid hummingbirds during the diurnal phase of anthesis: (a) *Chlorostilbon lucidus*, (b) *Anopetia macroura*, and (c) male and (d) female or non-reproductive male of *Heliomaster squamosus*, and by two passerine birds: (e) *Coereba flaveola* and (f) *Icterus jamacaii*.

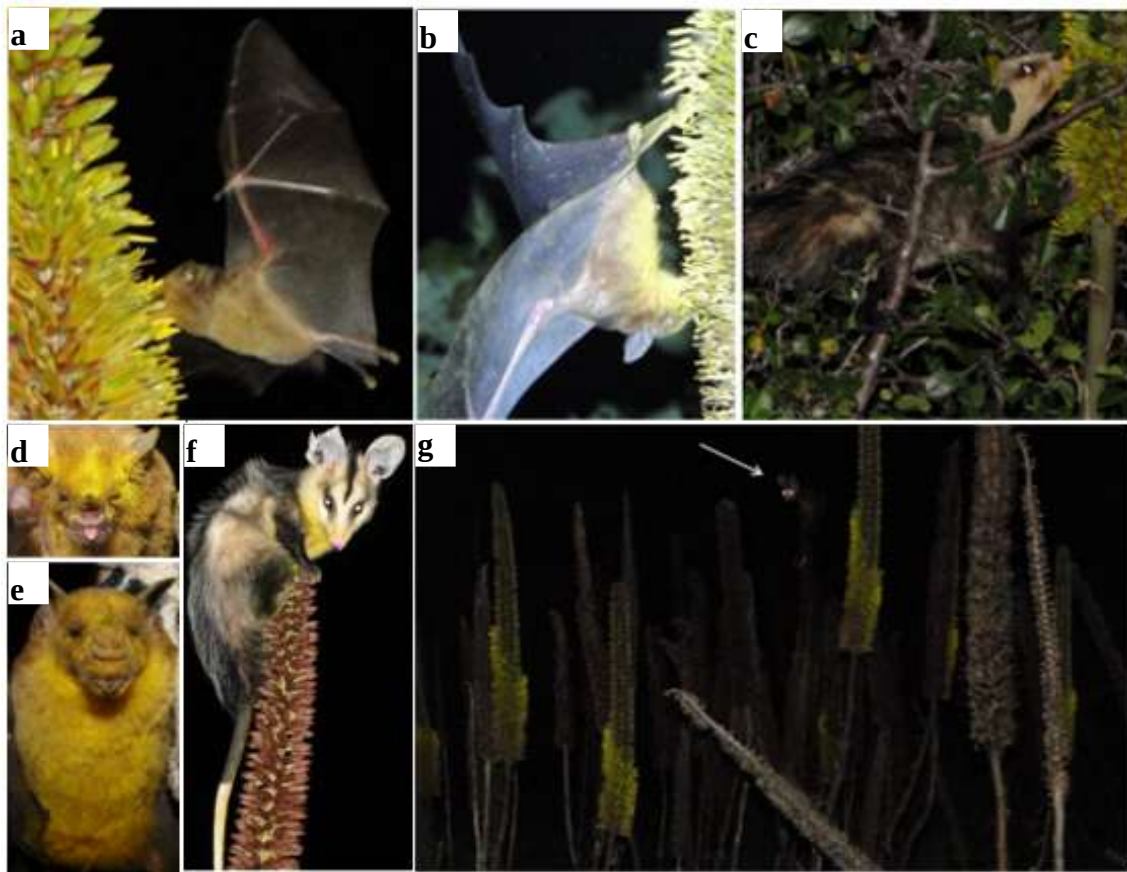


Fig. 5. Nocturnal pollinators of *Encholirium spectabile* in a Caatinga of Paraíba, northeastern Brazil. (a) *Glossophaga soricina* hovering to drink nectar, (b) *Phyllostomus discolor* grabbing the inflorescence in an upside down position to drink its nectar, (c) the opossum *Didelphis albiventris* drinking nectar in flowers of *E. spectabile*. Pollen load (d-f) concentrated on the muzzle of *G. soricina* (d), and spread on the abdomen and muzzle of *P. discolor* (e), and (F) on the snout, and neck of the opossum (arrow). In (g) an overview of the inflorescence arrangement of *E. spectabile* with open flowers that were recently accessed by *D. albiventris* (arrow).

CONCLUSÕES GERAIS

A rede de interações entre plantas e polinizadores noturnos de Caatinga apresentou estrutura significativamente modular ($M_Q = 0.36$), sendo constituída por 3 módulos: dois envolvendo esfingídeos e um exclusivamente morcegos como principais vetores de pólen. Como esperado, flores mais restritivas quanto à morfologia restringiram visitas apenas a esfingídeos e desse modo formaram módulos bem delimitados na rede. Apesar de esfingídeos terem apresentado conexões também com flores mais relacionadas à quiropterofilia, a análise quantitativa da modularidade revelou um módulo constituído exclusivamente por morcegos, o que indica que apesar de esfingídeos acessarem essas flores, de fato, morcegos têm papel mais importante nesse módulo mutualístico.

A maioria das espécies de plantas e polinizadores da rede de interações estudada apresentou valores de $c < 0.6$ (conectividade entre módulos) e de $z < 2.0$ (conectividade dentro dos módulos) o que as caracterizam como espécies periféricas.

Pilosocereus gounellei foi a principal espécie de planta em termos de conexões intra e inter módulos, e, segundo os valores de c e z registrados para essa espécie, foi caracterizada como sendo conectora. Noutro extremo, a espécie congênere *P. chrysostele* foi altamente periférica, apresentando conexões exclusivamente com morcegos nectarívoros especialistas (*Glossophaga soricina* e *Lonchophylla mordax*).

Tais espécies apresentam padrões de floração e morfologia floral semelhantes, no entanto, diferiram consideravelmente quanto o papel na rede. O fato de *P. chrysostele*, diferentemente de *P. gounellei*, emitir odor extremamente desagradável típico de quiropterofilia, pode ser um atributo importante e interferir na interação com outros tipos de polinizadores.

A variação de precipitação nos dois anos de estudos afeta a estrutura da rede principalmente quanto à robustez à perda acumulativa de espécies. Essa menor robustez no período mais seco pode estar correlacionada com a diminuição na complexidade da rede (*i.e.* número de plantas e polinizadores e número de interações) e também com a diminuição das conexões inter-módulos no ano de menor precipitação.

Os resultados do presente estudo podem fornecer previsões importantes que por sua vez podem auxiliar no entendimento de como serviços ecossistêmicos, como o de polinização, podem ser afetados diante dos cenários futuros de mudanças climáticas previstos. E indicam que a diminuição de chuvas em ecossistemas semi-áridos, como a Caatinga, pode afetar a robustez da rede, aumentando sua vulnerabilidade a perturbações.

Análises comparativas de flores das duas espécies de *Ipomoea* revelaram divergências significativas principalmente relacionadas a comprimento e largura de corola, horário de abertura e duração de antese, que interferem na interação com morcegos e beija-flores. Enquanto a polinização por morcegos gera mais frutos em *I. aff. marcellia*, a polinização por beija-flores gera mais frutos para flores de *I. marcellia*. Tais divergências devem minimizar o fluxo interespecífico de pólen e favorecer a co-ocorrência entre as espécies de *Ipomoea*.

O presente estudo traz pela primeira vez registro de polinização por marsupial (*Didelphis albiventris*) para área de Caatinga e para uma espécie de Bromeliaceae. Polinização por mamíferos não-voadores noturnos tem sido registrada para algumas espécies de plantas quiropterófilas e tem sido considerada, na maioria dos casos, como um tipo de interação oportunística. *Didelphis albiventris* visita as flores de *Encholirium spectabile* durante quase todo o período de floração, não causa danos florais, contacta com sua região ventral as partes reprodutivas das flores e se movimenta ao longo da

noite entre inflorescências de indivíduos distintos. Tal comportamento indica que esse marsupial, apesar do hábito oportunístico, é um polinizador efetivo de *E. spectabile*.

Sistema de polinização misto parece ser uma estratégia frequente entre espécies de plantas de Caatinga que apresentam flores primariamente adaptadas à polinização por morcegos. Tais flores apresentam antese predominantemente noturna, mas, com início e término de antese e disponibilidade de néctar estendidas para horários diurnos (*i.e.* final da tarde ou início de manhã). Nas coletas de campo foi possível registrar visitas frequentes de beija-flores em outras espécies de plantas com antese crepuscular-noturna além de *I. marcellia*, *I. aff. marcellia* e *E. spectabile* estudadas no presente trabalho, tais como em *Helicteres baruensis*, *Pseudobombax marginatum* e *Ceiba glaziovii*. Tal sistema de polinização mista pode conferir vantagens às plantas, uma vez que permite ampliar os serviços de polinização para outros grupos de polinizadores, no caso dessas espécies, principalmente para espécies de beija-flores, e, desse modo, aumentando potencialmente o sucesso reprodutivo.