

Integração fenotípica, fenologia reprodutiva e visitantes florais em três espécies simpátricas de *Ludwigia L.* (Onagraceae)

*Joana Roxinsky Teodoro*¹

*Camila Aoki*²

*Rodrigo Aranda*³

*Adriano José Nepomuceno Amorim*⁴

*Fanny de Oliveira Rodrigues*⁵

*Paula Bêlit Mazacote Zenteno*⁶

*Rogério Rodrigues Faria*⁷

RESUMO

O objetivo deste estudo foi realizar uma descrição de fatores importantes na reprodução de três espécies simpátricas de *Ludwigia* spp.. O estudo foi conduzido no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, no município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul. Entre março de 2014 e junho de 2015 foram coletados dados de morfologia floral, fenologia e visitantes florais de três espécies nativas de *Ludwigia*: *Ludwigia decurrens* Walter, *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Hara, e *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara. Para fenologia reprodutiva, *L. decurrens* apresentou duração intermediária da maioria das fenofases, sendo estas sazonais e sincrônicas. *L. nervosa* apresentou floração e frutificação extensa e sazonal, bem como *L. tomentosa* que apresentou flores e frutos ao longo de todos os meses de coleta, sendo a produção de botões, flores e frutos imaturos foram significativamente sazonais, mas pouco sincrônicas. Os parâmetros físico-químicos, fotoperíodo (75%), precipitação e nitrogênio total (66,67%) e oxigênio dissolvido (58,3%), explicaram os comportamentos fenológicos das espécies de *Ludwigia*. De acordo com resultados obtidos, tanto pelos valores de integração fenotípica como pelo baixo grau de compartilhamento de polinizadores, os visitantes florais se mostraram uma barreira importante contra a hibridação.

Palavras Chaves: Hibridação, Polinização, Parâmetros físico-químicos.

¹ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade (PPGEC). Email: joanaroxinsky@hotmail.com

² Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Faculdade de Engenharias, Arquitetura e Urbanismo e Geografia (FAENG), Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais (PGRN) e Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PGBV). E-mail: camila.aoki@ufms.br

³ Universidade Federal de Rondonópolis, Rondonópolis, MT. E-mail: rodrigoaranda.biologo@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campus de Aquidauana. Aquidauana/MS. E-mail: adrianonepomuceno28@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campus de Aquidauana. Aquidauana/MS. E-mail: fannyoliveira.eam@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campus de Aquidauana. Aquidauana/MS. E-mail: paula.bmz@hotmail.com

⁷ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campus de Aquidauana. Aquidauana/MS. Programa de Pós-Graduação em Ensino de Ciências, Instituto de Física. Campo Grande/MS. E-mail: rodrigues.faria@ufms.br

PHENOTYPIC INTEGRATION, REPRODUCTIVE PHENOLOGY AND FLORAL VISITORS IN THREE SYMPATRIC SPECIES OF *Ludwigia* L. (ONAGRACEAE)

ABSTRACT

The objective of this study was to describe important factors in the reproduction of three sympatric species of *Ludwigia* spp.. The study was conducted in the Municipal Natural Park of Lagoa Comprida, in the municipality of Aquidauana, Mato Grosso do Sul. Between March 2014 and June 2015, data on floral morphology, phenology and floral visitors were collected from three native species of *Ludwigia*: *Ludwigia decurrens* Walter, *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Hara, and *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara. For reproductive phenology, *L. decurrens* presented an intermediate duration of most phenophases, which were seasonal and synchronous. *L. nervosa* showed extensive and seasonal flowering and fruiting, as well as *L. tomentosa*, which showed flowers and fruits throughout all the months of collection, with the production of buds, flowers and immature fruits being significantly seasonal, but not very synchronous. The physicochemical parameters, photoperiod (75%), precipitation and total nitrogen (66.67%) and dissolved oxygen (58.3%), explained the phenological behaviors of *Ludwigia* species. According to results obtained, both due to the values of phenotypic integration and the low degree of pollinator sharing, floral visitors proved to be an important barrier against hybridization.

Keywords: Hibridization, Pollination, Physicochemical parameters.

Introdução

O gênero *Ludwigia* L. é o maior e mais diversificado pertencente à família Onagraceae (RAMAMOORTHY; ZARDINI, 1987; GIMENEZ, 2002). Todas as 82 espécies deste gênero são mesofíticas, ou seja, crescem em áreas úmidas em regiões tropicais e subtropicais (HASSE, 1990; BRACK, 1985). A América do Sul apresenta uma rica assembleia de espécies, com 45 das 82 espécies registradas, principalmente no Brasil, Argentina e Paraguai (PENG, 1989; RAMAMOORTHY; ZARDINI 1987; GONÇALVEZ; BUSCHINI, 2017). Sua distribuição geográfica natural ocorre desde a Argentina até o sul dos Estados Unidos, e da costa oriental do Brasil até a costa ocidental do Chile (MIGUEL- VÁZQUEZ; CERROS-TLATILPA, 2013)

No gênero, a síndrome de polinização é a melitofilia (as abelhas colhem néctar e pólen) possuindo as características de flores zigomorfas, cores atrativas para abelhas (amarelo, azul ou lilás), antese diurna com odor agradável (ao olfato humano) (RECH *et al.*, 2014), e a autocompatibilidade é comum, está presente em mais de 50% das espécies (RAVEN, 1979). Algumas espécies desse gênero vivem em simpatria e apresentam os mais variados mecanismos de barreiras reprodutivas que inibem a hibridação, sejam morfológicos, fisiológicos e até mesmo genéticos (YANG *et al.*, 2007). Mesmo com estas variadas barreiras, algum grau de interferência reprodutiva, pode existir entre espécies coocorrentes e um dos principais responsáveis é justamente o polinizador, principalmente se as espécies vegetais envolvidas são filogeneticamente relacionadas, ou mesmo, apresentam semelhanças na morfologia floral e na oferta de recursos florais (VILAS-BOAS *et al.*, 2013).

Algumas espécies de *Ludwigia* L. foram introduzidas em diversas áreas úmidas ao redor do mundo, se tornando dominantes em um curto período de tempo, portanto são classificadas como uma das invasoras mais agressivas do mundo (JACOBS *et al.*, 1994; CRONK; FULLER, 1995). Esse título se dá pela grande tolerância ecológica, crescimento rápido, longevidade, alta produção de sementes e boa germinação, características que dão vantagem a essas espécies em relação às nativas. (DANDELOT *et al.*, 2005)

Em lugares da Europa, como França, Bélgica (DANDELOT *et al.*, 2005; SHEPPARD *et al.*, 2006; RUAUX *et al.*, 2009; STIERS *et al.*, 2011; THOUVENOT *et al.*, 2013), e da América do Norte (OKADA *et al.*, 2009), esse grupo tem causado grandes impactos ecológicos em ecossistemas aquáticos, afetando a drenagem em lagos, lagoas e valas, por sua

densa vegetação e compete por visitantes florais ou por recursos, como espaço, luz e nutrientes (STRAYER 2010). Os prejuízos causados pelos impactos econômicos também são bastante preocupantes, como por exemplo, em plantações agrícolas na Ásia (CHAUHAN; JOHNSON, 2009), e bloqueio de canais de navegação na África (OZIEBGE; FALUYI, 2012). Criar estratégias de manejo nesses casos é fundamental, mas para isso é necessário que se conheça sobre a história natural dessas espécies, tanto em relação aos dados básicos de biologia e fenologia reprodutiva, como aspectos funcionais das relações planta-polinizador.

Conhecer a biologia básica em seus locais de origem fornece um arcabouço valioso para o controle dessas espécies. Assim, o objetivo deste estudo foi realizar uma descrição de fatores importantes na reprodução de três espécies simpátricas de *Ludwigia* L.: (1) caracterizar os padrões da fenologia reprodutiva (floração e frutificação) de cada espécie; (2) descrever a morfometria floral, bem como os níveis de integração fenotípica dessas espécies; e (3) registrar o grau de compartilhamento de espécies de visitantes florais entre as espécies.

Material e métodos

Área de estudo

O estudo foi conduzido no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, no município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul. (20°27'44"S, 55°46'26"O). Este parque possui cerca de 74,2 hectares e a lagoa aproximadamente 26,87 ha de extensão da lâmina d'água e tem característica semi-lêntica (SOUZA; MARTINS, 2010). O clima da região é do tipo Tropical Chuvoso de Savana (subtipo AW cf. KÖPPEN) com duas estações bem definidas, uma seca e fria (inverno) que vai de maio a setembro, e outra chuvosa e quente (verão), de outubro a abril. A precipitação média anual é de 1.200 mm e as temperaturas máximas e mínimas de 33 e 19 °C, respectivamente (SCHIAVO *et al.*, 2010). No período de coleta, as chuvas se intensificaram em novembro e dezembro, e as temperaturas atingiram seu máximo em março e seu mínimo em maio (Figura 1).

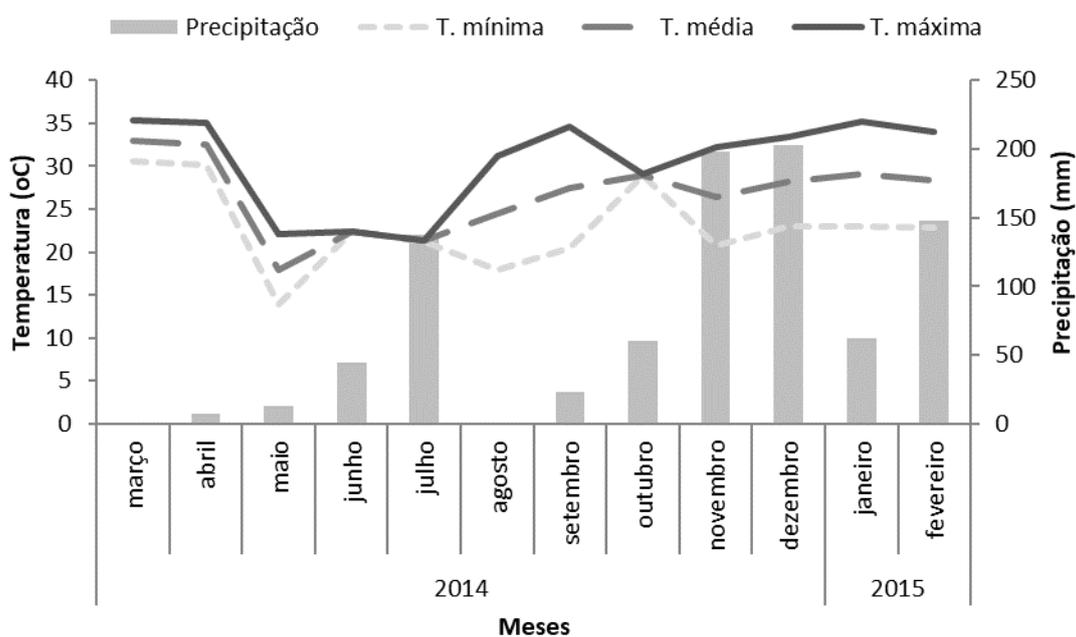


Figura 1. Dados climáticos para o município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil, entre março de 2014 e fevereiro de 2015.

As coletas foram realizadas entre março de 2014 e junho de 2015, tendo como objeto de estudo três espécies nativas de *Ludwigia*: *Ludwigia decurrens* Walter, *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Harae e *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara. As espécies observadas são classificadas como emergentes, forma de vida que em geral contribui com uma maior taxa de produtividade (IRGANG *et al.*, 1984). As espécies *L. nervosa* e *L. tomentosa* são de porte arbustivo, medem entre 1,50 e 2 metros; e ocorrem em manchas, sendo a última a mais comum na área de estudo. *L. decurrens* são herbáceas que ocorrem em indivíduos isolados e muito próximos a lâmina d'água, medindo ao máximo 30 cm. As três espécies possuem flores amarelas com 4 pétalas, 4 sépalas e 8 anteras. As anteras apresentaram duas alturas diferentes nas flores (antera baixa e antera alta), assim como os estames (estame baixo e estame alto) (Figura 2).



Figura 2. Espécies de *Ludwigia* estudadas no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida: (A) *L. decurrens*, (B) *L. nervosa* e (C) *L. tomentosa*.

Fenologia reprodutiva

Os dados de fenologia reprodutiva foram coletados entre março de 2014 e abril de 2015 e foram consideradas três espécies de *Ludwigia* L: *L. decurrens*, *L. nervosa* e *L. tomentosa*.

Foram marcados, com placas de alumínio, 10 indivíduos de cada uma das três espécies estudadas. Quinzenalmente foi contabilizado o número de botões, flores, frutos imaturos e maduros presentes em cada um dos indivíduos. Além dos botões totalmente fechados, também foram contabilizados aqueles em pré-antese. Consideramos flores viáveis aquelas com pétalas ainda presentes e que, na falta de pétalas, apresentavam estigma receptivo, pois as flores são muito delicadas e as pétalas são facilmente perdidas. Frutos imaturos foram contabilizados de acordo com a coloração, variando entre verde e levemente amarelado. Consideramos frutos maduros aqueles em que a coloração predominante era a marrom, com opérculo fechado ou parcialmente aberto, e presença de sementes em seu interior.

As fenofases foram analisadas quanto ao período e duração. A duração foi caracterizada como breve (1 mês), intermediária (1>5 meses) ou extensa (>5 meses) adaptado de Newstrom *et al.* (1994).

Morfometria floral

Dados morfológicos das flores foram obtidos a partir das medidas de plantas fixadas em álcool 70%. Um total de 37 flores das espécies *L. nervosa* (n=15), *L. tomentosa* (n=15) e *L. decurrens* (n=7) foram mensuradas. Os caracteres florais mensurados foram: o comprimento do pedicelo; comprimento dos estames; comprimento das anteras; comprimento do estigma; e a área da flor. A área da flor foi determinada pelo cálculo da área de uma elipse (largura maior x largura menor). Essas medidas foram realizadas com o auxílio de paquímetro digital (cm).

Visitantes florais

Para cada censo de visitantes florais nas três espécies estudadas, foi calculada a taxa de visitação (número de visitas/número de flores observadas/hora). De outubro a junho foram realizados 10 censos (um censo em outubro/2014 e em junho/2015; e dois censos em cada um dos meses de novembro/2014, março/2015, abril/2015 e maio/2015). Cada censo foi composto por observações focais de cinco plantas de cada espécie. As plantas foram amostradas ao acaso e marcadas para que não se repetissem as observações nas mesmas. As observações ocorreram entre 07h00 e 17h00 e o tempo de observação para cada indivíduo foi de 10 minutos. Nas plantas focais, foram registrados o horário de início de observação, número de flores abertas, número de visitas e o resultado das visitas: 1) polinização (visitas legítimas, quando os visitantes contatam anteras e estigma durante as visitas) ou 2) pilhagem (visitas ilegítimas, quando não contatam anteras e estigma durante as visitas). Para identificação dos visitantes florais, os espécimes foram capturados com auxílio de puçá e/ou sacos plásticos para posterior classificação até a menor resolução taxonômica possível.

Análise de dados

Para fenologia reprodutiva, a data média de floração/frutificação das espécies, a concentração em torno desta média (r) e o teste Rayleigh (Z) foram calculados utilizando o programa Oriana 2.0 (Kovach 2004). O teste Rayleigh (Z) calcula a probabilidade de os dados estarem distribuídos de maneira uniforme ao longo do ano. Deste modo, um valor de probabilidade abaixo do nível de significância (0,05) indica que a hipótese H_0 de que os dados são uniformemente distribuídos ao longo da circunferência (ano) foi rejeitada com chance de erro menor de que 5%.

Para explicar as fenofases reprodutivas, foram registrados os seguintes parâmetros: Potencial Hidrogeniônico (pH), sólidos totais dissolvidos (STD) e oxigênio dissolvido (OD), com auxílio de sonda multiparâmetros (Hanna HI9829), além de nitrogênio total e fósforo total a partir de análises laboratoriais (VALDERRAMA, 1981). Informações climáticas sobre precipitação acumulada e temperaturas médias mensais foram obtidas pelo Centro de Monitoramento de Tempo, do Clima e dos Recursos Hídricos de Mato Grosso do Sul – Cemtec- MS e dados de fotoperíodo foram calculados no site Online-PhotoperiodCalculator (<http://www.sci.fi/~benefon/sol.html>).

Para verificar se e como estas variáveis influenciam a riqueza de espécies com flor e/ou fruto foi feita regressão múltipla inicial. Posteriormente, para a seleção de modelos baseados na teoria de critério de informação (BURNHAM; ANDERSON, 2002). O Critério de Informação de Akaike (AIC) é uma ferramenta que tem sido amplamente utilizada para seleção de modelos em ecologia, sendo útil quando a experimentação é inviável (Johnson & Omland 2004). Estas análises foram realizadas utilizando linguagem R (R Development Core Team 2011).

Os dados de morfometria floral foram calculados por estatística descritiva, média e desvio padrão. A integração fenotípica de cada espécie foi estimada de acordo com Sánchez et al.(2010). A magnitude da integração fenotípica é representada pelo índice de integração (a variância desses autovalores) (SÁNCHEZ *et al.*, 2010). Esses valores são expressos em porcentagem, uma maior porcentagem indica maior correlação dos caracteres florais entre si.

Para verificar o grau de compartilhamento de polinizadores entre as espécies estudadas, realizamos uma análise de ordenação do tipo Cluster (agrupamento) com os dados de frequência de visitas transformado em frequências, pelo método UPGMA e o índice de Jaccard. Para essas análises, foi utilizado o software Past (HARMER *et al.*, 2001).

Resultados

Fenologia reprodutiva

Indivíduos em estágio reprodutivo foram observados em todos os meses de estudo. Todas as três espécies apresentaram flores com duração de um dia, abrindo durante a manhã e com pétalas caindo à tarde, conforme já relatado por Vieira e Shepherd (1998). A formação de botões, flores, frutos imaturos e maduros foi simultânea, embora a produção de frutos imaturos e maduros seja maior logo após o pico de floração.

L. decurrens produziu botões principalmente nos meses de outubro e novembro ($\mu=322,681^\circ$, $r=0,658$), enquanto *L. nervosa* a produção ocorreu de março a dezembro ($\mu=192,973^\circ$, $r=0,362$), sendo esta fenofase considerada sazonal, tanto para *L. decurrens* ($Z=134,293$, $p<0,001$) como para *L. nervosa* ($Z=103,236$, $p<0,001$). Na fenofase de floração, *L. decurrens* e *L. nervosa* também foram sazonais, a primeira floresceu principalmente no mês de dezembro ($Z= 52,878$, $p<0,001$, $\mu= 344,962^\circ$, $r= 0,653$), e a segunda ocorreu de abril a dezembro ($Z=87,638$, $p<0,001$, ($\mu= 184,663^\circ$, $r= 0,463$) (Figura 3 e Figura 4).

Com relação a frutificação, *L. decurrens* produziu frutos imaturos entre março e abril e entre novembro e dezembro ($\mu= 8,93^\circ$, $r= 0,57$), sendo esta fase considerada bimodal ($Z=98,184$, $p<0,001$), os frutos maduros estiveram disponíveis entre outubro e junho ($\mu= 36,159^\circ$, $r= 0,395$), sendo esta fenofase considerada sazonal ($Z= 86,376$, $p <0,001$) (Figura 3). Em *L. nervosa* a produção de frutos imaturos foi considerada sazonal e o pico ocorreu entre junho e julho ($Z= 60,948$, $p<0,001$, $\mu= 187,446^\circ$, $r= 0,285$) enquanto que frutos maduros foram distribuídos homogeneamente ao longo do ano ($Z= 1,593$, $p= 0,203$, $\mu= 225,605^\circ$, $r= 0,039$) (Figura 4).

Já *L. tomentosa* esteve em floração e frutificação ao longo de todo o ano, sendo que a produção de botões ($Z= 28,873$, $p <0,001$, $\mu= 171,224^\circ$, $r= 0,178$), flores ($Z= 54,885$, $p <0,001$, $\mu= 183,637^\circ$, $r= 0,283$) e frutos imaturos ($Z= 30,855$, $p <0,001$, $\mu= 173,297^\circ$, $r= 0,187$) foi significativamente sazonal, mas pouco sincrônica (Figura 6). Enquanto que a produção de frutos maduros foi pouco sincrônica e não sazonal ($Z= 1,593$, $p= 0,203$, $\mu= 225,605^\circ$, $r= 0,039$) (Figura 5). Ao contrário das demais, *L. decurrens* é uma espécie anual, pois apresentou duração intermediária das fenofases botão, flor e fruto imaturo e duração extensa da fenofase de fruto maduro.

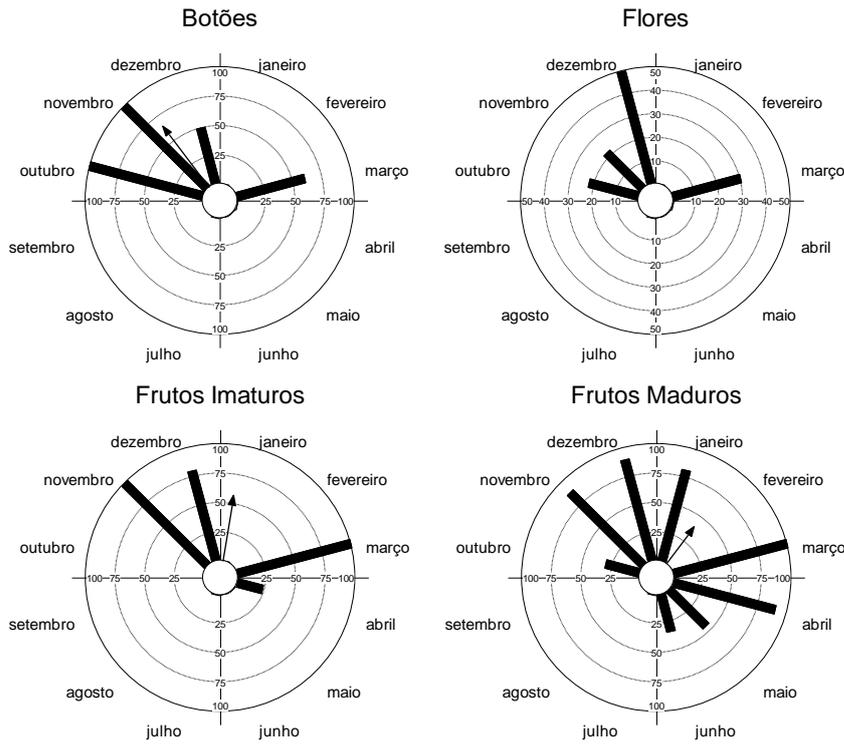


Figura 3. Fenofases reprodutivas de *Ludwigia decurrens* no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana, MS.

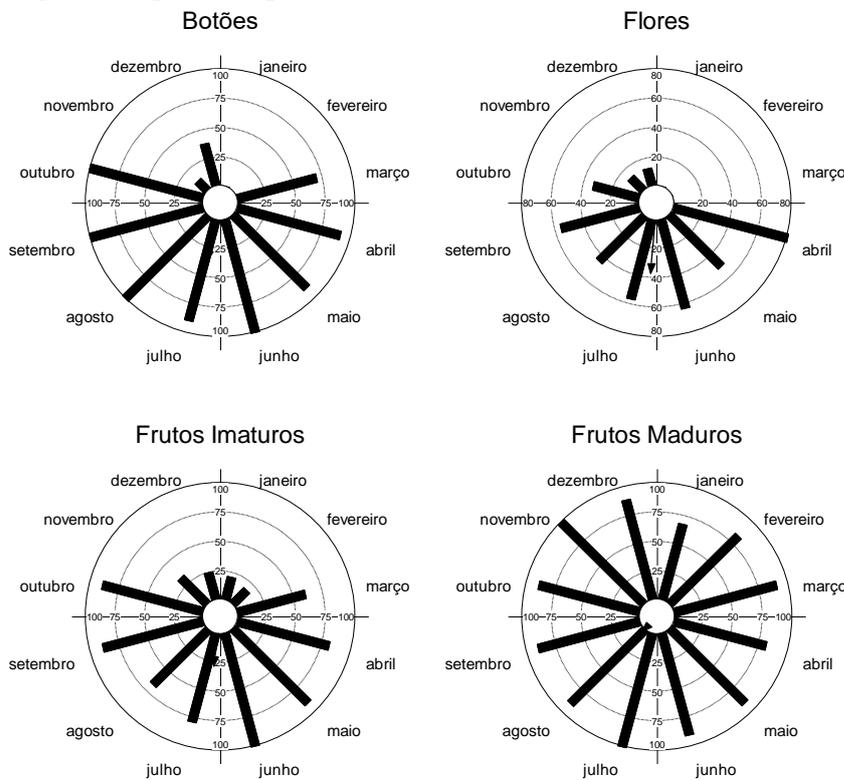


Figura 4. Fenofases reprodutivas de *Ludwigia nervosa* no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana, MS.

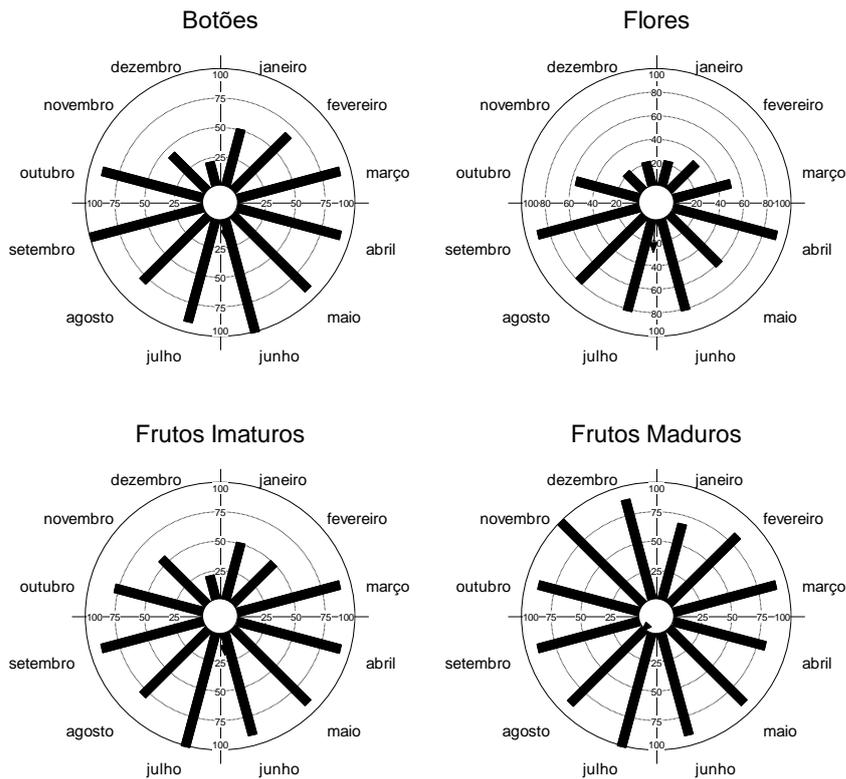


Figura 5. Fenofases reprodutivas de *Ludwigia tomentosa* no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana, MS.

Alterações nos parâmetros físico-químicos e nas variáveis climáticas ajudam a explicar os comportamentos fenológicos de espécies. As variáveis selecionadas em maior número de modelos foram o fotoperíodo (75%), precipitação e nitrogênio total (66,67% cada) e oxigênio dissolvido (58,3%). Considerando os parâmetros físico-químicos da água e as variáveis climáticas analisadas, para *L. decurrens*, sólidos totais dissolvidos (STD) e oxigênio dissolvido (OD) foram variáveis selecionadas em todos os modelos para explicação das fenofases, afetando negativamente e positivamente, respectivamente, essas fenofases (Tabela 1). Enquanto que nitrogênio e fósforo total, precipitação e fotoperíodo foram variáveis positivamente correlacionadas com a produção de botões, flores e frutos imaturos (Tabela 1).

Os modelos mais adequados e parcimoniosos para prever a produção de botões, flores e frutos imaturos de *L. nervosa* incluíram principalmente oxigênio dissolvido (correlação positiva) e fotoperíodo (correlação negativa), enquanto que o nitrogênio total foi importante para prever o número de botões, flores e frutos maduros, influenciando positivamente essas fenofases (Tabela 1).

Para *L. tomentosa*, precipitação foi uma variável selecionada no modelo que explica a produção de botões, flores e frutos imaturos, influenciando negativamente estas variáveis e o pH está positivamente relacionado com a produção de flores, frutos imaturos e maduros (Tabela 2).

Tabela 1. Modelos de acordo com o Critério de Informação de Akaike (AIC) entre as variáveis físico-químicas da água e climáticas e as fenofases das espécies de *Ludwigia* amostradas no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, em Aquidauana, MS.

Espécie	Fenofase	Modelo	Δ AIC	R ²	F	p
<i>L. decurrens</i>	Botões	-437,75 (Intercepto) -0,34 STD + 16,35 OD + 90,87 N Total +0,96 P Total + 0,19 Precipitação + 0,38 Fotoperíodo	1,82	0,71	9,67	>>0,01
	Flores	-258,69 (Intercepto) -0,24 STD + 4,70 OD + 69,77 N Total + 0,83 P Total + 0,10 Precipitação + 0,25 Fotoperíodo	3,32	0,59	6,04	0,002
	Frutos imaturos	-480,87 (Intercepto) -0,49 STD + 21,99 OD + 92,59 N Total + 1,03 P Total + 2,62 Temperatura + 0,25 Precipitação + 0,30 Fotoperíodo	1,75	0,66	6,88	0,001
	Frutos maduros	-198,61 (Intercepto) -0,45 STD + 18,43 OD + 5,22 Temperatura	6,81	0,40	5,63	0,006
<i>L. nervosa</i>	Botões	284,06 (Intercepto) + 5,06 OD + 82,48 N Total + 1,60 Temperatura -0,47 Fotoperíodo	5,08	0,85	33,19	>>0,01
	Flores	231,06 (Intercepto) + 3,60 OD + 21,46 N Total + 1,92 Temperatura -0,40 Fotoperíodo	7,13	0,70	13,2	>>0,01
	Frutos imaturos	311,16 (Intercepto) + 5,89 OD - 0,13 Precipitação - 0,39 Fotoperíodo	8,73	0,72	19,04	>>0,01
	Frutos maduros	-67,38 (Intercepto) + 15,75 pH +49,66 N Total -0,17 Precipitação	6,08	0,68	16,32	>>0,01
<i>L. tomentosa</i>	Botões	303,21 (Intercepto) -0,13 Precipitação -0,30 Fotoperíodo	8,68	0,67	22,48	>>0,01
	Flores	273,88 (Intercepto) + 11,23 pH -21,89 N Total + 2,30 Temperatura -0,09 Precipitação -0,47 Fotoperíodo	1,75	0,80	17,92	>>0,01
	Frutos imaturos	288,92 (Intercepto) + 5,06 pH +1,61 Temperatura -0,10 Precipitação -0,40 Fotoperíodo	6,83	0,83	27,8	>>0,01
	Frutos maduros	23,73 (Intercepto) + 6,07 pH + 23,96 N Total	8,55	0,34	6,65	0,006

Morfometria floral

De acordo com as médias empregadas, pode-se considerar que as menores flores foram as de *L. decurrens*, bem como as maiores flores foram as de *L. tomentosa* (Tabela 2).

Para os valores de integração fenotípica *L. nervosa* apresentou 5,27%, *L. tomentosa* 27,26%; e *L. decurrens* 43,67%. Valores menores que 10 são considerados baixos, indicando baixa correlação entre os caracteres florais.

Tabela 2. Valores da média e desvio padrão de altura da antera baixa e antera alta, altura do estame baixo e estame alto, altura do estigma, altura do pedicelo e área da flor de três espécies de *Ludwigia L.* no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana-MS.

	<i>Ludwigia</i>	<i>Ludwigia nervosa</i>	<i>Ludwigia tomentosa</i>
Verticilo floral	<i>decurrens</i> Walter	(Poir.) H. Hara	(Cambess.) H. Hara
Altura antera baixa	0,18± 0,02	0,27± 0,06	0,35 ± 0,09
Altura antera alta	0,20± 0,05	0,35± 0,07	0,49± 0,10
Altura estame baixo	0,36± 0,03	0,34± 0,09	0,58 ± 0,13
Altura estame alto	0,41± 0,05	0,72 ± 0,10	0,89 ± 0,12
Altura do estigma	0,51± 0,04	0,58 ± 0,08	0,80 ± 0,09
Altura do pedicelo	0,32 ± 0,14	1,41 ± 0,75	1,90 ± 0,45
Área da flor	2,21	2,52	7,73

Visitantes florais

Foram realizadas 328 observações às espécies de *Ludwigia L.*, das quais foram 162 em *L. tomentosa*, 99 em *L. nervosa* e 67 para *L. decurrens*. Com um total de 54,4 horas de registro focal; 26,9 horas em *L. tomentosa*; 16,4 horas em *L. nervosa*; e 11,1 horas em *L. decurrens*. Foi registrado um total de 381 visitas às flores de *Ludwigia L.*, das quais 39,5% foram em *L. tomentosa*, 21,4% em *L. nervosa* e 13,7% em *L. decurrens*. Ao todo foram coletados 77 indivíduos, pertencentes a 19 morfoespécies sendo todos eles polinizadores, todos visitaram as flores de maneira legítima, ou seja, contactaram todas as partes reprodutivas da flor (Tabela 3). Em *L. tomentosa* a taxa de visitas foi de 0,024; para *L. nervosa* o número foi de 0,040; e para *L. decurrens* foi 0,063. Proporcionalmente a espécie *L. tomentosa* é a espécie mais visitada. Além de ser a espécie mais comum, também tem maior porte e formam manchas maiores. Em sua maioria, os visitantes florais foram abelhas, mas também com duas espécies de besouro (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem (%) de visitas das morfoespécies dos visitantes florais em *Ludwigia L.* no período outubro/2014 a junho/2015 em Aquidauana, MS.

	<i>L. decurrens</i>	<i>L. nervosa</i>	<i>L. tomentosa</i>
Coleoptera 1	-	12,5	-
Lepidoptera 1	8,3	-	-
HALICTIDAE			
Morfoespecie 1	-	-	-
Morfoespecie 2	-	6,25	3,7
Morfoespecie 3	16,7	-	-
APIDADE			
<i>Apis mellifera</i>	16,7	50	-
<i>Bombus</i> sp	-	-	59,3
Morfoespécie 1	-	6,25	3,7
Morfoespécie 2	41,7	12,5	-
Morfoespécie 3		6,25	7,4
Morfoespécie 4	-	-	-
Morfoespécie 5	-	-	3,7
Morfoespécie 6	-	-	11,1
Morfoespécie 7	-	-	3,7
Morfoespécie 8	-	-	-
Morfoespécie 9	-	-	-
Morfoespécie 10	-	-	-
Morfoespécie 11	16,7	-	7,4
Morfoespécie 12	-	6,25	-
Riqueza de visitantes	5	7	8
Número total de visitas (N)	12	16	27

A riqueza de visitantes foi similar entre as espécies de *L. nervosa* (n=7) e *L. tomentosa* (n=8), sendo apenas *L. decurrens* com quantidade inferior (n=5). Ressalta-se também a importância de *Apis mellifera* L., uma vez que foi o visitante mais frequente para todas as espécies, apesar de possuírem morfoespécies exclusivas. A composição de visitantes nas três espécies de *Ludwigia* indica que elas possuem baixo grau de compartilhamento de espécies de visitantes florais, pois na análise de Cluster, um método de classificação de ordenação, as amostras possuem pouca similaridade entre si, *L. nervosa* e *L. decurrens* 20%, *L. nervosa* e *L. tomentosa* 25%, e *L. decurrens* e *L. tomentosa* 8% (Figura 6).

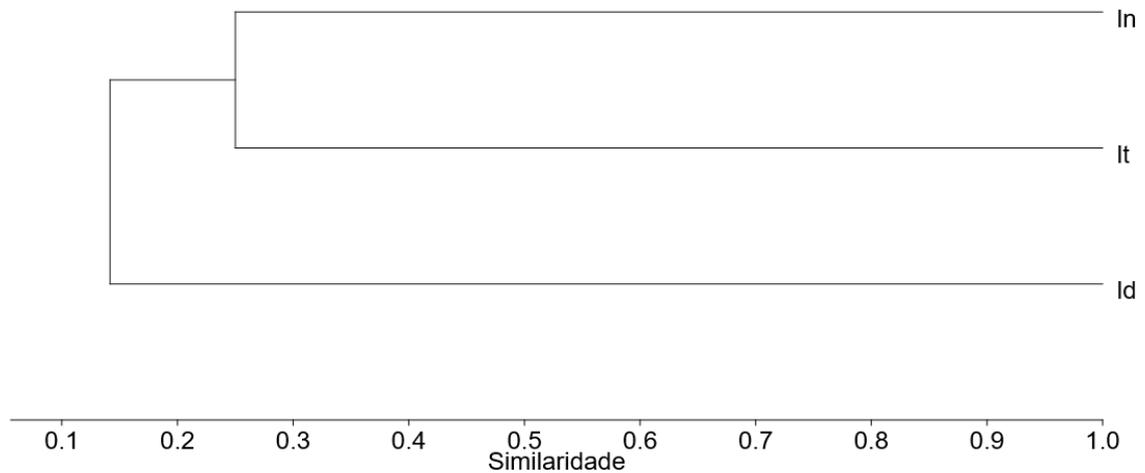


Figura 6. Representação da análise de Cluster em duas dimensões com dados frequência de visitas em *Ludwigia nervosa* (ln), *Ludwigia tomentosa* (lt) e *Ludwigia decurrens* (ld) (Stress 0,178) entre Outubro/2014 e Junho/2015, no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana-MS.

Discussão

Os períodos de floração e frutificação observados no nosso estudo diferem dos observados por Vieira (2002) no sudeste do Brasil quanto aos picos e duração das fenofases nas espécies de *Ludwigia* estudadas ao longo do ano. Podemos inferir que esta variação está relacionada aos padrões climáticos e variáveis físico-químicas da água do local, fatores que, como mostrado nos resultados deste estudo, parecem exercer grande influência na fenologia dessas espécies. Estudos fenológicos com macrófitas aquáticas no Brasil são escassos e restritos a poucas espécies. Embora alguns deles investiguem o papel da luminosidade e precipitação sobre a fenologia (BERTAZZONI; DAMASCENO-JUNIOR, 2011), outros dados sugerem que alterações nas variáveis físico-químicas da água, influenciadas pelo pulso de inundação, afetam diretamente as fenofases reprodutivas dos grupos funcionais de macrófitas aquáticas no Pantanal (CATIAN *et al.*, 2019). Algumas delas, como sólidos totais, nitrogênio e fósforo total, oxigênio dissolvido e pH, parecem estar relacionados com fenofases reprodutivas das espécies de *Ludwigia* estudadas, devendo ser estudados para as demais plantas aquáticas. Uma vez que os principais elementos responsáveis pela eutrofização de corpos hídricos são nitrogênio e fósforo, a eutrofização pode ser responsável por modificações nos comportamentos reprodutivos de algumas espécies, incluindo talvez, espécies com potencial infestante, que resultaria em prejuízos ecológicos e econômicos.

O nitrogênio é um dos fatores de maior estresse em plantas tropicais por excesso ou deficiência (SANCLEMENTE; PEÑA, 2008). O nitrogênio pode ser um fator limitante para o crescimento e eficiência fotossintética das plantas, especialmente em condições de deficiência de nitrogênio, que tendem a diminuir o peso seco, o número de folhas e a área foliar (CIOMPI *et al.*, 1996). Sanclemente e Peña 2008 mostraram que uma tendência de um aumento geral no crescimento de *L. decurrens* (comprimento do caule e área foliar) e

eficiência fotossintética com o aumento da concentração de nitrogênio. Este fato pode estar associado com a capacidade da planta otimizar sua capacidade fotossintética por meio do aumento do aporte de nitrogênio (SANCLEMNETE; PEÑA, 2008; CECHIN; FÁTIMA-FUMIS, 2004)

Um estudo desenvolvido por Talora e Morellato (2000) em uma floresta atlântica de planície litorânea demonstrou a correlação positiva entre fotoperíodo com a atividade reprodutiva das espécies, além disso, a precipitação também se mostrou importante, considerando que as espécies adequaram seus períodos reprodutivos de acordo este fator. A importância do fotoperíodo também foi observada por Mori et al. (1982), onde o pico de reprodução coincidiu com o aumento do fotoperíodo. Os resultados deste estudo sugerem que o fotoperíodo e a precipitação são fatores importantes para a reprodução de espécies tanto em ambientes terrestres quanto aquáticos, considerando que estas variáveis tiveram influência sobre todas as espécies de *Ludwigia* estudadas.

Geralmente uma maior integração fenotípica reflete sistemas de polinização mais especializados, porém nos resultados encontrados neste estudo, as espécies vegetais apresentaram baixa integração fenotípica e tiveram baixo grau de compartilhamento de espécies visitantes florais, se mostrando espécies generalistas. Ou seja, nesse caso, os visitantes florais seriam uma barreira importante contra a hibridação, já que a sobreposição de alguns meses do período de floração das espécies de *Ludwigia*, indicaria uma possibilidade de hibridação (VIEIRA 2002).

L. decurrens foi a espécie com maior grau de integração fenotípica e junto a isso a que recebeu menos visitas, indo de encontro ao esperado. Os dados de fenologia mostram que essa espécie teve floração mais breve e menos intensa, que consequentemente responderia a um menor número de visitas.

Os dados mostram que *L. nervosa* possui uma baixa correlação entre os caracteres florais, um indicativo de interferência na deposição de pólen interespecífico (SÁNCHEZ *et al.*, 2010). A integração fenotípica é um processo pelo qual os caracteres florais respondem juntos às pressões seletivas relacionadas a deposição de pólen pelos polinizadores (HERRERA *et al.*, 2002). A deposição de pólen interespecífico pode ser visto como um processo prejudicial, pois pode envolver algum ou todos os membros da associação em processos de limitação de polinização (VAN ROSSUM *et al.*, 2013). Contudo, também é conhecido que a mistura de grãos de pólen pode ser um fator de competição no estigma e propiciar sementes qualitativamente melhores (SUKHADA; JAYACHANDRA, 1980). Se a interferência é benéfica ou não nesse caso, carecem dados sobre o sistema reprodutivo e fluxo de pólen, bem como o balanço líquido da interferência em si, pois tanto pode resultar em benefício quanto em malefício.

L. tomentosa apresentou um nível intermediário de integração fenotípica em relação a outras espécies e foi também a mais visitada, isso pode estar relacionado além do fato de ser a espécie mais comum, com maior porte, formam manchas maiores, também foi a única espécie com floração durante o ano todo.

Ao acessarem recursos florais em espécies simpátricas, os polinizadores tendem a depositar no estigma uma quantidade variável de pólen interespecífico (VAN ROSSUM *et al.*, 2013). Isso pode afetar a qualidade e quantidade de frutos e sementes produzidos (sucesso reprodutivo feminino), como por exemplo: a formação de híbridos, entupimento do estigma (que inibe a germinação de pólen), desperdício de pólen (diminuição do sucesso reprodutivo masculino) e até mesmo abortos (GROSS, 2005).

Abelhas generalistas ocuparam um papel dominante na polinização das espécies estudadas, assim como mostrado em outros trabalhos com espécies de *Ludwigia* L. (ESTES; THORPS, 1974; RAVEN, 1988) como é o caso de *Apis mellífera*, espécie de abelha com muitos registros neste estudo. Portanto, a abertura de poucas flores por dia por planta a cada

Teodoro, Joana Roxinsky; Aoki, Camila; Aranda, Rodrigo; Amorim, Adriano José Nepomuceno; Rodrigues, Fanny de Oliveira; Zenteno, Paula Bêlit Mazacote; Faria, Rogério Rodrigues. *Integração fenotípica, fenologia reprodutiva e visitantes florais em três espécies simpátricas de Ludwigia L. (Onagraceae)*. Revista Pantaneira, V. 23, UFMS, Aquidauana-MS, 2024.

dia, pode ser muito importante para evitar a contaminação por pólen da mesma planta. Isto é essencial para as espécies auto-incompatíveis e para aumentar as visitas e trazer mais pólen de diferentes indivíduos, proporcionando um aumento na eficiência da polinização das outras espécies (VIEIRA 2002).

Além de evidenciar a existência de uma correlação entre o comportamento fenológico de espécies de *Ludwigia* e os parâmetros físico-químicos da água, o estudo fornece dados que servem como base para o desenvolvimento de técnicas de manejo ou controle dessas espécies, principalmente em locais onde sua incidência ocorra de maneira desordenada, ou ainda em áreas que sejam utilizadas para fins agrícolas (MORELLATO, 2007).

Considerações finais

De acordo com resultados obtidos para as três espécies simpátricas de *Ludwigia* L., compartilham características muito próximas sobre a biologia reprodutiva. As espécies apresentam uma baixa integração floral, assim como um baixo grau de compartilhamento de polinizadores. Dentre todas as possíveis barreiras contra a hibridação, os visitantes florais se mostraram uma variável importante para as três espécies.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS/MEC - Brasil. Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) e à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pelo apoio aos projetos e ao grupo de Estudos Integrados em Biodiversidade do Cerrado e Pantanal.

Referências bibliográficas

- BRACK, P. Levantamento florístico do Parque Estadual do Turvo, Tenente Portela, Rio Grande do Sul, Brasil. Roesstéria, Porto Alegre, v.7, n. 1, p. 23-42, 1985.
- BERTAZZONI, E. C.; DAMASCENO-JUNIOR, G. A. Aspectos da biologia e fenologia de *Oryza latifolia* Desv. (Poaceae) no Pantanal sul-mato-grossense. Acta Botânica Brasílica, v. 25, n. 2, p. 476-786, 2011.
- BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Model selection and multimodel inference – A practical theoretic approach. Second edition, Spring-Verlag, New York, USA, 2002.
- CATIAN, G.; SCREMIN-DIAS, E.; POTT, A. Reproductive phenology of macrophyte community in response to wetland flooding cycle. Oecologia Australis, v. 23, p. 4, 2019.
- CECHIN, C.; DE FÁTIMA-FUMIST, T. Effect of nitrogen supply on growth and photosynthesis of sunflower plants grown in the greenhouse. Plant Science, v. 166, p. 1379-1385, 2004.
- CHAUHAN, B. S.; JOHNSON, D. E. *Ludwigia hyssopifolia* emergence and growth as affected by light, burial depth and water management. Crop Protection, v. 18, p. 887-890, 2009.
- CIOMPI, S.; GENTILI, E.; GUIDI, L.; SOLDATINI, G. F. The effect of nitrogen deficiency on leaf gas Exchange and chlorophyll fluorescence parameters in sunflower, Plant Science, v. 118, p. 177-184. 1996.
- CRONK, Q. C. B.; FULLER, J. L. Plant Invaders: The Threat to Natural Ecosystems. Chapman and Hall, London, 1995.
- DANDELLOT, S.; VELARQUE, R.; ALAIN, D.; CAZAUBON, A. Ecological, dynamic and taxonomic problems due to *Ludwigia* (Onagraceae) in France. Hydrobiologia, v. 551, p. 131-136, 2005.
- ESTES, J. R.; THORPS, R. W. Pollination in *Ludwigia peploides* ssp. *glabrescens* (Onagraceae). Bulletin of the Torrey Botanical Club, v. 101, p. 272-276, 1974.

- Teodoro, Joana Roxinsky; Aoki, Camila; Aranda, Rodrigo; Amorim, Adriano José Nepomuceno; Rodrigues, Fanny de Oliveira; Zenteno, Paula Bêlit Mazacote; Faria, Rogério Rodrigues. *Integração fenotípica, fenologia reprodutiva e visitantes florais em três espécies simpátricas de Ludwigia L. (Onagraceae)*. Revista Pantaneira, V. 23, UFMS, Aquidauana-MS, 2024.
- GIMENEZ, M. Interactions between bees and *Ludwigia elegans* (Camb.) Hara (Onagraceae) flowers at different altitudes in São Paulo, Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, v. 19, n. 3, p. 681-689, 2002.
- GONÇALVES, L.; BUSCHINI, ML. T. Diversity of bees and their interaction networks with *Ludwigia sericea* (Cambessides) H. Hara and *Ludwigia peruviana* (L.) H. Hara (Onagraceae) flowers in a swamp area in the Brazilian Atlantic Forest. Sociobiology, v. 64, n. 1, p. 57-68, 2017.
- GROSS, P. Pollination effectiveness. In: Dafni, A., Kevan, P. G., Husband, B. C (eds). Practical Pollination Biology. Enviroquest Ltd, p. 590, 2005.
- HARMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. Past: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. Paleontologia Eletrônica, v.4, p. 9 <http://flok.uio.no/ohammer/past> (accessed 10 October 2006), 2001.
- HASSE, R. Plant communities of a savanna in northern Bolivia: II. Palm swamps, dry grassland, and shrubland. Phytocoenologia, v. 18, n. 2-3, p. 343-370, 1990.
- HERRERA, C. M.; CERDÁ, X.; GARCÍA, M.B. Floral integration, phenotypic covariance structure and pollinator variation in bumblebee-pollinated *Helleborus foetidus*. Journal of Evolutionary Biology, v. 15, p. 108-121, 2002.
- IRGANG, B. E.; PEDRALLI, G.; WAECHTER, J. I. Macrófitas aquáticas da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, Brasil. Roessleria, v. 6, p. 395-404, 1984.
- JACOBS, S. W. L.; PERRETT, F.; SAINTY, G. R.; BOWMER, K. H.; JACOBS, B. J. *Ludwigia peruviana* (Onagraceae) in the botany wetlands near Sydney, Australia. Marine and Freshwater Research, v. 45, p. 1481-1490, 1994.
- JOHNSON, J.; OMLAND, K. Model selection in ecology and evolution. Trends in Ecology and Evolution, v. 19, p. 101-108, 2004.
- KÖPPEN, W. Climatologia. Fundo de Cultura Econômica. Buenos Aires Trad. De Guendriss du Klimakunde, 1923, 1948.
- KOVACH, W. L. Oriana for Windows, version 2.0. Kovach Computer Services, Pentraeth, 2004.
- MIGUEL-VÁZQUEZ, M. I.; CERROS-TLATILPA, R. Onagraceae de Morelos, México. Revista Mexicana de Biodiversidad, v. 84, p. 1309-1315, 2013.
- MORELLATO, L. P. C. 2007. Pesquisa em fenologia na América do Sul, com ênfase no Brasil, e suas perspectivas atuais. In: Rego GM, Negrelle RRB, Morellato LPC. (ed.). Fenologia: ferramenta para conservação, melhoramento e manejo de recursos vegetais arbóreos. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. p. 37-48, 2007.
- MORI, S. A.; LISBOA, G.; KALLUNKI, J. A. Fenologia de uma mata higrófila sul-baiana. Revista Theobrama, v. 12, p. 217-230, 1982.
- NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H.G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. Biotropica, v. 26, n. 2, p. 141-159, 1994.
- OKADA, M.; GREWELL, B. J.; JASIENIUKK, M. Clonal spread of invasive *Ludwigia hexapetala* and *L. grandiflora* in freshwater wetlands of California. Aquatic Botany, v. 91, p. 123-129, 2009.
- OZIEGBE, M.; FALUYI, J. O. Reproductive biology of *Ludwigia leptocarpa* and *L. adscendens* subsp. *diffusa* in Ile Ife, Nigeria. Turkish Journal of Botany, v. 36, p. 167-173, 2012.
- PENG, G. I. The systematics and evolution of *Ludwigia* sect. *Microcarpium* (Onagraceae). Annals of the Missouri Botanical Garden, v. 76, p. 221-302, 1989.
- R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria, 2011. Available at: <http://www.Rproject.org>.
- RAMAMOORTHY, T. P.; ZARDINI, E. M. The systematics and evolution of *Ludwigia* sect. *Microcarpium* sensu lato (Onagraceae). Monographs in Systematic Botany from Missouri Botanical Garden, v.19, p. 120, 1987.
- RAVEN, P. H. A survey of reproductive biology in Onagraceae. New Zealand Journal of Botany, v. 17, p. 575-593, 1979.

- Teodoro, Joana Roxinsky; Aoki, Camila; Aranda, Rodrigo; Amorim, Adriano José Nepomuceno; Rodrigues, Fanny de Oliveira; Zenteno, Paula Bêlit Mazacote; Faria, Rogério Rodrigues. *Integração fenotípica, fenologia reprodutiva e visitantes florais em três espécies simpátricas de Ludwigia L. (Onagraceae)*. Revista Pantaneira, V. 23, UFMS, Aquidauana-MS, 2024.
- RAVEN, P H. Onagraceae as a model of plant evolution. In: L. D. Gottlieb & S. K. Jain (editors). Plant Evolutionary Biology, p. 85-107. Chapman & Hall, New York, 1988.
- RECK, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. Biologia da polinização. Rio de Janeiro: Projecto Cultural, p. 524, 2014.
- RUAUX, B.; GREULICH, S.; HAURY, J.; BERTON, J. P. Sexual reproduction of two alien invasive *Ludwigia* (Onagraceae) on the middle Loire River, France. Aquatic Botany, v. 90, p. 143-148. 2009.
- SÁNCHEZ, J. M.; FERRERO, V.; ARROYO, J.; NAVARRO, L. Patterns of style polymorphism in five species of the South African genus *Nivenia* (Iridaceae). Annals of Botany, v.106, p. 321-331, 2010.
- SANCLEMENTE, M. A.; PEÑA, E. J. CRESCIMIENTO Y EFICIENCIA FOTOSINTÉTICA DE *Ludwigia decurrens* Walter (Onagraceae) BAJO DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO. Acta Biológica Colombiana, v. 13, n. 1, p. 175-186, 2008.
- SCHIAVO, J. A.; PEREIRA, M. G.; MIRANDA, L.P. M.; NETO, A.H.D.; FONTANA, A. Caracterização e Classificação de solos desenvolvidos de arenitos da formação Aquidauana- MS. Revista Brasileira Ciência do Solo, v. 34, p. 881-889, 2010.
- SHEPPARD, A. W.; SHAW, R. H.; SFORZA, R. Top 20 environmental weeds for classical biological control in Europe: a review of opportunities, regulations and other barriers to adoption. Weed Research, v. 46, p. 93-117, 2006.
- SOUZA, E. P.; MARTINS, S. R. O. Conflitos territoriais no entorno do Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida em Aquidauana/MS. Percurso: Sociedade, Natureza Cultura, v. 11, p. 291-306, 2010.
- STIERS, I.; CROHAIN, N.; JOSENS, G., TRIEST, L. Impact of three aquatic invasive species on native plants and macroinvertebrates in temperate ponds. Biological Invasions, v. 13, p. 2715-2726, 2011.
- STRAYER, D. L. Alien species in fresh Waters: ecological effects interactions with other stressors, and prospects for the future. Freshwater Biology, v. 55, p. 152-174, 2010.
- SUKHADA, K.; JAYACHANDRA, S. Pollen allelopathy- A new phenomenon. New Phytologist, v.84, p.739-746, 1980.
- TALORA, D. C.; MORELLATO, L. P. C. Fenologia de espécies arbóreas em floresta de planície litorânea do sudeste do Brasil. Revista Brasileira de Botânica, v. 23, n. 1, p. 13-26, 2000.
- THOUVENOT, L.; PUECH, C.; MARTINEZ, L.; HAURY, J.; THIÉBAUT, G. Strategies of the invasive macrophyte *Ludwigia grandiflora* in its introduced range: Competition, facilitation or coexistence with native and exotic species? Aquatic Botany, v. 107, p. 8-16, 2013.
- VALDERRAMA, J. C. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. Marine Chemistry, v. 10, p. 109-222, 1981.
- VAN ROSSUM, F.; VERECKEN, N.J.; BRÉDAT, E.; MICHEZ, D. Pollen dispersal and fruit production in *Vaccinium oxycoccos* and comparison with its sympatric congener *V. uliginosum*. Plant Biology, v. 15, p. 344-352, 2013.
- VIEIRA, A. O. S. Biologia e hibridação em espécies sintópicas de *Ludwigia* (Onagraceae) no Sudeste do Brasil. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 2002.
- VIEIRA, A. O. S.; SHEPHERD, G. J. Breeding systems in *Ludwigia* (Onagraceae) in southeast Brazil. In: Owens SJ, Rudall PJ. Reproductive Biology, p. 395-406, 1998. VILAS-BOAS, J. C.; FAVA, W. S.; LAROCA, S.; SIGRIST, M.R. Two sympatric *Byrsonima* species (Malpighiaceae) differ in phenological and reproductive patterns. Flora, v. 208, p. 360-369, 2013.
- YANG, C.; GITURU, R. W.; GUO, Y. Reproductive isolation of two sympatric louse-worts, *Pedicularis rhinanthoides* and *Pedicularis longiflora* (Orobanchaceae): how does the same pollinator type avoid interspecific pollen transfer? Biological Journal of Linnean Society, v. 90, p. 37-48, 2007.