



# FENOLOGIA E VISITANTES FLORAIS DE *LIPPIA ALBA* (MILL.) N. E. BROWN (LAMIALES, VERBENACEAE)

D. F. A. Venâncio<sup>1</sup>

M. M. Castro<sup>2</sup>; N. M. Reis<sup>2</sup>; C. M. Carvalho<sup>2</sup>; E. S. P. Batista<sup>2</sup>; P. Santos<sup>3</sup>; F. Prezoto<sup>4</sup>

1 - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós - Graduação em Ecologia, Campus Universitário-Martelos, 36.036 - 330 - Juiz de Fora, MG - danielevenancio@yahoo.com.br 2 - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós - Graduação em Comportamento e Biologia Animal, Campus Universitário-Martelos, 36.036 - 330 - Juiz de Fora-MG 3 - Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, Avenida Luz Interior nº 345, Bairro Estrela Sul, Campus Arnaldo Janssen, CEP 36033 240 Juiz de Fora, MG. 4 - Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas da UFJF, Campus Universitário-Martelos, 36.036 - 330 - Juiz de Fora-MG.

## INTRODUÇÃO

As interações entre plantas e polinizadores podem fornecer alguns dos melhores exemplos de coevolução (Kearns e Inouye, 1993). As flores são extremamente diversificadas em tamanho, forma, cor, aroma e outras características (Ollerton e 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, e assim extrair e utilizar as recompensas ao explorar uma flor (Waser *et al.*, 1996). Os fatores climáticos também influenciam o comportamento dos visitantes florais. Dentre eles, os que mais influenciam a atividade forrageadora dos insetos são a temperatura, luminosidade, umidade relativa do ar e a velocidade do vento (Dutra e Machado, 2001).

A família Verbenaceae compreende 36 gêneros e cerca de 1000 espécies, de distribuição pantropical, com maior diversidade nos neotrópicos. No Brasil, as espécies do gênero *Lippia* são comumente encontradas nos cerrados e campos rupestres (Souza e Lorenzi, 2008). A maior representatividade está concentrada na Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais e nos campos rupestres do estado de Goiás, onde a maioria das espécies desse gênero encontra condições para germinar (Viccini *et al.*, 005). O gênero é de grande importância econômica devido aos diferentes usos dos óleos essenciais, sendo muitas espécies medicinais (Salimena, 2002).

Uma planta de destaque é a *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Lamiales, Verbenaceae), conhecida popularmente como erva cidreira, malva, melissa, sálvia ou salvião - do - mato (Pinto *et al.*, 006; Vendruscolo e Mentz, 2006). A espécie é um arbusto que pode alcançar até dois metros de altura, produz néctar e pólen (Vit *et al.*, 002) e apresenta flores de aroma forte e chamativo (Muñoz *et al.*, 007). É amplamente distribuída em todo o território brasileiro em

terrenos abandonados, ou cultivada para fins fitoterápicos (Aguiar e Costa, 2005). Suas folhas são utilizadas como antimicrobiano, sedativo e antineoplásico (Oliveira *et al.*, 006; Filho *et al.*, 006; Caldas *et al.*, 004), além de agir como anti-hipertensivo, antiulcerogênico e antiinflamatório (Guerrero *et al.*, 002; Pascual *et al.*, 001; Badilla *et al.*, 007). Devido à intensa utilização dessa espécie na fitoterapia e na medicina popular, torna-se necessário o levantamento e a identificação dos polinizadores para avaliar devidamente a eficiência da entomofauna sobre a estratégia reprodutiva da planta. Tais estudos geram importantes subsídios para a realização de programas de melhoramento genético e para o correto manejo da cultura (Kill e Costa, 2003).

## OBJETIVOS

Com o propósito de contribuir para o melhor entendimento da ecologia da polinização de *Lippia alba*, o trabalho teve como objetivos verificar a entomofauna visitante, a fenologia floral e avaliar a influência dos fatores ambientais sobre as interações dos insetos com as flores.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Fenologia Floral

As observações foram realizadas em 67 plantas de *L. alba*, localizadas na Estação Experimental de Cultivo e Manutenção de Plantas da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF (21°46'S43°21'W, altitude 800m), em Juiz de Fora, MG, durante o mês de novembro de 2008. Para a determinação do período da antese, foram realizadas observações a cada 20 minutos em 45 botões florais de 18 inflorescências de plantas distintas, durante o período de 8h

até 18h. Estas inflorescências foram previamente envolvidas em saco de voal no dia anterior, para serem observadas no dia seguinte. O tempo de duração das flores e os eventos florais que ocorrem no decorrer do estudo da fenologia foram analisados a cada hora, em inflorescências (n=18) previamente envolvidas em saco de voal, durante o período de 6h até 18h (Kearns e Inouye,1993).

A receptividade do estigma foi verificada a cada hora, por meio da presença de brilho na superfície estigmática com o auxílio de lupa estéreo - microscópica, totalizando 150 botões florais observados.

#### Visitantes Florais

As observações e coletas da fauna visitante de *L. alba* foram realizadas em dois dias, no período de 7h às 17h (horário do sol-desconsiderando o horário de verão), totalizando 20 horas de observação. O método adotado para as coletas foi o proposto por Sakagami *et al.*, (1967), que consiste em capturar os insetos aleatoriamente, sobre as flores ou em vôo, com rede entomológica. Os insetos coletados foram sacrificados em câmara mortífera contendo CHCl<sub>3</sub> (tricloreto de metila) e separados em frascos tipo eppendorf (2 ml) contendo etanol 70% para fixação. Alguns exemplares foram montados com alfinetes entomológicos e conservados a seco. A identificação foi realizada seguindo - se a chave proposta por Gallo *et al.*, (2002) e por consulta a especialistas. Todos os visitantes que pousavam nas flores foram identificados a nível de família. Durante o período de observação da fauna visitante a cada trinta minutos foram tomadas medições da temperatura e umidade relativa do ar, utilizando - se termômetro digital.

Com os dados obtidos no presente estudo, foi realizado um teste de qui - quadrado, entre as famílias dos visitantes para verificar qual foi a de maior prevalência. Através do teste de correlação de Spearman foi verificada correlação entre as variáveis: número de visitantes e a temperatura, número de visitantes e a umidade relativa do ar, duração das visitas e temperatura, duração das visitas e umidade relativa do ar. Todos os testes estatísticos foram realizados utilizando o programa *freeware* Bioestat 5.0.

## RESULTADOS

### Fenologia Floral

Os espécimes de *Lippia alba* apresentaram altura média de 113.44 cm (n=67). O gineceu possui pistilo de cor verde e ovário súpero. O androceu é constituído por quatro anteras de cor amarela e deiscência longitudinal, com estames epipétalos (aderentes às pétalas), essas observações confirmam as de Muñoz *et al.*, (2007). O período de antese ocorreu entre as 9h e 13h, ocorrendo predominância do período da manhã, estendendo - se até o início da tarde.

As flores são visualmente chamativas por cinco dias e permaneceram com brilho estigmático até o quarto dia, sendo que as anteras também escureceram a partir do quarto dia. O brilho do estigma com aparência de verde passou a verde meio esbranquiçado até adquirir a cor marrom e as anteras também assumiram coloração marrom. O guia nas flores foi visível até o terceiro dia, com a cor se tornando cada vez mais discreta, se parecendo com o padrão geral do restante

da corola, que é de cor rosa. Por guia de recurso considerou - se uma auréola central amarela em torno do tubo da corola. *Lippia alba* apresentou flores com maior longevidade quando comparada a outras espécies, como *Amasonia campestris* (Aubl.) Moldenke (Verbenaceae), com duração de dois dias; *Lantana camara* L. (Verbenaceae), que dura dois dias; *Stachytarpheta glabra* Cham. (Verbenaceae), durando um dia; e *Stachytarpheta maximiliani* Scham. (Verbenaceae), que dura aproximadamente 12 horas (Ramirez,2007; Antonini *et al.*, 005; Barbola *et al.*, 006; Barros, 2001).

O longo período de atratividade da corola e receptividade estigmática atua na manutenção das visitas à flor, indiretamente levando e um incremento nas taxas de polinização. Além disso, a flor apresenta aroma forte e chamativo devido aos óleos essenciais presentes na planta (Aguiar e Costa, 2005).

#### Visitantes florais

Foram registradas 269 visitas florais, sendo os insetos pertencentes à ordem Hymenoptera os visitantes mais frequentes (n=253), foram também observados representantes da ordem Lepidoptera, Diptera e Thysanoptera. Dentre as famílias de abelhas visitantes, Apidae (Hymenoptera) foi a mais frequente com 78,07% das visitas (210 visitas), seguida por Andrenidae com 3,72% (10 visitas), Halictidae com 2,60% (7 visitas) e Megachilidae com 1,12% (3 visitas). Uma espécie de vespa pertencente à família Sphecidae foi observada com 7,07% (19 visitas) e a família Formicidae apresentou 1,49% (4 visitas). A família de Lepidoptera mais frequente foi Hesperidae com 4,08% (11 visitas), seguida por Pieridae 0,37% (1 visita) e Heliconidae 0,37% (1 visita). Não foi possível a identificação das famílias de Diptera e Thysanoptera; estas duas ordens representaram juntas 1,11% dos visitantes (3 visitas).

O pico de atividade dos visitantes florais ocorreu entre 9h e 13h, coincidindo com o período de antese de *L. alba*. Musury *et al.*, (2003), afirmam que os momentos iniciais de florescimento são preferidos por alguns insetos, por haver uma maior disponibilidade dos níveis de néctar.

As abelhas (Hymenoptera) ao explorar uma flor, selecionavam aquelas que apresentavam a coloração do anel central da corola amarela (guia de recurso) e rejeitavam as flores que não exibiam esta coloração. Isto sugere que a cor exerce influência no processo de escolha da flor para a visitação. Devido ao pequeno tamanho das flores, introduziam apenas a cabeça no interior do tubo da corola, sendo que grãos de pólen foram encontrados aderidos às peças bucais destes insetos. Portanto, como foram os visitantes mais frequentes, poderiam atuar como polinizadores principais de *Lippia alba*.

A vespa (Sphecidae) pousava na inflorescência introduzindo a cabeça no tubo floral em busca de néctar, de modo que grãos de pólen pudessem ficar aderidos às peças bucais do inseto. Visitava apenas flores com guia de recurso. As formigas (Formicidae) entravam nas flores, e podiam ocasionalmente polinizar, uma vez que mantinham contato com o estigma e as anteras. Insetos da ordem Thysanoptera foram observados no interior de flores, com pólen aderido nas patas e no corpo, na região dorsal e ventral. Portanto, poderiam atuar como polinizadores constantes ou eventuais nas flores de *Lippia alba*. Um pequeno díptero também foi observado

no momento em que estava introduzindo a probóscide no interior de uma flor com guia de recurso, é possível que grãos de pólen ficassem aderidos aos pêlos da cabeça e dessa forma permitissem a polinização.

Os visitantes da ordem Lepidoptera, ao pousarem nas inflorescências, exibiam comportamento semelhante. Utilizavam as pétalas das flores como plataforma de pouso e introduziam apenas a probóscide para coletar o recurso floral. Estes insetos foram observados com grãos de pólen aderidos nas peças bucais, portanto devido à baixa frequência de visitas, poderiam atuar como polinizadores eventuais em *Lippia alba*.

Não houve correlação entre o número de visitantes e a temperatura ( $p=0.4602$ ), número de visitantes e a umidade relativa do ar ( $p=0.6785$ ), duração das visitas e a temperatura ( $p=0.6235$ ) e entre a duração das visitas e umidade relativa do ar ( $p=0.6033$ ). A longa duração da flor associada à presença de perfume, pólen e néctar, servem como fatores de atração aos visitantes, incrementando as taxas de polinização. A não correlação do número de visitas e duração das visitas com os fatores abióticos (temperatura e umidade) pode ser explicada pela baixa variação entre as variáveis mensuradas durante os dias de observação.

## CONCLUSÃO

A antese de *Lippia alba* é diurna, coincidindo com o horário de maior atividade dos visitantes. Hymenoptera, Diptera, Lepidoptera e Thysanoptera foram as ordens visitantes de *Lippia alba*. Apidae (Hymenoptera) foi a família mais freqüente, sendo encontrado grãos de pólen aderido às peças bucais e, portanto poderiam atuar como polinizadores principais. Lepidoptera foi menos freqüente, mas também foram encontrados grãos de pólen aderidos às peças bucais, podendo atuar dessa forma como polinizadores eventuais. Os insetos da ordem Thysanoptera foram encontrados com pólen aderido ao corpo na região dorsal e ventral. Portanto, também poderiam atuar como polinizadores constantes ou eventuais nas flores de *Lippia alba*.

Agradecimentos

Os autores são gratos à Dr. Helena Maura Torezan Silingardi pela orientação, leitura e sugestões ao manuscrito e ao Prof. Dr. Lyderson Facio Viccini por ceder as instalações da Estação Experimental de Cultivo e Manutenção de Plantas da Universidade Federal de Juiz de Fora para a realização do experimento.

## REFERÊNCIAS

Aguiar, J.S. & M.C.C.D. Costa. 2005. *Lippia Alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae): levantamento de publicações nas áreas química, agrônômica e farmacológica, no período de 1979 a 2004. Rev. Bras. Pl. Med., 8 (1): 79 - 84.

Antonini, Y; Souza, H. G.; Jacobi, C.M. and Mury, f. B.. Diversidade e comportamento dos insetos visitantes florais de *Stachytarpheta glabra* Cham. (Verbenaceae), em uma área de campo ferruginoso, Ouro Preto, MG. Neotropical Entomology [online]. 2005, 34 (4): 555 - 564.

Badilla, B.; Cambronero, J.; Ciccio, J. F.; Cordero, T.; Mora, G. 2007. 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, 3: 139 - 144.

Barbola, I. F.; Laroça, S.; Almeida, M. C. and Nascimento, E. A. Floral biology of *Stachytarpheta maximiliani* Scham. (Verbenaceae) and its floral visitors. Revista Brasileira de entomologia. [online]. 2006, 50 (4): 498 - 504.

Barros, M.A.G. 2001. 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. 57:1 - 14.

Caldas, M. C.; Costa, D.; Aguiar, J. S.; Nascimento, S. C. 2004. Atividade Citotóxica de Extratos Brutos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae). Acta Farm. Bonaerense, 23 (3): 349 - 52.

Dutra, J.C.S.; Machado, V. L.L. 2001. Entomofauna visitante de *Stenolobium stans* (juss.) Seem (bignoniaceae), durante seu período de floração. Neotropical Entomology, 30(1): 43 - 53.

Filho, J. G. S.; Melo, J. G. S.; Saraiva, A. M.; Gonçalves, A. M.; Psiottano, M. N. C.; Xavier, H. S. 2006. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 16 (4): 506 - 509.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R.P.L.; Batista, G.C.; Berti Filho, E.; Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A.; Alves, S.B.; Vendramim, J.D.; Marchini, L.C.; Lopes, J.R.S.; Omoto, C. 2002. Entomologia agrícola. 3<sup>o</sup> ed., Piracicaba: FEALQ, 920p.

Guerrero, M. F. ; Puebla, P. ; Carrón, R. ; Martín, M. L. ; Arteaga, L. ; San Román, L. 2002. Assessment of the anti-hypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 80: 37 - 42.

Kearns, C. A. & Inouye, D.W. 1993. Techniques for pollination biologists. Colorado University Press, Colorado, 583p.

Kill, L. H. P. & J. G. Costa. 2003. Biologia floral e sistema de reprodução de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) na região de Petrolina - PE. Ciência Rural, 33 (5): 851 - 856.

Muñoz, M. A. M.; Vallejo, C. F. A.; Sánchez, O. M. S. 2007. Morphology and anatomy of flowers and seeds of *Lippia alba*. Acta. Agron., 56 (1): 7 - 11.

Mussury, R. M.; Fernandes, W. D.; Scalón, S. P.Q. 2003. Atividade de alguns insetos em flores de *Brassica napus* L. em Dourados - MS e a interação com fatores climáticos. Ciênc. agrotec., 27 (2): 382 - 388.

Oliveira, D. R.; Leitão, G. G.; Santos, S. S.; Bizzo, H. R.; Lopes, D.; Alviano, C.S.; Alviano, D. S.; Leitão, S. G. 2006. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil. Journal of Ethnopharmacology, 108: 103 - 108.

Ollerton, J; Dafni, A., 2005. Morphology and phenology. In: Dafni, A., Kevan, P. G., Husband B. C. (eds). Practical pollination biology. Enviroquest Ltd., Ontário, Canada, p. 1 - 26.

- Pascual, M. E.; Slowing, K.; Carretero, M. E.; Villar, A. 2001. Antiulcerogenic activity of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). *IL Farmaco*, 56: 501 - 504.
- Pinto, E. P. P.; Amorozo, M. C. M.; Furlan, A. 2006. Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica-Itacaré, BA, Brasil. *Acta bot. bras.*, 20 (4): 751 - 762.
- Ramirez, N. Biología reproductiva de *Amasonia campestris* (Aubl.) Moldenke (Verbenaceae) en los llanos centrales de Venezuela. *Acta Botanica Venezuelana*, 2007, 30 (2): 385 - 414.
- Sakagami, S.F., S. Laroca & J.S. Moure. 1967. Wild bee biocenotics in São José dos Pinhais (PR), South Brazil Preliminary report. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Ser. 6, Zoology*, 18: 57 - 127.
- Souza, V.C. & Lorenzi, H. 2008. *Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II*. 2ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, Nova Odessa, 704p.
- Vendruscolo, G. S.; Mentz, L. A. 2006. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia Sér. Bot.*, 61 (1 - 2): 83 - 103.
- Viccini, L. F.; Pierre, P. M. O.; Praça, M. M.; Souza da Costa, D. C.; da Costa Romanel, E.; Sousa, S. M.; Pereira Peixoto, P. H.; Gonçalves Salimena, F. R. 2005. Chromosome numbers in the genus *Lippia* (Verbenaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 256 (1): 1 - 4.
- Vit, P., Silva, B., Meléndez, P. 2002. *Lippia alba* N.E. Br. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela, No. 2 Cidrón. *Revista de la facultad de farmacia*, 43: 13 - 14.
- Waser, N.M., Chittka, L., Price, M.V., Williams, N.M. & Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, 77: 1043 - 1060.