

Universidade Federal de Juiz de Fora
Pós graduação em Ecologia
Dissertação em Ecologia

Daniele de Fátima Alves Venâncio

**ENTOMOFAUNA VISITANTE DAS FLORES DE *Lippia alba* (MILL.) N. E. BROWN
(LAMIALES, VERBENACEAE) EM JUIZ DE FORA, MINAS GERAIS**

Juiz de Fora

2010

Daniele de Fátima Alves Venâncio

**Entomofauna visitante das flores de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Lamiales,
Verbenaceae) em Juiz de Fora, Minas Gerais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Prezoto

Co - orientadora: Prof^a. Dr^a. Helena Maura Torezan Silingardi

Juiz de Fora

2010

Venâncio, Daniele de Fátima Alves.

Entomofauna visitante das flores de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Lamiales, Verbanaceae) em Juiz de Fora, Minas Gerais / Daniele de Fátima Alves Venâncio. – 2010.

51 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ecologia)–Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2010.

1. Ecologia. 2. Palinologia. I. Título.

CDU 574

DANIELE DE FÁTIMA ALVES VENÂNCIO

**Entomofauna visitante das flores de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Lamiales,
Verbenaceae) em Juiz de Fora, Minas Gerais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

Aprovada em: 23/04/2010

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Prezoto (Orientador)
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dr^a. Helena Maura Torezan Silingardi (co-orientadora)
Universidade Federal de Uberlândia

Prof. Dr. Fernando Antônio Frieiro Costa
Centro Universitário de Lavras

*À minha família que sempre me incentivou
dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor *Fábio Prezoto*, pela orientação, ensinamentos transmitidos e pela contribuição na minha formação profissional.

À professora *Maura*, sempre paciente e disponível, por sua co-orientação e valiosas sugestões.

Ao professor *Lyderson*, por sua boa vontade, sugestões e acesso à área experimental.

À professora *Andrea* pela preciosa colaboração no estudo palinológico e leitura do manuscrito e ao *Lucas* pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura.

À *Dr^a. Jane* e aos bolsistas *Márcio* e *Aline* do *Laboratório de Biodiversidade Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz* pela identificação dos espécimes da ordem *Lepidoptera*, meu especial agradecimento.

Ao Prof. *Lúcio* e à mestrandia *Talitta* do apiário da *Universidade Federal de Viçosa*, pelo auxílio na identificação das abelhas.

Ao amigo *André*, pelas horas de descontração, troca de experiências e conhecimentos, pelas sugestões e leitura do manuscrito.

Às colegas do *LABEC* *Shayenne*, *Monalisa* e *Paula*, pela boa convivência e momentos de descontração.

Ao meu amigo *Mateus* pelos anos de amizade durante a graduação e Pós-graduação, por todos os valiosos “toques” durante a iniciação científica.

Ao amigo *Fernando* pelos conselhos e ensinamentos, por demonstrar seu amor em lecionar.

À *Poliana* pela colaboração em campo, por ficar de plantão vigiando os insetos visitantes das flores.

À *Michele* pela amizade e companheirismo, desde os tempos da graduação, por me incentivar e apoiar, pela colaboração em campo e leitura do manuscrito.

À *Universidade Federal de Juiz de Fora* pelo espaço concedido e infraestrutura.

À minha família que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, em especial à minha mãe pelo exemplo de coragem, perseverança e amor incondicional.

À *Deus* pela força e oportunidades, por me dar condições para ser feliz.

“Penso que só há um caminho para a ciência...
encontrar um problema, ver a sua beleza e
apaixonar-se por ele...”

Karl Popper
(1902-1994)

RESUMO

Lippia alba (Mill) N.E. Brown (Verbenaceae) é um arbusto aromático de interesse na fitoterapia devido às suas propriedades medicinais. Os conhecimentos sobre os aspectos reprodutivos da espécie são importantes para a exploração sustentável. O objetivo do presente estudo foi verificar a fenologia floral, a morfologia polínica, a entomofauna visitante das flores e a influência dos fatores climáticos na frequência de visitas nas flores de *Lippia alba*. O trabalho foi desenvolvido na Estação Experimental de Cultivo e Manutenção de Plantas da UFJF, no município de Juiz de Fora, MG durante o período de dezembro de 2008 a novembro de 2009. Foram feitas observações sobre a fenologia floral e descrição morfológica dos grãos de pólen, além disso, realizou-se mensalmente o levantamento dos visitantes florais de *L. alba* no período de 6h às 18h. A floração de *L. alba* ocorreu durante todo o ano. A antese floral é diurna e dura cinco dias. O guia nas flores foi visível até o terceiro dia. O estigma permanece recoberto por uma camada úmida e viscosa até o terceiro dia. O número médio de inflorescências por planta foi de $44,4 \pm 38,29$. Cada inflorescência possui em média $7,1 \pm 6,9$ flores. Os grãos de pólen apresentam tamanho médio, sendo classificados como isopolares, oblato-esferoidais, 3-colporados (raro, 4-colporados), de superfície tectado-perfurada, constrição mediana e endoabertura lalongada. Dentre os insetos amostrados, a ordem Hymenoptera apresentou o maior percentual de visitas (84,71%), seguida de Lepidoptera (11%), Thysanoptera (2,12%), Diptera (2,08%) e Hemiptera – Heteroptera (0,09%). Foram registradas sessenta e três espécies, com maior frequência de visitação entre as 10h e 14h, sendo observado correlação significativa entre a frequência de visitas e os fatores climáticos nos diferentes horários do dia (luminosa, $r = 0.56$, $p < 0.0001$; temperatura, $r = 0.69$, $p < 0.0001$ e umidade relativa do ar, $r = -0.55$, $p < 0.0001$). A estação chuvosa apresentou número significativamente maior de espécies visitantes ($P < 0,05$) e maior frequência de visitação. A planta mostrou-se preferencialmente melitófila, devido à predominância de abelhas visitantes de suas flores. A abelha *Apis mellifera* foi considerada o principal visitante devido à sua constância e maior frequência. Como *L. Alba* floresce durante todo o ano, os autores sugerem a sua utilização como recurso floral para as abelhas de interesse apícola.

Palavras-chave: Abelhas. Palinologia. Fenologia floral. Fatores climáticos.

ABSTRACT

Lippia alba (Mill) N.E. Brown (Verbenaceae) is a aromatical shrub used in herbal therapy, due to its medicinal properties. The knowledgement about this species reproductive aspects is usefull to make its sustainable exploration. So, The objective of the present study was to verify the floral phenology, pollen morphology, flowering entomofauna and the influence of climatic factors in relation to the frequency of visits in flowers of *L. alba*. The work was developed in the Experimental Station of Plants Culture and Maintenance of UFJF, in the municipality of Juiz de Fora, MG, from december of 2008 to november of 2009. Observations were made on the floral phenology and morphological description of the pollen grains, also held monthly survey of insect floral visitors of *L. alba* in the period of 6 am to 6 pm. Flowering of *L. alba* occurred throughout the year. The anthesis was diurnal and each flower had a duration of five days. The guide was visible in the flowers until the third day. The stigma remained wet and sticky until the third day. The average number of inflorescences per plant was 44.4 ± 38.29 . Each inflorescence had on average 7.1 ± 6.9 flowers. Pollen grains had average size, from they were classified as isopolar, oblate spheroidal, 3-colporate (rare, 4-colporate), surface pierced and tectated, with a median constriction and endoaperture lalongate. Hymenoptera showed the highest percentage of visits (84.71%), between the insects sampled, followed by Lepidoptera (11.00%), Thysanoptera (2.12%), Diptera (2.08%) and Hemiptera - Heteroptera (0.09%). Sixty three species were recorded, with greater frequency of visitation from 10 am and 2 pm, and a significant correlation between the frequency of visits and the climatic factors was observed at different times of day (light, $r = 0,56$; $p < 0,0001$; temperature, $r = 0,69$; $p < 0,0001$ and relative humidity of air, $r = -0,55$; $p < 0,0001$). The rainy season presented a significantly higher number of species visitors ($P < 0,05$) and increased frequency of visitation. The plant showed to be preferentially melittophilous, due to the predominance of bees visitors of the flowers. The honeybee *Apis mellifera* was considered the main visiting because of its constancy and frequency in the *L. alba* flowers. The authors suggest the use of this species as a constant source of pollen and nectar, throughout all the year, perfect to beekeeping services.

Keywords: Bees. Palynology. Floral phenology. Climatic factors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fotografia 1 Localização dos espécimes de *Lippia alba* (seta) no Campus da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF. **A**-Vista aérea (gerado pelo software *Google Earth*). **B**-Canteiro com os espécimes cultivados. **C** – Ramo com inflorescências axilares. **D**-Inflorescência. **E**-Flor21
- Fotografia 2 Inflorescências de *Lippia alba* envolvidas em saco de voal. Plantas localizadas na estação experimental de cultivo e manutenção de Plantas da UFJF, no município de Juiz de Fora, MG.22
- Esquema 1 Esquema de um ramo e as estruturas florais de *Lippia alba*. (a) ramo (as setas mostram a disposição das inflorescências); (b) Inflorescência; (c) flor aberta; (d) gineceu; (e) anteras; (f) fruto (adaptado de MUÑOZ *et al.*, 2007)27
- Fotografia 3 Morfologia floral de *Lippia alba*. A. Pistilo. B. Detalhe do interior do tubo da corola. ESTG – estigma, EST – estilete, OV – ovário, ANT- A: anteras com deiscência longitudinal, ANT- B: anteras fechadas28
- Gráfico 1 Horários de maior predominância entre a abertura floral e frequência de visitas nas flores de *Lippia alba* em Juiz de Fora, Minas Gerais28
- Fotografia 4 Grãos de pólen de *Lippia alba*: A-C (Método de Wodehouse, 1935); D-F (Método de Erdtman, 1960). A. 3-colporado, vista polar, superfície tectado-perfurada; B. 3-colporado, vista polar, corte óptico; C. Isopolares, vista equatorial, em detalhe, constrição mediana do cólporo; D. Visão geral de dois grãos de pólen, em vista polar (acima) e equatorial (abaixo); E. Vista polar (grão de pólen 3-colporado); F. Vista polar (grão de pólen 4-colporado). Barra = 10 µm29
- Fotografia 5 Fotomicrografias, obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), mostrando vista polar (P) e equatorial (E) dos grãos de pólen de *L. alba*.....30

Gráfico 2	Frequência de insetos visitantes florais de <i>Lippia alba</i> ao longo do dia no período de 6h à 18h, em dezembro de 2008 a Janeiro de 2009, na região de Juiz de Fora, Minas Gerais.....	33
Fotografia 6	<i>Apis mellifera</i> visitando inflorescência de <i>Lippia alba</i> na Estação Experimental de Cultivo e Manutenção de Plantas da UFJF, no município de Juiz de Fora, MG	34
Gráfico 3	Médias mensais de temperatura (°C), Intensidade luminosa (lux) e Umidade relativa do ar (%) no período de dezembro de 2008 a novembro de 2009 em Juiz de Fora, Minas Gerais.....	35
Gráfico 4	Valores médios e desvio padrão das espécies de insetos registradas nas flores de <i>L. alba</i> nas estações chuvosa (Ec) e seca (Es) em Juiz de fora - Minas Gerais, de dezembro de 2008 a novembro de 2009	36
Gráfico 5	Número total de indivíduos registrados por horário nas flores de <i>Lippia alba</i> em Juiz de Fora - Minas Gerais, durante as estações seca e chuvosa, no período de dezembro de 2008 a novembro de 2009	37

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Dados morfométricos do diâmetro equatorial (E) e polar (P) dos grãos de pólen de *Lippia alba* estudados (medidas em micrômetros). Média aritmética (M), amplitude da média (x_{\min} - x_{\max}), desvio padrão (s), desvio padrão da média (S_M) e intervalo de confiança (IC) a 95%..... 30
- Tabela 2 Visitantes florais de *Lippia alba*, registrados nas estações seca (Se) e chuvosa (Ch), entre dezembro de 2008 e novembro de 2009 em Juiz de Fora – MG. Presente (+), ausente (-), N (número de visitas), F (frequência relativa - %), C (Constância: W=constante; Y=acessória e Z=acidental).. 31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	A FAMÍLIA VERBENACEAE	14
1.2	O GÊNERO <i>LIPPIA</i>	16
1.3	A ESPÉCIE <i>LIPPIA ALBA</i>	17
1.4	OBJETIVO GERAL	19
1.4.1	Objetivos específicos	19
2	MATERIAL E MÉTODOS	20
2.1	ÁREA DE ESTUDO	20
2.2	FENOLOGIA FLORAL	22
2.3	DESCRIÇÃO PALINOLÓGICA	23
2.3.1	Preparação para a observação sob microscópio de luz	23
2.3.2	Mensuração, sob microscópio de luz	24
2.3.3	Preparação para a observação sob microscópio eletrônico de varredura	24
2.4	VISITANTES FLORAIS	24
3	RESULTADOS	27
3.1	FENOLOGIA FLORAL	27
3.2	DESCRIÇÃO PALINOLÓGICA	29
3.3	VISITANTES FLORAIS	30
4	DISCUSSÃO	38
4.1	FENOLOGIA FLORAL	38
4.2	DESCRIÇÃO PALINOLÓGICA	39
4.3	VISITANTES FLORAIS	39
5	CONCLUSÃO	43
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

As interações entre os polinizadores e as plantas são extremamente importantes para o funcionamento dos ecossistemas terrestres (naturais e agrícolas) e também para a diversificação evolutiva de uma grande variedade de organismos (OLLERTON, 1999). A polinização consiste no transporte de grãos de pólen da antera de uma flor para o estigma da mesma ou de outra flor, permitindo a fecundação e, posteriormente o desenvolvimento do fruto (GALLO *et al.*, 2002).

Os recursos florais como néctar e pólen podem ser utilizados pelos polinizadores como alimento para o adulto ou para a prole (TOREZAN-SILINGARDI, 2008). Ocasionalmente, os insetos podem frequentar as flores para se alimentar de pétalas, presas, coletar fragrâncias, acasalar, procurar abrigo ou larvas hospedeiras (KRENN *et al.*, 2005).

A influência mútua entre as plantas e seus polinizadores pode fornecer exemplos de coevolução (KEARNS; INOUYE, 1993). As flores são extremamente diversificadas em tamanho, forma, cor, aroma dentre outras características (OLLERTON; DAFNI, 2005). Os polinizadores, por sua vez, necessitam de habilidades comportamentais, morfológicas e fisiológicas para que possam detectar os sinais e associá-los com os recursos oferecidos pelas flores (WASER *et al.*, 1996). A maioria dos visitantes florais é representada por insetos, tais como abelhas, vespas, moscas, borboletas e determinados besouros (KRENN *et al.*, 2005, ALMEIDA-SOARES *et al.*).

Os insetos estão sujeitos aos fatores do meio ambiente e podem apresentar certa tolerância ambiental e reações próprias, advindo daí a grande importância de identificar as espécies para os estudos ecológicos (GALLO *et al.*, 2002). Em relação aos fatores climáticos, os que mais influenciam a atividade forrageadora dos insetos são a temperatura, luminosidade, umidade relativa do ar e a velocidade do vento (DUTRA; MACHADO, 2001). As diferenças nas tolerâncias fisiológicas às variáveis climáticas podem gerar a partilha temporal ou espacial dos recursos florais disponíveis (ANTONINI *et al.*, 2005).

Dentre as plantas de uso popular, destaca-se a Verbenaceae *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown que é apontada como de grande importância na fitoterapia, apresentando diversas propriedades medicinais, como por exemplo, ação antimicrobiana, neurosedativa, analgésica, antiinflamatória, atividade cardiovascular e antiulcerogênica (HENNEBELLE *et al.*, 2008; FILHO *et al.*, 2006; PASCUAL *et al.*, 2001a). Apesar da importância sócio-econômica,

estudos sobre a biologia reprodutiva da espécie ainda são muito incipientes na literatura. Estas informações contribuirão na utilização de *L. alba* em programas de melhoramento genético com a perspectiva de criação de novos taxons híbridos de valor industrial e exploração sustentável.

1.1 A FAMÍLIA VERBENACEAE

A família Verbenaceae compreende 34 gêneros e cerca de 1200 espécies, com maior diversidade nos neotrópicos e poucos grupos na Europa, Ásia, África e Madagascar (ATKINS, 2004). Algumas espécies apresentam amplitudes climáticas extremas, como pioneiras que ocorrem a partir do trópico úmido ao subárido, e áreas de alta latitude com verões quentes (SANDERS, 2001).

Segundo Stashenko *et al.* (2003), a família Verbenaceae apresenta enorme potencial em diferentes indústrias, tais como a têxtil, de alimentos, farmacêutica, cosmética e de perfumes. Dentre alguns gêneros, destacam-se *Aloysia* Palau, *Lantana* L. e *Lippia* L., que são utilizados na medicina popular (BONZANI *et al.*, 1997).

A família é caracterizada por um conjunto de atributos, tais como inflorescências racemosas, flores zigomorfas, pentâmeras, gamopétalas, monóclinas; corola hipocrateriforme ou infundibuliforme, com lobos curtos; androceu geralmente com 4 estames didínamos; ovário súpero, com 1 ou 2 óvulos por lóculo, fruto do tipo drupa ou esquizocarpo seco ou carnoso (SALIMENA *et al.*, 2009). Outra característica importante é a posição das anteras em torno do estigma, que reduz a luz do tubo corolíneo, fazendo com que os grãos de pólen sejam aderidos às peças bucais do visitante floral quando este retira o néctar da flor (ATKINS, 2004). Certas peculiaridades também podem influenciar a ecologia da polinização, como por exemplo, a mudança de coloração das flores de segundo dia observado em *Lantana camara* L. tornando-se mais escuras (BARROS *et al.*, 2001). Síndromes de morfologia floral sugerem que os polinizadores são pequenos, pouco generalistas e incluem as ordens Hymenoptera, Diptera e Lepidoptera (SANDERS, 2001).

Palinologicamente, a família Verbenaceae apresenta grãos de pólen geralmente simétricos radialmente, isopolares principalmente subprolato, prolato-esferoidais, muitas

vezes oblato-esferoidais a suboblato, tricolporados, raramente tricolpado (PERVEEN; QAISER, 2007).

Arreguin-Sanchez *et al.* (1996) investigaram a morfologia polínica de algumas espécies pertencentes à família Verbenaceae e verificaram três tipos polínicos: triporado em *Bouchea prismatica* (L.) Kuntze, estefanocolporado em *Phyla nodiflora* (L.) Greene e pólen tricolporado ou tetracolporado nos gêneros *Citharexylum* L., *Lantana* L., *Lippia* L., *Priva* Adans. e *Verbena* L., com ornamentação psilada ou escabrosa. Esses mesmos autores observaram que dentre estes gêneros os grãos apresentaram muita similaridade, dificultando a separação dos taxa por meios palinológicos.

Muñoz *et al.* (2006) descreveram os grãos de pólen da espécie *L. alba* como oblato esferoidal, isopolares, simetria radial, diâmetro equatorial em vista polar de 23,40 µm e ornamentação tectado-perfurada. Segundo Vit *et al.* (2002), os grãos de pólen de *L. alba* medem 30 µm de diâmetro, com exina psilada engrossada nas bordas das aberturas, de conteúdo granuloso. Barth (1989), cita ainda os grãos de pólen como de tamanho médio, 3-colporados, medindo 28 x 29 µm, apocolpos (7,5 µm) pequenos, endoaberturas alongadas com 6 µm de altura, exina (0,5 µm) mais delgada do que a intina (0,8 µm); nexina ligeiramente espessada em volta das endoaberturas, superfície lisa, citoplasma granuloso e cor do pólen incolor. Este tipo polínico também foi observado pelo autor em *Lippia urticoides* e *Lippia hirta*.

Os aspectos da morfologia dos grãos de pólen como tamanho, tipo de ornamentação e abertura, podem estar relacionados com a síndrome de polinização. Por exemplo, plantas polinizadas por coleópteros apresentam grãos de pólen geralmente monocolpados ou tricolporados, de tamanho médio ou grande e ornamentação escabrada ou reticulada; por dípteros os grãos de pólen são pequenos com ornamentação psilada ou reticulada; os grãos de pólen de espécies polinizadas por lepidópteros variam de muito grandes com aberturas triporadas à pequenos grãos tricolporados com ornamentação espinhosa, reticulada ou estriada (JONES; JONES, 2001).

A família Verbenaceae possui alta riqueza e abundância nos trópicos, no entanto, no mais recente Catálogo Polínico produzido no Brasil não foi mencionada (SILVA *et al.*, 2010). Os estudos que apresentam suas espécies observadas sob o ponto de vista palinológico (BARTH, 1989; MUÑOZ *et al.*, 2006; VIT *et al.*, 2002) ainda são escassos e insuficientes para a caracterização adequada da família.

Em todos os gêneros da família Verbenaceae, o néctar é produzido em pequenas quantidades a partir de um disco, logo abaixo do ovário na base do tubo da corola (ATKINS, 2004). Quanto ao tipo de reprodução, algumas espécies parecem ser autocompatíveis e facultativamente autógamas quando o cruzamento entre indivíduos falha (SANDERS, 2001).

1.2 O GÊNERO *Lippia*

O gênero *Lippia* reúne em torno de 200 espécies, distribuídas na América, principalmente no México até a costa de Buenos Aires (CABRERA, 1993; GUPTA *et al.*, 2001). A maior concentração está no Brasil, Paraguai e Argentina, havendo na África algumas espécies endêmicas (TRONCOSO, 1974).

O Brasil é um dos grandes centros de diversidade do gênero *Lippia*, com aproximadamente 70 a 75% das espécies conhecidas, sendo a maior representatividade na Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais e nos campos rupestres do estado de Goiás (VICCINI *et al.*, 2005). Algumas destas espécies, como *L. diamantinensis* Glaz., *L. hederæfolia* Martius & Sahauer, *L. rosella* Moldenke, *L. rhodocnemis* Mart. & Schauer, *L. rotundifolia* Cham. e *L. pseudo-thea* Schauer são endêmicas e ocorrem apenas na Cadeia do Espinhaço (PIMENTA *et al.*, 2007).

O gênero possui grande importância econômica devido aos diferentes usos dos óleos essenciais, sendo muitas espécies medicinais (SALIMENA, 2002). A espécie *L. sidoides* Cham, por exemplo, apresenta diversas propriedades medicinais, como ação antimicrobiana, antiinflamatória, antihelmíntica, larvicida e cicatrizante (PASCUAL *et al.*, 2001b; CARVALHO *et al.*, 2003; CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2007). Os constituintes do óleo essencial de *L. multiflora* Moldenke possuem atividade analgésica e antipirética (ABENA *et al.*, 2003). O extrato etanólico de *L. dulcis* Trevir. demonstrou atividade antiinflamatória nos diversos modelos animais estudados por PÉREZ *et al.* (2005). A espécie *L. alba* escolhida para o presente estudo possui constituintes químicos com ação sedativa, antiespasmódica, estomáquica (GOMES *et al.*, 1993), dentre outros.

Na maioria das vezes as partes das plantas que são utilizadas são as folhas, raízes, partes aéreas e flores (PASCUAL *et al.*, 2001b, PINTO *et al.*, 2006). Estas são comumente preparadas como infusão ou decocção e administradas oralmente (PASCUAL *et al.*, 2001b).

Além das propriedades medicinais, algumas espécies como *L. multiflora*, *L. graveolens* Kunth e *L. sidoides* têm importante papel na indústria alimentícia, devido à sua capacidade antioxidante e antimicrobiana, pois favorecem a inocuidade e a estabilidade dos alimentos, como também protegem contra alterações lipídicas (ARCILA-LOZANO *et al.*, 2004).

Outras espécies podem ser de grande importância para a proteção do solo evitando o processo de erosão em comunidades associadas com afloramentos rochosos. Na Venezuela, por exemplo, *L. origanoides* Kunth pode ser utilizada como alternativa de reflorestamento de áreas afetadas pela indústria mineradora de Ferro, uma vez que está adaptada a solos extremamente ácidos e com baixa concentração de matéria orgânica (GUEVARA *et al.*, 2005).

No Brasil, vários trabalhos foram realizados, principalmente com *L. alba* e *L. sidoides* (PASCUAL *et al.*, 2001a; CARVALHO *et al.*, 2003; CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2007; NOGUEIRA *et al.*, 2007; BADILLA *et al.*, 2007). No entanto, várias espécies ainda não foram estudadas, o que demonstra o enorme potencial farmacológico para o isolamento de novos princípios ativos (PASCUAL *et al.*, 2001b).

1.3 A ESPÉCIE *Lippia alba*

L. alba está distribuída na Índia ocidental, México, América Central, América do Sul tropical e subtropical, e Argentina (MOLDENKE, 1939). No Brasil, ocorre naturalmente em todo o território, e também é cultivada na agricultura familiar para fins fitoterápicos (AGUIAR; COSTA, 2005).

Esta espécie é conhecida popularmente como erva cidreira, malva, melissa, sálvia ou salvião-do-mato (PINTO *et al.*, 2006; VENDRUSCOLO e MENTZ, 2006). A planta é um arbusto que pode alcançar até dois metros de altura, produz néctar e pólen (VIT *et al.*, 2002; STEVENS *et al.*, 2001), apresenta ramos escassos, e folhas opostas com odor de menta (GIBSON, 1970).

As flores de *L. alba* possuem quatro pétalas unidas de forma tubular sendo a primeira mais alargada, são zigomorfas, hermafroditas, androceu com quatro estames didínamos soldados na corola, gineceu sincárpico medindo 1,5 mm de comprimento (MUÑOZ *et al.*,

2007). O ovário é súpero com nectário basal na forma de anel e dois carpelos (SCHOCKEN, 2007). A cor das pétalas é púrpura com o interior da corola amarela (STEVENS *et al.*, 2001). Quando a flor esta totalmente aberta mede em torno de 6 a 7 mm de comprimento e 3 a 4 mm de largura (MUÑOZ *et al.*, 2007). As inflorescências são axilares do tipo capituliforme (MOLDENKE, 1939). O fruto é do tipo esquizocárpico dividindo-se em dois mericarpos que facilmente se separam quando maduros (TRONCOSO, 1974), mede 1,8 mm de largura, com pericarpo branco duro e seco, e epicarpo com vilosidades (MUÑOZ *et al.*, 2007). Em relação ao tipo de reprodução trata-se de uma espécie preferencialmente alógama (SCHOCKEN, 2007).

Algumas variações na proporção dos constituintes do óleo essencial de *L. alba* têm sido observadas na literatura, dependendo da origem do material vegetal, do estágio de desenvolvimento e das partes da planta utilizadas (ZOGHBI *et al.*, 1998; RICCIARDI, *et al.*, 2000), sendo que muitas vezes estas diferenças permitem identificar diversos quimiotipos (PASCUAL, 2001a).

As atividades farmacológicas descritas na literatura fornecem indícios que podem explicar alguns dos usos terapêuticos de *L. alba* na medicina popular (HEINZMANN; BARROS, 2007). A planta pode ser utilizada na forma de chás, macerada, em compressas, banhos ou extratos alcoólicos (JULIAO *et al.*, 2009). Suas folhas são utilizadas como antineoplásico, antimicrobiano, sedativo (CALDAS *et al.*, 2004, OLIVEIRA *et al.*, 2006; FILHO *et al.*, 2006;), antibacteriano (NOGUEIRA *et al.*, 2007), antiulcerogênico, antihipertensivo, e antiinflamatório (PASCUAL *et al.*, 2001a, GUERRERO *et al.*, 2002, BADILLA *et al.*, 2007), além de agir como antiespasmódico, antipirético, emenagogo, diaforético, estomáquico e analgésico, aliados à sua baixa toxicidade (JULIAO *et al.*, 2009).

O conhecimento sobre a biologia reprodutiva de *L. alba* é ainda escasso na literatura. Portanto, são necessários estudos que visem fornecer dados sobre a polinização e reprodução da espécie. Estas informações podem gerar o conhecimento a respeito dos mecanismos que causam a variabilidade genética e indicar a intensidade da dependência dos polinizadores.

1.4 OBJETIVO GERAL

Identificar a entomofauna visitante das flores e analisar alguns aspectos da biologia floral de *Lippia alba*.

1.4.1 Objetivos específicos

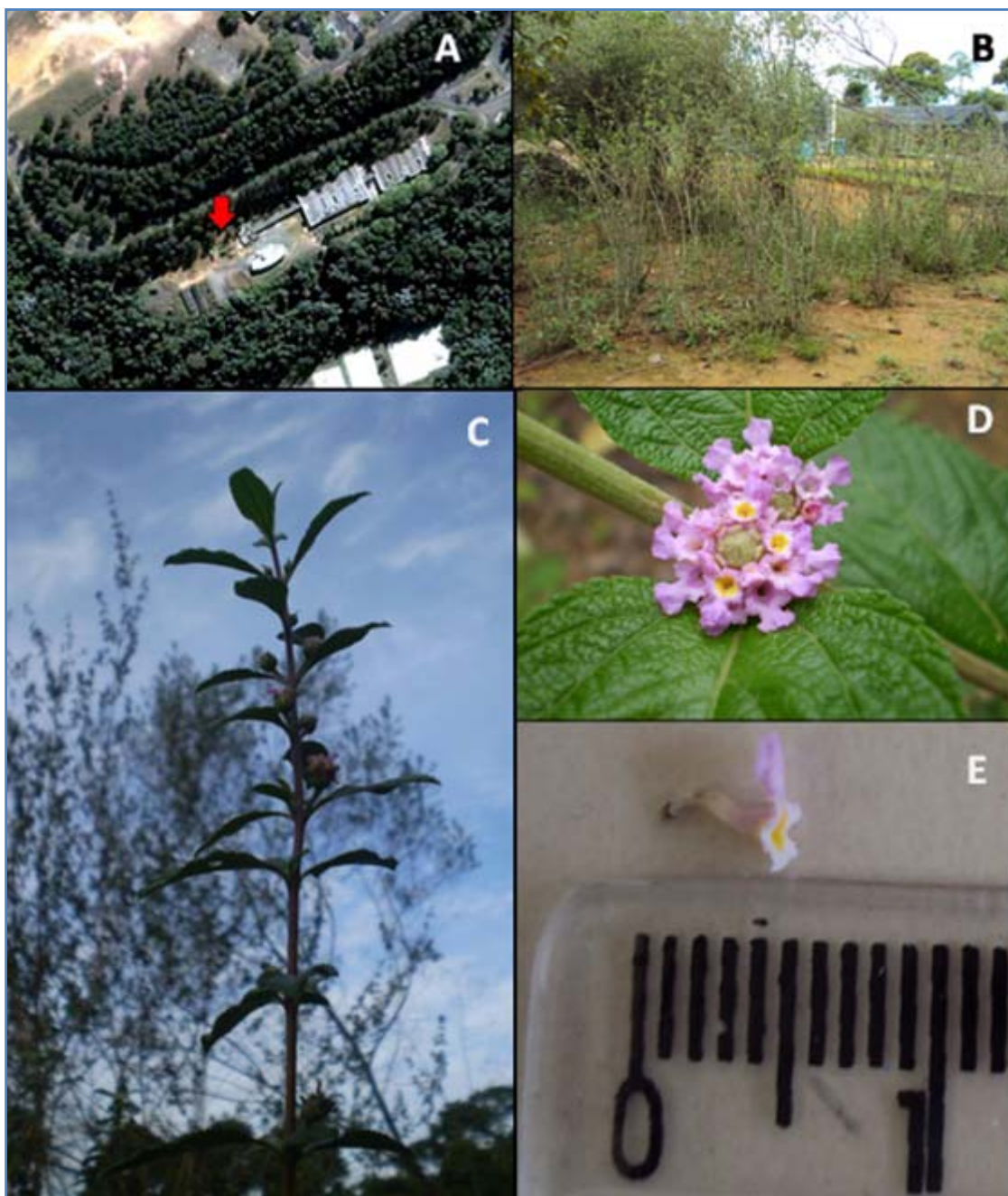
- Verificar a fenologia floral.
- Descrever a morfologia polínica.
- Realizar o levantamento dos insetos, verificando o horário de visitação e a influência dos fatores climáticos sobre as interações da entomofauna com as flores.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO

O Presente estudo foi desenvolvido na Estação Experimental de Cultivo e Manutenção de Plantas da UFJF, no município de Juiz de Fora, MG (21°45'51"S - 43°21'1"O). A região está situada na Zona da Mata Mineira, apresenta clima do tipo tropical de altitude do tipo Cwa (mesotérmico com verão chuvoso e quente) segundo a classificação de Köppen (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE JUIZ DE FORA, 2009). O clima apresenta duas estações bem definidas: estação chuvosa (outubro a abril) com temperaturas mais elevadas e maiores precipitações pluviométricas e estação seca (maio a setembro) mais fria e com menor presença de chuvas (PLANO DIRETOR DE JUIZ DE FORA, 1996).

Os indivíduos de *L. alba* estudados (n=67) apresentam altura média de 1,61m ± 0,39m, encontrando-se em área descampada, circundada por espécimes de *Pinus* sp. Nas adjacências há uma faixa de vegetação nativa com sub-bosque denso, dominado por gramíneas, que diminui à medida que se afasta das bordas (Fotografia 1).



Fotografia 1. Localização dos espécimes de *Lippia alba* (seta) no Campus da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF. **A** - Vista aérea (gerado pelo software *Google Earth*). **B** – Canteiro com os espécimes cultivados. **C** – Ramo com inflorescências axilares. **D** – Inflorescência. **E** – Flor.

Fonte: o autor.

2.2 FENOLOGIA FLORAL

Para avaliar o período do dia em que ocorre a antese, foi marcada uma inflorescência por planta (n=18), ao entardecer no dia anterior ao experimento (17:30h), acompanhado-se posteriormente a abertura dos botões florais no dia seguinte, a cada 15 min. no período de 6h às 18h (DAFNI *et al.*, 2005). A duração das flores e os eventos florais que ocorreram no decorrer do estudo da fenologia foram analisados a cada duas horas em inflorescências (n=18) previamente envolvidas em saco de voal (Fotografia 2), durante o período de 6h até 18h, enquanto permaneceram visualmente chamativas (DAFNI *et al.*, 2005). Por guia de recurso considerou-se uma auréola central amarela em torno do tubo da corola. Os dados sobre o número de inflorescências por planta (n=10), bem como o número de flores abertas por inflorescência (n=10) foram realizados em plantas distintas nos quimiotipos I (cital), no quimiotipo II (carvona) e no quimiotipo III (linalol).



Fotografia 2. Inflorescências de *Lippia alba* envolvidas em saco de voal. Plantas localizadas na estação experimental de cultivo e manutenção de Plantas da UFJF, no município de Juiz de Fora, MG.
Fonte: o autor.

A fenofase de floração foi determinada com registros mensais, quando mais do que 90% das plantas estudadas encontravam-se com botões florais abertos (PIMENTA *et al.*, 2007).

A receptividade do estigma foi verificada, por meio da presença de viscosidade e brilho na superfície estigmática utilizando-se lupa estéreomicroscópica (ALMEIDA, 1986).

Este parâmetro, foi realizado, a cada duas horas em 5 flores, de 6h às 18h, totalizando 35 flores.

2.3 DESCRIÇÃO PALINOLÓGICA

Foram selecionadas quatro amostras de espécimes distintos, onde a amostra um foi considerada “material padrão” e as amostras numeradas de dois a quatro foram tratadas como “material de comparação”. O preparo e a análise das amostras por microscopia de luz foram realizados no Departamento de Botânica da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Para avaliação detalhada da ornamentação da superfície do esporoderma, as amostras foram analisadas sob microscopia eletrônica de varredura, sendo conduzidas no Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Invertebrados, do Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Museu Nacional do Rio de Janeiro.

A descrição palinológica segue a terminologia de ERDTMAN (1952), BARTH; MELHEM (1988).

2.3.1 Preparação para a observação sob microscópio de luz

Os grãos de pólen foram preparados pelo método de WODEHOUSE (1935), que não elimina o conteúdo celular e não altera a forma dos grãos de pólen, empregando-se as alterações propostas por MELHEM *et al.* (2003), mas utilizando-se gelatina glicerinada incolor.

Para a análise da estrutura e ornamentação dos grãos de pólen, bem como a tomada de medidas, empregou-se a técnica da acetólise de ERDTMAN (1960), com as modificações indicadas por MELHEM *et al.* (2003). Este método destrói o conteúdo dos grãos de pólen e permite a visualização dos estratos do esporoderma que contém esporopolenina.

2.3.2 Mensuração, sob microscópio de luz

Para o “material padrão”, foram tomadas 25 medidas dos diâmetros polar (P) e equatorial (E) dos grãos de pólen, apresentando-se a média aritmética (M), a amplitude da média ($x_{\min}-x_{\max}$), o desvio padrão da amostra (s), o desvio padrão da média (S_M) e o intervalo de confiança (IC) a 95%. Para o diâmetro maior, em vista polar, e o comprimento do colpo foram tomadas 10 medidas, assim como, para todos os parâmetros dos “materiais de comparação”, e apresentadas as médias aritméticas. As medidas foram tomadas a partir de três lâminas acetolisadas, no prazo máximo de uma semana (SALGADO-LABOURIAU, 1973).

2.3.3 Preparação para a observação sob microscópio eletrônico de varredura

Para a observação sob microscopia eletrônica de varredura, os grãos de pólen foram dispersos sobre os suportes de observação cobertos previamente com fita adesiva dupla-face, e cobertos com uma camada de 20 nm de ouro paládio.

2.4 VISITANTES FLORAIS

As observações e coletas da entomofauna visitante das flores de *Lippia alba* foram realizadas no período de 6h às 18h (desconsiderando o horário de verão) durante os meses de dezembro/2008 a novembro/2009. Foram realizadas três observações mensais. Parte dos visitantes foi coletada com rede entomológica e mortos em CHCl_3 (tricloreto de metila) utilizando-se câmara mortífera e após 24h separados em frascos tipo eppendorf (2 ml) contendo etanol 70% para fixação. Posteriormente, foram designados morfotipos para montagem a seco. A identificação foi realizada seguindo-se a chave proposta por Triplehorn e Johnson (2005) e por consulta a especialistas. Os exemplares testemunhos foram depositados na coleção do Laboratório de Ecologia Comportamental (LABEC).

Para observação do comportamento dos visitantes foram realizadas observações entre intervalos regulares de 15 min. de maneira livre (*ad libitum sense*, ALTMANN, 1974). Cada visita compreendeu-se como o instante entre a chegada ou novo avistamento do visitante até a saída/perda do avistamento. Durante o período de observação da fauna visitante, a cada 30 min. foram tomadas medições da temperatura (C°) e umidade relativa do ar (%) por meio de um termohigrômetro. A velocidade do vento (m/s) e luminosidade (lux) foram mensuradas através de um anemômetro digital e luxímetro, respectivamente.

Por meio do teste de correlação de Spearman foi verificada a correlação entre o número de visitas e as variáveis climáticas. Para testar se houve diferença entre o número de espécies registradas na estação seca e chuvosa, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis adotando-se o nível de significância de 5%. Ambos os testes foram realizados por meio do software freeware BioEstat 5.0. Para o estudo dos insetos amostrados nas flores de *Lippia alba*, foram estimadas as classes de frequência relativa e constância (SILVEIRA NETO *et al.*, 1976), onde:

Frequência relativa

Representa o percentual do número total de indivíduos coletados de uma determinada espécie.

$$F = n/N \times 100$$

Onde,

F = percentagem de frequência,

n = número de indivíduos de cada espécie,

N = número total de indivíduos coletados.

Constância

Corresponde à percentagem de ocorrência das espécies no levantamento, utilizando-se a fórmula:

$$C = (p/ N) \times 100$$

Onde,

C= constância em percentual;

p= número de coletas contendo a espécie i;

N= número total de coletas efetuadas.

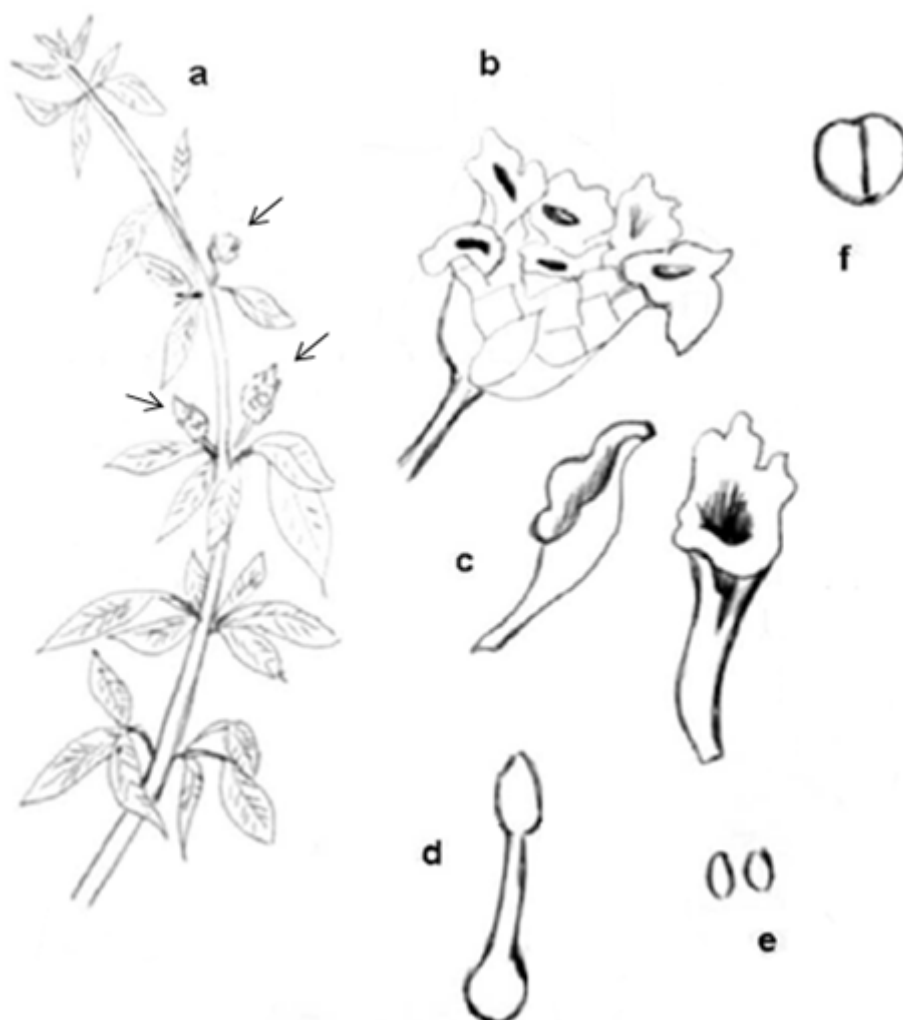
A partir dos percentuais obtidos, as espécies foram separadas em categorias segundo a classificação de BODENHEIMER (1955) apud SILVEIRA NETO *et al.* (1976):

- a) Espécies constantes (W): presentes em mais de 50% das coletas.
- b) Espécies acessórias (Y): presentes em 25 a 50% das coletas.
- c) Espécies acidentais (Z): presentes em menos de 25% das coletas.

3 RESULTADOS

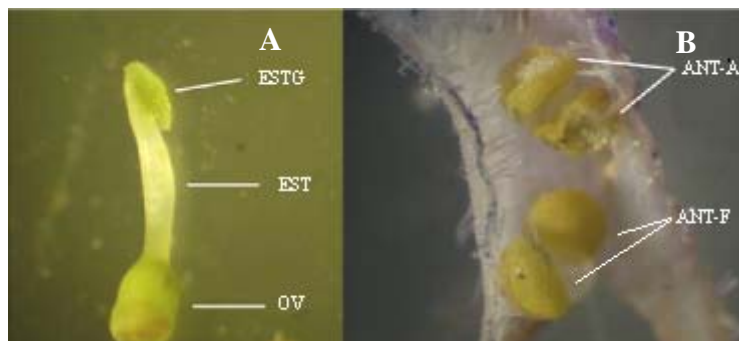
3.1 FENOLOGIA FLORAL

A floração de *Lippia alba* ocorreu durante todo o período de estudo, o número médio de inflorescências por planta foi de $44,4 \pm 38,29$. Cada inflorescência possui em média $7,1 \pm 6,9$ flores. O Esquema 1 representa o ramo, a posição das inflorescências e as estruturas florais de *L. alba*.



Esquema 1. Esquema de um ramo e as estruturas florais de *Lippia alba*. (a) ramo (as setas mostram a disposição das inflorescências); (b) Inflorescência; (c) flor aberta; (d) gineceu; (e) anteras; (f) fruto (adaptado de MUÑOZ *et al.*, 2007).

As anteras apresentam cor amarela e deiscência longitudinal. O filete é branco e fundido no tubo da corola. O gineceu é composto por um estilete de cor branca e estigma esverdeado, disposto logo abaixo das anteras, o ovário é súpero e de cor verde (Fotografia 3).



Fotografia 3. Morfologia floral de *Lippia alba*. A. Pistilo. B. Detalhe do interior do tubo da corola. ESTG: estigma, EST: estilete, OV: ovário, ANT- A: anteras com deiscência longitudinal, ANT- B: anteras fechadas.

Fonte: o autor.

A antese é diurna (entre 7h30 e 12h30), com predominância de 9h às 10h. Observou-se que o horário de pico da abertura floral ocorreu antecipadamente em relação ao horário de pico de visitação pelos insetos (Gráfico 1).

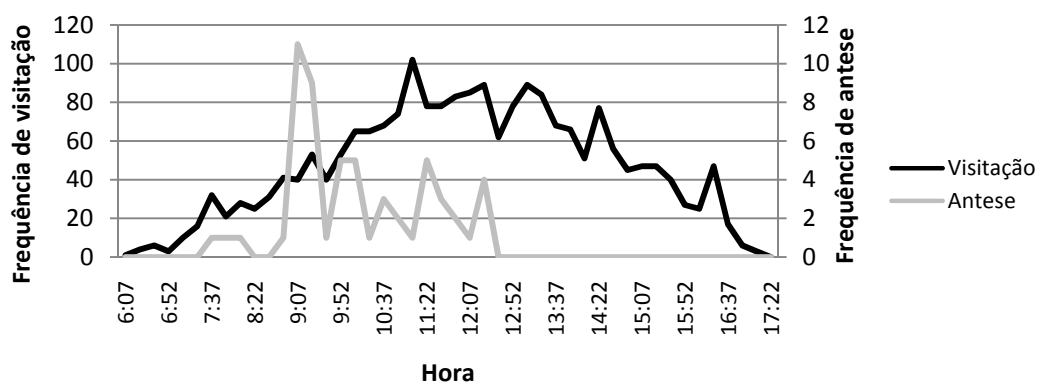


Gráfico 1. Horários de maior predominância entre a abertura floral e frequência de visitas nas flores de *Lippia alba* em Juiz de Fora, Minas Gerais.

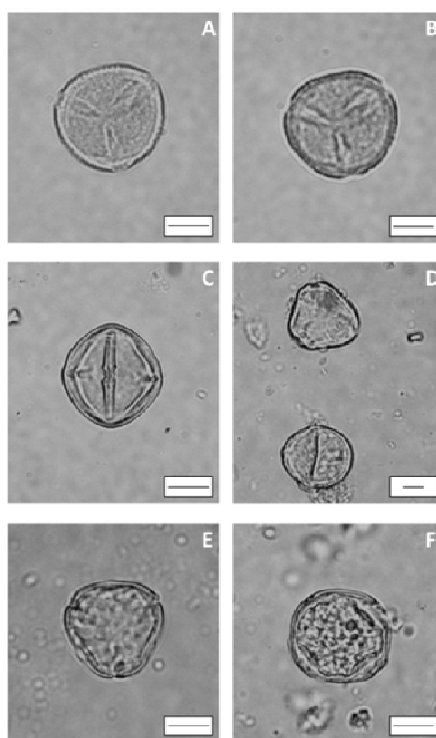
Fonte: o autor.

As flores são visualmente chamativas até o quinto dia, período em que as pétalas começam a murchar. A cor do estigma com aparência de verde passou a verde meio esbranquiçado até adquirir a cor marrom e as anteras também assumiram coloração marrom, ambos a partir do quarto dia. O estigma permanece recoberto por uma camada úmida e viscosa até o terceiro dia, pode-se supor que este seja o período em que ele está receptivo. O pólen começa a ser liberado pelas anteras logo após a antese. O guia nas flores também foi

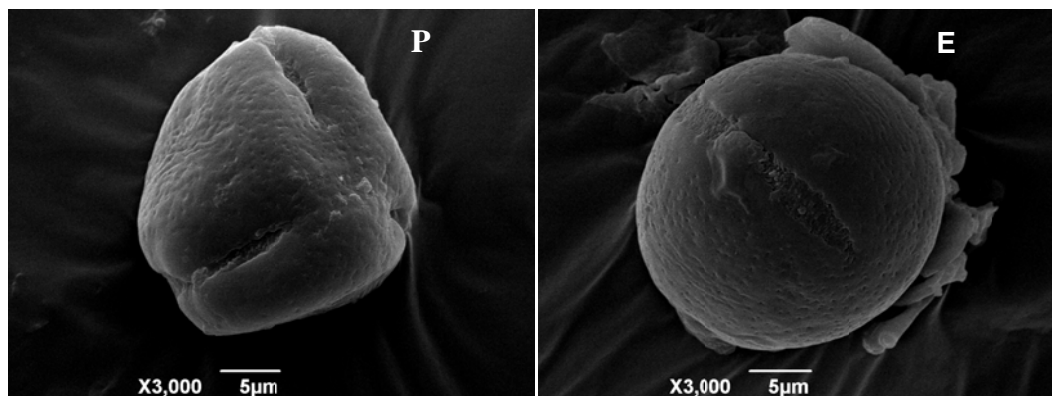
visível até o terceiro dia, com a cor se tornando cada vez mais discreta, assemelhando-se ao padrão geral do restante da corola, que é de cor rosa.

3.2 DESCRIÇÃO PALINOLÓGICA

Lippia alba possui grãos de pólen de tamanho médio que corresponde à média inserida no intervalo de 25 a 50 micrômetros, são isopolares, oblato-esferoidais, 3-colporados (raro, 4-colporados), de superfície tectado-perfurada. Os colpos medem cerca de 25,89 μm e apresentam constrictão mediana, a endoabertura é lalongada (Fotografias 4 e 5).



Fotografia 4. Grãos de pólen de *Lippia alba*: A-C (Método de Wodehouse, 1935); D-F (Método de Erdtman, 1960). A. 3-colporado, vista polar, superfície tectado-perfurada; B. 3-colporado, vista polar, corte óptico; C. Isopolares, vista equatorial, em detalhe, constrictão mediana do cólporo; D. Visão geral de dois grãos de pólen, em vista polar (acima) e equatorial (abaixo); E. Vista polar (grão de pólen 3-colporado); F. Vista polar (grão de pólen 4-colporado). Barra = 10 μm
Fonte: o autor.



Fotografia 5. Fotomicrografias, obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), mostrando vista polar (P) e equatorial (E) dos grãos de pólen de *L. alba*.
Fonte: o autor.

O diâmetro maior, em vista polar, mede cerca de 34,44 μm . As médias de tamanho do material de comparação estão inseridas na faixa de variação de tamanho do material padrão (Tabela 1).

Tabela 1: Dados morfométricos do diâmetro equatorial (E) e polar (P) dos grãos de pólen de *Lippia alba* estudados (medidas em micrômetros). Média aritmética (M), amplitude da média ($x_{\text{min}}-x_{\text{máx}}$), desvio padrão (s), desvio padrão da média (S_M) e intervalo de confiança (IC) a 95%.

Diâmetro	($x_{\text{min}}-x_{\text{máx}}$)	M	$\pm S_M$	S	IC a 95%
E	(26,16-41,42)	34,53	$\pm 0,79$	3,96	32,90-36,16
P	(26,16-34,88)	30,78	$\pm 0,63$	3,16	29,47-32,09

Fonte: o autor.

3.3 VISITANTES FLORAIS

As flores de *Lippia alba* foram visitadas por 63 espécies de insetos de diferentes ordens, listados na tabela 2. Do total de insetos observados 84,71% pertencem a ordem Hymenoptera; 11% Lepidoptera; 2,12% Thysanoptera; 2,08% Diptera e 0,09% Hemiptera – Heteroptera.

Tabela 2: Visitantes florais de *Lippia alba*, registrados nas estações seca (Se) e chuvosa (Ch), entre dezembro de 2008 e novembro de 2009 em Juiz de Fora – MG. Presente (+), ausente (-), N (número de visitas), F (Frequência relativa - %), C (Constância: W=constante; Y=acessória e Z=acidental).

Espécies	N	F	C	Se	Ch
HYMENOPTERA					
MEGACHILIDAE					
Megachilidae sp. 1	4	0,19	Z	+	-
Megachilinae					
Anthidiini					
<i>Anthidulum</i> sp.	57	2,69	Y	+	+
<i>Epanthidium</i> sp.	81	3,82	Y	+	+
Megachilini					
<i>Megachile (Austromegachile) susurrans</i> Haliday, 1836	79	3,73	Z	+	+
<i>Coelioxys</i> sp. 1	6	0,28	Z	+	+
APIDAE					
Apidae sp. 1	3	0,14	Z	-	+
Apinae					
Apini					
<i>Apis mellifera</i> Linnaeus, 1758	715	33,74	W	+	+
Bombini					
<i>Bombus</i> sp.	3	0,14	Z	+	-
Tetrapediini					
<i>Coelioxoides</i> sp.	3	0,14	Z	-	+
Exomalopsini					
<i>Exomalopsis (Exomalopsis) fernandoi</i> Moure, 1989	11	0,52	Z	-	+
Meliponini					
<i>Melipona quadrifasciata</i> Lepeletier, 1836	7	0,33	Z	-	+
<i>Trigona</i> sp.	76	3,59	Y	+	+
Tapinotaspidini					
<i>Paratetrapedia (Lophopedia)</i> sp. 1	188	8,87	Z	-	+
<i>Paratetrapedia (Lophopedia)</i> sp. 2	57	2,69	Y	+	+
<i>Paratetrapedia</i> sp. 1	11	0,52	Z	+	+
<i>Paratetrapedia</i> sp. 2	71	3,35	Y	-	+
<i>Paratetrapedia</i> sp. 3	8	0,38	Z	+	+
<i>Paratetrapedia</i> sp. 4	8	0,38	Z	+	+
<i>Paratetrapedia</i> sp. 5	88	4,15	Z	+	+
Eucerini					
<i>Thygater (Thygater) analis</i> (Lepeletier, 1841)	1	0,05	Z	-	+
Xylocopinae					
Ceratinini					
<i>Ceratina (Crewella)</i> sp.	8	0,38	Z	+	+
<i>Ceratina</i> sp. 1	36	1,70	Y	+	+
<i>Ceratina</i> sp. 2	113	5,33	Y	-	+
Nomadinae					
Nomadinae sp. 1	1	0,05	Z	-	+
HALICTIDAE					
Halictidae sp. 1	13	0,61	Z	-	+
Halictidae sp. 2	2	0,09	Z	-	+
Halictinae					
Augochlorini					
<i>Augochlora</i> sp. 1	26	1,23	Y	+	+
<i>Augochlora</i> sp. 2	11	0,52	Z	-	+
<i>Augochloropsis</i> sp. 1	36	1,70	Y	+	+
ANDRENIDAE					
Panurginae					
Protandrenini					
<i>Psaenythia</i> sp. 1	15	0,71	Z	+	+

Continua...

Tabela 2. Continuação...

VESPIDAE					
Eumeninae					
Eumeninae sp. 1	3	0,14	Z	+	+
Eumeninae sp. 2	7	0,33	Z	-	+
SPHECIDAE					
Sphecidae sp. 1	40	1,89	Y	-	+
FORMICIDAE					
Formicidae sp. 1	7	0,33	Z	+	+
LEPIDOPTERA					
NYMPHALIDAE					
Heliconiinae					
Heliconiini					
<i>Dryas iulia iulia</i> (Fabricius, 1775)	1	0,05	Z	+	-
<i>Heliconius erato phyllis</i> (Fabricius, 1775)	10	0,47	Z	+	+
<i>Heliconius sara apseudes</i> (Hübner, 1806)	1	0,05	Z	-	+
Acraeini					
<i>Actinote parapheles</i> Jordan, 1913	6	0,29	Z	+	+
Ithomiinae					
Mechanitini					
<i>Mechanitis polymnia casabranca</i> Haensch, 1905	1	0,05	Z	-	+
PIERIDAE					
Pierinae					
Pierini					
<i>Ascia monuste orseis</i> (Godart, 1819)	7	0,33	Z	-	+
HESPERIIDAE					
Pyrginae					
Eudamini					
<i>Astrartes fulgerator fulgerator</i> (Walch, 1775)	1	0,05	Z	-	+
<i>Urbanus dorantes dorantes</i> (Stoll, 1790)	66	3,11	Y	+	+
<i>Urbanus teleus</i> (Hübner, 1821)	16	0,76	Z	+	+
<i>Urbanus simplicius</i> (Stoll, 1790)	53	2,50	Y	+	+
Pyrgini					
<i>Chiomara asychis asychis</i> (Stoll, 1780)	3	0,14	Z	+	+
<i>Milanion leucaspis</i> (Mabille, 1878)	1	0,05	Z	-	+
<i>Anastrus sempiternus</i> (Butler & Druce, 1872)	6	0,28	Z	+	+
<i>Cogia calchas</i> (Herrich-Schäffer, 1869)	1	0,05	Z	-	+
<i>Anastrus ulpianus</i> (Poey, 1832)	2	0,09	Z	-	+
Hesperiinae					
<i>Callimormus corades</i> (C. Felder, [1863])	38	1,79	Y	+	+
<i>Pompeius pompeius</i> (Latreille, [1824])	4	0,19	Z	+	+
<i>Cobalopsis vorgia</i> (Schaw, 1902)	10	0,47	Z	+	+
LYCAENIDAE					
Polyommatainae					
<i>Leptotes cassius cassius</i> (Cramer, 1775)	4	0,19	Z	+	+
Theclinae					
Eumaeini					
<i>Strymon mulucha</i> (Hewitson, 1867)	1	0,05	Z	+	-
RIODINIDAE					
<i>Emesis fatimella fatimella</i> , Westwood 1851	1	0,05	Z	-	+
DIPTERA					
Diptera sp. 1	28	1,32	Y	+	+
CALLIPHORIDAE					
Calliphoridae sp.1	3	0,14	Z	+	+
Calliphoridae sp. 2	3	0,14	Z	-	+
SYRPHIDAE					
Syrphidae sp. 1	6	0,28	Z	-	+
Syrphidae sp. 2	3	0,14	Z	-	+

Continua...

Tabela 2. Continuação...

ACROCERIDAE					
Philopotinae					
<i>Philopota</i> sp.	1	0,05	Z	+	-
THYSSANOPTERA					
PHLAEOTHIRIPIDAE					
Phlaeothripidae sp. 1	45	2,12	Y	+	+
HEMIPTERA – HETEROPTERA					
PYRRHOCORIDAE					
Pyrrhocoridae sp. 1	2	0,09	Z	-	+
Total 63 espécies	2119	100			

Fonte: o autor.

As abelhas (Hymenoptera) representaram o principal grupo com trinta espécies registradas. Constataram-se quinze espécies acessórias e quarenta e sete acidentais. *Apis mellifera* foi o principal visitante, sendo considerada constante e mais frequente em relação às demais espécies. *Paratetrapedia (Lophopedia)* sp. 1 e *Ceratina* sp. 2, também foram frequentes, no entanto visitaram as flores de *L. alba* apenas durante a estação chuvosa. A frequência de visitação destas espécies está representada no gráfico 2.

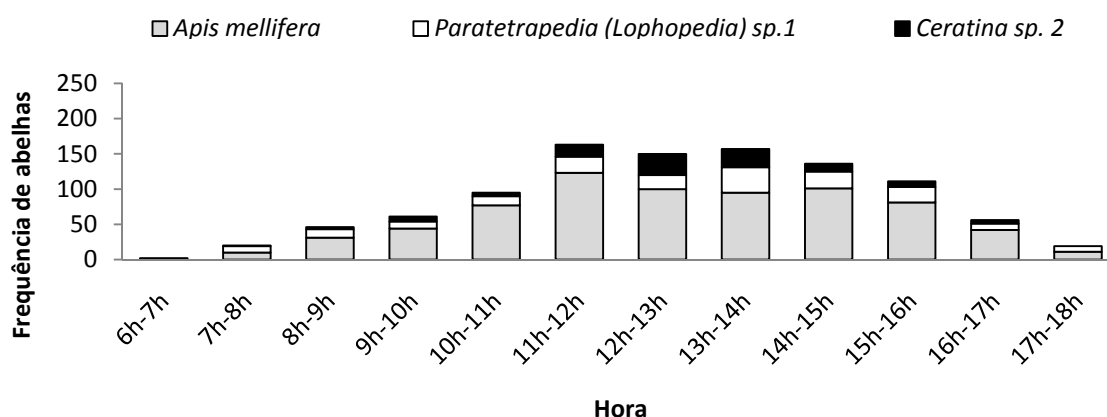


Gráfico 2. Frequência de insetos visitantes florais de *Lippia alba* ao longo do dia no período de 6h às 18h, em dezembro de 2008 a Janeiro de 2009, na região de Juiz de Fora, Minas.

Fonte: o autor.

O comportamento de visita destas espécies de abelhas foi similar. Ao visitarem as flores de *L. alba*, selecionavam apenas as flores que apresentavam a coloração do anel central da corola amarela (guia de recurso) e rejeitavam aquelas que não exibiam esta coloração. Aproximavam-se das inflorescências, agarrando-se na corola com os dois primeiros pares de pernas. Visitavam várias plantas e mais de uma flor por inflorescência. Devido ao pequeno tamanho das flores, inseriam apenas as peças bucais no interior do tubo da corola. Por vezes, caminhavam sobre as inflorescências para se deslocar e visitar outras flores (Fotografia 6).



Fotografia 6. *Apis mellifera* visitando inflorescência de *Lippia alba* na Estação Experimental de Cultivo e Manutenção de Plantas da UFJF, no município de Juiz de Fora, MG.

Fonte: o autor.

A retirada de pólen observada em *A. mellifera* e *Paratetrapedia (Lophopedia)* sp. 1 foi realizada por meio da limpeza do aparelho bucal com o primeiro e segundo pares de pernas e posterior transferência para a corbícula ou tapinotaspoides (SILVEIRA *et al.*, 2002) no caso de *Paratetrapedia (Lophopedia)* sp.1. Em algumas ocasiões observou-se comportamento agonístico da abelha *A. mellifera* quando outras espécies pertencentes ao gênero *Paratetrapedia* tentavam pousar nas flores que ocupavam.

As vespas pousavam nas inflorescências introduzindo somente as peças bucais no tubo floral, assim como as abelhas. Também visitavam exclusivamente as flores com guia de recurso. As formigas (Formicidae) e os insetos pertencentes à ordem Thysanoptera entravam nas flores e mantinham contato com o estigma e as anteras, sendo observados nas flores com ou sem guia de recurso. As moscas (Diptera) introduziam a probóscide no interior de flores com guia de recurso, pousavam nas inflorescências de plantas distintas, visitando várias flores. O percevejo pertencente à família Pyrrhocoridae, pousava em algumas inflorescências, e introduzia o aparelho bucal no interior do tubo da corola de flores com ou sem guia de recurso.

A ordem Lepidoptera representou outro grupo de visitantes florais de *L. alba*. Foram observadas 21 espécies, perfazendo um total de 232 visitas registradas. A família mais freqüente foi HesperIIDae, seguida por Nymphalidae, Pieridae, Lycaenidae e Riodinidae (Tabela 1). Todas as espécies registradas pousavam nas inflorescências agarrando-se com o

primeiro e segundo pares de pernas ao tubo corolíneo, inserindo apenas a probóscide no interior da flor. Visitavam, preferencialmente, flores com guia de recurso, mas em algumas ocasiões, estes visitantes foram observados em flores que não apresentavam o anel central da corola.

As flores de *L. alba* proporcionam apenas uma pequena área de pouso, mas como as inflorescências consistem em um aglomerado de flores próximas umas das outras, as borboletas foram capazes de pousar e visitar várias flores em volta deslocando apenas sua probóscide.

Observou-se correlação significativa entre a frequência de visitas e os fatores climáticos: intensidade luminosa ($r= 0,56$; $p<0,0001$); temperatura ($r=0,69$; $p<0,0001$) e umidade relativa do ar ($r= -0,55$; $p<0,0001$). Não houve correlação entre a frequência de visitas e a velocidade do vento ($r=0,27$; $p>0,05$). Os valores médios para os fatores climáticos no período de estudo estão representados no gráfico 3.

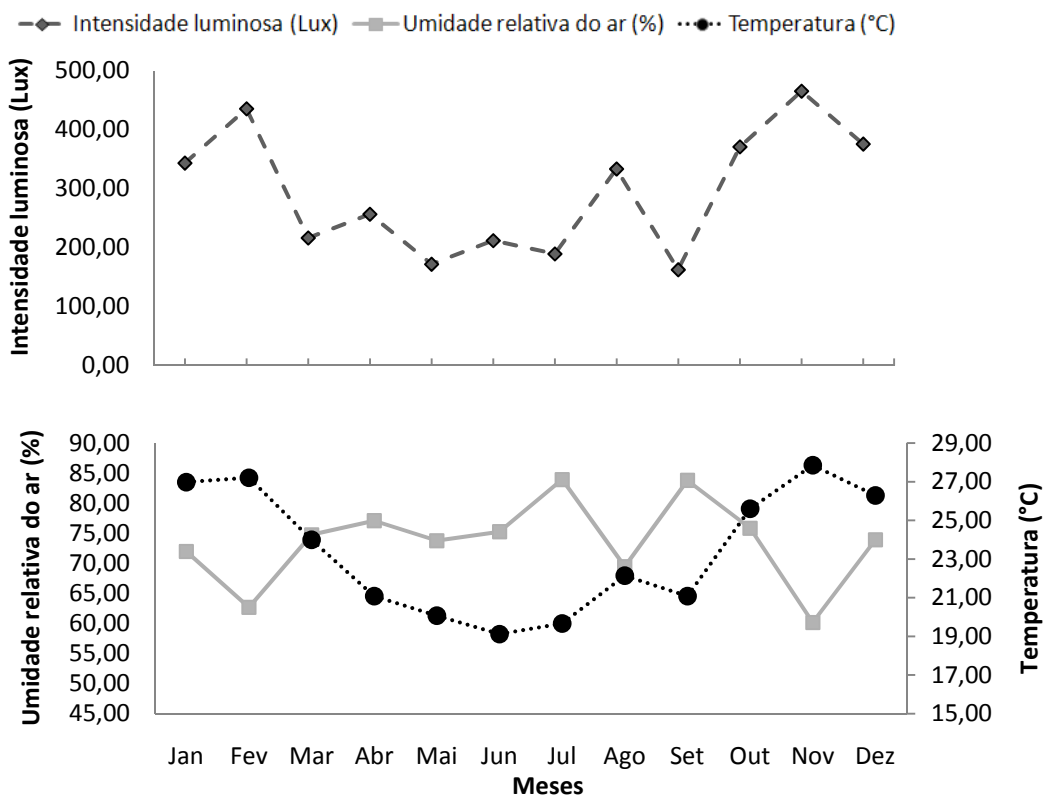


Gráfico 3. Médias mensais de temperatura (°C), Intensidade luminosa (lux) e Umidade relativa do ar (%) no período de dezembro de 2008 a novembro de 2009 em Juiz de Fora, Minas Gerais.

Fonte: o autor.

O número de espécies registradas diferiu significativamente entre as estações chuvosa e seca ($H=9,9601$; $p=0,0016$). Na estação chuvosa foram observados nos dias amostrados, em média $12,67 \pm 3,5$ espécies e na estação seca $7,53 \pm 4,41$ (Gráfico 4). Dentre as espécies consideradas mais frequentes, apenas *A. mellifera* foi registrada durante ambas as estações do ano, enquanto *Paratetrapedia (Lophopedia) sp.1* e *Ceratina sp. 2* estiveram presentes somente na estação chuvosa.

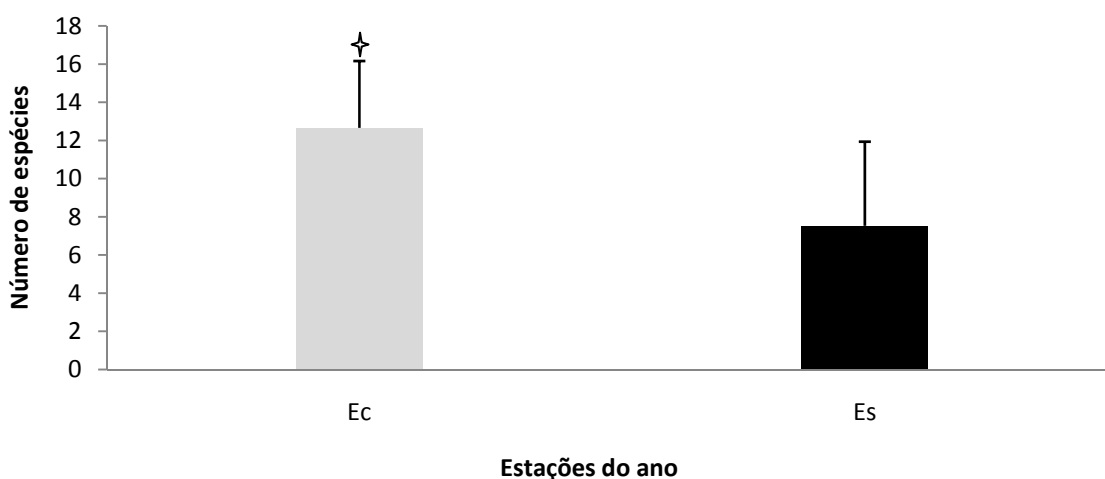


Gráfico 4. Valores médios e desvio padrão das espécies de insetos registradas nas flores de *L. alba* nas estações chuvosa (Ec) e seca (Es) em Juiz de fora - Minas Gerais, de dezembro de 2008 a novembro de 2009. A presença de (†) indica que as colunas cinza e preto, diferem entre si, pelo teste do Kruskal-Wallis ($p<0,05$).

Fonte: o autor.

Com relação à distribuição dos insetos por horários de visitas, a maior atividade, em ambas as estações do ano, ocorreu entre 10h - 14h (Gráfico 5), quando a temperatura média esteve em 25 °C, luminosidade média de 50000 lux e umidade relativa do ar média de 66 %. Durante este período 57 % dos insetos foram registrados nessas faixas de horários. Verificou-se que houve menor atividade dos insetos no início da manhã (6h – 8h) quando a temperatura média foi de 19 °C, luminosidade média de 13000 lux e umidade relativa do ar média de 82 % e no final da tarde (16h – 18h), quando a temperatura média esteve em 22 °C, luminosidade média de 5000 lux e umidade relativa do ar média de 78 %.

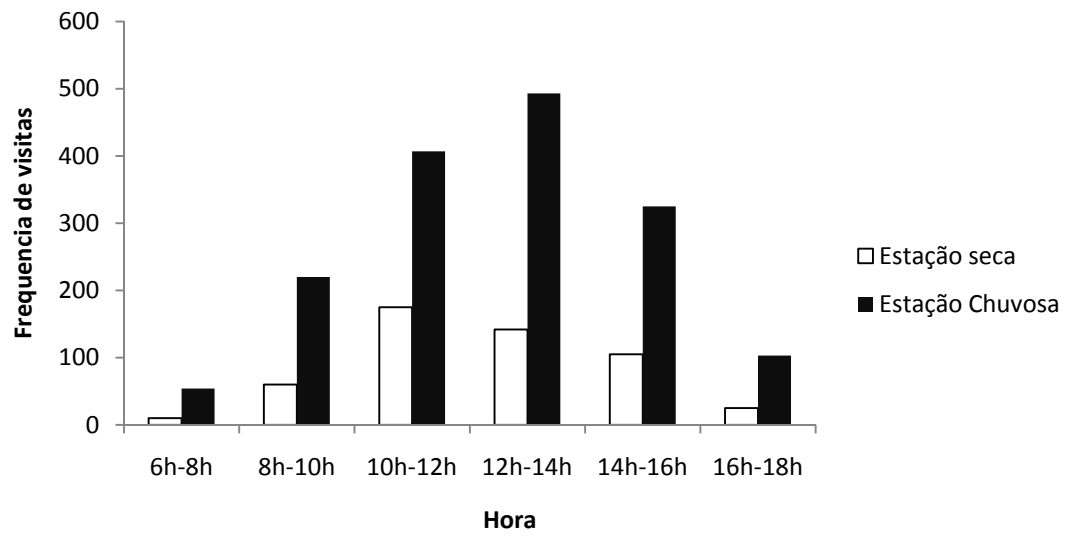


Gráfico 5. Número total de indivíduos registrados por horário nas flores de *Lippia alba* em Juiz de Fora - Minas Gerais, durante as estações seca e chuvosa, no período de dezembro de 2008 a novembro de 2009.

Fonte: o autor.

4 DISCUSSÃO

4.1 FENOLOGIA FLORAL

L. alba demonstrou floração durante todo o período de estudo. Na Venezuela, esta espécie também apresentou floração contínua (VIT *et al.*, 2002). Um longo período de floração faz com que os recursos se tornem disponíveis por mais tempo, aumentando o número de espécies que procuram pólen e néctar (ANTONINI *et al.*, 2005). Desta forma, *L. alba* pode ser considerada uma fonte regular de recursos que é oferecido aos visitantes florais, demonstrando atuar como espécie chave para essa comunidade.

A antese de *L. alba* ocorre predominantemente pela manhã, sendo observado posteriormente um pico de frequência de insetos visitantes. Isso pode estar relacionado à maior atividade forrageadora dos insetos quando as variáveis climáticas estão em níveis ótimos e ao maior número de flores abertas no período pós-antese. Outra característica importante é o aroma forte e chamativo das flores, devido aos óleos essenciais presentes na planta (AGUIAR; COSTA, 2005), o que também pode atuar como atrativo aos visitantes florais.

L. alba apresentou flores com maior longevidade quando comparada a outras espécies da mesma família, como *Lantana camara* L., que dura dois dias; *Stachytarpheta glabra* Cham., durando um dia; e *Stachytarpheta maximiliani* Scham., que dura aproximadamente 12 horas (BARROS *et al.*, 2001; ANTONINI *et al.*, 2005; BARBOLA *et al.*, 2006). O longo período de atratividade da corola e receptividade estigmática pode atuar na manutenção das visitas à própria flor e à flores próximas, levando à um incremento nas taxas de polinização. A viabilidade do estigma, até o terceiro dia, sugere que a alteração da coloração das pétalas pode estar relacionada à fertilização dos óvulos. As flores totalmente rosas poderiam funcionar como um atrativo visual adicional à distância para os visitantes florais.

Schocken (2007), afirmou que o modo preferencial de reprodução de *L. alba* é alogâmico. Esta característica requer a dependência de agentes polinizadores para que ocorra a reprodução sexual da espécie, o que permite o aumento de variabilidade genética, possibilitando a seleção dos genótipos mais favoráveis.

L. alba pode ser facilmente cultivada, possui desenvolvimento rápido e agressivo (YAMAMOTO *et al.*, 2008). Esses fatos favorecem a implementação de programas de melhoramento genético, uma vez que a planta apresenta grande potencial econômico devido às atividades farmacológicas presentes em seus constituintes químicos. Tais estudos podem resultar em um produto de exploração comercial de maneira racional e sustentável.

4.2 DESCRIÇÃO PALINOLÓGICA

Os grãos de pólen de *L. alba* mostraram-se homogêneos, apresentando valores semelhantes no que diz respeito ao tamanho e ao número de aberturas quando comparado a outros estudos com a mesma espécie (BARTH, 1989; MUÑOZ *et al.*, 2006). No entanto, pequenas variações de tamanho e forma dos grãos de pólen são próprias de algumas espécies, inclusive de *L. alba* (MUÑOZ *et al.*, 2006).

A ornamentação lisa observada por Barth (1989) e Vit *et al.* (2002) pode ser uma interpretação equivocada em função do tamanho do grão de pólen, ou ainda, pela utilização exclusiva da técnica sob microscopia de luz. No presente estudo, embora as perfurações tenham sido observadas em microscopia de luz, a microscopia eletrônica de varredura foi importante para finalizar a caracterização da superfície do esporoderma. Os dados confirmam os resultados encontrados por Muñoz *et al.* (2006) onde a ornamentação dos grãos de *L. alba* é caracterizada como do tipo tectado-perfurada.

4.3 VISITANTES FLORAIS

A. mellifera foi o único visitante constante nas flores de *L. alba*, além disso, apresenta um amplo horário de atividade forrageadora, sendo mais frequente que as demais espécies nas primeiras horas da manhã até o último horário de amostragem. A espécie é eussocial, possuindo colônias muito populosas com 5.000 a 80.000 indivíduos (RAMALHO *et al.*, 2007; NEVES; VIANA, 2002), o que significa que a existência de uma única colônia nas proximidades é suficiente para torná-la altamente abundante em comparação com outras

espécies. Além disso, estas abelhas forrageiam até grandes distâncias de seus ninhos, exploram numerosas espécies de plantas, possuem sistemas de comunicação muito eficientes e não dependem de cavidades pré-existentes para nidificação (NEVES; VIANA, 2002). Esses fatos podem explicar a superioridade numérica de *A. mellifera* nas flores de *L. alba*. No entanto, em um trabalho que considerou as plantas visitadas por *A. mellifera* no vale do rio Paraguaçu - Bahia, foi observado que esta espécie foi pouco freqüente em *L. alba* (CARVALHO; MARCHINI, 1999). Os autores verificaram que *L. alba* na região estudada ocorre de forma acidental e não dominante na vegetação, o que poderia contribuir para o baixo potencial apícola da espécie na área de estudo, devido à competição entre as plantas.

Em relação ao comportamento agonístico apresentado por *A. mellifera*, pode-se inferir que a espécie é territorialista e compete com os outros visitantes florais. Siqueira *et al.* (2008), registraram comportamento agressivo das abelhas *A. mellifera*, relatando que as operárias impediam que outros insetos se aproximassem das flores, interferindo assim, no padrão de visitação das demais espécies. Este comportamento também foi observado por Torezan-Silingardi e Del-Claro (1998).

Outros visitantes florais observados com frequência: *Paratetrapedia (Lophopedia)* sp. 1 e *Ceratina* sp. 2 pertencem a gêneros de hábito solitário (SILVEIRA *et al.*, 2002). As abelhas solitárias são conhecidas por sua incapacidade de competir eficientemente com abelhas sociais que possuem alta capacidade de comunicação e exploração de recursos como *A. mellifera* (RODARTE *et al.*, 2008).

O gênero *Paratetrapedia* Moure, 1941 está entre os mais ricos na fauna brasileira contribuindo com até 8% das espécies de faunas locais, dentre elas algumas incluídas no subgênero *Lophopedia* ainda aguardam para ser descritas (SILVEIRA *et al.*, 2002). A frequência de ocorrência de *Ceratina* sp. 2 está de acordo com outros trabalhos conduzidos no sul e sudeste do país. Para Gonçalves e Melo (2005) na comunidade de abelhas em Vila Velha no estado do Paraná, as abelhas do gênero *Ceratina* constituem um importante componente possuindo muitos indivíduos e sendo o mais abundante entre os gêneros nativos. Resultados similares também foram encontrados por Antonini e Martins (2003) em vegetação localizada entre os limites de Floresta Atlântica e o do cerrado na região de Belo Horizonte, Minas Gerais, onde os autores constataram a frequência de 10% na visitação das plantas.

Estudos sobre os visitantes florais realizados com espécies pertencentes à família Verbenaceae sugerem diversas síndromes de polinização. *Stachytarpheta glabra* no Campus da Universidade Federal de Ouro Preto foi visitada por borboletas, mariposas e abelhas, sendo

pilhadores os Vespidae (ANTONINI *et al.*, 2005). A espécie *Stachytarpheta maximiliani* em uma área de floresta Atlântica na cidade de Morretes, Paraná, foi visitada por diferentes espécies de Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Himenoptera e Lepidoptera, em busca de néctar e pólen, sendo as abelhas e Lepidoptera os mais frequentes (BARBOLA *et al.*, 2006). Fonseca *et al.* (2006), estudando os visitantes florais de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl na estação ambiental de Peti, Belo Horizonte, Minas Gerais, registraram 98 espécies pertencentes à ordem Lepidoptera. Em uma reserva situada na cidade de Veracruz, México, os Lepidoptera foram considerados os visitantes mais efetivos de *Lantana camara*, devido à maior frequência às flores e à eficiência na coleta de pólen (BARROS *et al.*, 2001).

O declínio no número de espécies e indivíduos durante a estação seca (maio a setembro), provavelmente está relacionado às condições climáticas, tais como temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade. Mudanças sazonais são sempre precedidas por sinais ambientais que podem ser interpretados por várias espécies de insetos por meio de um conjunto de adaptações morfofisiológicas (MARTINS; BARBEITOS, 2000). Resultados semelhantes ao presente estudo foram encontrados por Lima *et al.* (2000) na região de Juiz de Fora, MG. Os autores realizaram um levantamento dos gêneros de vespas sociais existentes no campus da Universidade Federal de Juiz de Fora e registraram a flutuação do número de colônias durante o ano de amostragem. O padrão observado foi de maior abundância de colônias durante a estação quente e úmida, seguida de uma grande redução deste número na estação fria e seca.

A presença de correlação entre os fatores climáticos (temperatura, umidade e luminosidade) e a atividade forrageadora dos insetos amostrados concorda com o afirmado por Antonini *et al.* (2005). Esses autores observaram que os picos de visitação, geralmente coincidem com alta temperatura e alta intensidade luminosa, mas verifica-se uma relação inversa entre valores de umidade relativa do ar e taxas de visita. Estudos realizados no campus da Universidade Federal de Juiz de Fora - MG, demonstraram pico de atividade forrageadora das vespas *Polistes ferreri* e *Polistes simillimus* na mesma faixa de horário que no presente trabalho, ou seja, entre às 10h e 14h, coincidindo com as horas mais quentes do dia (ANDRADE; PREZOTO, 2001; ELISEI *et al.*, 2008).

Taura e Laroca (2004) demonstraram que nas primeiras horas do período da manhã a frequência de visitas de abelhas é reduzida, como também durante o final da tarde. Isto se deve, possivelmente, à temperatura mais baixa e umidade mais elevada no início da manhã e à diminuição da luminosidade, da temperatura e da quantidade de recursos oferecidos ao

entardecer. De acordo com Silveira *et al.* (2002), uma boa amostragem da fauna de abelhas de um dado local só é obtida com coletas em vários horários do dia e ao longo de todo o ano, isto porque diferentes espécies estão ativas em diferentes horas e em diferentes épocas do ano.

A intensidade luminosa é usualmente o fator que afeta o tempo de vôo, enquanto que a temperatura influi na amplitude de vôo (SILVEIRA NETO *et al.*, 1976). Segundo Gallo *et al.* (2002) a temperatura ótima para o desenvolvimento e atividade dos insetos está em torno de 25°C. Na faixa compreendida entre 38°C e 48°C os insetos entram em estivação temporária e abaixo de 15°C os insetos entram em hibernação (SILVEIRA NETO *et al.*, 1976). Os insetos também tendem a se movimentar ao longo de um gradiente de umidade, procurando a parte mais favorável para evitar os excessos de umidade e a falta dela, pois num ambiente seco ocorre a dessecação dos tecidos e num ambiente muito úmido podem ocorrer afogamentos e doenças (GALLO *et al.*, 2002).

As abelhas de mel são preciosos polinizadores na agricultura, estimando-se que valem vários bilhões de dólares anualmente nos Estados Unidos (GULLAN; CRANSTON, 2007). A diversidade de plantas utilizadas pelas abelhas ressalta a importância da preservação da vegetação nativa para a sobrevivência das colméias durante os tempos de escassez de oferta dos recursos florais das plantas (LUZ *et al.*, 2007). Dessa forma é aconselhável utilizar espécies vegetais com intensa floração para atrair os possíveis polinizadores, como as abelhas *Apis mellifera* e outros insetos. Por ser uma planta que floresce durante todo ano os autores sugerem a utilização de *L. Alba* como fonte de recursos florais para as abelhas de interesse apícola.

5 CONCLUSÃO

As características florais de *L. alba* demonstram que a espécie é preferencialmente melitófila. O longo período de floração pode ser considerado uma estratégia que garante a manutenção e atração da entomofauna visitante floral, o que aumentaria a probabilidade de sucesso reprodutivo de *L. alba*.

O material polínico analisado apresentou tamanho, forma, ornamentação, número e tipo de abertura dentro do padrão para a família Verbenacea.

Conforme os dados do presente estudo, *L. alba* é visitada por espécies de insetos distribuídas em cinco ordens distintas, podendo ou não atuar como polinizadores. Dentre as quais *Apis mellifera* foi o principal visitante floral, sendo constante e mais frequente dentre as espécies registradas.

Os fatores climáticos influenciaram a atividade forrageadora da entomofauna visitante floral, sendo observada maior frequência de visitação nas horas mais quentes do dia, com maior intensidade luminosa e menores valores de umidade relativa do ar.

Novos estudos realizados com essa espécie ou espécies congênicas podem ser úteis para auxiliar nossa compreensão sobre diversos aspectos relevantes das associações envolvendo a família Verbenaceae e seus insetos visitantes.

REFERÊNCIAS

- ABENA, A. A. *et al.* Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. **Fitoterapia**, v.74, p. 231-236. 2003.
- AGUIAR, J. S.; COSTA, M. C. C. D. *Lippia Alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae): levantamento de publicações nas áreas química, agrônômica e farmacológica, no período de 1979 a 2004. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 1, p. 79-84. 2005.
- ALMEIDA, E. C. Biologia floral e mecanismos de reprodução em *Crotaria mucrota*. **Revista Ceres**, v. 33, n. 190, p. 528-540. 1986.
- ALMEIDA-SOARES, S. *et al. in press.* Pollination of *Adenocalymma bracteatum* (Bignoniaceae): Floral Biology and Visitors. **Neotropical Entomology**.
- ALTMANN, J. Observational study of behavior: sampling methods. **Behavior**, v. 49, p. 227-267. 1974.
- ANDRADE, F. R.; PREZOTO, F. Horários de atividade forrageadora e material coletado por *Polistes ferreri* Saussure, 1853 (Hymenoptera, Vespidae), nas diferentes fases de seu ciclo biológico. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 3, n. 1, p. 117-128. 2001.
- ANTONINI, Y. *et al.* Diversidade e Comportamento dos Insetos Visitantes Florais de *Stachytarpheta glabra* Cham. (Verbenaceae), em uma Área de Campo Ferruginoso, Ouro Preto, MG. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 4, p. 555-564. 2005.
- ANTONINI, Y.; MARTINS, R. P. The flowering-visiting bees at the ecological station of the Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 4, p. 565-575. 2003.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE JUIZ DE FORA. Laboratório de Climatologia Geográfica e Análise Ambiental - DEGEO – ICH. Estação Climatológica Principal de Juiz de Fora - MG, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2009.
- ARCILA-LOZANO, C.C. *et al.* El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. **Alan**, v. 54, n.1, p. 100-111. 2004.
- ARREGUIN-SANCHEZ, M. L.; PALACIOS CHAVEZ, R.; QUIROZ GARCIA, D. L. Morfología de los granos de polen de la familia Verbenaceae del Valle de Mexico. **Phytologia**, v. 80, n. 5, p. 329-342. 1996.

ATKINS, S. Verbenaceae. In: KADEREIT, J. W. (ed.). **The families and genera of vascular plants: Flowering plants. Dicotyledons. Lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae)**, Berlin, GER, Springer-Verlag, v. 7. 2004.

BADILLA, B. *et al.* Determination of topical anti-inflammatory activity of the essential oil and extracts of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae), using the model of mouse ear edema induced by TPA and AA. **Pharmacognosy Magazine**, v. 3, p. 139-144. 2007.

BARBOLA, I. F. *et al.* Floral biology of *Stachytarpheta maximiliani* Scham. (Verbenaceae) and its floral visitors. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 4, p. 498-504. 2006.

BARROS, M. A. G.; RICO-GRAY, V.; DÍAZ-CASTELAZO, C. Sincronia de floração entre *Lantana camara* L. (Verbenaceae) e *Psittacanthus calyculatus* (DC) G. DON (Loranthaceae) ocorrentes nas dunas de la Mancha, Veracruz, México. **Acta Botanica Mexicana**, v. 57, p. 1-14. 2001.

BARTH, O. M. **O Pólen no mel brasileiro**. Rio de Janeiro: Luxor, 1989.

BARTH, O. M.; MELHEM, T. L. S. **Glossário ilustrado de palinologia**. Campinas: Editoria da Universidade Estadual de Campinas, 1988.

BONZANI, N. E.; FILIPPA, E. M. ; BARBOZA, G. E. Particularidades epidérmicas en algunas especies de Verbenaceae. In: **Anales del Instituto de Biología Universidad Autónoma de México, Serie Botánica**, v. 68, n. 2, p. 47-56. 1997.

CABRERA, A. L. **Flora de la Provincia de Jujuy**. Buenos Aires, Argentina, Instituto Nacional Técnico Agrario, 115p. (Parte IX Colección Científica del INTA). 1993.

CALDAS, M. C. *et al.* Atividade Citotóxica de Extratos Brutos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 349-352. 2004.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. *et al.* Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 288-294. 2007.

CARVALHO, A. F. U. *et al.* Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* cham. against *Aedes aegypti* linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 4, p. 569-571. 2003.

CARVALHO, C. A. L.; MARCHINI, L. C. Plantas visitadas por *Apis mellifera* L. no vale do rio Paraguaçu, Município de Castro Alves, Bahia. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 2, p. 333-338. 1999.

DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. **Practical pollination biology**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

DUTRA, J. C. S.; MACHADO, V. L. L. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (juss.) Seem (Bignoniaceae), durante seu período de floração. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 43-53. 2001.

ELISEI, T. *et al.* Influence of Environmental Factors on the Foraging Activity of the Paper Wasp *Polistes simillimus* (Hymenoptera, Vespidae). **Sociobiology**, v. 51, n. 1, p. 219-230. 2008.

ERDTMAN, G. The acetolysis method. A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, v. 39, p. 561-564. 1960.

ERDTMAN, G. **Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms. An Introduction to Palynology I.** Stockholm, Almqvist e Wiksell, 1952.

FILHO, J. G. S. *et al.* Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 4, p. 506-509. 2006.

FONSECA, N. G.; KUMAGAI, A. F.; MIELKE, O. H. H. Lepidópteros visitantes florais de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl (Verbenaceae) em remanescente de Mata Atlântica, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de entomologia**, v. 50, n. 3, p. 399-405. 2006.

GALLO, D. *et al.* **Entomologia agrícola**. 3. ed. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GIBSON, D. N. Verbenaceae. In: Standley PC, Williams L.O. (Org). Flora of Guatemala. **Fieldiana Botany**, v. 24, n. 1-2, p. 167-236. 1970.

GOMES, E. C. *et al.* Constituintes do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 72, p. 29-32. 1993.

GONÇALVES, R. B.; MELO, G. A. R. A comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apidae s. l.) em uma área restrita de campo natural no Parque Estadual de Vila Velha, Paraná: diversidade, fenologia e fontes florais de alimento. **Revista Brasileira de entomologia**, v. 49, n. 4, p. 557-571. 2005.

GUEVARA, R.; ROSALES, J.; SANOJA, E. Vegetación pionera sobre rocas, un potencial biológico para la revegetación de áreas degradadas por la minería de hierro. **INCI**, v. 30, n. 10, p. 644-651. 2005.

GUERRERO, M. F. *et al.* Assessment of the antihypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, p. 37-42. 2002.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **Os Insetos**: um resumo a entomologia. 3. ed. São Paulo: Roca, 2007.

GUPTA, S. K.; KHANUJA, S. P. S.; KUMAR, S. *In vitro* micropropagation of *Lippia alba*. **Current Science**, v. 81, n. 2, p. 206-210. 2001.

HEINZMANN, B. M.; BARROS, F. M. C. Potencial das plantas nativas brasileiras para o desenvolvimento de fitomedicamentos tendo como exemplo *Lippia alba* (mill.) N. E. Brown (verbenaceae). **Saúde**, v. 33, n. 1, p. 43-48. 2007.

HENNEBELLE, T. *et al.* Ethnopharmacology of *Lippia alba*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, p. 211–222. 2008.

JONES, G. D.; JONES, S. D. The uses of pollen and its implication for Entomology. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 314-349. 2001.

JULIAO, L. S. *et al.* Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N.E.Br. (erva-cidreira). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 36-38. 2009.

KEARNS, C. A.; INOUE, D.W. **Techniques for pollination biologists**. Colorado: Colorado University Press, 1993.

KRENN, H. W.; PLANT, J.; SZUCSICH, N. U. Mouthparts of flower-visiting insects. **Arthropod Structure & Development**, v. 34, p. 1–40. 2005.

LIMA, M. A. P.; LIMA, J. R.; PREZOTO, F. Levantamento dos gêneros, flutuação das colônias e hábitos de nidificação de vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae) no Campus da UFJF. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 2, n. 1, p. 69-80. 2000.

LUZ, C. F. P.; THOME, M. L.; BARTH, O. M. Recursos tróficos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) na região de Morro Azul do Tinguá, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 1, p. 29-36. 2007.

MARTINS, R. P.; BARBEITOS, M. S. **Adaptações de insetos e mudanças no ambiente: Ecologia e evolução da diapausa**. Série Oecologia Brasiliensis, 43p. (Ecologia e comportamento de insetos, 8). 2000.

MELHEM, T. L. S. *et al.* Variabilidade polínica em plantas de Campos de Jordão (São Paulo, Brasil). **Boletim do Instituto de Botânica**, v. 16, p. 1-104. 2003.

MOLDENKE, H. N. The Verbenaceae and Avicenniaceae of Trinidad and Tobago. **Lilloa**, v. 4, p. 283-336. 1939.

MUÑOZ, M. A.; VALLEJO, C. F. A.; SÁNCHEZ, O. M. S. Morphology and anatomy of flowers and seeds of *Lippia alba*. **Acta Agronómica (Colombia)**, v. 56, n. 1. p. 7-11. 2007.

MUÑOZ M., A. *et al.* Comportamiento meiótico y descripción morfológica del polen de pronto alivio. **Acta Agronómica Norteamérica**, v. 55, n. 2, p. 37-42. 2006.

NEVES, E. L.; VIANA, B. F. As abelhas eussociais (Hymenoptera, Apidae) visitantes florais em um ecossistema de dunas continentais no médio Rio São Francisco, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de entomologia**, v. 46, n. 4, p. 571-578. 2002.

NOGUEIRA, M. A. *et al.* Antibacterial Activity of *Lippia alba* (Lemon Herb). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 404-406. 2007.

OLIVEIRA, D. R. *et al.* Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, p. 103-108. 2006.

OLLERTON, J.; DAFNI, A. Morphology and phenology. In: Dafni, A., Kevan, P. G., Husband B. C. (eds). **Practical pollination biology**. Enviroquest Ltd. Ontário, Canada. 2005.

OLLERTON, J. La Evolución de las Relaciones Polinizador-Planta en los Artrópodos. **Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa**, v. 26, p. 741-758. 1999.

PASCUAL, M. E. *et al.* Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). **IL Farmaco**, v. 56, p. 501-504. 2001a.

PASCUAL, M. E. *et al.* *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 201-214. 2001b.

PÉREZ, S. *et al.* Anti-inflammatory activity of *Lippia dulcis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 1-4. 2005.

PERVEEN, A.; QAISER, M. Pollen flora of Pakistan–III: Verbenaceae. **Pakistan Journal of Botany**, v. 39, n. 3, p. 663-669. 2007.

PIMENTA, M. R. *et al.* Floração, germinação e estaquia em espécies de *Lippia* (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 2, p. 215-224. 2007.

PINTO, E. P. P.; AMOROZO, M. C. M.; FURLAN, A. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica – Itacaré, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 751-762. 2006.

PLANO DIRETOR DE JUIZ DE FORA. Diagnóstico. **Instituto de Pesquisa e Planejamento de Juiz de Fora**, v.1, p. 33-34. 1996.

RAMALHO, M.; SILVA, M. D.; CARVALHO, C. A. L. Dinâmica de uso de fontes de pólen por *Melipona scutellaris* Latreille (Hymenoptera: Apidae): uma análise comparativa com *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), no Domínio Tropical Atlântico. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 1, p. 38-45. 2007.

RICCIARDI, G. A. L.; RICCIARDI, A. I. A.; BANDONI, A. L. Fitoquímica de verbenáceas (*Lippias y Aloysias*) Del Nordest Argentino. **Comunicaciones Científicas y tecnológicas, UNNE Exactas**, v. 39, p. 103-106. 2000.

RODARTE, A. T. A.; SILVA, F. O.; VIANA, B. F. A flora melitófila de uma área de dunas com vegetação de caatinga, Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 2, p. 301-312. 2008.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. **Contribuição à Palinologia dos Cerrados**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências. 1973.

SALIMENA, F.; FRANÇA, F.; SILVA, T. R. S. Verbenaceae. In: Giulietti, A. M.; Rapini, A.; Andrade, M. J. G.; Queiroz, L. P.; Silva, J. M. C. (orgs). **Plantas Raras do Brasil**. 1 ed., Belo Horizonte, MG, Universidade Estadual de Feira de Santana. 2009.

SALIMENA, F. R. G. Novos sinônimos e tipificações em *Lippia* sect. *Rhodolippia* (Verbenaceae). **Darwiniana**, v. 40, n. 1-4, p. 121-125. 2002.

SANDERS, R.W. The genera of Verbenaceae in the southeastern United States. **Harvard Papers in Botany**, v. 5, n. 2, p. 303-358. 2001.

SCHOCKEN, N. R. L. **Obtenção de quimiotipos híbridos de *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown**. 2007. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical, Área de Concentração de Melhoramento Genético vegetal), Pós-Graduação/Instituto Agronômico, Campinas, São Paulo, 2007.

SILVA, C. I. *et al.* **Catálogo Polínico**: palinologia aplicada em estudos de conservação de abelhas do gênero *Xylocopa* no Triângulo Mineiro. 1. ed. Uberlândia, 2010.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. **Abelhas Brasileiras**: Sistemática e identificação. Belo Horizonte, 2002.

SILVEIRA NETO, S. *et al.* **Manual de ecologia dos insetos**. Piracicaba: Ceres, 1976.

SIQUEIRA, K. M. M. *et al.* Estudo comparativo da polinização de *Mangifera indica* L. em cultivo convencional e orgânico na região do Vale do Submédio do São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 303-310. 2008.

STASHENKO, E. E.; JARAMILLO, B. E.; MARTÍNEZ, J. R. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante *in vitro* de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. **Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales**, v. 27, n. 105, p. 579-598. 2003.

STEVENS, W. D. *et al.* **Verbenaceae, Flora de Nicaragua**. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, 2001.

TAURA, H. M.; LAROCA, S. Biología da Polinização: interações entre as abelhas (Hym., Apoidea) e as flores de *Vassobia breviflora* (Solanaceae). **Acta Biológica Paranaense**, v. 33, n. 1, 2, 3, 4, p. 143-162. 2004.

TOREZAN-SILINGARDI, H. M.; DEL-CLARO, K. Behavior of visitors and reproductive biology of *Campomanesia pubescens* (Myrtaceae) in cerrado vegetation. **Ciência e Cultura**, v. 50, n. 4, p. 281-283. 1998.

TOREZAN-SILINGARDI, H. M. As flores e o comportamento animal: diretrizes básicas para o estudo etológico de polinizadores. In: Del-Claro, K., Prezoto, F., Sabino, J. (Org.). **As distintas faces do comportamento animal**. 2. ed. Campo Grande: UNIDERP, 2008.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. **Borror & DeLong's introduction to the study of insects**. 7. ed. Belmont: Brooks Cole, 2005.

TRONCOSO, N. S. Los géneros de Verbenáceas de Sudamérica extratropical (Argentina, Chile, Bolivia, Paraguay, Uruguay y sur de Brasil). **Darwiniana**, v. 18, p. 295-412. 1974.

VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia Série Botânica**, v. 61, n. 1-2, p. 83-103. 2006.

VICCINI, L. F. *et al.* Chromosome numbers in the genus *Lippia* (Verbenaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 256, n. 1, p. 1-4. 2005.

VIT, P.; SILVA, B.; MELÉNDEZ, P. *Lippia alba* N.E. Br. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela. **Revista de la facultad de farmacia**, v. 43, n. 2, p. 13-14. 2002.

WASER, N. M. *et al.* Generalization in pollination systems, and why it matters. **Ecology**, v. 77, p. 1043-1060. 1996.

WODEHOUSE, R. P. **Pollen Grains: their structure, identification and significance in science and medicine**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1935.

YAMAMOTO, P. Y. *et al.* Performance of ginger grass (*Lippia alba*) for traits related to the production of essential oil. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 5, p. 481-489. 2008.

ZOGHBI, M. G. B. *et al.* Essential oils of *Lippia alba* (Mill) N. E. Br growing wild in the Brazilian Amazon. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 13, p. 47-48. 1998.