

## ABORDAGENS HISTÓRICAS NO ESTUDO DAS INTERAÇÕES PLANTA-POLINIZADOR

*Aline Cristina Martins*

Universidade Federal do Paraná, Departamento de Zoologia, Laboratório de Biologia Comparada de Hymenoptera, Caixa Postal 19020, 81531980, Curitiba, PR, Brasil. *Endereço atual:* Systematic Botany and Mycology, University of Munich (LMU), Menzinger Strasse 67, 80638 Munich, Germany.  
Email: [aline\\_cmartins@yahoo.com.br](mailto:aline_cmartins@yahoo.com.br).

### RESUMO

As interações entre plantas e animais polinizadores são exemplos bem conhecidos de mutualismo interespecífico, que envolvem adaptações recíprocas e podem levar a coevolução. Na interação planta-polinizador o conceito de coevolução é muitas vezes inapropriado, já que em sua maioria as interações não são obrigatórias e geram padrões conflitantes de associação entre as espécies. Devido à natureza difusa deste tipo de interação, há uma tentativa por parte dos estudiosos em enquadrar as interações em categorias de especialização, como por exemplo, as síndromes florais. Abordagens ecológicas podem ser aplicadas no estudo destas interações (como registro dos visitantes florais e seu comportamento e eficiência na polinização, entre outros), sem necessariamente se basear na visão histórica ou evolutiva da interação. Na presente revisão, duas abordagens dentro de uma visão histórica da interação planta-polinizador serão apresentadas segundo seus principais métodos e alguns exemplos. A primeira parte trata do registro fóssil da interação, que é raro e pode ser indireto, quando o animal fóssil apresenta características morfológicas previamente conhecidas para um determinado tipo de interação; ou direto, quando a fossilização ocorreu no momento da interação, preservando juntos animais e plantas (ou partes de plantas). A segunda parte da revisão, diz respeito às hipóteses filogenéticas e está dividida em quatro abordagens distintas: (1) mapeamento de caracteres na filogenia; (2) estimativa da idade das interações; (3) co-filogenias e (4) associação com hipóteses biogeográficas. Parcimônia e/ou métodos baseados em modelo estão presentes em todos os trabalhos revisados e a eficácia de cada um deles também é discutida. O uso das hipóteses filogenéticas é sugerido como a abordagem mais importante no estudo da evolução destas interações e, dentro desta linha, a reconstrução dos estados ancestrais e mapeamento dos caracteres na filogenia são a base de grande parte do conhecimento que se tem a respeito do processo evolutivo das interações. Entretanto todas essas abordagens requerem uma grande disponibilidade de dados ecológicos bem coletados, o que se torna um desafio para a compreensão destas interações na biota Neotropical.

**Palavras-chave:** polinização; evolução; filogenia; registro fóssil; coevolução.

### ABSTRACT

#### **HISTORICAL APPROACHES IN THE STUDY OF PLANT-POLLINATOR INTERACTIONS.**

Interactions between plants and pollinating animals are well-known examples of interspecific mutualism, which involves reciprocal adaptations and can lead to coevolution. In plant-pollinator interaction the concept of coevolution is frequently inappropriate since the majority of interactions is non-obligate and makes conflicting patterns of association between species. Due to the diffuse nature of this kind of interaction, there is an attempt to divide the interactions in classes of specialization, such as the floral syndromes. Ecological approaches could be applied in the study of those interactions (for example, the floral visitor records and behavior and pollinator efficiency, among others), not necessarily based in the historical or evolutionary view of the interaction. In the present review two approaches in the historical view of the plant-pollinator interaction are presented according to their main methods and some examples. The first approach is regarding to the fossil record of interaction, which is rare and could be indirect, when a fossil animal presents morphological characters previously known for a particular kind of interaction; or direct, when the process of fossilization have occurred in the exact moment of the interaction, preserving together animals and plants (or parts of plants). The second part of the revision is regarding to phylogenetic hypothesis and is divided in four different approaches: (1) mapping characters in phylogeny; (2) estimating the age of interactions; (3) co-phylogenies and (4) association between phylogenetic and biogeographical hypothesis.

Parsimony and/or model-based method are present in all revised papers and their efficacy is also discussed. The use of phylogenetic hypothesis is suggested as the most important approach in the study of evolution of those interactions and, within this line of thought, the ancestral state character reconstruction and mapping them in the phylogeny is the base of a main part of our knowledge about the evolution of plant-pollinator interactions. However all those approaches require the availability of good collected ecological data, which is a major challenge for the understanding of those interactions in the Neotropical biota.

**Keywords:** pollination; evolution; phylogeny; fossil record; coevolution.

## INTRODUÇÃO

### TEORIAS ACERCA DE COEVOLUÇÃO

Desde Darwin (1862), a interação planta-polinizador é o tópico central no estudo da evolução das flores, e um dos melhores e mais estudado exemplos de mutualismo entre organismos de espécies diferentes. Esse tipo de mutualismo envolve adaptações recíprocas e, portanto, é um dos clássicos exemplos em que a evolução pode ser mediada por interações bióticas (Thompson 1989) e levar a coevolução (Anderson & Johnson 2008). A origem do termo coevolução também remonta a Darwin, embora o próprio não tenha utilizado a palavra *coevolução*, mas sim, diversas vezes, *coadaptação* que, para ele significava mudança recíproca (Thompson 1989). Atualmente chamamos coevolução às *mudanças recíprocas entre espécies que interagem* (Thompson 1989). Com o aumento significativo no número de trabalhos que utilizavam este termo, desde o importante precursor Ehrlich & Raven (1964), a palavra tornou-se sinônimo de qualquer aspecto de evolução entre espécies que interagem. Porém na tentativa de corrigir os mal-entendidos e formalizar o uso do termo, Janzen (1980) definiu os casos que não deveriam ser tratados como coevolução diferenciando termos como “interação”, “simbiose”, “mutualismo” e “interação animal-planta”.

Frequentemente as evidências de coadaptação (adaptação recíproca) entre espécies são utilizadas para inferir que as mesmas coevoluiram. Assume-se que um herbívoro que parasita uma planta coevoluiu com as defesas químicas, morfológicas e outras características do seu hospedeiro, embora esta não seja uma evidência definitiva de coevolução. Quando um parasita entra em um novo hábitat ele irá escolher aquelas plantas para as quais ele já possui habilidades de consumi-la impedindo assim que distingamos se as adaptações mútuas são frutos de coevolução ou não (Janzen 1980).

Coevolução envolve adaptação mútua e

especialização. Todo tipo de interação envolve algum tipo de adaptação, que pode ser pré-existente a interação, embora algumas interações sejam particularmente tendenciosas à evolução de adaptações e especialização. O parasitismo parece ser o exemplo mais contundente de especialização (em muitos casos extrema), que evoluiu a partir dos requisitos ao modo de vida parasita que produz uma série de obstáculos (ex.: longo período ligado ao hospedeiro, defesas induzidas pelo hospedeiro, dieta não-balanceada) à interação com muitas outras espécies (Thompson 1994). Thompson (1994) também separou, em termos de especialização, aquelas relações que são íntimas ou *simbióticas* (mutualismo em longo prazo), geralmente derivadas do parasitismo, daquelas *não-simbióticas* (relações a curto prazo), onde a seleção favorece a especialização em menor grau do que na primeira. O mutualismo em curto prazo é exemplificado pelos polinizadores, frugívoros, dispersores de sementes entre outros, e a especialização extrema entre eles é rara por que os recursos em geral são efêmeros; quase todos estes exemplos representam sistemas generalistas e normalmente existirá variação geográfica nas espécies que interagem (Thompson 1994).

A seleção sobre as características de espécies que interagem (e coevoluem) varia geograficamente e a coevolução, deste modo, é um processo sutil que remodela continuamente as interações interespecíficas (e conseqüentemente a morfologia de caracteres específicos) ao longo das diversas áreas geográficas em que as espécies ocorrem (Thompson 2005a, Anderson & Johnson 2008). Recentemente, a estruturação geográfica, juntamente com respostas dadas pela genética, ecologia e filogenética compuseram um conjunto de conhecimento acerca da coevolução, organizados de forma hierárquica numa teoria chamada “Mosaico geográfico da coevolução” (*The geographic mosaic of coevolution*) (Thompson 2005b).

Em linhas gerais a teoria do mosaico geográfico

da coevolução baseia-se nas seguintes pressuposições: 1. Existe variação genética entre populações que compõem uma espécie, cuja distribuição geográfica não se sobrepõe totalmente à outra espécie com a qual ela interage; 2. Existe um “conservantismo filogenético” que mantém as interações por muito tempo; 3. A maior parte das populações especializam suas interações em outras poucas espécies; 4. Existe uma “diferença nas interações interespecíficas” entre comunidades e 5. As espécies tornam-se “localmente adaptadas as populações” com as quais convivem. Baseando-se nestas pressuposições, foram estabelecidas três hipóteses evolutivas: 1. Mosaicos de seleção geográfica – a seleção natural em interações interespecíficas varia entre populações em parte por que há diferenças geográficas no quanto o *fitness* de uma espécie depende da distribuição de genótipos em outra espécie; 2. *Hotspots* coevolutivos: A seleção natural sobre uma interação não é recíproca em todas as comunidades onde ela ocorre, e a região onde é verdadeiramente recíproca é chamada de *hostpot* coevolutivo (o contrário é o *coldspot*); 3. *Trait remixing*: A estrutura genética das espécies que coevoluem muda através de novas mutações, deriva genética, extinção e etc., contribuindo para mudança no “mosaico” pela contínua alteração da distribuição de potenciais alelos e características que coevoluem. A grande contribuição desta teoria, além de unir conhecimentos de diversas áreas para a compreensão das interações planta-polinizador, é o de explicar as variações entre as espécies, corroborar a existência da evolução recíproca nas características que interagem e propor um novo método para estudar a coevolução através da variação geográfica, genética e fenotípica entre as populações.

A despeito da importância do conceito de coevolução na biologia evolutiva, no estudo de interações entre plantas e polinizadores ele é com grande frequência, inadequado, já que grande parte destas interações é muito menos especializada do que os casos de parasitismo. A maioria é facultativa e, ao contrário o mutualismo obrigatório é raro. O mutualismo entre plantas e polinizadores se estende desde a relação de um para um até interações extremamente difusas (Morgan 2000).

Porém existem ao menos duas exceções a esta regra: o mutualismo entre as mariposas-da-Yucca (gêneros *Tegeticula* e *Parategeticula*, Lepidoptera, Prodoxidae) e as plantas do gênero *Yucca* (Asparagaceae, *sensu* APG III) (Pellmyr & Leebens-

Mack 1999, Pellmyr & Krenn 2002); e o mutualismo entre figos (*Ficus*, Moraceae) e vespas-do-figo (Hymenoptera, Agaonidae) (Wiebes 1979, Janzen 1979). Em ambos os casos os insetos adultos são os únicos polinizadores das flores e suas larvas alimentam-se das sementes, porém não de todas, deixando muitas intactas; e ambas as partes possuem características óbvias adaptadas um ao outro (vide referências acima).

### ESPECIALIZAÇÃO E GENERALIZAÇÃO NA INTERAÇÃO PLANTA-POLINIZADOR

Devido a natureza difusa da maior parte das relações entre plantas e polinizadores, existe um esforço em unir os conceitos de mudanças recíprocas no comportamento, morfologia, bioquímica, entre outros, sob um único paradigma, o “grau de especialização” da interação. Um visitante floral é dito especialista quando visita um número restrito de plantas, normalmente pertencentes ao mesmo grupo ou família; nestes casos pode ser chamado de oligolético. Robertson (1925) foi o primeiro a utilizar os termos “oligolético” e “polilético” que, segundo ele significariam, respectivamente, “o hábito de coletar pólen de uma espécie, gênero ou família” e “o hábito de coletar pólen de plantas não relacionadas”. Michener (2007) considera ainda duas subdivisões dentro de oligolética, que seria o “estritamente oligolético”, quando o hábito se reduz a poucas espécies relacionadas e “amplamente oligolético”, quando os visitantes coletam pólen de uma família de plantas, ou famílias relacionadas. Müller (1996) sugeriu ainda um gradiente relacionado a quantidade de pólen presente na escopa das fêmeas de abelhas.

Não existe uma teoria única sobre a quantificação do grau de especialização nos sistemas de polinização (Johnson & Steiner 2000). Pode-se utilizar de listas de espécies, características morfológicas, sucesso reprodutivo, entre outros, porém é muitas vezes difícil julgar um sistema como especialista. Uma das tentativas mais conhecidas de se definir a especialidade nos sistemas de polinização foi a definição do conceito de “síndrome floral” na década de 1960 (Faegri & Van der Pijl 1966). Uma determinada flor reúne uma série de características adaptadas a polinização por um tipo de animal (por exemplo, flores vermelhas, diurnas e sem odor = polinização por aves) que é suficiente para reconhecer, mesmo sem as observações de campo,

quais são os visitantes daquela flor, constituindo assim, a síndrome floral apresentada por aquela planta. Esta visão de que os sistemas de polinização tendem a especialização foi contestada por Waser *et al.* (1996) que demonstrou que esses sistemas são mais generalistas e dinâmicos do que tradicionalmente se pensava. Apesar das críticas que o conceito de síndrome floral recebeu, Fenster *et al.* (2005) demonstraram que este pode ser útil na compreensão dos mecanismos de diversificação floral, baseando-se na importância em se organizar os polinizadores em grupos funcionais de acordo com as similaridades na pressão de seleção que exercem. Atualmente, os índices de especialização de redes podem ser um bom indicativo do grau de especialização de um sistema (Bascompte & Jordano 2006, Blüthgen 2010).

Alguns casos de especialização extrema podem ser evidenciados através de caracteres morfológicos (de ambas as partes) adaptados a ocorrência da interação. Um caso clássico é das mariposas (*hawkmoths*) que possuem aparelho bucal (probóscide ou *tongue*) extraordinariamente longo adaptado aos longos tubos da corola (esporões ou *spurs*) de orquídeas, onde o néctar é armazenado como recompensa (Nilsson 1992, Whittall & Hodges 2007). O maior exemplo de especialização entre abelhas que coletam óleos florais é evidenciado no gênero *Rediva* (Apidae: Melitinae) que possui longas pernas adaptadas a coleta de óleo nos longos tubos da corola (esporões ou *spurs*) de espécies de *Diascia* (Scrophulariaceae) (Steiner & Whitehead 1990, Steiner & Whitehead 1991). Mesmo dentro destes exemplos singulares, é difícil estabelecer as relações de coevolução estrita de uma característica de um componente da interação em relação ao outro. Waserthal (1997) (citado em Nilsson 1998) descreveu o mecanismo de polinização de *Angraecum sesquipedale* (Orchidaceae) por *Xanthopan morgani*, uma mariposa com língua extraordinariamente longa como previra Darwin. Porém, ao contrário do que se imaginava a língua longa de *X. morgani* não evoluiu como forma de adaptação as flores da orquídea, mas sim para evitar a predação por aranhas e mantídeos, enquanto as mariposas sugam o néctar das flores (Nilsson 1998). Por outro lado, no caso das flores de *Diascia*, estas são totalmente dependentes das abelhas do gênero *Rediviva* para polinização (Steiner & Whitehead 1990, Steiner & Whitehead 1991), embora a recíproca não seja verdadeira; *Rediviva* explora óleos florais em diversas

outras plantas, como *Colpias*, família Scrophulariaceae (Steiner & Whitehead 2002), e outras Orchidaceae (Pauw 2006).

O estudo das interações entre plantas e polinizadores possui diversas linhas de desenvolvimento que podem basear-se em um ou mais aspectos da relação entre os grupos de interesse. De maneira mais tradicional, a interação é primeiramente registrada através da observação da visita de animais (insetos, pássaros, morcegos e etc.) às flores de uma determinada planta (ex. Renner 1989). Neste caso, a distinção entre os visitantes que apenas utilizam os recursos florais e os visitantes vetores de pólen (polinizadores) é um pré-requisito essencial para a investigação de qualquer sistema de polinização (Johnson & Steiner 2000).

Outros tipos de evidências são utilizados para determinar o quão específica é a relação entre plantas e visitantes florais, entre as quais podemos citar: evidências comportamentais de ambas as partes, por exemplo, as flores cuja antese é diretamente ligada ao horário de atividade dos polinizadores (ex. Gottsberger 1999) ou quando a planta requer um comportamento adequado do polinizador para explorar o recurso que ela oferece. A polinização por vibração é um bom exemplo em que a especialização requerida é o comportamento específico do polinizador (abelhas) em vibrar as anteras para que o pólen seja liberado das anteras com deiscência por fendas, poros ou valvas em flores de diversas famílias de angiospermas (Buchmann 1983).

O sucesso reprodutivo das plantas (formação de sementes viáveis) decorrente da interação é frequentemente utilizado para caracterizar a interação como bem-sucedida e íntima (ex. Smidt *et al.* 2006). A diferença entre taxas de visitação e eficiência dos polinizadores é testada através da observação direta e modo como estes carregam o pólen ou através de testes específicos onde se expõe a flor recém-aberta a visitação, medindo-se deposição de pólen no estigma, remoção de pólen e formação de sementes, frequentemente resultando em um número de polinizadores muito menor que o número total de visitantes (Johnson & Steiner 2000).

Pauw (2006) utilizou, entre outros parâmetros, a co-ocorrência geográfica entre a espécie de abelha *Rediviva peringueyi* e seis espécies de orquídeas polinizadas por ela, que apresentam uma série de características semelhantes que poderiam ser

consideradas uma síndrome: cor amarelo-esverdeado, odor acre, secreção de óleo, flores rasas e pico de floração em setembro. A biogeografia é uma evidência adicional da relação entre estas espécies, pois a sobreposição entre as distribuições geográficas foi quase total.

A despeito da importância que as abordagens citadas têm no estudo da interação entre plantas e polinizadores, falta o componente histórico que ajuda a hipotizar a história evolutiva da interação. Aqui serão exemplificadas e discutidas duas abordagens históricas complementares aos estudos ecológicos: o registro fóssil dos seres que interagem e a reconstrução filogenética dos grupos que fazem parte de uma dada interação. A despeito da grande utilidade do registro fóssil no entendimento da evolução destas relações, infelizmente, ele é escasso, em especial em grupos importantes de polinizadores como as abelhas (Michener 2007). Por outro lado, as ferramentas analíticas filogenéticas têm o poder de responder as mesmas questões do registro fóssil e são as ferramentas mais utilizadas neste processo de construção de uma hipótese de evolução entre as espécies que interagem. Nas próximas seções, ambas as abordagens serão detalhadas e discutidas, com ênfase no papel das filogenias nas hipóteses de relacionamento entre plantas e polinizadores. A importância do registro fóssil será destacada pela revisão das descobertas fósseis que possibilitaram o registro histórico de informações relativas à interação planta-polinizador.

## REGISTRO FÓSSIL DAS INTERAÇÕES PLANTA-POLINIZADOR

A ocorrência de polinização por animais, em especial insetos, em outros períodos da história geológica pode ser observada pela evidência *direta* (partes florais presentes em insetos fossilizados) ou *indireta* através do estudo das possíveis adaptações da morfologia de fósseis de angiospermas e insetos, além da filogenia de polinizadores fósseis e viventes (Grimaldi 1999).

Evidências diretas de interação são raras. Em muitos insetos do Permiano e Mesozóico dos Montes Urais foram encontradas grandes quantidades de pólen de gimnospermas no aparelho digestório (Krassilov *et al.* 2007). A quantidade de pólen e o fato de que cada estômago apresentava apenas um tipo de pólen, indica

que estes insetos alimentavam-se seletivamente do pólen das gimnospermas e, talvez, carregavam-no de uma planta a outra (Grimaldi 1999). Mesmo antes do surgimento das angiospermas, as interações entre insetos e plantas já estavam presentes e, na ausência de flores e seus atrativos, o reconhecimento da morfologia polínica era um requerimento fundamental por parte dos polinizadores (Krassilov *et al.* 2007).

O primeiro fóssil inequívoco de uma Orchidaceae foi descoberto no depósito de âmbar da República Dominicana através do polinário de *Meliorchis caribea* aderido ao fóssil da abelha *Proplebeia dominicana* (Ramirez *et al.* 2007). Este é um dos raros exemplos diretos de interação planta-polinizador presente no registro fóssil. O polinário aderido ao corpo da abelha é uma evidência que vai além da simples constatação da interação, mas que mostra que este inseto possuía a capacidade de polinizar *M. caribea*, já que a partir de evidências atuais sabe-se que a morfologia exigida para a retirada do polinário da flor de uma orquídea é a mesma necessária para a sua subsequente entrega em outra flor (Ramirez *et al.* 2007). Outra evidência de interação planta-polinizador, também proveniente do âmbar da República Dominicana, é associação obrigatória entre *Ficus* e vespas-do-figo. Alguns fósseis de vespas Agaonidae foram encontrados com pólen de *Ficus* aderido ao mesossoma (Peñalver *et al.* 2006).

A evolução das primeiras angiospermas foi revolucionada nas últimas décadas pela aplicação de três modos de investigação: o uso de filogenias no estudo das relações entre angiospermas fósseis e viventes; descobrimento de fósseis do Cretáceo e uso de sequências de DNA em filogenias moleculares para um grande número de taxa (Grimaldi & Engel 2005). As angiospermas surgiram no Cretáceo Inferior, mas foi entre o Aptiano e Turoniano (meados do Cretáceo) que houve o pico de sua diversificação e o surgimento de diversas características reprodutivas relacionadas a polinização por insetos, como pétalas, sépalas, anteras modificadas, nectários, entre outros (Grimaldi 1999). A presença de características entomófilas no registro fóssil de uma flor é uma evidência quase conclusiva de que aquela planta era polinizada por insetos. Estas características são utilizadas como evidência fóssil indireta de associação entre plantas e polinizadores, mesmo quando as evidências diretas estão ausentes.

Enquanto nas plantas fósseis e viventes estão presentes várias características entomófilas, nos insetos existe uma grande generalização morfológica na exploração das flores. Com exceção das abelhas que possuem diversas estruturas especializadas ao hábito antófilo, grande parte das adaptações nos insetos diz respeito ao comportamento e, portanto, não é registrada em fósseis (Grimaldi 1999, Grimaldi & Engel 2005). A probóscide alongada é geralmente apontada como a melhor caracterização do hábito de alimentar-se em flores nos insetos, embora esta característica também esteja associada a outros hábitos de vida (Grimaldi 1999). A presença de asas especializadas que capacita o inseto a realizar movimentos complexos durante o vôo é uma evidência que suporta a antofilia em um determinado fóssil (Grimaldi & Engel 2005).

## RELAÇÕES FILOGENÉTICAS DE PLANTAS E POLINIZADORES

A mudança mais notável no estudo das interações entre plantas e animais ao longo dos últimos anos foi o crescente aumento no papel das filogenias no estudo de adaptação mútua e coevolução (Renner & Schaefer 2010). Este aumento deve-se principalmente ao grande desenvolvimento das ferramentas moleculares, que permitem comparação entre grupos muito distantes e a estimativa da idade baseados em relógio molecular ou registro fóssil. Podemos destacar basicamente quatro abordagens nas quais o uso de filogenias pode ser útil para o estudo das interações planta-polinizador: 1. Mapeamento das interações e/ou caracteres na filogenia e inferência do surgimento de determinados comportamentos e interações; 2. Definição da idade dos grupos e consequente da interação; 3. Co-filogenias e 4. União de hipóteses filogenéticas a uma análise biogeográfica para melhor compreensão de padrões atuais de distribuição e especiação das espécies que interagem. Todas as abordagens serão discutidas e exemplificadas nas próximas seções.

### MAPEAMENTO DAS INTERAÇÕES NAS FILOGENIAS

Na ausência de registro fóssil, o mapeamento de características ecológicas nas filogenias tem sido o método mais difundido e bem-sucedido no estudo de evolução adaptativa (Johnson *et al.* 1998).

Quando grande quantidade de informações filogenéticas e ecológicas é conhecida, o estudo comparativo de redes mutualísticas e filogenia pode ser a abordagem mais completa no estudo da evolução das interações planta – polinizador. Esta abordagem une os parâmetros das duas ferramentas, as redes mutualísticas, número de interações por espécies e identidade destas, além de nível dependência dos animais da rede em relação às plantas com as quais interagem; e da filogenia, o relacionamento entre as espécies. E pode responder a diversas questões, como o quanto a rede ecológica é influenciada pela filogenia das espécies que interagem, a similaridade no papel das espécies filogeneticamente próximas na rede e extinções não-aleatórias influenciadas pela filogenia (Rezende *et al.* 2007). Porém, em grande parte dos casos, estão presentes apenas informações esparsas sobre as interações e, principalmente na região Neotropical, estes estudos ainda são impossibilitados.

As filogenias, como representação da diversificação do grupo, apresentam-se como uma forte evidência da evolução quando as interações são mapeadas em seus ramos. Mesmo em sistemas muito complexos de interações, elas ainda podem ser a melhor ferramenta. Johnson *et al.* (1998) utilizaram a filogenia para as espécies do gênero *Disa* (Orchidaceae) para compreender a evolução de sistemas de polinização muito variados entre suas espécies. Porém, apesar de se basearem em uma filogenia robusta e bem resolvida, ela representava apenas uma pequena parcela da diversidade do gênero (cerca de 20%), o que pode subestimar a variedade de interações e a complexidade do sistema como um todo.

As plantas do gênero *Dalechampia* (Euphorbiaceae) e suas interações com os polinizadores que coletam resina em suas flores foram estudadas profundamente em diversos estudos com enfoque ecológico. Mas apenas Armbruster (1999) teve uma contribuição abrangente da evolução do sistema de polinização e recompensa destas plantas através do mapeamento de características ecológicas na filogenia. Armbruster (1999) observou que as resinas produzidas nas brácteas de *Dalechampia* originaram-se anteriormente a função de recompensa para os visitantes como uma forma de exaptação da característica anterior, provavelmente, como proteção contra herbívoros. O termo *exaptação* foi cunhado por S.J. Gould, e significa, em linhas gerais, uma

“característica que é originada anteriormente a sua presente função”; contrasta com o termo *adaptação*, uma “característica que se originou através da seleção natural em favor de função atual”.

Mapear características ecológicas na filogenia pode envolver desde o simples destaque dos ramos que possuem determinadas características (em cores diferentes, por exemplo) até análises mais complexas como a reconstrução de estados ancestrais através de análises de parcimônia, Máxima Verossimilhança (ML, do inglês *Maximum Likelihood*) ou inferência Bayesiana em softwares específicos, como MacClade (Maddison & Maddison 2003), BayesTraits (Pagel 2005), SIMMAP (Bollback 2006), respectivamente.

O gênero de plantas andino altamente diverso, *Calceolaria*, possui um sistema de polinização especializado, onde basicamente apenas abelhas coletoras de óleos florais atuam (Vogel 1974). A evolução das características morfológicas das flores de *Calceolaria*, entre outras, e do sistema de polinização foram mapeados em uma árvore filogenética resultante da análise de parcimônia de evidência total (caracteres morfológicos e moleculares) (Cosacov *et al.* 2009). A partir desta análise é possível inferir quantas vezes a produção de óleo foi adquirida e/ou perdida no gênero, o surgimento da polinização nototribica (em contraposição a esternotribica) e ainda a troca de polinizadores, de *Centris* (Apinae: Centridini) para *Chalepogenus* (Apinae: Tapinotaspidini). Assim, o surgimento da produção de óleo aconteceu nas linhagens basais do gênero e a perda ocorreu mais de uma vez independentemente, com a troca para sistemas menos especializados, como adaptação a regiões onde as abelhas coletoras de óleo são escassas, como as áreas mais altas ou de latitude menor. Em outro grupo de plantas coletoras de óleo, onde a reconstrução dos caracteres ancestrais através da filogenia foi realizada, *Sysirinchium* (Iridaceae), este padrão de perda da produção de óleo em áreas temperadas onde os coletores de óleo especializados nestas plantas não ocorrem, também foi encontrada (Chauveau *et al.* 2011).

Também a partir da análise de máxima parcimônia, Michez *et al.* (2008), analisaram os padrões de troca no espectro de plantas hospedeiras em abelhas oligoléticas da subfamília Melittinae. Por exemplo, no gênero *Dasygoda*, o estado ancestral é a oligoleticia em Asteraceae, mas durante a diversificação do grupo

houveram três trocas deste padrão: 1. Para a polileticia com forte preferência por Cistaceae, 2. Para a oligoleticia em Dypsacaceae e 3. Da polileticia com preferência por Cistaceae para a oligoleticia em Cistaceae. Apesar da abordagem explicativa do trabalho, ainda faltam análises mais completas incluindo aspectos biogeográficos e uma filogenia mais robusta e bem-resolvida para a maior parte dos gêneros de Melittinae.

No caso das abelhas do gênero *Andrena*, o estudo de Larkin *et al.* (2008) apresenta uma análise semelhante, através de parcimônia, onde a principal questão é quantas vezes houve a troca do nicho oligolético para o polilético neste grupo. A análise mostrou que a oligoleticia é um caráter ancestral, assim como em *Dasygoda*, e a troca para a polileticia ocorreu diversas vezes, sendo o número de vezes dependente do tipo de otimização utilizada (ACCTAN ou DELTRAN). Este padrão de troca da oligoleticia para a polileticia, ainda foi observado também em outros grupos de abelhas, como Anthidiini (Apidae: Megachilinae) (Müller 1996) e *Chelostoma* (Apidae: Megachilinae) (Sedivy *et al.* 2008).

Em *Diadasia* (Apinae: Emphorini) a otimização das preferências florais e da amplitude do nicho na filogenia revelou padrões diferentes (Sipes & Tepedino 2005). Mais precisamente, não houve um padrão exato de oligoleticia para polileticia ou vice-versa. Expandindo a análise para grupos externos ao gênero, observou-se que a troca da condição ancestral, que é a preferência por Malvaceae, por outras famílias de plantas como Convolvulaceae ou Cactaceae, refletia um retorno a uma condição ainda mais antiga, que são as preferências florais de outros gêneros de abelhas proximamente relacionados. Embora o hábito oligolético possa ser explicado como uma tentativa de evitar a competição com outros polinizadores, muitos grupos se especializam em plantas que são utilizadas por uma grande variedade de outros grupos, assim a oligoleticia é mais bem explicada pela seleção por parte do polinizador de características florais específicas da planta (Sedivy *et al.* 2008). A generalização como caráter ancestral seria o esperado, mas não é o que ocorre em todos os exemplos citados.

Patiny *et al.* (2008) utilizaram, além da reconstrução de caracteres através da parcimônia, a análise de co-cladogênese no software *Component* (Page 1993) e a história biogeográfica baseada em eventos para o estudo da evolução das preferências

florais das abelhas Rophitinae (Apidae: Halictinae) (os dois últimos itens serão discutidos nas subseções (3) e (4)). Assim como os outros grupos supracitados, Rophitinae apresenta claras preferências florais dentro dos gêneros, sendo algumas espécies inclusive, monoléticas, ou seja, forrageiam em apenas uma planta hospedeira. Embora estas abelhas forrageiem em ordens relacionadas de plantas, as análises mostraram que várias trocas ocorreram. Este trabalho, assim como Sipes & Tepedino (2005), mostram que as trocas de preferências florais são muito comuns ao longo da história evolutiva das abelhas, e que são influenciadas menos pela filogenia das plantas hospedeiras, do que pela abundância e disponibilidade de recursos.

Em lugar de analisar uma série de caracteres florais no estudo da evolução com os polinizadores, nas orquídeas do gênero *Huttonaea* apenas a evolução da denominada “garra” da pétala (*petal claw*) que distancia a parte reprodutiva (estigma e polinário) do local onde é armazenado o recurso (o par de sacos de óleo) foi analisada (Steiner 2010). A escolha de uma característica como chave na evolução da morfologia da flor adaptada ao comportamento do polinizador é baseada na observação em campo da interação, assim como na experiência prévia em sistemas semelhantes. O autor conclui que houve uma tendência no aumento do tamanho desta estrutura na evolução do grupo, para compensar a diminuição do *display* floral, ou seja, de sua atratividade aos polinizadores, em decorrência das adaptações ao ambiente aberto ou pela adaptação ao melhor posicionamento do polinário em relação ao comportamento de coleta do polinizador (Steiner 2010). O mais interessante fato é que a história evolutiva do gênero e das “garras” da pétala não explica a evolução do *meranthium*, que seria a união de partes florais em uma única unidade de polinização, em *Huttonia pulchra*. Os dois sacos contentores de óleo são uma adaptação às abelhas coletoras de óleos florais do gênero *Rediviva* que coletam este recurso em diversas plantas, tendo todas em comum o fato de serem adaptadas à exploração de suas glândulas de óleo com as pernas anteriores simultaneamente (vide: Steiner & Whitehead 1990). Assim, a evolução da morfologia peculiar em *H. pulchra* evoluiu em paralelo a modificações no comportamento dos visitantes que, não podendo explorar ambos os sacos simultaneamente, devido ao aumento do tamanho das “garras” da pétala, o fazem um de cada vez, e as partes da flor foram deslocadas para que haja o contato dos

polinizadores com as partes reprodutivas (Steiner 2010). Esta é uma boa evidência de como o comportamento dos polinizadores pode influenciar a morfologia floral e vice-versa.

Na análise de parcimônia para reconstrução dos caracteres ancestrais de Ley & Claßen-Bockhoff. (2011) foram utilizadas características morfológicas da flor, visitantes florais e distribuição geográfica como caracteres, basicamente para investigar a correlação destes com os eventos de especiação no grupo. Os tipos florais e a especialização em guildas diferentes de polinizadores (no caso, abelhas e pássaros) foram fatores importantes de especiação nos cladogramas mais basais do grupo, na medida em que promoveram o isolamento reprodutivo entre as espécies (Ley & Claßen-Bockhoff 2011). Os eventos biogeográficos (ambos vicariância e dispersão) foram fatores adicionais ao processo de especiação. Neste caso, a solução mais parcimoniosa para as trocas entre polinização por pássaros e abelhas, ou seja, que mostra apenas uma troca de abelhas para pássaros não é a melhor solução, já que a polinização por pássaros é mais eficiente e vantajosa do que a realizada pelas abelhas. Então é possível que essa troca tenha ocorrido mais de uma vez. Este resultado evidencia que, mesmo sendo o método mais utilizado para a evolução dos caracteres envolvidos na interação planta – polinizador pode não ser o mais adequado em casos em que a evolução não é necessariamente parcimoniosa.

Embora a parcimônia ainda seja o método mais comum para a reconstrução da história de caracteres relacionados à polinização, atualmente tem crescido o número de abordagens utilizando métodos baseados em modelos, como Máxima Verossimilhança (ML) (Perez *et al.* 2006, Sedivy *et al.* 2008) e Inferência Bayesiana (Tripp & Manos 2008), ambas oferecendo a vantagem de incluir comprimentos de ramos, taxa diferenciada de transição de um estado a outro e suporte estatístico para uma dada reconstrução (Smith 2010).

É possível unir um método de otimização a outro, por exemplo, parcimônia e ML; primeiramente utiliza-se a parcimônia para mapear os caracteres no cladograma e, assim aplicar a análise de ML, que inclui os tamanhos de ramos como parâmetro (Sedivy *et al.* 2008). O resultado de ambos os métodos é semelhante, mas a ML adiciona informações de valor de probabilidade de ocorrência de cada uma das reconstruções de estados ancestrais de caracteres

(Smith 2010). Em contrapartida, a identificação das mudanças e o número delas é mais difícil com a ML. As otimizações com parcimônia são ainda mais comuns pela disponibilidade de *software*, que no caso da ML são recentes, e mais recentes ainda são aqueles que aplicam a Inferência Bayesiana, que oferecem a vantagem de quantidade e direção das mudanças ocorridas, com o comprimento de ramos e estatística semelhante a ML (Smith 2010).

A reconstrução de estados ancestrais através de ML foi utilizada por Perez *et al.* (2006) para uma série de caracteres relacionados a síndrome floral por abelhas, mariposas ou beija-flores nas flores do gênero *Schizanthus* (Solanaceae). Os autores encontram um interessante padrão entre as características florais, e a consequente síndrome predita e os visitantes, exceto pela ausência de mariposas em algumas espécies caracteristicamente adaptadas a estes insetos. Tripp & Manos (2008) utilizaram ML e Inferência Bayesiana no estudo da evolução das cores das flores das plantas do gênero *Ruellia* (Acanthaceae) fortemente associadas ao tipo de visitante. Os resultados desmistificam o fato de que a especialização é um “beco sem saída”, pois em alguns casos as mudanças podem ser bidirecionais.

Independentemente do método de otimização, a reconstrução dos estados ancestrais dos caracteres morfológicos, interações, entre outros, mostra-se como a grande utilidade das hipóteses filogenéticas no estudo da evolução planta-polinizador. Além de substituir, ao menos em parte, o registro fóssil dos estados ancestrais, essa abordagem pode explicar muitos dos padrões de preferências florais, morfologia, e adaptações únicas que, os trabalhos de campo em biologia da polinização, não explicam.

#### ESTIMATIVA DE IDADES DAS INTERAÇÕES

Na abrangente revisão de Renner & Schaeffer (2010) sobre a evolução do mutualismo entre plantas produtoras de óleos florais e abelhas, foram utilizadas informações filogenéticas presentes na literatura, além de registros fósseis e datação molecular para ambos os grupos. Os autores contavam com a favorável situação da publicação de diversas filogenias utilizando dados moleculares de plantas e, também das abelhas. A união de dados possibilitou a definição do número de ganhos e perdas do óleo floral nas diversas famílias, data de surgimento da oferta de óleo e data de surgimento do comportamento de coleta de óleo nas

abelhas. Desde o descobrimento de flores que produzem óleos por Vogel (1974) especulava-se que esta característica havia surgido independentemente nas diversas famílias, através da observação de morfologia variada da flor e das glândulas de óleo. Porém, apenas com o trabalho de Renner & Schaeffer (2010) é possível ter uma noção histórica do surgimento desta característica e, conseqüentemente do mutualismo com as abelhas que coletam óleo.

As relações não-obrigatórias como a citada acima envolvem muitas mudanças, reversões e trocas de hospedeiros, o que faz com que a estimativa de idade da interação seja mais difícil para grandes grupos, necessitando do detalhamento em níveis genéricos ou específicos. Quando o mutualismo obrigatório num grande clado acontece, por exemplo, a associação yucca-mariposas e figos-vespas, a estimativa de idade não só pode ser útil, como pode ser a principal evidência de que as partes da interação realmente coevoluíram (Lopez-Vaamonde *et al.* 2009, Pellmyr & Leebens-Mack 1999, Rønsted *et al.* 2005).

Os principais desafios do uso da datação molecular com fins de inferir os passos da evolução planta-polinizador são: a divergência e a escolha do melhor método, a existência de uma filogenia robusta que, em muitos casos é dificultada pela escassez de material biológico disponível, e a existência de fósseis relacionados para os nós de calibração do relógio molecular. Esta análise, embora útil, ainda responde pouco em relação à ampla variedades de perguntas que envolvem a interação planta – polinizador.

#### CO-FILOGENIAS

A construção de filogenias de grupos que interagem podem levar as co-filogenias ou filogenia em imagem especular, quando ambas possuem o mesmo (ou quase) padrão de ramificação. Este tipo de relação é mais comum nas relações parasita-hospedeiro, onde as interações são frequentemente obrigatórias e pouco difusas. Mesmo nestes casos, além da coevolução propriamente dita, outras explicações podem ser dadas para este padrão, como evolução sequencial, quando as mudanças em um táxon podem levar a mudanças no outro, mas o contrário não ocorre e, especiação alopátrica através do surgimento de uma barreira (vicariância) (Ridley 2006).

A aplicação das co-filogenias para relações planta – polinizador é pouco útil na maior parte dos casos, por que as relações são difusas e,

frequentemente muito mais complexas do que uma imagem especular. Porém, existem casos em que essa ferramenta funciona bem, por exemplo, quando as relações se restringem a poucas espécies que, na maior parte dos casos apresentam congruência filogenética (Mant *et al.* 2002). Em outros, embora as filogenias não resultem em uma imagem especular devido ao grande número de trocas, e padrões diversos de especificidade, ela pode ser um bom guia para visualizar padrões em relacionamentos relativamente difusos, como é o caso das abelhas da tribo Ctenoplectrini e suas relações com Cucurbitaceae que produzem recompensas aos polinizadores na forma de óleos florais (Schaefer & Renner, comunicação pessoal). Nos casos clássicos de mutualismo obrigatório entre plantas e polinizadores, como as vespas do figo e o figo, o uso de co-filogenias desafiou a noção tradicional de coevolução estrita entre estes organismos, na medida em que revelou padrões assimétricos de especialização e coevolução difusa (Marussich & Machado 2007).

A análise com o programa Component (Page 1993) é uma das ferramentas para o estabelecimento de co-filogenias. Aplicado ao estudo da associação entre abelhas oligoléticas e suas plantas hospedeiras mostrou um alto número de duplicações (no caso de congruência entre os cladogramas este número deveria ser zero) e, portanto pouca correlação com as filogenias das plantas hospedeiras (Patiny *et al.* 2008).

#### HIPÓTESES BIOGEOGRÁFICAS ASSOCIADAS À FILOGENIA

A distribuição geográfica das espécies é considerada como um fator-chave nos estudos de coevolução (Thompson 2005b). Em muitos estudos os dados de distribuição geográfica são utilizados para separar as guildas de espécies que interagem que frequentemente apresentam diferença no fluxo gênico, comportamento e diferenciação morfológica de flores e polinizadores (ex. Nuismer *et al.* 1999, Anderson & Johnson 2008, Pauw *et al.* 2009, ).

Em estudos ecológicos, a distribuição geográfica das plantas e dos polinizadores pode ser mapeada em conjunto para inferir dependência mútua entre as espécies através da sobreposição de áreas de ocorrência (Pauw 2006, Steiner & Whitehead 2002). Porém, essa abordagem falha em diversos aspectos, pois não considera o fator histórico envolvido na distribuição destas espécies, por exemplo, eventos de

vicariância e dispersão, que possam ter influenciado a atual distribuição dos organismos. Em contrapartida, muitos estudos tentam considerar o fator histórico, principalmente quando associados a filogenias moleculares. Nos estudos levantados, com enfoque na evolução de plantas e polinizadores, os métodos de biogeografia histórica baseados em eventos, como a DIVA (*Dispersal-Vicariance Analysis*) (Ronquist 1997) e a reconstrução de distribuição ancestral através de parcimônia no MacClade (Maddison & Maddison 2003), foram os métodos mais utilizados.

Os métodos biogeográficos baseados em eventos são comumente utilizados como acessórios ao estudo de evolução do grupo (Litmann *et al.* 2011), mas raramente como base para a evolução do sistema de polinização/coleta de recursos de plantas e abelhas. Existem exceções. O caso das abelhas Rhophitinae, citado anteriormente na subseção (2), onde as trocas frequentes de hospedeiro revelaram uma pequena influência da filogenia das plantas hospedeiras (Patiny *et al.* 2008). A análise complementar com a DIVA, mostrou que houve dois eventos de vicariância (1. entre América do Sul e do Norte e 2. entre América do Norte e Eurásia) e um evento de dispersão entre Eurásia e América do Norte no gênero *Dufourea*. Estes dados não são discutidos em relação às preferências florais, mas infere-se que as plantas hospedeiras são semelhantes entre as espécies da América do Sul e Eurásia e que as espécies da América do Norte possuem preferências florais únicas (Patiny *et al.* 2008). Mas, como a quebra entre América do Norte e América do Sul é anterior a quebra com a Eurásia, permanece confusa esta relação de preferências florais entre estas abelhas. Uma possibilidade é que as preferências florais não sejam influenciadas pela história biogeográfica e outra que há falta de dados e que a análise em nível de ordem das angiospermas (nas preferências florais) seja um tanto superficial para o entendimento desta questão.

Em conjunto com a reconstrução de caracteres e a filogenia, a história biogeográfica pode ajudar a entender o processo de evolução do grupo como um todo e responder a questões mais específicas: diversificação do grupo, fatores associados aos padrões de especiação, o surgimento de determinadas associações e o desaparecimento de outras (Cosacov *et al.* 2009, Chauveau *et al.* 2011, Ley & Claßen-Bockhoff 2011).

Como exemplificado na subseção (3), diversos fatores podem levar a padrões de co-especiação, um deles pode ser a coevolução, mas também a padrões de vicariância ou co-vicariância. As hipóteses de ocorrência de coevolução ou co-vicariância foram testadas para o mutualismo obrigatório de yucca – mariposas, através de dados moleculares (genética de populações e filogeografia), taxas de mutação e estimativa do tempo de divergência e taxas de migração, com foco na espécie *Yucca brevifolia* e seus polinizadores (Smith *et al.* 2008). Tanto os dados genéticos quanto as estimativas de tempo de divergência rejeitaram a hipótese de que fatores biogeográficos estariam produzindo o padrão de distribuição e co-diversificação entre estas espécies (Smith *et al.* 2008). A interação entre as espécies pode ser em muitos outros casos de mutualismo obrigatório, mais importantes do que os eventos de vicariância.

## CONCLUSÕES

(1) O uso dos diversos métodos de reconstrução filogenética e métodos derivados mostraram-se a abordagem mais importante no estudo da evolução das interações entre plantas e polinizadores até o momento, por estarem presentes na solução de grande parte das questões sobre o tema. Essas ferramentas são relativamente recentes e cresceram muito com a implementação de dados moleculares nas reconstruções filogenéticas.

(2) O mapeamento dos caracteres nas filogenias e reconstrução dos estados ancestrais de caracteres importantes na interação é a abordagem mais difundida utilizando dados filogenéticos para compor um cenário de evolução da interação. Diversas hipóteses podem ser levantadas através deste método, mas a sua aplicação ainda encontra o desafio de necessitar de um grande número de registros de interações para respostas conclusivas. O método mais promissor, pela sua crescente utilização, para esta abordagem são os métodos estocásticos Bayesianos.

(3) As estimativas das idades das interações ainda encontram o desafio do resultado divergente entre as metodologias existentes para datação molecular e ausência de registro fóssil.

(4) A construção de co-filogenias permanece como um método acessório, mas que responde a poucas questões nas relações entre polinizadores e plantas.

(5) Os dados de distribuição geográfica são

importantes no estudo destas interações. Ainda poucos estudos utilizam esses dados de maneira conjunta com os dados das interações, provavelmente pela falta de uma metodologia que una esses dados.

(6) O estudo das interações entre plantas e polinizadores requer um grande esforço de campo no registro, observação e detalhamento do comportamento dos visitantes, sucesso reprodutivo, sazonalidade, entre outros aspectos ecológicos desta associação. Nenhuma das abordagens discutidas aqui é independente de dados ecológicos bem coletados e detalhados. Principalmente para a biodiversidade neotropical, onde existe uma lacuna no conhecimento mais básico, que é o reconhecimento taxonômico, o levantamento destes dados ecológicos é o maior desafio.

**AGRADECIMENTOS:** Gostaria de agradecer aos colegas que leram este manuscrito em versões anteriores, Prof. Maurício Moura (UFPR), Prof. Antonio Aguiar (UnB) e Laércio P. Amaral-Neto e aos revisores anônimos. Aos colegas do Laboratório de Biologia Comparada de Hymenoptera (UFPR) Laércio Amaral-Neto e Gabriel A. Rezende de Paula pelas valiosas discussões a respeito desse e de outros (tantos) temas. Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e meu orientador Prof. Gabriel Melo pela oportunidade e ao CNPq pela bolsa de doutorado concedida.

## REFERÊNCIAS

- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161: 105-121. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x>.
- ARMBRUSTER, W.S. 1999. Exaptations link evolution of plant – herbivore and plant-pollinator interactions: a phylogenetic inquiry. *Ecology*, 78: 1661-1672. <http://doi.org/10.2307/2266091>.
- ANDERSON, B. & JOHNSON, S.D. 2008. The geographic mosaic of coevolution in a plant-pollinator mutualism. *Evolution*, 62: 220-225. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00275.x>.
- BASCOMPTE, J. & JORDANO, P. 2006. The Structure of Plant-Animal Mutualistic Networks. Pp. 143-159. In: M. Pascual & J. Dunne (eds.). *Ecological networks: linking structure to dynamics in food webs*. Oxford University Press, Oxford, US. 416 p.
- BLÜTHGEN, N. 2010. Why network analysis is often disconnected from community ecology: A critique and an ecologist's guide. *Basic and Applied Ecology*, 11: 185-195. <http://doi.org/10.1016/j.baae.2010.01.001>.
- BOLLBACK, J.P. 2006. SIMMAP: stochastic character mapping of discrete traits on phylogenies. *BMC Bioinformatics*, 7: 88. <http://doi.org/10.1186/1471-2105-7-88>.
- BUCHMANN, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. Pp.

- 73-114. In: C.E. Jones & R.J. Little. Handbook of experimental pollination biology. Van Nostrand Reinhold, New York. 558 p.
- CHAUVEAU, O.; EGGERS, L.; RAQUIN, C.; SILVÉRIO, A.; BROWN, S.; COULOUX, A.; CRUAUD, C. *et al.* 2011. Evolution of oil-producing trichomes in *Sisyrinchium* (Iridaceae): insights from the first comprehensive phylogenetic analysis of the genus. *Annals of Botany*, 107: 1287-1312. <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mcr080> .
- COSACOV, A.; SERSIC, A.N.; SOSA, V.; DE-NOVA, J.A.; NYLINDER, S., & COCUCCI, A.A. 2009. New insights into the phylogenetic relationships, character evolution, and phytogeographic patterns of *Calceolaria* (Calceolariaceae). *American Journal of Botany*, 96: 2240-2255. <http://doi.org/10.3732/ajb.0900165>.
- DARWIN, C.D. 1862. *On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized by insects*. John Murray, London. 365 pp.
- EHRlich P.R. & RAVEN P.H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*, 14: 586- 608.
- FÆGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1966. *Principles of pollination ecology*. Third edition. London, Press. 244p.
- FENSTER, C.B.; ARMBRUSTER W.S.; WILSON P.; DUDASH M.R. & THOMSON J.D. 2005. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 35: 375-403. <http://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132347> .
- GOTTSBERGER, G. 1999. Pollination and evolution in Neotropical Annonaceae. *Plant Species Biology*, 14: 143-152. <http://doi.org/10.1046/j.1442-1984.1999.00018.x> .
- GRIMALDI, D. 1999. The co-radiations of pollinating insects and angiosperms in the Cretaceous. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 86: 373-406. <http://doi.org/10.2307/2666181> .
- GRIMALDI, D. & ENGEL, M.S. 2005. Insects become modern: The Cretaceous and Tertiary Period. In: GRIMALDI, D. & ENGEL, M.S. *Evolution of Insects*. 607-645 pp. Cambridge University Press. 755 pp.
- JANZEN, D.H. 1979. How to be a fig. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 10: 13-51.
- JANZEN, D.H. 1980. When is it coevolution? *Evolution*, 34: 611-612.
- JOHNSON, S.D.; LINDER, H.P. & STEINER, K.E. 1998. Phylogeny and radiation of pollination systems in *Disa* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 85: 402-411.
- JOHNSON, S.D. & STEINER, K.E. 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends in Ecology and Evolution*, 15: 140-143. [http://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01811-X](http://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01811-X) .
- KRASSILOV, V.A.; RASNITSYN, A.P. & AFONIN, S.A. 2007. Pollen eaters and pollen morphology: co-evolution through the Permian and Mesozoic. *African Invertebrates* 48 (1): 3-11.
- LARKIN, L.; NEFF, J.L. & SIMPSON, B.B. 2008. The evolution of a pollen diet: Host choice and diet breadth of *Andrena* bees (Hymenoptera: Andrenidae ). *Apidologie*, 39: 133-145. <http://dx.doi.org/10.1051/apido:2007064> .
- LEY, A.C. & CLAßEN-BOCKHOFF, R. 2011. Evolution in African Marantaceae - Evidence from Phylogenetic, Ecological and Morphological Studies. *Systematic Botany*, 36: 277-290. <http://dx.doi.org/10.1600/036364411X569480> .
- LITMAN, J.R.; DANFORTH, B.N.; EARDLEY, C.D. & PRAZ, C.J. 2011. Why do leafcutter bees cut leaves? New insights into the early evolution of bees. *Proceedings of the Royal Society Biological Series*, 278: 3593-3600. <http://doi.org/10.1098/rspb.2011.0365> .
- LOPEZ-VAAMONDE, C.; WIKSTRÖM, N.; KJER, K.M.; WEIBLEN, G.D.; RASPLUS, J.Y.; MACHADO, C.A. & COOK, J.M. 2009. Molecular dating and biogeography of fig-pollinating wasps. *Molecular phylogenetics and evolution*, 52: 715-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2009.05.028> .
- MADDISON, D.R. & MADDISON, W.P. 2003. MacClade: analysis of phylogeny and character evolution. Version 4.06. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- MANT, J.G.; SCHIESTL, F.P.; PEAKALL, R. & WESTON, P.H. 2002. A phylogenetic study of pollinator conservatism among sexually deceptive orchids. *Evolution*, 56: 888-898. <http://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb01402.x> .
- MARUSSICH, W.A. & MACHADO, C.A. 2007. Host-specificity and coevolution among pollinating and nonpollinating New World fig wasps. *Molecular ecology*, 16: 1925-1946. <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03278.x> .
- MICHENER, C.D. 2007. *The bees of the world*. John Hopkins University Press, Baltimore. 953 PP.
- MICHEZ, D.; PATINY, S.; RASMONT, P.; TIMMERMANN, K. & VEREECKEN, N.J. 2008. Phylogeny and host-plant evolution in Melittidae s.l. (Hymenoptera: Apoidea). *Apidologie*, 39: 146-162. <http://dx.doi.org/10.1051/apido:2007048> .
- MORGAN, M.T. 2000. Evolution of interactions between plants and their pollinators. *Plant Species Biology*, 15: 249 - 259. <http://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2000.00044.x> .
- MÜLLER, A. 1996. Host-Plant Specialization in Western Palearctic Anthidine Bees (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae). *Ecological Monographs*, 66: 235-257. <http://dx.doi.org/10.2307/2963476> .
- NILSSON, L.A. 1992. Orchid Pollination Biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 7: 255-259.
- NILSSON, L.A. 1998. Deep flowers for longue tongues. *Trends in Ecology and Evolution*, 13: 259-260.
- NUISMER, S.L.; THOMPSON, J.N. & GOMULKIEWICZ, R.

1999. Gene flow and geographically structured coevolution. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 266: 605-609. <http://doi.org/10.1093/icb/42.2.381> .
- PAGE, R.D.M. 1993. *Component, Tree comparison software for Microsoft Windows*, Version 2.0. The Natural History Museum, London.
- PAGEL, M. 2005. Inferring evolutionary processes from phylogenies. *Zoologica Scripta*, 26: 331-348. <http://doi.org/10.1111/j.1463-6409.1997.tb00423.x> .
- PATINY, S.; MICHEZ, D. & DANFORTH, B.N. 2008. Phylogenetic relationships and host-plant evolution within the basal clade of Halictidae (Hymenoptera, Apoidea). *Cladistics*, 24: 255-269. <http://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2007.00182.x> .
- PAUW, A. 2006. Floral syndromes accurately predict pollination by a specialized oil-collecting bee (*Rediviva peringueyi*, Melittidae) in a guild of South African orchids (Coryciinae). *American Journal of Botany*, 93: 917-926. <http://doi.org/10.3732/ajb.93.6.917> .
- PAUW, A.; STOFBERG, J. & WATERMAN, R. J. 2009. Flies and flowers in Darwin's race. *Evolution; international journal of organic evolution*, 63: 268-79. <http://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00547.x> .
- PELLMYR, O. & KRENN, H.W. 2002. Origin of a complex key innovation in an obligate insect plant mutualism. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 99: 5498-5502. <http://doi.org/10.1073/pnas.072588699> .
- PELLMYR O. & LEEBENS-MACK, J. 1999. Forty million years of mutualism: Evidence for Eocene origin of the yucca-yucca moth association. *Proceedings of National Academy of Sciences*, 96: 9178-9183. <http://doi.org/10.1073/pnas.96.16.9178> .
- PEÑALVER E.; ENGEL M.S. & GRIMALDI D.A. 2006. Fig wasps in Dominican Amber. *American Museum Novitates*, 3541: 1-16. [http://dx.doi.org/10.1206/0003-0082\(2006\)3541\[1:FWIDAH\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1206/0003-0082(2006)3541[1:FWIDAH]2.0.CO;2)
- PEREZ, F.; ARROYO, M.T.K.; MEDEL, R. & HERSHKOVITZ, M.A. 2006. Ancestral reconstruction of flower morphology and Pollination systems in *Schizanthus* (Solanaceae). *American Journal of Botany*, 93: 1029-1038. <http://doi.org/10.3732/ajb.93.7.1029> .
- RAMIREZ, S.R.; GRAVENDEEL, B.; SINGER, R.B.; MARSHALL, C.R. & PIERCE, N.E. 2007. Dating the origin of Orchidaceae from a fossil orchid with its pollinator. *Nature*, 448: 1042-1045. <http://doi.org/10.1038/nature06039> .
- RENNER, S.S. 1989. Floral biological observations on *Heliampora tatei* (Serraniaceae) and other plants from Cerro de La Neblina in Venezuela. *Plant Systematics and Evolution*, 163: 21-29.
- RENNER, S.S. & SCHAEFER, H. 2010. The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Series*, 365: 423-435. <http://doi.org/10.1098/rstb.2009.0229> .
- REZENDE, E.L.; LAVABRE, J.E.; GUIMARAES, P.R.; JORDANO, P. & BASCOMPTE, J. 2007. Non-random coextinctions in phylogenetically structured mutualistic networks. *Nature*, 448: 925-929. <http://doi.org/10.1038/nature05956> .
- RIDLEY, M. 2006. *Evolução*. Artmed, Porto Alegre, RS. 752p.
- ROBERTSON, C. 1925. Heterotrophic bees. *Ecology*, 6: 412-436.
- RØNSTED, N.; WEIBLEN, G.D.; COOK, J.M.; SALAMIN, N.; MACHADO, C.A. & SAVOLAINEN, V. 2005. 60 Million Years of Co-Divergence in the Fig-Wasp Symbiosis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272: 2593-2599. <http://doi.org/10.1098/rspb.2005.3249> .
- RONQUIST, F. 1997. Dispersal-vicariance analysis: a new approach to the quantification of historical biogeography. *Systematic Biology* 46 (1): 195-203.
- SEDIVY, C.; PRAZ, C.J.; MÜLLER, A.; WIDMER, A. & DORN, S. 2008. Patterns of host-plant choice in bees of the genus *Chelostoma*: the constraint hypothesis of host-range evolution in bees. *Evolution*, 62: 2487-507. <http://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00465.x> .
- SIPES, S.D. & TEPEDINO, V. J. 2005. Pollen-host specificity and evolutionary patterns of host switching in a clade of specialist bees (Apoidea: *Diadasia*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 86: 487-505. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00544.x> .
- SMIDT, E.C.; SILVA-PEREIRA, V. & BORBA E.L. 2006. Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to the north-eastern Brazil. *Plant Species Biology*, 51: 85-91. <http://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2006.00154.x> .
- SMITH, C.I.; GODSOE, W.K.W.; TANK, S.; YODER, J.B. & PELLMYR, O. 2008. Distinguishing coevolution from covariance in an obligate pollination mutualism: asynchronous divergence in Joshua tree and its pollinators. *Evolution*, 62: 2676-87. <http://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00500.x> .
- SMITH, S.D. 2010. Using phylogenetics to detect pollinator-mediated floral evolution. *New Phytologist*, 188: 354-363. <http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03292.x> .
- STEINER, K.E. 2010. Twin oil sacs facilitate the evolution of a novel type of pollination unit (*Meranthium*) in a South African orchid. *American Journal of Botany*, 97: 311-323. <http://doi.org/10.3732/ajb.0900239> .
- STEINER, K.E. & WHITEHEAD, V.B. 1990. Pollinator Adaptation to Oil-Secreting Flowers—*Rediviva* and *Diascia*. *Evolution*, 44: 1701-1707.
- STEINER, K.E. & WHITEHEAD, V.B. 1991. Oil-flowers and oil-bees: further evidence for pollinator adaptation. *Evolution*, 45: 1493-1501.
- STEINER, K.E. & WHITEHEAD, V.B. 2002. Oil secretion and the pollination of *Colpias mollis*. *Plant Systematic and Evolution*, 235: 53-66. <http://doi.org/10.1007/s00606-002-0216-y>.

- THOMPSON, J.N. 1989. Concepts of coevolution. *Trends in Ecology and Evolution*, 4: 179-183. [j.1558-5646.2008.00398.x](https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.11.046).
- THOMPSON, J.N. 1994. *The coevolutionary process*. University of Chicago Press. Chicago. 383p.
- THOMPSON, J.N. 2005a. Coevolution: The Geographic Mosaic of Coevolutionary Arms Races. *Current Biology*, 15: 992-994. <http://doi.org/10.1016/j.cub.2005.11.046>.
- THOMPSON, J.N. 2005b. *The geographic mosaic of coevolution*. The University of Chicago, Chicago. 400p.
- TRIPP, E.A., & MANOS, P.S. 2008. Is floral specialization an evolutionary dead-end? Pollination system transitions in *Ruellia* (Acanthaceae). *Evolution*, 62: 1712-1737. <http://doi.org/10.1111/>
- VOGEL, S. 1974. *Ölblumen und ölsammelnde bienen*. Tropische subtropische Pflanzenwelt 7. Steiner, Wiesbaden. 267 p.
- WASER, N.M., CHITTKA, L., PRICE, M.V., WILLIAMS, N.M. & OLLERTON, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, 77: 1043-1060.
- WIEBES, J.T. 1979. Co-evolution of figs and their insect pollinators. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 10: 1-12.
- WHITTALL, J.B., HODGES, A.S. 2007. Pollinator shifts drive increasingly long nectar spurs in columbine flowers. *Nature*, 447: 706 -710. <http://doi.org/10.1038/nature05857>.

Submetido em 28/08/2012

Aceito em 28/05/2013