

**Néctar e Voláteis na Polinização de Quatro Espécies  
de *Passiflora* L. (Passifloraceae)**

Este exemplar corresponde à redação final  
da tese defendida pelo(a) candidato a)  
*Isabela Galarda Varassin*  
e aprovada pela Comissão Julgadora.

*11/4/96 Marlies Sazima*

Dissertação apresentada ao  
Instituto de Biologia,  
Universidade Estadual de  
Campinas, para obtenção  
do título de Mestre em  
Ciências Biológicas, área  
de concentração em  
Ecologia

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marlies Sazima**  
**Co-Orientador: Prof. Dr. José Roberto Trigo**

**Universidade Estadual de Campinas**  
**Campinas, 1996.**

UNIDADE	70C
N.º CHAMADA:	
	UNICAMP
	N 422n
V. Es.	
T. MBO DC/27605	
PROC.	667/96
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	03/05/96
N.º CPD	C.M.00027206-3

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

V422n

Varassin, Isabela Galarda

Néctar e voláteis na polinização de quatro espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) / Isabela Galarda Varassin. Campinas, SP : [s.n.], 1996.

Orientadores : Marlies Sazima, José Roberto Trigo.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Maracujá. 2. Polinização 3. Nectários. 4. Abelha.  
5. Morcego. 6. Beija-flor. I. Sazima, Marlies. II. Trigo, José Roberto. III. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. IV. Título.

LOCAL E DATA: Campinas, 11 de abril de 1996

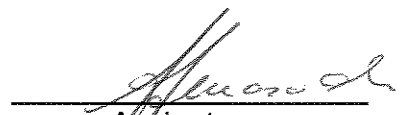
BANCA EXAMINADORA:

TITULARES:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARLIES SAZIMA

  
Assinatura

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. ANITA MARSALIOLO

  
Assinatura

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARIA DO CARMO E. DO AMARAL

  
Assinatura

SUPLENTE:

Prof. Dr. JOÃO SEMIR

\_\_\_\_\_  
Assinatura

## Agradecimentos

---

À Marlies, pela orientação, atenção e leitura crítica das várias versões a que foi apresentada. Obrigada pela atenção extra-orientação, nas horas de resolver os problemas!

Ao Trigo que, ainda bem, "não foi para Londres", e teve a imensa paciência de proceder às várias análises no CG e CG-EM, e acompanhar o desenvolvimento deste estudo.

Ao Keith Brown pela sugestões, pela correção do Abstract, e ainda pela atenção ao me ajudar a entender as espécies de *Passiflora* do E.S.

Ao João Semir, um obrigado especial, pelas discussões sobre o gênero *Passiflora*.

Ao Ivan Szozima, pela discussão sobre os morcegos.

À Maria do Carmo do Amaral e à Anita Marsaiolo, pelas valiosas sugestões feitas na pré-banca, e ainda por tê-las na banca de avaliação.

Ao Ary, claro, que me acompanha por tantos anos, e sempre me surpreende pelo carinho e por um brilho que é só seu. Obrigada pelas noites perdidas com o Systat, por ter-me iniciado neste estudo, pelas sugestões valiosas, por ...

Ao André Alves, Ivan Szozima e João Vasconcelos Neto pelas lindíssimas fotos cedidas (Figura 2).

Ao Renato Moraes de Jesus, pela possibilidade de trabalhar na RFCVRD, em Linhares, e pela atenção. Obrigada ao seu Domingos que auxiliou na localização dos indivíduos de *P. speciosa* (assim como o pessoal do curso de campo-Linhares/94!).

À SEAMA-ES, pela autorização de estudo no Parque Estadual de Setiba.

Ao Prof. Barata, Instituto de Química, pela utilização do CG e CG-EM.

Ao Laboratório Henrique Tommasi Netto, por ter cedido os reagentes dos testes da Glicose-oxidase em nectários. Obrigada, Simone, por ter-me auxiliado com os pedidos sempre em cima da hora.

Ao Departamento de Patologia Clínica-UNICAMP, pelas análises de néctar.

À Esmê, pela bela prancha da Figura 1 desenhada a toque de caixa.

Aos órgãos financiadores deste estudo: CNPq, processo 13335593-4 e processo 30160892 para JRT, e FAPESP, processo 940867 para JRT.

Aos que me auxiliaram nas atividades de campo, by day e by night. Sí, Mayr, Andy, Pira, Rê, Ary, Dré, Waltinho, Marion, Klaus, Serginho, Rebs, Júnior, Vó Mina, Lilinha, Alê, Penhinha (em ordem cronológica).

À Andréa e Marcel, que me auxiliaram com o Systat, e outras dicas!!!

Ao Cello, que quase pintou e bordou com minha tese, e ajudou nas diversas impressões, com seus super-programas e super-impressora!

Ao pessoal da Vigília, sem quem uma parte de mim não poderia ser hoje o que é. Bem, como eu ia dizendo, as flores da Sí...

À turma de Ecologia-93, sempre solidária, coesa, e...sincrônica! Com carinho: Adry, Nani, Andy, Davor, Galego, Jarbitas, Kátia, Sí, Zeca, e a Dél!

Aos amigos de horas e lugares diferentes: Drica, Ric, Adriana Grega, Flá, André, Marlon, Alejandro, Waltinho, Marielle Christine, Paola, Simone, Ingrid, Zé, Matê, Tereza, Ângela, Hique, Alan, Cláudio, Andréa, Marcel, Cláudia M., Alex, Malva, Danda, Claudita, Ana Beatriz, Inara, Bel, Júlio, Leandro, Adriano (da Sí), Cláudia Baider, Cláudia Vietas, Renata, Betó, Mike e Dadão.

À linda, pequenina e doce Manuela, que não pôde escolher uma dinda menos ocupada.

À Claudinha, que foi meu anjinho da guarda quando precisei.

À Rebeca, pela sua alegria de viver.

Ao Plínio e Lilian, pela atenção paterna em auxiliar-me com o maior apoio logístico. Desculpas pelos estragos com os carros no campo!

Às minhas queridas e muito amadas famílias, que sentiram comigo o abrir e o fechar das flores.

Ao Rê, *mein shein ingele*, cuja presença me trouxe a tranquilidade e o carinho que precisei nesta etapa final. Obrigada...

**Dedico**

Às areias brancas de Setiba,  
ao mar azul de Picingüaba  
e à verde imponência das  
Matas de Tabuleiro

À *Passiflora alata*, *P. galbana*,  
*P. mucronata* e *P. speciosa* que  
me deram a medida dos dias e  
das noites destes últimos anos

## Sumário

---

Lista de figuras.....	i
Lista de tabelas.....	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>4</b>
2.1 As espécies e os locais de estudo.....	4
2.2 A biologia da polinização.....	5
2.3 O recurso alimentar.....	5
2.3.1 O nectário.....	6
2.3.2 O néctar.....	6
2.3.2.1 A secreção de néctar.....	6
2.3.2.2 Análise química do néctar.....	7
2.4 O padrão de pigmentação e os voláteis.....	9
2.5 A análise estatística.....	11
<b>3 RESULTADOS.....</b>	<b>13</b>
3.1 A morfologia floral: suas peculiaridades.....	13
3.2 A biologia da polinização.....	13
3.3 O recurso alimentar.....	21
3.3.1 O nectário.....	21
3.3.2 A secreção de néctar.....	23
3.3.2.1 A variabilidade do recurso alimentar ao longo da antese.....	28
3.3.3 A constituição do néctar.....	30
3.4 O padrão de pigmentação e os voláteis.....	32
<b>4 DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
4.1 A biologia da polinização.....	59
4.2 O recurso alimentar.....	62
4.3 Os pigmentos e os voláteis.....	70
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>76</b>
<b>6 BIBLIOGRAFIA CITADA.....</b>	<b>78</b>

## Lista de figuras

---

- Figura 1.** Seção transversal das flores de *Passiflora*: *P. alata*; *P. galbana*, *P. mucronata*, *P. speciosa*..... 19
- Figura 2.** Flores de *Passiflora* e seus polinizadores. *P. alata* e *Xylocopa brasilianorum*, flor de *P. galbana*, *P. mucronata* e *Glossophaga soricina*, *P. speciosa* e *Phaethornis idaliae*..... 20
- Figura 3.** Presença de glicose no nectário de *P. alata* e de *P. galbana*..... 21
- Figura 4.** Variação da densidade de grãos de amido em nectários. Flores em pré-antese e flores em pós-antese. *P. alata*, *P. galbana*, *P. mucronata* e *P. speciosa* ..... 22
- Figura 5.** Variação do volume de néctar durante a antese de *P. alata*, *P. mucronata*, *P. speciosa* e *P. galbana*..... 25
- Figura 6.** Variação da concentração do néctar durante a antese de *P. alata*, *P. mucronata*, *P. speciosa* e *P. galbana*..... 26
- Figura 7.** Taxa instantânea de produção de néctar de *P. alata*, *P. galbana* e *P. speciosa* ao longo da antese..... 27
- Figura 8.** A variabilidade da concentração e do volume acumulado de néctar de *P. alata*, *P. mucronata*, *P. speciosa* e *P. galbana* ao longo da antese..... 29
- Figura 9.** Classes de pigmentos encontrados nos extratos metanólicos dos verticilos florais de *Passiflora*.....37
- Figura 10.** Espectros de absorção dos pigmentos das pétalas de *P. alata*, *P. mucronata*, *P. speciosa* e *P. galbana* ..... 38
- Figura 11.** Compostos encontrados nos extratos diclorometânicos das fímbrias de *Passiflora*.....47-54
- Figura 12.** Percentagem das classes dos compostos encontrados nos extratos diclorometânicos das fímbrias de de *P. alata*, *P. galbana* e *P. speciosa*..... 55
- Figura 13.** Cromatograma dos compostos voláteis encontrados em *P. alata*..... 56
- Figura 14.** Cromatograma dos compostos voláteis encontrados em *P. galbana*..... 57
- Figura 15.** Cromatograma dos compostos voláteis encontrados em *P. speciosa*..... 58



## Lista de tabelas

---

- Tabela 1.** Número de flores ensacadas na pré-antese nas quatro espécies de *Passiflora* para verificar a ocorrência de formação de frutos.. **18**
- Tabela 2.** Quantificação de glicose, lipídios e sais minerais no néctar das espécies de *Passiflora*..... **30**
- Tabela 3.** Padrão de fragmentação de massas de derivados acetilados de açúcares encontrados no néctar das espécies de *Passiflora* por CG-EM e abundância relativa de seus fragmentos [m/z%]..... **31**
- Tabela 4.** Pigmentos encontrados nos extratos metanólicos dos verticilos florais de *Passiflora* em cromatografia em papel. Sistema solvente = butanol-ácido acético-água (4:1:5)..... **34**
- Tabela 5.** Pigmentos encontrados nos extratos metanólicos dos verticilos florais de *Passiflora* em cromatografia em papel. Sistema solvente = HCl 1%..... **35**
- Tabela 6.** Pigmentos encontrados nos extratos metanólicos dos verticilos florais de *Passiflora* em cromatografia em papel. Sistema solvente = n-butanol-HCl 2M (1:1)..... **36**
- Tabela 7.** Compostos encontrados nos extratos diclorometânicos das fímbrias das espécies de *Passiflora*..... **39-46**

## RESUMO

Foram estudadas quatro espécies de *Passiflora*. *P. alata*, *P. galbana* (Parque Estadual de Setiba, Guarapari, ES) e *P. mucronata* (Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba, SP), que pertencem ao subgênero *Passiflora* e ocorrem em vegetação de restinga. *P. speciosa* Gardn., subgênero *Distephana*, ocorre em mata atlântica de tabuleiro da Reserva Florestal da CVRD (RFCVRD), Linhares, ES. Foi analisado qualitativa - e quantitativamente o recurso alimentar e foram identificados os constituintes químicos que compõe as unidades de atração visual e olfativa nestas espécies de *Passiflora*. Foi observado que as espécies de *Passiflora* estudadas dependem de vetores de pólen para a produção de frutos. *P. alata* é melitófila, *P. galbana* e *P. mucronata* são quiropterófilas e *P. speciosa* é ornitófila. A polinização é favorecida pela deflexão dos órgãos reprodutivos, que permite que os animais os toquem. O néctar é o recurso alimentar procurado pelos visitantes florais, sendo que o comportamento dos polinizadores vertebrados parece refletir a disponibilidade do recurso, forrageando quando há mais volume de néctar e quando a previsibilidade da quantidade de recurso é maior. A dinâmica de secreção de néctar das espécies estudadas está relacionada com a hidrólise de amido armazenado no nectário. Parece haver uma relação entre o tipo de polinizador e a composição do néctar, inclusive a quantidade de lipídios presentes e a razão  $Na^+/K^+$ . O espectro de absorção nas faixas UV-VIS encontrado nestas flores se adequa à sensibilidade espectral da visão dos polinizadores, com presença de antocianidinas em *P. alata* e *P. speciosa*. As espécies quiropterófilas possuem pigmentos que refletem na região do visível, e devem ter uma função menos importante na localização das flores por morcegos. Nas espécies polinizadas por animais cujo olfato é bastante desenvolvido, há maior abundância de classes de compostos voláteis. Compostos aromáticos hidroxilados e monoterpenos são provavelmente os responsáveis pelo perfume adocicado das flores de *P. alata*. Em *P. galbana*, estes compostos tem participação expressiva no seu perfil de odores. *P. speciosa* tem leve odor acre, provavelmente conferido por hidrocarbonetos. Sinais olfativos devem estar permitindo a localização do recurso a longa distância, enquanto que a localização do recurso a curta distância seria possível através de orientação visual ou acústica. Vários compostos que formam as fragrâncias destas espécies de *Passiflora* ocorrem em outras espécies de plantas; alguns destes também ocorrem em secreções exócrinas de abelhas.

## ABSTRACT

Four species of *Passiflora* were studied. *P. alata*, *P. galbana* (Parque Estadual de Setiba, Guarapari, ES) and *P. mucronata* (Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba, SP), belong to the *Passiflora* subgenus, and occur in restinga vegetation. *P. speciosa* Gardn., *Distephana* subgenus occurs in Atlantic forest in the Reserva Florestal da CVRD (RFCVRD), Linhares. The central aims of this study were to analyse qualitative and quantitative aspects of the food resources, and to identify visual and olfactory chemical constituents of the units of attraction in these species of *Passiflora*, to verify their role in pollinator selection, since they have distinct pollination syndromes. Those *Passiflora* species depend on pollen vectors to produce fruits. *P. alata* is mellitophilous, *P. galbana* and *P. mucronata* are chiropterophilous and *P. speciosa* is an ornithophilous species. Pollination is facilitated due to the deflection of the reproductive organs. Floral visitors search for nectar as a food resource; the vertebrate pollinator behavior seems to reflect resource availability, as they forage when large amounts of nectar are found and when quantitative resource predictability is greater. The dynamics of nectar secretion is related to nectary starch hydrolysis. There seems to be a relationship between pollinator type and the nectar composition, such as amounts of lipids and  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio. The UV-VIS spectral absorption of flowers is adjusted to the pollinators' visual spectral sensitivity, with anthocyanidins present in *P. alata* and *P. speciosa*. Pigments of the chiropterophilous species reflect in the visible spectra, and might have a little importance in flower location. There is a higher class diversity among the volatiles compounds in the species pollinated by animals with an acute olfactory sense. Hydroxylated aromatic compounds and monoterpenes are probably responsible for the sweet scent of *P. alata*. In *P. galbana*, they are also important compounds in the scent profile. *P. speciosa* has a very faint acrid smell, probably from hydrocarbons. Long distance resource location is probably accomplished by olfactory signals, although visual or acoustic signals could be responsible for short distance orientation. Fragrance compositions of these *Passiflora* species show compounds also present in other species and in the exocrine secretions of bees.

## 1 INTRODUÇÃO

---

A família Passifloraceae apresenta distribuição tropical e subtropical e reúne espécies arbóreas, arbustivas, lianas e herbáceas (Heywood, 1993). O gênero *Passiflora* ocorre nas áreas mais quentes da América, com algumas espécies na Ásia e Austrália e uma espécie em Madagascar (Heywood, 1993). Reúne cerca de 400 espécies de lianas predominantemente neotropicais (Endress, 1994), dentre as quais cerca de 200 ocorrem no Brasil (Semir & Brown, 1975). As espécies estão distribuídas em 22 subgêneros (Killip, 1938). O subgênero *Passiflora* (*Granadilla* sensu Killip, 1938) congrega 97 espécies, enquanto que o subgênero *Distephana*, 8 espécies (Killip, 1938).

A melitofilia, polinização por abelhas, foi descrita para algumas espécies, como as cultivadas *P. alata* (Camillo, 1978; Varassin, 1992; Koschnitzke, 1993) e *P. edulis* (Corbet & Willmer, 1980; Sazima & Sazima, 1989), e outras como *P. foetida* (Janzen, 1968), *P. mooreana* (Garcia & Hoc, 1994) e *P. pentagona* (Varassin & Silva, 1994). Em *P. coccinea* (E. Fischer & I. Leal, com. pess.), *P. speciosa* (Sigrist, 1991) e *P. vitifolia* (Janzen, 1968) a polinização é mediada por beija-flores. A quiropterofilia, polinização por morcegos, foi descrita em *P. mucronata* (Sazima & Sazima, 1978, 1987) e observada em *P. galbana* (C. Koschnitzke, com. pess.; obs. pess.). A polinização por vespas foi descrita em apenas uma espécie, *P. suberosa* (Koschnitzke, 1993).

Em uma gama tão diversa de animais potencialmente capazes de visitar a flor de *Passiflora*, os eventos que atuam selecionando uma interação dependem das respostas diferenciais aos estímulos, segundo as características fisiológicas de cada animal. Considerando que os visitantes florais podem ser predominantemente visual ou olfativamente orientados (Dusenbery, 1992), a mediação química da atração floral por compostos voláteis (Vogel, 1983) ou pigmentos (Harborne, 1988) assume importância distinta em cada síndrome.

Na polinização por animais, caracteres morfológicos como tamanho e forma da flor, e químicos, como pigmentos ou odores, podem atrair ou guiar polinizadores. A semelhança entre grupos de compostos químicos que compoem o perfil de odores que atraem insetos polinizadores e os que são usados como inibidores de herbivoria, em Cicadales, serve de argumento para Pellmyr *et al.* (1991) para a hipótese que os odores mediadores de interações mutualísticas entre plantas e insetos, como na polinização, provavelmente evoluíram a partir de inibidores de herbívoros, e talvez precederam a cor na atração de polinizadores (van der Pijl, 1960).

A diversidade de compostos químicos que formam as fragrâncias florais (Knudsen *et al.*, 1993) torna possível plantas exibirem perfumes que atraem determinados grupos de animais e não outros (Harborne, 1988, Knudsen & Tollsten, 1993). Como diferentes polinizadores podem estar sendo atraídos por espécies distintas devido à diferença de suas fragrâncias florais, a variação do perfil de odores tem implicação na especiação de plantas (Tollsten *et al.*, 1994). A escolha seletiva de plantas pelos animais levando a uma restrição do fluxo de pólen pode funcionar como mecanismo de isolamento reprodutivo (Hills *et al.*, 1972; Ware *et al.*, 1993).

Como fragrâncias diferentes atraem animais distintos, a variação do perfil de odores tem implicação na especiação de plantas (Tollsten *et al.*, 1994), uma vez que pode atuar como mecanismo de isolamento reprodutivo (Hills *et al.*, 1972; Ware *et al.*, 1993), .

As fragrâncias florais podem sinalizar uma fonte de alimento, um local para oviposição e/ou um local de cópula (Pellmyr & Thien, 1986). Diversos animais visitam flores em busca de recursos distintos como néctar, pólen, gomas, resinas, mucilagens, óleos fixos e óleos voláteis; apesar da gama de recursos que podem ser explorados, o néctar é um dos mais procurados (Roubik, 1989). O néctar assume, portanto, importância relevante na relação planta-polinizador, pois a adequação do recurso alimentar às necessidades energéticas do animal permite sua sobrevivência e garante à planta um vetor de pólen.

Duas características do recurso alimentar oferecido pelas flores podem influenciar o comportamento dos polinizadores: a qualidade do néctar, enquanto fonte de substâncias que compõem a dieta do animal (Hainsworth & Wolf, 1976; Roces *et al.*, 1992; Suthers *et al.*, 1969) e a quantidade de alimento oferecida (Rathcke, 1992). O período de secreção e/ou de exposição do néctar para os visitantes também pode funcionar organizando uma guilda de polinizadores em uma comunidade (Cruden *et al.*, 1983).

Em espécies de *Passiflora* o néctar é o recurso alimentar procurado pela maioria de seus visitantes florais (Sazima & Sazima, 1978; Corbet & Willmer, 1980; Sazima & Sazima, 1989; Sigrist, 1991; Koschnitzke, 1993).

O objetivo deste estudo foi analisar quimicamente o recurso alimentar e a unidade de atração em quatro espécies de *Passiflora* com três síndromes de polinização distintas para verificar a importância destes fatores na seleção dos visitantes florais. Foi dada atenção especial à estimativa do valor calórico do recurso alimentar e a sua disponibilidade para os visitantes florais, à identificação dos constituintes químicos que compõem a unidade de atração visual e olfativa, à determinação de autocompatibilidade e/ou autogamia nas espécies de *Passiflora* em estudo, e à observação do comportamento dos animais visitantes, com ênfase nos polinizadores.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 2.1 As Espécies e os Locais de Estudo

Este estudo envolveu quatro espécies de *Passiflora*: *P. alata* Dryand., *P. galbana* Mast., *P. mucronata* Lam. do subgênero *Passiflora*, e *P. speciosa* Gardn., subgênero *Distephana* (Juss.) Killip. O material testemunho está depositado no Herbário do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. Foram acompanhadas populações de *P. alata* e *P. galbana* que ocorrem em vegetação de restinga das planícies arenosas litorâneas do Parque Estadual de Setiba, Guarapari, ES; populações de *P. mucronata* em vegetação de restinga do Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba, Ubatuba, SP, e populações de *P. speciosa* em mata atlântica de tabuleiro da Reserva Florestal da Companhia Vale do Rio Doce (RFCVRD), Linhares, ES.

As excursões ao campo foram feitas de maio a junho de 1994, no Núcleo Picinguaba, de julho a setembro de 1994, na RFCVRD, e de julho de 1994 a fevereiro de 1995, no Parque Estadual de Setiba. Para *P. alata* foram utilizados também os dados de excursões anteriores referentes ao período de março a junho e agosto a setembro de 1990.

O Parque Estadual de Setiba (17°35'S e 40°25'W) está situado em uma planície litorânea arenosa (Suguió & Tessler, 1984). O clima não apresenta período seco mas sim um período subseco em agosto (Varassin, 1992).

A RFCVRD localiza-se em tabuleiros Terciários, latitudes 17°55' a 21°18' S e longitudes 39°41' a 41°52' W. A região apresenta clima quente, com estação seca bem acentuada coincidindo com o inverno, um mês com precipitação inferior a 60 mm. A temperatura do mês mais frio é sempre superior a 18 °C. Segundo a classificação de Köppen o clima se insere no tipo **Aw**, tendo um período seco de 30 dias (Brasil, 1987).

A área de estudo no núcleo de Picinguaba do Parque Estadual da Serra do Mar (23°21'S e 44°50' W) localiza-se em região de aluviões

quaternários formados por areia, cascalho e argilas inconsolidadas (Brasil, 1983a). Trata-se de uma formação de restinga estreita, limitada pelos contrafortes da Serra do Mar. A precipitação anual é de 2394 mm (Angra dos Reis), concentrada principalmente no verão, não apresentando período seco (Brasil, 1983b).

## 2.2 A Biologia da Polinização

Os eventos fenológicos da flor e a atividade dos animais visitantes foram acompanhados ao longo da antese. Os polinizadores foram identificados com base em observação direta, fotografias e com auxílio de especialistas. Em *P. galbana* os morcegos não foram coletados para identificação, sendo identificados através de observação direta.

As descrições das plantas e das flores foram feitas através de observações no campo, onde foram tomadas as medidas morfométricas. Foram empregadas flores fixadas em álcool 70% e fotografias para a descrição mais detalhada das flores. A terminologia da morfologia floral seguiu a adotada por Semir & Brown (1975), Tillett (1988) e Escobar (1994).

A receptividade do estigma foi indicada pela presença da catalase por peróxido de hidrogênio (van Fleet, 1952). O teste foi feito ao longo da antese, estando os estigmas deflexionados ou não.

Uma vez que as espécies de *Passiflora* em estudo podem se autopolinizar, em cada espécie foram ensacadas flores na pré-antese com sacos de nylon de malha 2,6 mm<sup>2</sup> para testar se havia autocompatibilidade e/ou agamospermia. Estes testes foram realizados em pelo menos quatro indivíduos.

## 2.3 O Recurso Alimentar

Para o estudo do recurso alimentar foi feito o detalhamento morfológico e microquímico do nectário, a estimativa da taxa instantânea de produção de néctar (TIPN) e a análise de sua constituição química.



### 2.3.1 O Nectário

A região de secreção de néctar no nectário foi caracterizada para *P. alata* e *P. galbana* por ensaios microquímicos que consistiram em evidenciar a presença de glicose em flores frescas, pelo teste da Glicose-oxidase. As seções frescas de nectário foram colocadas na solução-teste em banho-maria a 37 °C por 30 min. Este ensaio está baseado na oxidação enzimática da glicose pela glicose-oxidase. Durante a oxidação há formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que leva ao acoplamento oxidativo do fenol com a 4-aminoantipirina, presentes na solução-teste, e formando a antipirilquinoneimida, um composto de coloração vermelha (I. G. Varassin e A. G. Silva, resultados não publicados). Este teste foi realizado nas espécies que ocorrem relativamente próximas ao laboratório, uma vez que depende de flores frescas. A presença de amido em nectários das quatro espécies de *Passiflora* foi avaliada em flores e em botões fixados em etanol 70°GL, pelo teste de lugol (Jensen 1962). As fotomicrografias foram obtidas em microscópio Olympus BHB acoplado a uma câmera Olympus PM-6.

### 2.3.2 O Néctar

Para o estudo do néctar foram utilizadas flores ensacadas na pré-antese com sacos de nylon de malha 2,6 mm<sup>2</sup>. Foi medida a variação térmica microclimática do ambiente ao longo da antese.

As coletas de néctar foram feitas com pipeta de 100 µl, e a alíquota acondicionada em frascos e mantidas a -15°C.

#### 2.3.2.1 A Secreção de Néctar

O ritmo de produção de néctar foi monitorado em flores ensacadas na pré-antese, medindo-se o volume acumulado a cada hora, tendo-se para cada hora novas flores. Para *P. speciosa* foram usadas

apenas três ou quatro flores para a coleta horária de néctar, enquanto que nas demais espécies entre cinco e seis flores.

Foram medidos, em laboratório, a concentração de solutos com auxílio de um refratômetro Atago, N1, e o volume com microseringas de 25 e 100 µl. Nos casos em que a concentração excedeu o limite de leitura do refratômetro, o néctar foi diluído em água destilada 1:1, a concentração foi calculada multiplicando-se o valor encontrado pelo fator de diluição.

A taxa instantânea de produção de néctar (**TIPN**) é uma medida da variação do volume acumulado ao longo do tempo para cada ponto da curva de secreção. Quando a variação do volume apresenta um padrão quadrático ( $y = ax^2 + bx + c$ ), a **TIPN** é calculada através da derivada primeira da equação da variação do volume (Thomas & Finney, 1982). Como o volume foi transformado logaritmicamente, a equação do cálculo da **TIPN** é:

$$\text{TIPN instantânea} = e^{(z)} (2ax + b)$$

onde:

$e^{(z)}$  = exponencial da equação da variação do volume

**a** e **b** = constantes da equação da variação do volume

**x** = horário

A variabilidade do recurso alimentar ao longo do período de antese foi estimada pelo cálculo do coeficiente de variação (CV) do volume e da concentração do néctar a cada hora (Rathcke, 1992). Assim a variabilidade corresponde a uma medida de quanto o recurso alimentar está variando em cada hora.

### 2.3.2.2 Análise Química do Néctar

Para identificação dos açúcares presentes no néctar, foram utilizadas as amostras mantidas em freezer. Os açúcares do néctar foram acetilados com piridina:anidrido acético (1:1), durante 48 horas, em

temperatura ambiente (Biemann *et al.*, 1963), e as amostras foram posteriormente mantidas em geladeira até a análise. O solvente foi evaporado em corrente de ar e as amostras recuperadas em 300  $\mu$ l de acetato de etila e analisadas em cromatógrafo à gas acoplado a espectrofotômetro de massa (CG-EM).

Os índices de retenção (IR) foram calculados de acordo com van den Dool & Kratz (1963), seguindo a fórmula:

$$IR = [(Ts - T_{cn-1}/T_{cn} - T_{cn-1}).100(Cn - Cn-1)] + 100.Cn-1$$

onde:

**Ts** = tempo de retenção da substância analisada

**T<sub>cn-1</sub>** = tempo de retenção do n-alceno que elui antes da substância analisada

**T<sub>cn</sub>** = tempo de retenção do n-alceno que elui após a substância analisada

**Cn** = número de carbonos do n-alceno que elui após a substância analisada

**Cn-1** = número de carbonos do n-alceno que elui antes da substância analisada.

Para a identificação qualitativa dos açúcares, foi feita a comparação dos padrões de fragmentação do espectro de massa de cada estrutura com os padrões encontrados por Biemann *et al.* (1963) e De Jongh & Biemann (1963) e com os da biblioteca de espectros de massa Wiley, o que permite sugerir a que classes pertencem os açúcares do néctar das espécies estudadas.

A glicose, o colesterol e os triglicerídios foram dosados enzimaticamente através de reações colorimétricas. Nos três casos há formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> originado da oxidação enzimática de substratos diferentes. Por ação da peroxidase, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> leva ao acoplamento oxidativo do fenol com a 4-aminoantipirina, presentes na solução-teste, formando um composto corado, a 4-*p*-benzoquinonaiminofenazona (Henry *et al.*, 1980a). Durante a reação de oxidação da glicose, catalizada pela glicose-oxidase, há formação

de ácido glicônico e  $H_2O_2$ . O éster de colesterol sofre hidrólise pela colesterol-esterase e o colesterol é oxidado a 4-colestenona e  $H_2O_2$ . Os triglicerídios são hidrolisados em glicerol e ácidos graxos. O glicerol é fosforilado pela gliceroquinase, e o fosfoglicerol é então oxidado pela fosfoglicerol-oxidase, havendo formação de  $H_2O_2$ .

Os sais minerais, sódio e potássio foram dosados por espectrofotometria de chama, e cálcio e o fósforo foram dosados por colorimetria. Os íons de cálcio se complexam com o-cresolftaleína, em meio alcalino, formando um complexo de cor violeta e  $\lambda_{\text{máx}} = 570 \text{ nm}$  e os íons fosfato reagem com molibdênio em meio ácido formando um complexo amarelo que, por ação de um tampão alcalino, é reduzido a azul de molibdênio cujo  $\lambda_{\text{máx}} = 650 \text{ nm}$  (Henry *et al.*, 1980b).

As análises em CG-EM foram feitas em um cromatógrafo Hewlett Packard 5890, série II, equipado com coluna capilar de sílica fundida apolar (Rtx-1, 30m x 0,25mm). O CG-EM era acoplado a um detector seletivo de massa HP 5970. Programa de temperatura: 150-300°C, 4°C/min, temperatura do injetor: 250°C e temperatura do dectetor: 285°C, razão de divisão 1:100, fluxo de Hélio: 1ml/min, pressão de Hélio: 0,5 bar.

## 2.4 O Padrão de Pigmentação e os Voláteis

O padrão de pigmentação de verticilos florais foi analisado a partir dos extratos metanólicos acidulados (HCl 1%) obtidos por maceração das sépalas, pétalas e fímbrias (Harborne, 1984). Os macerados foram preparados no campo e conservados a - 15°C. Posteriormente os macerados foram filtrados, e então reduzidos em evaporador rotatório a baixa pressão e temperatura (30°C), onde foi adicionado o mesmo volume de acetato de etila para carrear resíduos de água da amostra.

Os extratos foram submetidos à cromatografia em papel. As fases móveis utilizadas foram n-butanol - ácido acético - água (4:1:5), HCl 1% (HCl<sub>conc</sub>-água) e n-butanol - HCl 2M (1:1). Os cromatogramas foram analisados sob luz visível e sob luz ultravioleta, e a seguir sob vapores de  $NH_4OH$ , nas mesmas condições (Harborne, 1984).

Para cada espécie foi medida a absorvância dos extratos metanólicos acidulados em espectrofotômetro HP 8452A, em um intervalo de 190 a 820 nm, para verificar em quais comprimentos de onda há absorção de luz pelos pigmentos.

A região de emissão de odor foi identificada através do teste do vermelho neutro, que cora células com alta atividade metabólica, após o teste de concentração de odor para cada verticilo floral (Vogel, 1962).

As fímbrias foram coletadas no campo, imediatamente guardadas em bolsas de gelo, e mantidas congeladas até a por maceração em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (Schultz *et al.*, 1988). Estes autores propõem este método para extração de feromônios de pincéis de pêlos de machos de borboletas Ithomiinae com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . A extração por solvente, como o  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , tem o inconveniente de extrair, além dos compostos voláteis, compostos de peso molecular mais alto. Assim, ceras presentes nos tecidos vegetais devem estar presentes na fração diclometânica obtida das fímbrias. Após a maceração, esta fração foi filtrada sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, e o volume concentrado em evaporador rotatório à pressão reduzida e a 25°C. As amostras permaneceram a -15°C até análise por cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM). Em *P. mucronata*, esta análise não foi realizada.

A cromatografia foi realizada em um cromatógrafo à gas (CG) HP-5890, série II com uma coluna capilar de sílica apolar fundida (SA5, 30m x 0,25mm). O CG era equipado com um detector de ionização de chamas e um integrador HP 3396, série II, e o CG-EM era acoplado a um detector seletivo de espectro de massa HP 5970. Programa de temperatura: coluna 35-200°C, 4°C/min até 200°C, e de 200-300°C, 10°C/min, a temperatura do injetor 200°C e do detector 280°C, volume da amostra 1-2 ml, energia de ionização 70 eV; pressão de Hélio 0,5 bar, sem razão de divisão por 1 minuto e fluxo 1ml/min.

Os compostos presentes nas amostras foram caracterizados por comparação dos espectros de massa com os da biblioteca de espectro de massa Wiley.

A quantidade de compostos voláteis foi calculada somente em termos da abundância relativa na fração de voláteis totais a partir da integração obtida nos cromatogramas do CG. No detector de ionização em chamas, a magnitude do sinal gerado é proporcional ao número de átomos de carbono e hidrogênio (Bonato, 1991), a área obtida nestes cromatogramas foi multiplicada por um fator de correção F (Trigo, 1993), que se baseia no peso molecular da substância analisada:

$$F = PM/Cn.12$$

onde:

**F** = fator de correção para a área de cada substância analisada

**PM** = peso molecular da substância analisada

**Cn** = número de carbonos da substância analisada

Apesar das moléculas das substâncias analisadas serem constituídas basicamente de carbono e hidrogênio, a presença de átomos de oxigênio deve diminuir a resposta do sinal. Deste modo, o fator de correção aplicado reduz o erro que se teria com a integração simples, mas não o elimina totalmente.

## 2.5 A Análise Estatística

Para descrever a dinâmica da secreção do néctar ao longo da antese das espécies estudadas foram realizados os testes de Bartlett e  $F_{max}$  para verificar a homogeneidade de variância do volume acumulado e da concentração de néctar em relação ao horário (Zar, 1984). Nos casos em que a variância foi homogênea, foram testadas as diferenças entre horários através de análise de variância (ANOVA). Quando a variância não foi homogênea, foram calculadas as análises de regressão linear ou quadrática. A qualidade do ajuste da curva foi verificado através da análise dos resíduos das regressão que demonstra se as curvas de regressão explicam toda a tendência dos dados (Kleenbaum *et al.*, 1988). Quando a regressão não foi significativa, as diferenças entre horários foram testadas pelo teste de Kruskal-Wallis (Zar, 1984).

Para a estimativa do tamanho médio das peças florais foram calculados a média aritmética e o desvio padrão (Zar, 1984). Para o cálculo do volume da câmara nectarífera foi usada a fórmula do volume do cilindro (Thomas & Finney, 1982).

### 3 RESULTADOS

---

#### 3.1 A Morfologia Floral: Suas Peculiaridades

A flor de *Passiflora* possui características morfológicas particulares (Fig. 1). As flores das espécies estudadas são sustentadas por um pedúnculo, do qual parte um único pedicelo e apresentam cinco sépalas, cinco pétalas, e a corona. Esta reúne todas as estruturas contidas entre as pétalas e os estames, ou seja, duas séries de fimbrias, o opérculo, o anel da câmara nectarífera e o límen. As fimbrias são projeções filiformes adjacentes às pétalas. O opérculo é uma estrutura membranácea (Figs. 1a e d) ou filamentosa (Figs. 1b e c) que se expande em direção ao androginóforo e limita superiormente a câmara nectarífera (Fig. 1). A fusão parcial das sépalas e pétalas, na base da flor, forma um hipanto onde se encontra a câmara nectarífera. O anel da câmara nectarífera, que se constitui em uma projeção dentro da câmara, podendo estar presente (Figs. 1a, b e c) ou não (Fig. 1d). O límen pode se localizar sobre o androginóforo (Fig. 1a) ou na base do mesmo (Figs. 1b, c e d). O androginóforo eleva o androceu e o gineceu acima da base da flor. Da base do ovário, que é portanto súpero, partem cinco filetes, e acima do ovário ocorrem três, raramente quatro, estiletes.

#### 3.2 A Biologia da Polinização

##### *P. alata*

É uma liana herbácea que ocorre desde o estrato herbáceo até o arbóreo, até cerca de 3 m de altura. Suas flores são pendentes e, quando no estrato arbustivo, ficam oclusas na folhagem. Em cada ramo abre-se apenas uma flor por dia, raramente duas. A antese tem início às 04:30h, momento em que as flores não possuem néctar. O perfume adocicado de *P. alata* só é perceptível entre meia a uma hora após a abertura da flor,



quando passa a ser intenso. Os estigmas estão receptivos durante toda a antese.

A flor é actinomorfa. A superfície abaxial das sépalas apresenta uma ampla faixa verde. As pétalas têm cor arroxeadas assim como a superfície adaxial das sépalas. As fímbrias são rajadas, horizontalmente, de branco e roxo (Fig. 2a). As fímbrias são carnosas, bastante alongadas (ca. de 3,0 cm), ultrapassando a altura dos estiletes e/ou estigmas (Fig. 1a). Formam uma barreira ao acesso da câmara nectarífera, que tem em média  $4,24 \text{ mm}^3$  ( $dp = 1,20$ ).

No início dos movimentos de abertura da flor as anteras estão dispostas verticalmente, introrsas, e o pólen está disponível. Uma vez a flor aberta, os filetes sofrem deflexão, e as anteras descrevem um movimento de  $180^\circ$ , continuando dispostas verticalmente, mas agora com as tecas abrindo-se para fora. Permanecem levemente inclinadas durante a antese (Fig. 1a). É possível ocorrer autopolinização por ocasião da abertura dos botões. Os estiletes se fletem até que os estigmas adotem posição perpendicular ao androginóforo ( $x = 2,43 \text{ cm}$ ,  $dp = 0,21$ ) (Fig. 1). Essa deflexão nem sempre ocorre ou pode se dar em velocidades diferentes em cada flor. As pétalas e sépalas fletem-se levemente para cima, e posteriormente descrevem movimento inverso provocando o fechamento das flores às 14:30h.

Os polinizadores primários das flores de *P. alata* são abelhas de grande porte: *Centris flavifrons*, *C. longimana*, *C. lutea*, *Centris* sp<sub>1</sub>, *Xylocopa frontalis*, *X. brasiliatorum* (Fig. 2a), *X. ordinaria* (Anthophoridae), *Eulaema cingulata* e *E. nigrita* (Apidae). Outras espécies visitam a flor sem efetuar a polinização: *Apis mellifera scutellata*, *Euglossa* sp<sub>1</sub>, *Euglossa* sp<sub>2</sub> (Apidae) *Centris analis* e *Centris* sp<sub>2</sub>, (Anthophoridae). Foi observado que o beija-flor *Eupetomena macroura* (Trochilidae) localiza as flores de *P. alata* que ocupam o estrato arbóreo, sem, contudo, coletar néctar.

As visitas às flores iniciam-se uma hora após sua abertura e terminam uma hora antes de seu fechamento, uma vez que, nesta ocasião, as fímbrias impedem o acesso à câmara nectarífera. As visitas não parecem apresentar regularidade, e nem especificidade, pois uma flor recém visitada por uma abelha pode ser, a seguir, visitada por outras espécies de abelhas.

### *P. galbana*

É uma liana lenhosa ocorrendo no estrato herbáceo e arbustivo, até cerca de 1,5 m de altura. Suas flores são eretas, e projetam-se acima da folhagem, e são sustentadas por um pedúnculo de 15 a 20 cm. Apenas uma flor se abre em cada ramo por noite, raramente duas. A abertura das flores ocorre entre 17:30h e 18:00h, e dura cerca de 20 minutos. Nesta ocasião, as flores possuem néctar em abundância e apresentam forte odor semelhante ao de peixe fresco. Os estigmas estão receptivos durante toda a antese.

A flor é levemente zigomorfa. As sépalas têm a face adaxial branca e a abaxial verde, e as pétalas são brancas. As fímbrias são amarelo-claras (Fig. 2b). Há duas séries de fímbrias filamentosas (Fig. 1b), sendo a série externa (ca. de 2,0 cm) bem mais alongada que a interna (ca. 0,5 cm). A câmara nectarífera tem em média  $3,04 \text{ mm}^3$  ( $dp=1,59$ ). O opérculo não forma uma barreira para a câmara, de modo que o néctar secretado está exposto ao ambiente externo. A câmara é ondulada, e nas cristas uma elevação forma o anel (Figs. 1b e 4b).

A anteras são introrsas, mas assim que as flores abrem, as anteras dispõem-se verticalmente, em semi-círculo, com as aberturas das tecas voltadas para fora (Fig. 1b e 2b). O pólen está disponível. No botão, os estiletes curvados mantêm os estigmas distantes das anteras e, no início da antese, os mantêm projetados para cima da flor. Durante a antese, os estiletes descrevem movimentos de deflexão colocando os estigmas entre as anteras (Fig. 1b), quando pode ocorrer autopolinização espontânea. As pétalas e sépalas também se fletem para baixo, até permanecerem totalmente verticais. Posteriormente começam a fazer o movimento inverso, até o fechamento das flores, cerca de 06:00h. O zigomorfismo da flor é conferido pela disposição das anteras e dos estigmas em semi-círculo, e pela presença de um androginóforo ( $x = 3,31 \text{ cm}$ ,  $dp = 0,48$ ) curvo e excêntrico (Fig. 1b).

Os visitantes florais de *P. galbana* são morcegos, *Glossophaga soricina* (Glossophaginae), que iniciam sua atividade às 19:00h, uma hora a uma hora e meia após o crepúsculo. As visitas ocorrem aproximadamente de hora em hora até cerca de 22:00h.

### *P. mucronata*

É uma liana herbácea, ocorrendo desde o estrato arbustivo a arbóreo (de 0,5 a 5 m). As flores são eretas a levemente inclinadas. Destacam-se da folhagem sustentadas por um pedúnculo de cerca de 10-15 cm. Há geralmente apenas uma flor aberta por ramo. As flores abrem-se entre 02:30 e 03:00h. No início da antese, as flores possuem grande volume de néctar, e emitem odor adocicado. Os estigmas estão receptivos durante toda a antese.

A flor é levemente zigomorfa. As sépalas têm a face adaxial branca e a abaxial verde, e as pétalas são brancas. As fímbrias são amarelo-claras (Fig. 2c). Há duas séries de fímbrias filamentosas (Fig. 1c), sendo a série externa (ca. 1,0 cm) levemente mais longa que a interna (ca. 0,8 cm). A câmara nectarífera tem em média  $1,52 \text{ mm}^3$  ( $dp = 0,6$ ). O opérculo toca o límen, bastante desenvolvido, mas não forma uma barreira para o acesso à câmara, de modo que o néctar secretado está exposto ao ambiente externo. A câmara nectarífera não apresenta ondulações.

No início da abertura das flores as anteras estão introrsas e o pólen está disponível. Quando as flores abrem, as anteras descrevem um movimento de  $180^\circ$ , dispõem-se verticalmente, extrorsas e se posicionam em semi-círculo. Os estiletos curvados mantêm os estigmas projetados para cima da flor e distantes das anteras. No decorrer da antese, os estiletos descrevem movimentos de deflexão, ao final do qual os estigmas tocam as anteras (Fig. 1c), quando pode ocorrer autopolinização espontânea. As pétalas e sépalas também se fletem para baixo, até ocuparem posição vertical (Fig. 1c). Fazem o movimento inverso, até o fechamento das flores, cerca de 11:00h. O androginóforo ( $x = 2,79 \text{ cm}$ ,  $dp = 0,37$ ) curvo e excêntrico (Fig. 1c), e a posição das anteras e dos estigmas tornam a flor zigomorfa.

Os polinizadores de *P. mucronata* são morcegos, *Anoura caudifer*, *Carollia perspicillata* e *Glossophaga soricina* (Fig. 2c) (Glossophaginae), que visitam as flores em intervalos que variam de 3 a 11 minutos. As visitas às flores de *P. mucronata* ocorrem durante todo o período noturno, estendendo-se até às 06:00h, já no início do amanhecer.

### *P. speciosa*

Liana herbácea que ocorre desde o estrato herbáceo até o arbóreo (ca. de 4m de altura). As flores são eretas, destacam-se da folhagem por um pedúnculo de aproximadamente 10 cm. Em cada ramo geralmente abre-se uma flor, podendo também abrirem-se duas flores. A antese inicia-se entre 05:00 e 05:30h. Nesta ocasião as flores não possuem néctar. As flores possuem leve odor acre. Os estigmas estão receptivos durante toda a antese.

A flor é muito levemente zigomorfa. As sépalas e pétalas são coradas de escarlata, assim como os estiletos e as extremidades das fimbrias, estas porém mais escuras (Fig. 2d). Os filetes apresentam numerosos pontos vermelhos. As fimbrias são carnosas, formando uma barreira para o acesso à câmara nectarífera (Fig. 1d). Esta é limitada por um opérculo membranáceo, rígido, que é inicialmente depresso e se eleva em direção ao androginóforo (Fig. 1d). A câmara nectarífera tem em média 2,49 mm<sup>3</sup> (dp = 1,15), não apresenta anel e é formada por subcâmaras abertas internamente no contacto com o opérculo (Fig. 1d). Esta é a única das espécies estudadas em que ocorrem sulcos em torno do androginóforo ( $x = 2,95$  cm, dp = 0,17). A leve zigomorfia da flor deve-se a um espaçamento maior entre dois filetes, menos soldados entre si em relação aos outros.

Desde o início da antese, as anteras estão extrorsas e o pólen disponível. No início da antese, não há contacto entre os estigmas e as anteras, uma vez que os estiletos mantêm os estigmas elevados acima das anteras. Os estiletos se deflexionam durante toda a antese. Neste movimento aproximam os estigmas das anteras, podendo ocorrer autopolinização espontânea. Os filetes também se fletem e as anteras adotam posição perpendicular ao androginóforo (Fig. 1d). Ao final da antese filetes e estiletos "desabam" dentro da flor. As pétalas e sépalas se fletem para baixo durante a antese, até se disporem verticalmente (Fig. 1d). Ao final da antese descrevem o movimento inverso, fechando as flores por volta das 18:00h.

*Phaethornis idaliae* (Trochilidae) é o polinizador de *P. speciosa* (Fig. 2d). Este beija-flor tende a visitar as flores em intervalos de 45 minutos, tendo sido avistado em uma primeira visita às 05:40h. Algumas abelhas

Euglossinae foram vistas coletando néctar nesta espécie, sem tocar os órgãos reprodutivos.

Nestas quatro espécies a posição que as anteras ocupam durante parte do período de antese é que permite a deposição de grãos de pólen no animal. Assim também, a deflexão dos estiletos posiciona os estigmas de tal maneira que possam receber os grãos de pólen do corpo do animal (Fig. 2).

As flores destas espécies são receptivas durante toda a antese e, apesar de ocorrer transferência de pólen para os estigmas sem a mediação de um vetor de pólen, as flores ensacadas não produziram frutos (Tabela 1) indicando que estas espécies não são autocompatíveis e nem agamospérmicas.

Tabela 1. Número de flores ensacadas na pré-antese nas quatro espécies de *Passiflora* para verificar a ocorrência de formação de frutos.

	<i>P. alata</i>	<i>P. galbana</i>	<i>P. mucronata</i>	<i>P. speciosa</i>
<b>Flores</b>	27	25	56	13
<b>Frutos</b>	0	0	0	0

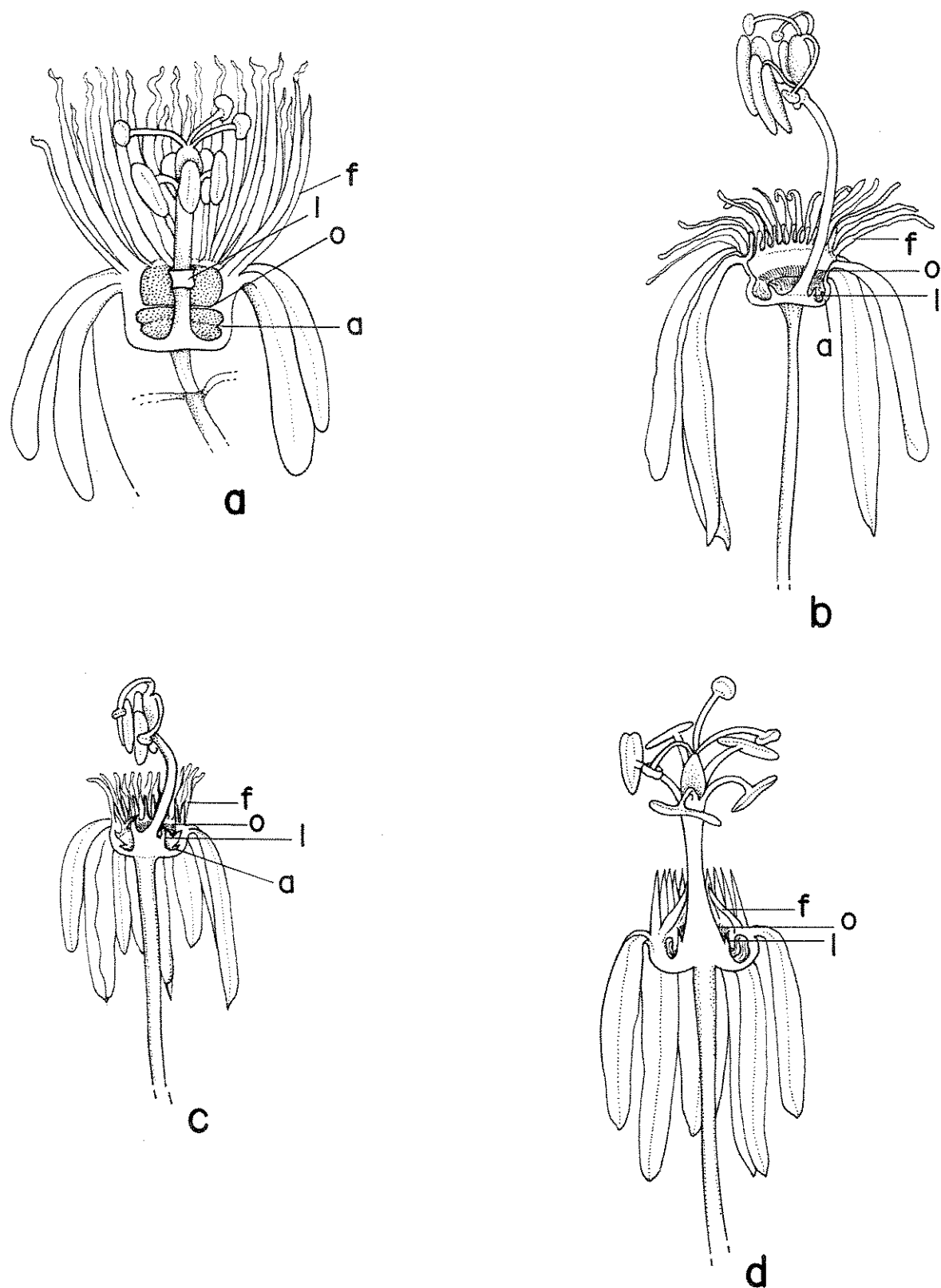


Figura 1. Seção transversal das flores de *Passiflora*: *P. alata* (a), *P. galbana* (b), *P. mucronata* (c), *P. speciosa* (d). a - anel da câmara nectarífera, f - fímbrias, l - límen, o - opérculo. (Escala 1:1)



Figura 2. Flores de *Passiflora* e seus polinizadores. *P. alata* e *Xylocopa brasilianorum* (a), flor de *P. galbana* (b), *P. mucronata* e *Glossophaga soricina* (c), *P. speciosa* e *Phaethornis idaliae* (d). Observar a deflexão dos órgãos reprodutivos e seu contacto com o corpo do polinizador.

### 3.3 O Recurso Alimentar

#### 3.3.1 O Nectário

Nas espécies em estudo, o nectário é formado por um parênquima amilífero vascularizado, que reveste a câmara nectarífera. Subjacente a este parênquima estão feixes vasculares e um parênquima lacunoso.

Em *P. alata*, o anel do parênquima amilífero apresenta glicose em seus protoplastos, segundo o teste da glicose-oxidase (Fig. 3a). Em *P. galbana*, as células do parênquima amilífero reagem positivamente para a glicose pelo teste da glicose-oxidase (Fig. 3b).

Nas quatro espécies, nota-se redução da intensidade de reação do lugol, nas fases da pré-antese à pós-antese, decorrente da diminuição do número de grãos de amido no parênquima amilífero que reveste a câmara nectarífera (Fig. 4). Em *P. mucronata*, no início da antese às 03:00h, já houve hidrólise de grande parte dos grãos de amido. O mesmo não foi observado em *P. galbana*.

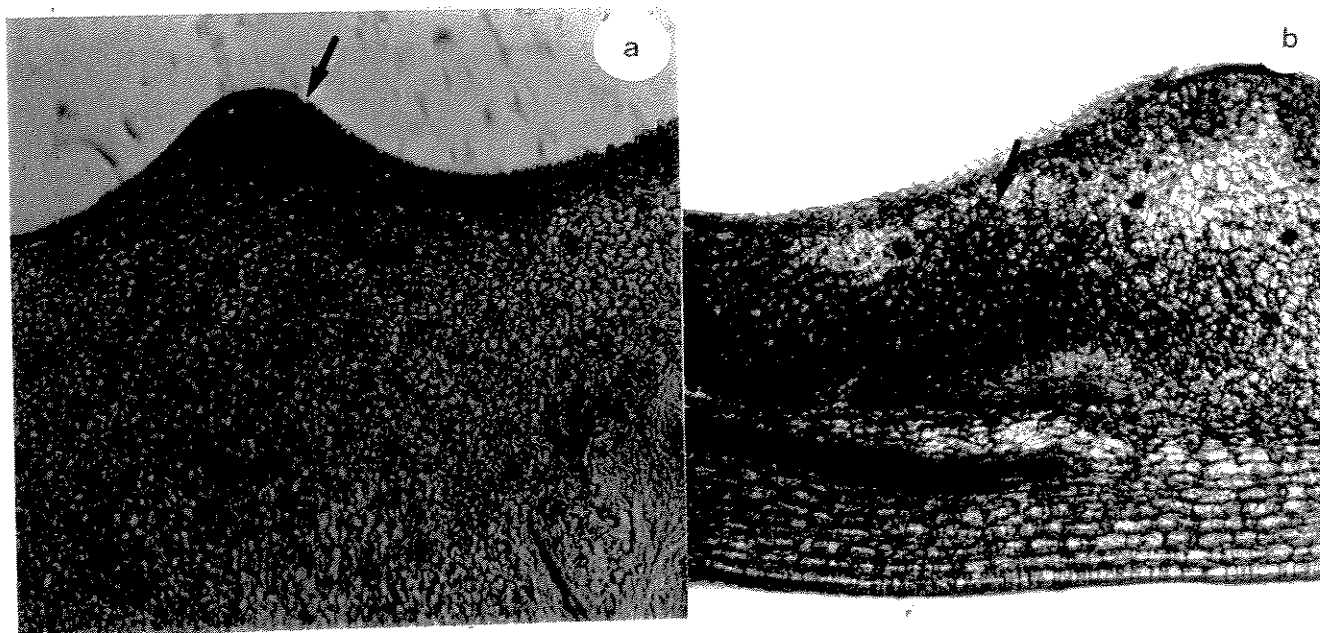


Figura 3. Presença de glicose no nectário de *P. alata* - células do anel do parênquima (seta) reagem positivamente com a glicose-oxidase (a), e de *P. galbana* - reação positiva das células do parênquima (seta) (b). (50x)



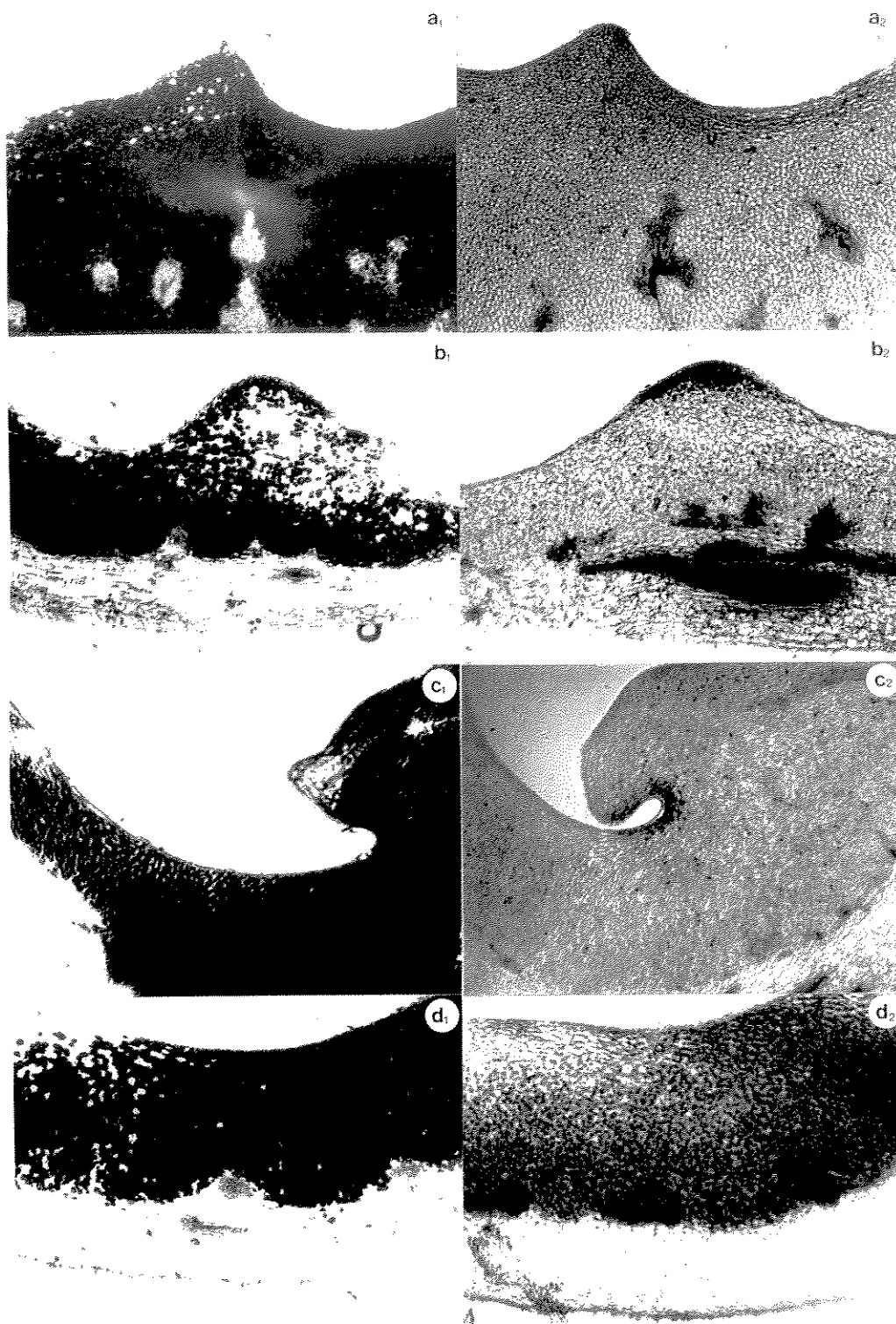


Figura 4. Variação da densidade de grãos de amido em nectários. Coluna direita - flores em pré-antese, coluna da esquerda - flores em pós-antese. *P. alata*: (a<sub>1</sub> e a<sub>2</sub>), *P. galbana* (b<sub>1</sub> e b<sub>2</sub>), *P. mucronata* (c<sub>1</sub> e c<sub>2</sub>) e *P. speciosa* (d<sub>1</sub> e d<sub>2</sub>) (50x).

### 3.3.2 A Secreção de Néctar

A secreção de néctar de cada espécie de *Passiflora* ocorreu de maneira bastante distinta. *P. mucronata* foi a única espécie que apresentou variância homogênea tanto em relação ao volume (Bartlett = 10,206,  $P < 0,05$  e  $F_{\max} = 8,94$ ;  $P < 0,05$ ) quanto em relação à concentração (Bartlett = 12,663,  $P < 0,05$  e  $F_{\max} = 15,246$ ;  $P < 0,05$ ); no restante das espécies foram realizadas análises de regressão entre o volume acumulado de néctar e o horário (Fig. 5) e a concentração de néctar e o horário (Fig. 6). A regressão da concentração do néctar de *P. alata* não foi significativa e portanto os dados foram tratados pelo teste de Kruskal-Wallis.

Durante a antese de *P. alata* a secreção de néctar apresenta um padrão quadrático, e pode acumular 196  $\mu\text{l}$  no final da antese, segundo a equação de variação do volume (Fig. 5a). A concentração, em torno de 45% p/p (Fig. 6a), não apresenta variação com o horário (Kruskal-Wallis,  $H = 14,605$ ;  $\chi^2_{0,05, 10} = 18,307$ ,  $P = 0,147$ ).

*P. galbana* inicia a secreção de néctar antes da abertura das flores, que ocorre as 17:30-18:00h (Fig. 5b). Neste horário as flores possuem 39  $\mu\text{l}$ , de acordo com a equação de variação do volume. O processo de secreção de néctar também pode ser dividido em três fases. A primeira, das 18:00 às 21:00h, na qual ocorre secreção de néctar. A segunda fase se estende das 21:00 às 24:00h, sendo o período em que a curva de secreção tende a estabilizar, ao final do qual as flores acumulam 161  $\mu\text{l}$ . A partir deste horário, iniciando a terceira fase, o néctar começa a ser reabsorvido e por volta de 03:00h algumas flores não possuem néctar. À uma hora do final da antese, quase todas as flores reabsorveram o néctar (Fig. 5b). Há redução contínua da concentração ao longo da antese (Fig. 6d).

Em *P. mucronata*, não há diferença significativa de volume de néctar acumulado entre os horários (ANOVA,  $F_{0,05, 8, 38} > 1,14$ ,  $P = 0,376$ ) apesar de aparentemente haver dois picos de secreção de néctar, entre 04:00 e 05:00h e as 08:00h (Fig. 5c). Ao longo da antese, o néctar torna-se cada vez mais diluído (Fig. 6c).

As flores de *P. speciosa* iniciam a secreção de néctar logo após a abertura das flores. O processo de secreção pode ser dividido em três

fases. A primeira, do início da antese até as 11:00h, durante a qual ocorre secreção de néctar. A segunda fase, que se estende de 11:00 às 14:30h, a secreção tende a se estabilizar. A partir de 14:30h o néctar começa a ser reabsorvido, constituindo o período do final da tarde a terceira fase. Quando as flores se fecham, por volta das 18:00h, há ainda 225  $\mu$ l, segundo a equação de variação do volume (Fig. 5d). A concentração apresenta queda no início da antese, até 11:00h. A partir deste horário, o néctar passa a ficar mais concentrado de novo (Fig. 6d).

Em *P. alata*, *P. galbana* e *P. speciosa*, a taxa de produção de néctar (**TIPN**) varia com a antese (Fig. 7), o que não ocorre com *P. mucronata* (Fig. 5c). A **TIPN** é máxima no início da antese. Em *P. galbana* e *P. speciosa*, há reabsorção durante a antese, como nota-se pelos valores negativos da **TIPN** (Figs. 7b e c). Com a extrapolação da curva gerada, para pontos não observados, ou seja, para a fase de pós-antese, a **TIPN** tende a cair a zero. Assim como há cada vez menos néctar a ser reabsorvido, a **TIPN** é cada vez menor.

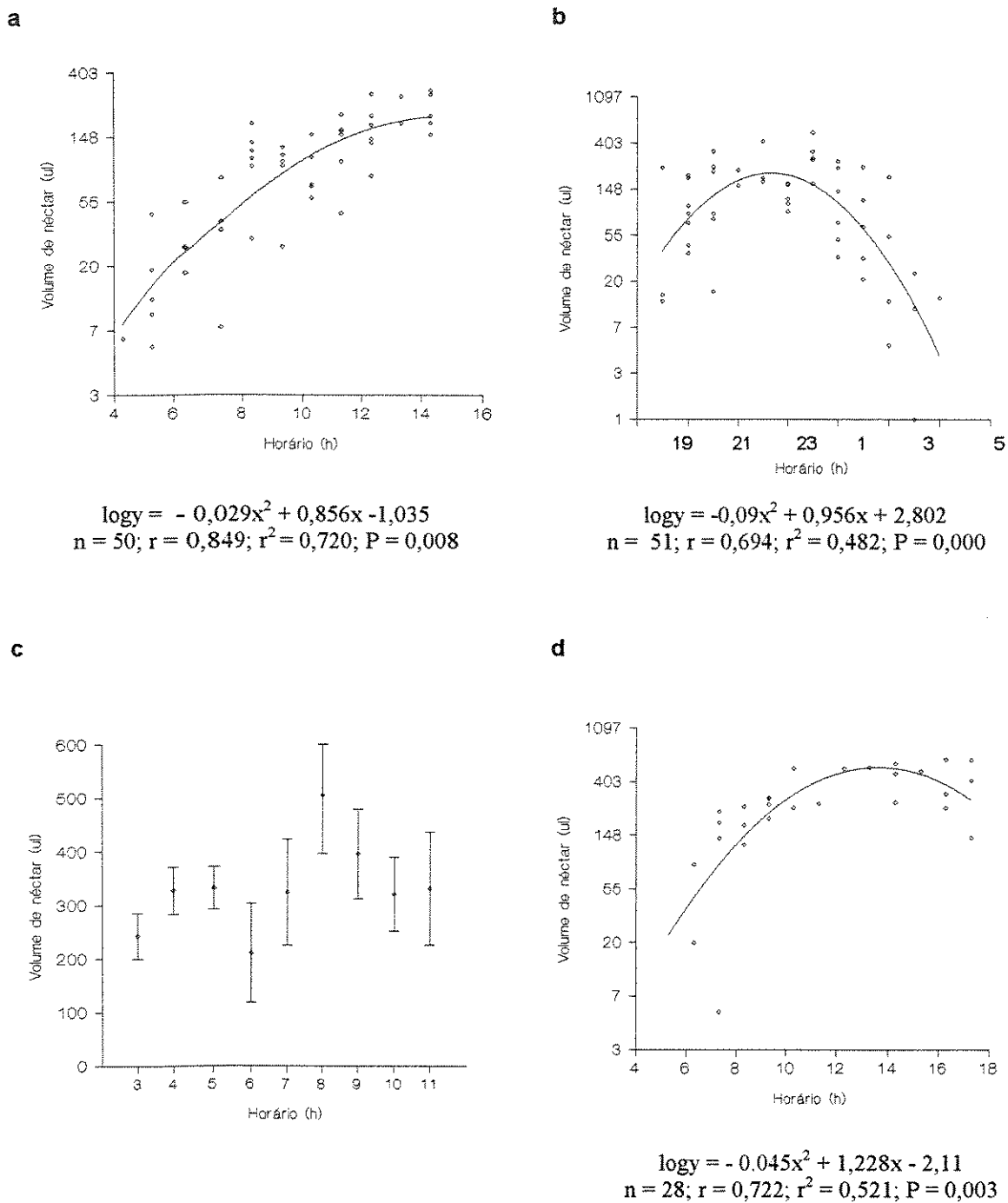


Figura 5. Variação do volume de néctar durante a antese de *P. albata* (a), *P. galbana* (b), *P. mucronata* (c) e *P. speciosa* (d). Escala do volume de néctar logaritmizada.

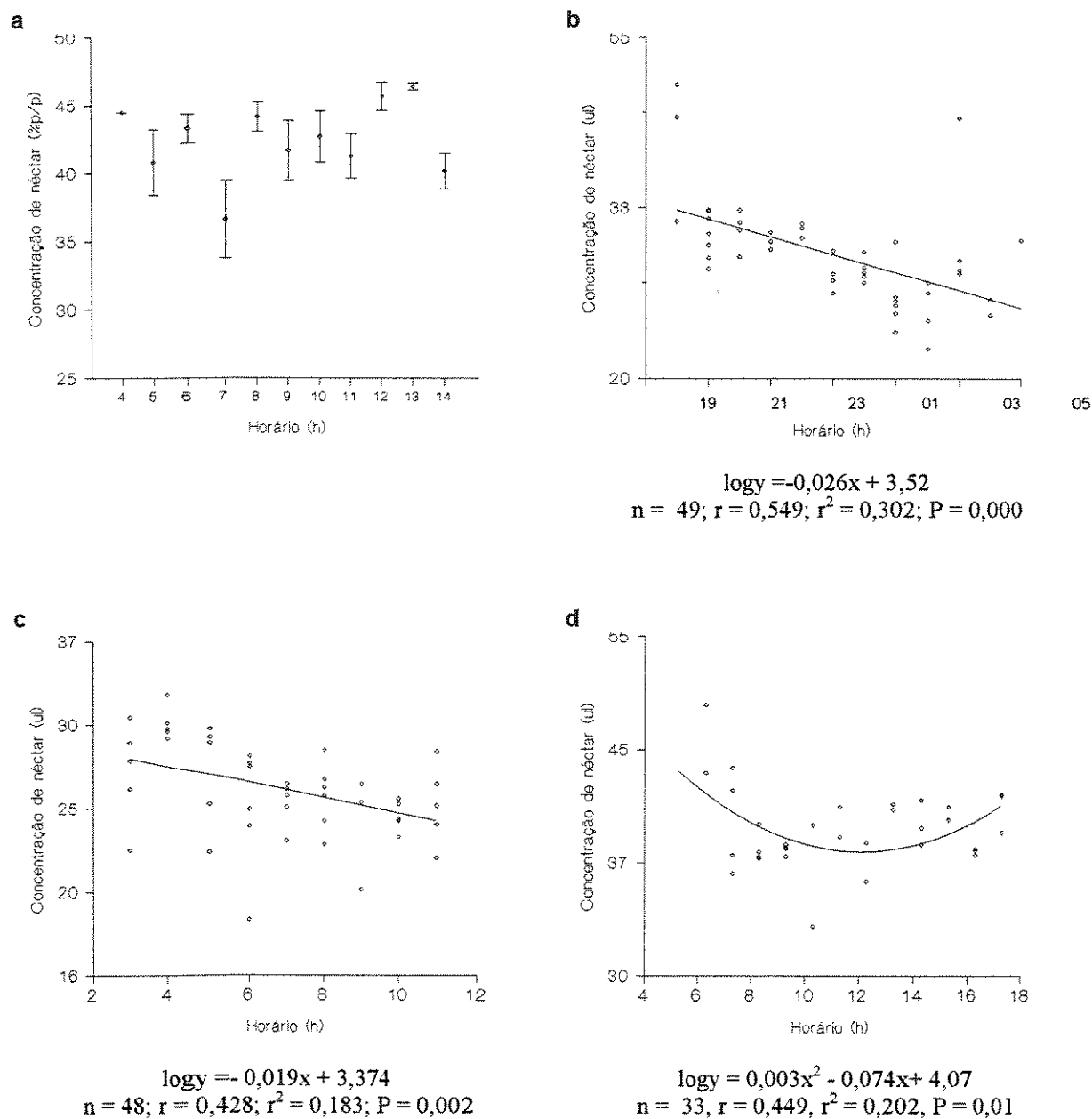
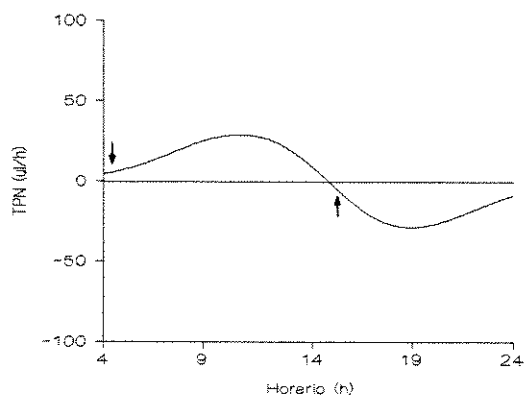
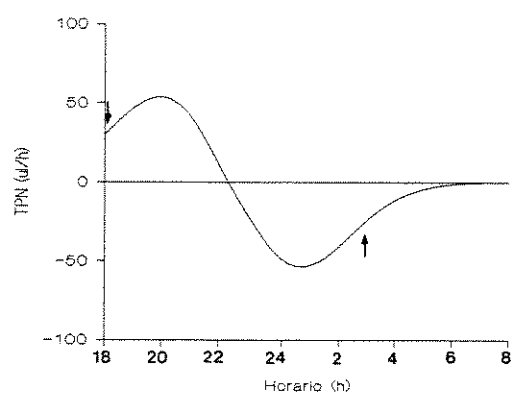


Figura 6. Variação da concentração do néctar durante a antese de *P. alata* (a), *P. galbana* (b), *P. mucronata* (c) e *P. speciosa* (d). Escala da concentração de néctar logaritimizada.

a



b



c

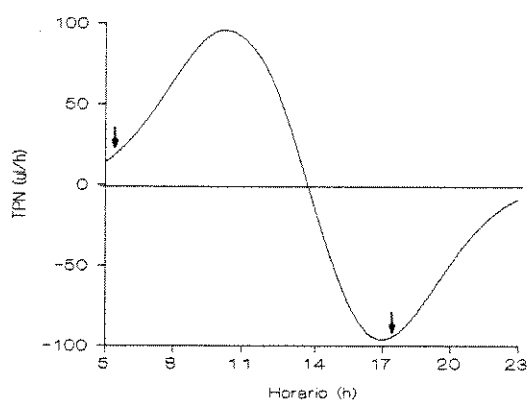


Figura 7. Taxa instantânea de produção de néctar (TIPN) de *P. alata* (a), *P. galbana* (b) e *P. speciosa* (c). As setas sinalizam o início e fim da antese.

### 3.3.2.1 A variabilidade<sup>1</sup> do recurso alimentar ao longo da antese

Nota-se em *P. alata* que o volume de recurso alimentar varia muito no início da antese (225%), mas a variabilidade do volume declina nitidamente ao longo da antese (Fig. 8a).

*P. mucronata* mostra menor variabilidade do volume de néctar no início da antese, de 03:00 as 05:00h, apresentando um pico ao amanhecer, as 06:00h (Fig. 8c).

Em *P. speciosa* e em *P. galbana* a variabilidade do volume de néctar é bastante pronunciada ao longo da antese (Figs. 8b e d). Nas duas espécies a menor variabilidade de volume é encontrada no meio do período de antese, em *P. speciosa* entre 11:00 e 13:30h (Fig. 8d), e em *P. galbana* entre 21:00h e 24:00h (Fig. 8b). Ambas apresentam queda na variação do volume em relação ao encontrado no início da antese, e aumento da variação do volume ao final da antese.

Para as quatro espécies, a concentração de néctar apresentou baixa variabilidade, mantendo o coeficiente de variação entre 0 e 25% (Fig. 8).

---

<sup>1</sup> <sup>1</sup> Variabilidade considerada aqui como variação do coeficiente de variação

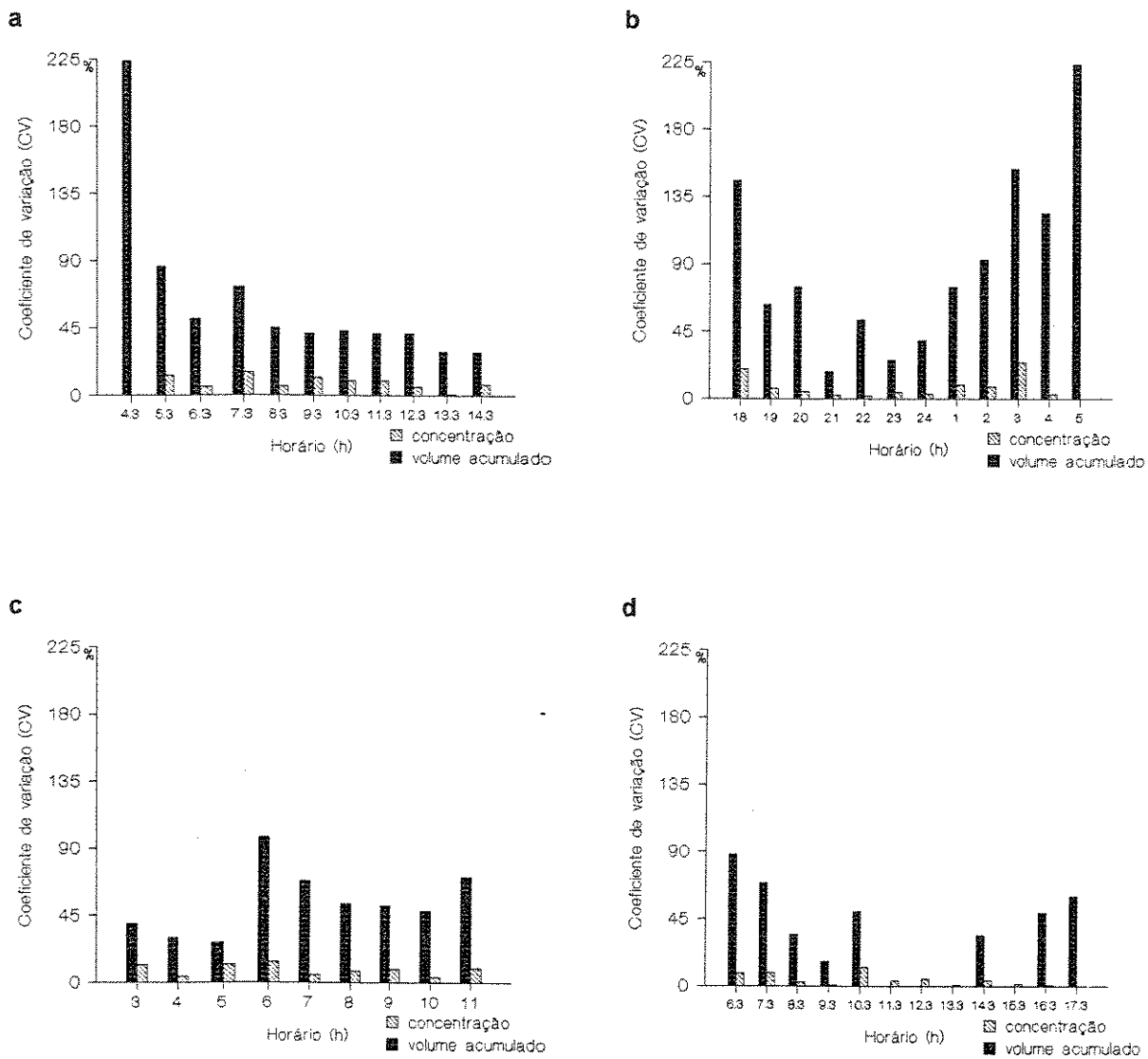


Figura 8. A variabilidade da concentração e do volume acumulado de néctar de *P. alata* (a), *P. galbana* (b), *P. mucronata* (c) e *P. speciosa* (d) ao longo da antese.



### 3.3.3 A Constituição do Néctar

No néctar das espécies de *Passiflora* em estudo encontram-se lipídios e sais minerais (Tabela 2). Nota-se que o néctar das espécies *P. galbana*, *P. mucronata* e *P. speciosa* possui aproximadamente seis vezes mais colesterol e 2,3 a 4,8 vezes mais triglicéridios que *P. alata* e razão  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  maior que 1,0. A quantidade de fósforo, indicando em parte a presença de fosfolipídios, é bem distinta em *P. speciosa*, sendo cerca de três vezes superior ao das outras espécies.

Além destes componentes foram encontrados monossacarídios, e um dissacarídio. Os padrões de fragmentação em espectrometria de massas da maioria destes compostos penta- e octaacetilados estão descritos na Tabela 3.

Tabela 2. Quantificação de glicose, lipídios e sais minerais no néctar das espécies de *Passiflora*

Constituintes	<i>P. alata</i>	<i>P. galbana</i>	<i>P. mucronata</i>	<i>P. speciosa</i>
Glicose (mg/L)	521	531	572	502
Colesterol (mg/L)	2	13	11	11
Triglicéridios (mg/L)	6	19	29	14
Fósforo (mg/L)	1.3	1.6	1.2	4.3
Cálcio (mg/L)	1.0	1.8	1.6	1.4
Sódio (meq/L)	3	3	4	7
Potássio (mEq/L)	5	1.9	2.6	1.9

Tabela 3. Padrão de fragmentação de massas de derivados acetilados de açúcares encontrados no néctar das espécies de *Passiflora* por CG-EM e abundância relativa de seus fragmentos [m/z%]

Açúcares	Índice de retenção	m/z (%)
desconhecido 1	1957	[M] <sup>+</sup> ? (ausente), 312 (5), 270 (12), 228 (25), 210 (10), 186 (23), 168 (15), 14 (45), 126 (23), 97 (10), 43 (100)
pentacetato de monossacarídeo	1966	[M] <sup>+</sup> 390 (ausente), 331 (2), 275 (3), 233 (1), 211 (7), 170 (26), 169 (5), 157 (7), 128 (25), 115 (15), 101 (10), 97 (4), 87 (6), 68 (7), 43 (100)
pentacetato de monossacarídeo	1975	[M] <sup>+</sup> 390 (ausente), 331 (2), 317 (5), 275 (26), 233 (5), 228 (7), 215 (6), 211 (9), 187 (7), 169 (10), 155 (5), 145 (5), 126 (6), 109 (5), 101 (24), 43 (100)
pentacetato de monossacarídeo	1981	[M] <sup>+</sup> 390 (ausente), 331 (2), 317 (4), 275 (32), 233 (5), 228 (7), 215 (9), 211 (7), 186 (8), 187 (7), 170 (3), 169 (9), 155 (7), 145 (5), 127 (7), 109 (4), 101 (24), 86 (5), 43 (100)
pentacetato de monossacarídeo (glicose?)	2002	[M] <sup>+</sup> 390 (ausente), 317 (1), 287 (1), 242 (5), 200 (9), 157 (14), 140 (9), 115 (23), 103 (8), 98 (16), 43 (100)
desconhecido 3	2036	[M] <sup>+</sup> ? (ausente), 270 (2), 228 (2), 210 (10), 168 (19), 155 (10), 145 (9), 139 (9), 126 (36), 103 (12), 97 (10), 43 (100)
desconhecido 4	2042	[M] <sup>+</sup> ? (ausente), 313 (13), 288 (9), 228 (23), 210 (2), 200 (3), 186 (5), 168 (6), 144 (6), 126 (23), 118 (10), 85 (13), 73 (11), 43 (100)
desconhecido 5	2046	[M] <sup>+</sup> ? (ausente), 313 (10), 288 (10), 228 (11), 186 (10), 168 (26), 155 (11), 154 (10), 144 (6), 139 (6), 131 (5), 126 (17), 115 (10), 103 (9), 97 (9), 73 (8), 43 (100)
desconhecido 6	2066	[M] <sup>+</sup> 390 (3), 348 (3), 288 (15), 228 (10), 210 (4), 186 (11), 168 (17), 157 (6), 145 (9), 139 (5), 126 (23), 115 (3), 103 (6), 97 (11), 43 (100)
desconhecido 7	2084	[M] <sup>+</sup> 390 (3), 348 (8), 288 (15), 228 (11), 210 (5), 186 (11), 168 (20), 157 (7), 145 (11), 139 (5), 126 (26), 115 (4), 103 (7), 97 (11), 43 (100)
octacetato de dissacarídeo	2900	[M] <sup>+</sup> 678 (ausente), 400 (1), 331 (84), 271 (8), 211 (82), 169 (100), 145 (5), 139 (7), 126 (11), 115 (8), 109 (40), 97 (7), 43 (100)

### 3.4 O Padrão de Pigmentação e os Voláteis

Diversos pigmentos compõem as cores dos verticilos florais das quatro espécies de *Passiflora* (Tabelas 4, 5, 6 e Fig. 9). *P. alata* apresenta antocianidinas em suas fímbrias, pétalas e sépalas, sendo que estes últimos verticilos florais também possuem flavonas. *P. galbana* possui flavonas nas fímbrias e nas sépalas, provavelmente associadas com chalconas, e isoflavonas ou flavanonol nas pétalas. Antocianidinas estão presentes em pétalas e sépalas de *P. mucronata*, associadas com flavonol ou flavona, respectivamente. Nas fímbrias foram encontradas isoflavona e chalcona. Em *P. speciosa*, antocianidinas, flavonas e auronas foram encontradas nas pétalas e sépalas.

Em *P. alata* e *P. speciosa* estes pigmentos absorvem luz desde a faixa do ultravioleta, 300 a 400 nm, até o vermelho, em 600 nm. Em *P. galbana* e *P. mucronata*, a absorção ocorre apenas na faixa do ultravioleta (Fig. 10).

A análise do extrato diclorometânico por CG-EM demonstra a presença de 47 compostos em *P. alata*, 49 em *P. speciosa*, e 64 compostos em *P. galbana* (Tabela 7, Fig. 11, 12, 13, 14 e 15). Entre eles estão incluídos compostos voláteis e os de peso molecular mais alto. Com a exclusão dos alcanos e alcenos dos hidrocarbonetos alifáticos, cujo peso molecular é elevado (PM > 198, excluído o bicyclodecano), e das substâncias não identificadas (Tabela 7), tem-se em *P. alata* 23 compostos, 28 compostos em *P. galbana* e 7 em *P. speciosa*.

Foram chamados de compostos majoritários os que apresentam abundância relativa maior que 5%. Em *P. alata*, reúnem benzenometanol (**71** - 44%), citronelol (**79** - 20%), em *P. galbana*, benzenometanol (**71** - 5%), 9,12-octadecadienoato de metila (**50** - 11%), geraniol (**80** - 11%) e três substâncias não identificadas (**89** - 11%, **172** - 9% e **97** - 6%), e em *P. speciosa*, pentadecano (**9** - 5%), dois alcanos não identificados (**16** - 5% e **40** - 6%), etilbenzeno (**63** - 5%), 1-etil-4-metilbenzeno (**65** - 5%) e três substâncias não identificadas (**92** - 5%, **162** - 5% e **169** - 6%) (Tabela 7).

*P. alata* e *P. galbana* têm o metabolismo de voláteis diversificado, com aldeídos, cetonas ou álcoois alifáticos, álcoois aromáticos

e monoterpenos. *P. speciosa*, ornitófila, apresenta apenas compostos de alto peso molecular principalmente hidrocarbonetos saturados com cadeias longas e compostos aromáticos ácidos ou com substituições alquila (Tabela 7).

Diversos compostos voláteis não foram identificados. Uma descrição fiel do perfil de odores de cada espécie requer a identificação do restante dos voláteis.

Tabela 4. Pigmentos encontrados nos extratos metanólicos dos verticilos florais de *Passiflora* em cromatografia em papel. Sistema solvente = butanol:ácido acético:água (4:1:5).

Espécie	Verticilo	Rf	Cor sob luz visível com NH <sub>3</sub>		Cor sob luz ultravioleta com NH <sub>3</sub>		Classe de pigmentos	
<i>P. alata</i>	fimbrias	0.61	vinho	azul	fl. lilás <sup>1</sup>	azul	antocianidina	
	fimbrias	0.71	vinho	azul	marron	-	antocianidina	
	sépalas	0.99	verde	amarelo	fl. amarela	fl. amarela		
	pétalas		0.62	rosa	azul	fl. lilás	azul	antocianidina
			0.74	rosa	amarelo	marron	lilás	chalcona/antocianidina
			0.98	verde	amarelo	fl. amarela	fl. amarela	
			0.63	rosa	azul	fl. lilás	azul	antocianidina
	<i>P. galbana</i>	pétalas	0.76	rosa	amarelo-esverdeado	marron	marron	chalcona
			0.98	verde	amarelo	fl. amarela	fl. amarela	indeterminado
		fimbrias	0.73	-	amarelo	marron	marron	flavona
sépalas			0.87	amarelo-esverdeado	amarelo	marron	marron	
			0.99	verde	amarelo	fl. amarela	fl. amarela	
			0.75	-	amarelo	preto	marron	chalcona
			0.87	amarelo-esverdeado	amarelo	marron	esverdeado	flavona
<i>P. speciosa</i>		pétalas	0.98	verde	marron	fl. vermelha	fl. vermelha	clorofila
		sépalas	0.75	-	amarelo	fl. lilás	roxo	isoflavonas ou hidroxiflavanonas
		pétalas		0.66	salmão vivo	azul	fl. vermelha	marron
			0.81	marron	amarelo	fl. amarela	fl. esverdeada	flavona
	pétalas		0.99	verde	amarelo	fl. amarela	fl. amarela	
			0.69	salmão vivo	roxo	fl. vermelha	roxo	antocianidina
			0.83	marron	amarelo	fl. amarela	fl. esverdeada	flavona
			0.99	azul	lilás	azul	azul	antocianidina
	<i>P. micronata</i>	fimbrias	0.78	-	lilás	roxo	lilás	isoflavona
		fimbrias		0.91	amarelo-esverdeado	amarelo claro	marron	marron
			0.99	verde	amarelo	fl. amarela	fl. amarela	
sépalas			0.63	salmão claro	lilás	marron	lilás	antocianidina
			0.75	salmão claro	lilás	marron	marron	indeterminado
pétalas			0.87	azul	verde	marron	marron	indeterminado
			0.99	verde claro	azul	fl. vermelha	fl. lilás	
			0.63	salmão	vinho	roxo	-	antocianidina
			0.73	salmão	amarelo	roxo	marron	indeterminado
		0.90	verde	amarelo	marron	marron	indeterminado	

<sup>1</sup>fl. = fluorescência

Tabela 5. Pigmentos encontrados nos extratos metanólicos dos verticilos florais de *Passiflora* em cromatografia em papel. Sistema solvente = HCl 1%.

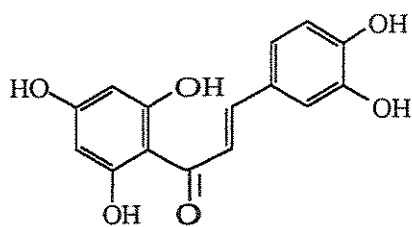
Espécie	Verticilo	Rf	Cor sob luz visível com NH <sub>3</sub>			Cor sob luz ultravioleta com NH <sub>3</sub>			Classe de pigmentos
			roxo	azul escuro	azul claro	roxo	preto	antocianidina	
<i>P. alata</i>	fimbrias	0.06	roxo	azul escuro	azul claro	roxo	preto	antocianidina	
		0.18	rosa	azul claro	fl. rosa <sup>1</sup>	roxo	roxo	diglicosídeos de antocianidina	
		0.37	-	amarelo	marron	marron	-		
	sépalas	0.06	roxo	azul escuro	roxo	roxo	roxo	antocianidina	
		0.18	azul claro	marron	-	fl. azul	fl. azul	antocianidina	
		0.38	-	amarelo	marron	-	-		
	pétalas	0.08	roxo	azul escuro	roxo	roxo	roxo	antocianidina	
		0.18	rosa	azul celeste	fl. salmão	lilás	lilás	diglicosídeos de antocianidina	
		0.40	-	amarelo	marron	marron	-		
		0.22	-	amarelo	marron	marron	marron		
<i>P. galbana</i>	fimbrias	0.50	-	amarelo	marron	marron	marron		
		0.03	verde	verde amarelado	-	fl. vermelha	fl. vermelha	clorofila	
	sépalas	0.16	-	amarelo	marron	marron	marron		
		0.50	-	amarelo	marron claro	marron	marron		
		0.22	-	amarelo	lilás	marron	marron		
<i>P. speciosa</i>	pétalas	0.07	salmão	roxo	roxo	vermelho	vermelho	isoflavona ou flavanonol	
		0.18	salmão	roxo	roxo	vermelho	vermelho	antocianidina	
	sépalas	0.27	salmão	roxo	roxo	fl. laranja	fl. lilás	chalcona	
		0.42	salmão	amarelo	amarelo	marron	marron	diglicosídeos de antocianidina	
		0.02	marron	amarelo	amarelo	verde	fl. amarela	chalcona?	
	pétalas	0.07	salmão	verde	verde	lilás	marron	flavonol	
		0.17	salmão	roxo	roxo	vermelho	marron	indeterminado	
		0.25	salmão	roxo	roxo	fl. laranja	vermelho	antocianidina	
		0.39	salmão	roxo	roxo	marron	fl. lilás	diglicosídeos de antocianidina	
		0.16	-	amarelo	amarelo	marron	marron	antocianidina	
<i>P. mucronata</i>	fimbrias	0.17	salmão	verde	verde	lilás	lilás	isoflavonas ou hidroxiflavanonas	
	sépalas	0.66	-	amarelo	marron	marron	marron	indeterminado	
		0.23	salmão	amarelo	amarelo	lilás claro	lilás claro	indeterminado	
	pétalas	0.70	-	amarelo	amarelo	marron	marron	chalcona	
		0.26	amarelo-esverdeado	amarelo	amarelo	marron	marron	indeterminado	

<sup>1</sup> fl. = fluorescência

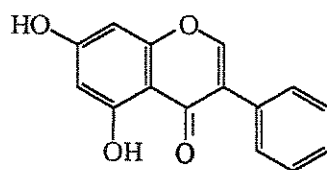
Tabela 6. Pigmentos encontrados nos extratos metanólicos dos verticilos florais de *Passiflora* em cromatografia em papel. Sistema solvente= n-Butanol:HCl 2M (1:1).

Espécie	Verticilo	R <sub>f</sub>	Cor sob luz visível com NH <sub>3</sub>		Cor sob luz ultravioleta com NH <sub>3</sub>		Classe de pigmentos de NH <sub>3</sub>	
			lilás	amarelo	fl. salmão <sup>1</sup>	roxo		diglicosídeos de antocianidina
<i>P. atata</i>	fimbrias	0.13	lilás	azul	fl. salmão <sup>1</sup>	roxo	diglicosídeos de antocianidina	
	sépalas	0.24	lilás	azul	lilás	roxo	antocianidina	
		0.21	lilás	azul	lilás	roxo	antocianidina	
	pétalas	0.53	-	amarelo	marron	marron	biflavonil ou flavona	
		0.13	lilás	azul	fl. salmão	roxo	diglicosídeos de antocianidina	
<i>P. galbana</i>	fimbrias	0.23	lilás	azul	lilás	roxo	antocianidina	
		0.54	-	amarelo	marron	marron	biflavonil ou flavona	
	sépalas	0.36	-	amarelo	marron	marron	biflavonil ou flavona	
		0.61	-	amarelo	marron	marron	biflavonil ou flavona	
	pétalas	0.32	-	amarelo	marron	marron	biflavonil ou flavona	
		0.53	-	amarelo	marron	marron	biflavonil ou flavona	
	sépalas	0.94	verde	amarelo	fl. vermelha	marron	biflavonil ou flavona	
		0.31	-	amarelo	lilás	fl. lilás	clorofila	
	<i>P. speciosa</i>	pétalas	0.19	-	amarelo	lilás	marron claro	isoflavona ou flavanonol
			0.32	salmão	roxo	fl. esverdeada	lilás	indeterminado
sépalas		0.47	salmão	roxo	vermelho	ocre	diglicosídeos de antocianidina	
		0.70	salmão	verde	fl. laranja	fl. laranja	aurona	
pétalas		0.21	salmão	amarelo-esverdeado	marron	marron	chalcona	
		0.36	salmão	roxo	fl. esverdeada	lilás	diglicosídeos de antocianidina	
		0.49	salmão	roxo	vermelho	ocre	diglicosídeos de antocianidina	
		0.73	rosa	verde	fl. laranja	fl. laranja	aurona	
<i>P. macronata</i>		sépalas	0.22	salmão	verde claro	marron	marron	indeterminado
			0.26	salmão	azul	-	lilás	antocianidina
	pétalas	0.39	salmão	amarelo	marron	lilás	antocianidina	
		0.55	salmão	amarelo	-	lilás	indeterminado	
	Padrão de rutina	pétalas	0.65	-	amarelo	marron	marron	biflavonil ou flavona
0.64			amarelo-esverdeado	amarelo	marron	marron	flavonol	

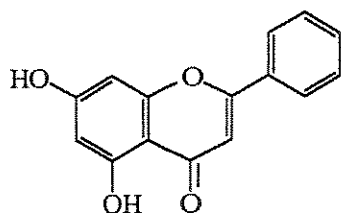
<sup>1</sup> fl. = fluorescência



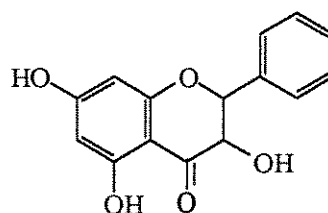
chalconas



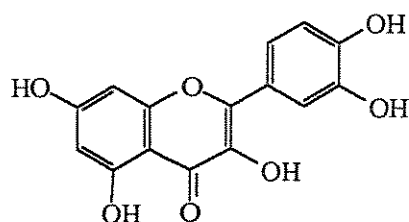
isoflavonas



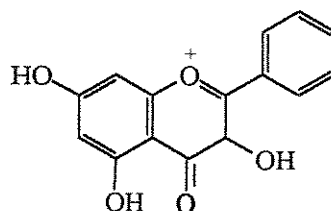
flavonas



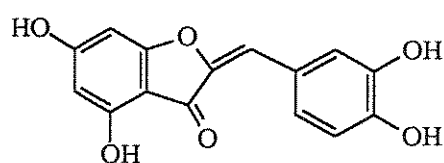
flavononóis



flavonóis



antocianidinas



auronas

Figura 9. Classes de pigmentos encontrados nos extratos metanólicos dos verticilos florais de *Passiflora*.



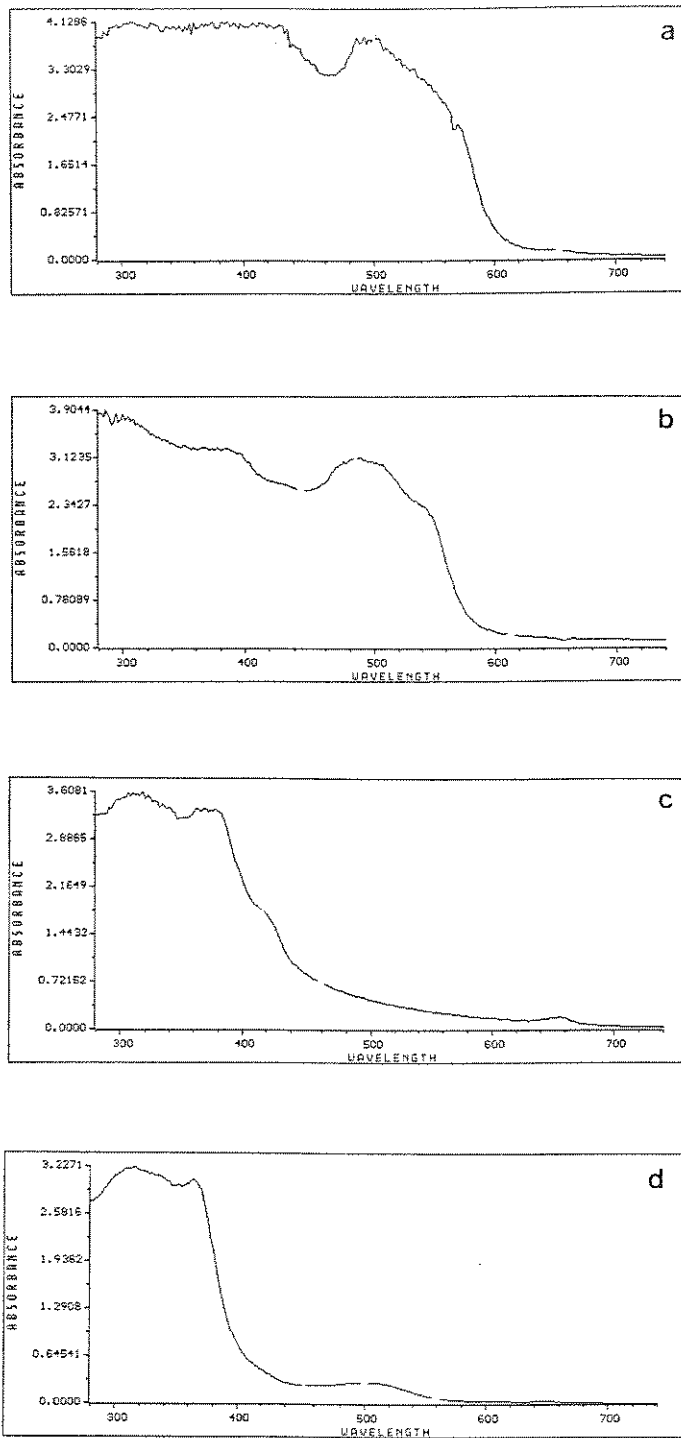


Figura 10. Espectros de absorção dos pigmentos das pétalas de *P. alata* (a), *P. galbana* (b), *P. mucronata* (c) e *P. speciosa* (d).

Tabela 7. Compostos encontrados nas fimbrias das espécies de *Passiflora* (IR = índice de retenção, PM = peso molecular, nc = não calculado, tr = tr, - = ausente).

Número da estrutura <sup>1</sup> e/ou pico <sup>2</sup>	Composto	IR	PM	abundância relativa %	
				<i>P. alata</i>	<i>P. speciosa</i>
<b>HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS</b>					
<b>Alcanos e cicloalcanos</b>					
1	ciclohexano	nc	84	-	2
2	decano	1000	142	-	-
3	undecano	1100	156	tr	tr
4	dodecano	1200	170	1	tr
5	tridecano	1282	184	tr	tr
6	4,7-dimetilundecano	1288	184	-	tr
7	tetradecano	1400	198	-	tr
8	biciclo (7,1,0) decano	1479	170	-	tr
9	pentadecano	1500	212	-	tr
10	hexadecano	1600	226	tr	-
11	ciclododecano	1678	168	tr	-
12	heptadecano	1700	240	tr	tr
13	octadecano	1800	254	-	tr
14	alcano não identificado	1027	nc	2	-
15	alcano não identificado	1028	nc	-	-
16	alcano não identificado	1034	nc	-	3
17	alcano não identificado	1034	nc	-	5
18	alcano não identificado	1046	nc	-	tr
19	alcano não identificado	1083	nc	-	-
20	alcano não identificado	1095	nc	tr	1
21	alcano não identificado	1115	nc	-	-
22	alcano não identificado	1196	nc	-	1
23	alcano não identificado	1281	nc	-	2

<sup>1</sup> ver Fig. 12, <sup>2</sup> ver Figs. 13-15

Tabela 7. Continuação.

Número da estrutura <sup>1</sup> e/ou pico <sup>2</sup>	Composto	IR	PM	<i>P. alata</i>	abundância relativa %	
					<i>P. galbana</i>	<i>P. speciosa</i>
24	alcano não identificado	1289	nc	-	-	1
25	alcano não identificado	1299	nc	-	tr	-
26	alcano não identificado	1326	nc	-	tr	-
27	alcano não identificado	1335	nc	-	tr	-
28	alcano não identificado	1342	nc	-	tr	-
29	alcano não identificado	1345	nc	-	tr	-
30	alcano não identificado	1371	nc	-	tr	-
31	alcano não identificado	1418	nc	-	tr	-
32	alcano não identificado	1462	nc	-	tr	-
33	alcano não identificado	1468	nc	-	-	tr
34	alcano não identificado	1508	nc	1	-	-
35	alcano não identificado	1530	nc	-	tr	-
36	alcano não identificado	1533	nc	-	-	2
37	alcano não identificado	1590	nc	-	-	2
38	alcano não identificado	1799	nc	-	-	2
39	alcano não identificado	1804	nc	-	-	1
40	alcano não identificado	1861	nc	-	-	6
41	alcano não identificado	1880	nc	-	-	2
42	alcano não identificado	1900	nc	-	-	3
	Total			6	tr	47
<b>alcenos e cicloalcenos</b>						
43	1-metil-3-(2metilpropenil) ciclopentano	1161	152	1	-	-
44	7-metil-2-deceno	1307	154	tr	-	-
45	1,13-tetradecadieno	1870	194	2	-	-
46	1-hexadeceno	1896	224	tr	-	-
	Total			2	-	-

<sup>1</sup>ver Fig. 12, <sup>2</sup> ver Figs.13-15

Tabela 7. Continuação.

Número da estrutura <sup>1</sup> e/ou pico <sup>2</sup>	Composto	IR	PM	<i>P. alata</i>	abundância relativa %	
					<i>P. galbana</i>	<i>P. speciosa</i>
<b>ésteres</b>						
47	hexanoato de metila	923	130	tr	-	-
48	octanoato de metila	1124	158	tr	-	-
49	3,7-dimetil-2,6-octadienoato de metila	1327	182	3	-	-
50	9,12-octadecadienoato de metila	1883	310	-	11	-
51	9-hexadecanoato de metila	1889	284	-	tr	-
	Total			3	11	-
<b>aldeídos</b>						
52	hexanal	nc	100	1	tr	-
53	heptanal	869	114	-	1	-
	Total			1	1	-
<b>cetonas</b>						
54	2-ciclopentenona	827	82	3	1	-
55	2-ciclohexenona	1795	96	-	tr	-
	Total			3	1	-
<b>álcoois</b>						
56	2-metil-2-butenol	nc	86	1	-	-
57	3-hexenol	854	100	-	1	-
58	ciclohexanol	865	100	-	tr	-
59	1-hexanol	867	102	1	-	-
60	1-octanol	1077	130	-	1	-
61	2,4-octadien-1-ol	1124	126	-	4	-
62	1,10-decanodiol	1842	176	-	tr	-
	Total			2	6	-

<sup>1</sup>ver Fig. 12, <sup>2</sup>ver Figs.13-15

Tabela 7. Continuação.

Número da estrutura <sup>1</sup> e/ou pico <sup>2</sup>	Composto	IR	PM	P. <i>alata</i>	abundância relativa %	
					P. <i>galbana</i>	P. <i>speciosa</i>
<b>BENZENOÍDES (Hidrocarbonetos aromáticos)</b>						
<b>benzenos</b>						
63	etilbenzeno	869	106	-	-	5
64	1-etil-2-metilbenzeno	958	120	tr	tr	-
65	1-etil-4-metilbenzeno	976	120	-	-	2
66	1,3,5-trimetilbenzeno	984	120	-	-	5
67	2-metil-1,1'-bifenil	1428	212	-	-	4
68	1,1' metileno bis benzeno	1429	184	-	tr	-
	Total			tr	tr	16
<b>ésteres</b>						
69	2-hidroxibenzoato de metila	1189	152	tr	-	2
70	acetato de 3,4-dimetoxifenila	1684	210	tr	-	-
	Total			tr	-	2
<b>álcoois</b>						
71	benzenometanol	1035	108	44	5	-
72	2-metilfenol	1063	108	1	-	-
73	4-metilfenol	1092	108	tr	tr	-
74	benzenoetanol	1119	122	2	-	-
75	1,4-dimetoxibenzeno	1164	138	4	-	-
76	4-metoxibenzenometanol	1292	138	3	-	-
77	3-fenil-2-propenol	1306	150	-	7	-
	Total			54	12	-

<sup>1</sup>ver Fig. 12, <sup>2</sup> ver Figs.13-15

Tabela 7. Continuação.

Número da estrutura <sup>1</sup> e/ou pico <sup>2</sup>	Composto	IR	PM	P. <i>alata</i>	abundância relativa %	
					P. <i>galbana</i>	P. <i>speciosa</i>
<b>TERPENÓIDES</b>						
<b>monoterpenos</b>						
78	pineno	931	136	-	tr	-
79	citronelol	1245	170	20	-	-
80	geraniol	1256	168	4	11	-
81	citral	1274	166	1	-	-
	Total			25	11	-
<b>sesquiterpenos</b>						
82	copaeno	1377	192	-	tr	-
83	elemeno	1392	204	-	tr	-
84	nerolidol	1468	268	-	tr	-
85	farnesol	1724	252	tr	tr	-
	Total			tr	tr	-
<b>OUTROS</b>						
86	4-metil-5-tiazoletanol	1284	144	-	tr	-
	Total			-	tr	-
<b>SUBSTÂNCIAS NÃO IDENTIFICADAS</b>						
87	substância não identificada	nc	nc	-	-	2
88	substância não identificada	857	nc	-	3	-
89	substância não identificada	976	nc	-	11	-
90	substância não identificada	997	nc	-	tr	-
91	substância não identificada	1026	nc	-	tr	-
92	substância não identificada	1026	nc	-	-	5

<sup>1</sup>ver Fig. 12, <sup>2</sup> ver Figs. 13-15

Tabela 7. Continuação.

Número da estrutura <sup>1</sup> e/ou pico <sup>2</sup>	Composto	IR	PM	P. alata	abundância relativa %	
					P. galbana	P. speciosa
93	substância não identificada	1027	nc	-	tr	-
94	substância não identificada	1052	nc	-	4	-
95	substância não identificada	1055	nc	-	1	-
96	substância não identificada	1063	nc	-	3	-
97	substância não identificada	1066	nc	-	6	-
98	substância não identificada	1078	nc	-	tr	-
99	substância não identificada	1079	nc	tr	-	-
100	substância não identificada	1083	nc	-	-	1
101	substância não identificada	1094	nc	-	-	1
102	substância não identificada	1095	nc	tr	-	-
103	substância não identificada	1108	nc	-	tr	-
104	substância não identificada	1114	nc	-	4	-
105	substância não identificada	1115	nc	-	-	1
106	substância não identificada	1120	nc	-	2	-
107	substância não identificada	1144	nc	-	1	-
108	substância não identificada	1158	nc	1	-	-
109	substância não identificada	1169	nc	-	1	-
110	substância não identificada	1172	nc	-	tr	-
111	substância não identificada	1181	nc	-	tr	-
112	substância não identificada	1193	nc	-	tr	-
113	substância não identificada	1202	nc	-	-	1
114	substância não identificada	1215	nc	-	tr	-
115	substância não identificada	1220	nc	-	tr	-
116	substância não identificada	1229	nc	-	tr	-
117	substância não identificada	1300	nc	-	-	1
118	substância não identificada	1306	nc	-	-	1
119	substância não identificada	1313	nc	-	tr	-

<sup>1</sup>ver Fig. 12, <sup>2</sup> ver Figs.13-15

Tabela 7. Continuação.

Número da estrutura <sup>1</sup> e/ou pico <sup>2</sup>	Composto	IR	PM	<i>P. alata</i>	abundância relativa %	
					<i>P. galbana</i>	<i>P. speciosa</i>
120	substância não identificada	1315	nc	-	-	2
121	substância não identificada	1323	nc	-	tr	-
122	substância não identificada	1324	nc	-	tr	-
123	substância não identificada	1324	nc	-	-	1
124	substância não identificada	1341	nc	tr	-	-
125	substância não identificada	1350	nc	-	tr	-
126	substância não identificada	1355	nc	-	tr	-
127	substância não identificada	1358	nc	-	tr	-
128	substância não identificada	1363	nc	-	tr	-
129	substância não identificada	1380	nc	tr	-	-
130	substância não identificada	1383	nc	-	tr	-
131	substância não identificada	1390	nc	-	tr	-
132	substância não identificada	1394	nc	-	tr	-
133	substância não identificada	1399	nc	1	-	-
134	substância não identificada	1403	nc	-	tr	-
135	substância não identificada	1415	nc	-	tr	-
136	substância não identificada	1421	nc	-	tr	-
137	substância não identificada	1434	nc	tr	-	-
138	substância não identificada	1446	nc	-	tr	-
139	substância não identificada	1446	nc	2	-	-
140	substância não identificada	1450	nc	-	tr	-
141	substância não identificada	1454	nc	-	tr	-
142	substância não identificada	1474	nc	-	tr	-
143	substância não identificada	1491	nc	-	-	1
144	substância não identificada	1494	nc	-	2	-
145	substância não identificada	1519	nc	-	tr	-
146	substância não identificada	1524	nc	-	tr	-
147	substância não identificada	1533	nc	-	tr	-

<sup>1</sup>ver Fig. 12, <sup>2</sup> ver Figs.13-15



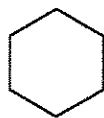
Tabela 7. Continuação.

Número da estrutura <sup>1</sup> e/ou pico <sup>2</sup>	Composto	IR	PM	P. alata	abundância relativa %	
					P. galbana	P. speciosa
148	substância não identificada	1554	nc	-	tr	-
149	substância não identificada	1562	nc	-	tr	-
150	substância não identificada	1633	nc	-	tr	-
151	substância não identificada	1642	nc	-	tr	-
152	substância não identificada	1654	nc	-	tr	-
153	substância não identificada	1661	nc	-	-	4
154	substância não identificada	1669	nc	-	-	1
155	substância não identificada	1676	nc	-	1	-
156	substância não identificada	1705	nc	-	-	1
157	substância não identificada	1706	nc	-	tr	-
158	substância não identificada	1711	nc	-	tr	-
159	substância não identificada	1715	nc	-	1	-
160	substância não identificada	1742	nc	-	-	-
161	substância não identificada	1761	nc	-	tr	-
162	substância não identificada	1765	nc	-	-	5
163	substância não identificada	1766	nc	-	tr	-
164	substância não identificada	1773	nc	-	tr	-
165	substância não identificada	1784	nc	-	tr	-
166	substância não identificada	1815	nc	-	tr	-
167	substância não identificada	1827	nc	-	tr	-
168	substância não identificada	1838	nc	-	-	1
169	substância não identificada	1857	nc	-	-	6
170	substância não identificada	1861	nc	-	tr	-
171	substância não identificada	1882	nc	-	-	1
172	substância não identificada	1891	nc	-	9	-
173	substância não identificada	1894	nc	-	tr	-
174	Total			4	49	36

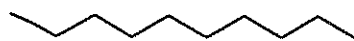
<sup>1</sup>ver Fig. 12, <sup>2</sup> ver Figs.13-15

## HIDROCARBONETOS ALIFÁTICOS

## alcanos e cicloalcanos



1. cicloexano



2. decano



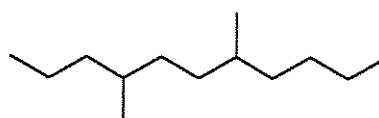
3. undecano



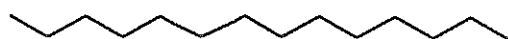
4. dodecano



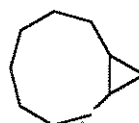
5. tridecano



6. 4,7-dimetilundecano



7. tetradecano



8. biclico (7,1,0) decano

Figura 11. Compostos encontrados nos extratos diclorometânicos das fímbrias de *Passiflora*.

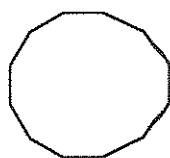
## alcanos e cicloalcanos



9. pentadecano



10. hexadecano



11. ciclododecano



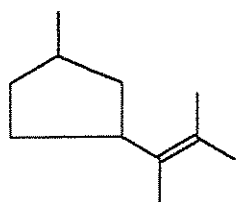
12. heptadecano



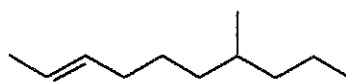
13. octadecano

Figura 11. Continuação.

## alcenos e cicloalcenos



43. 1-metil-3-(2metilpropenil) ciclopentano



44. 7-metil-2-deceno



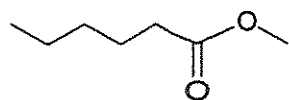
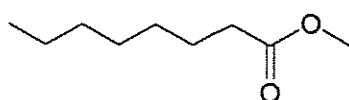
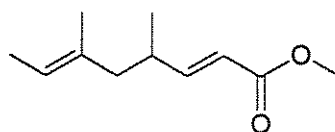
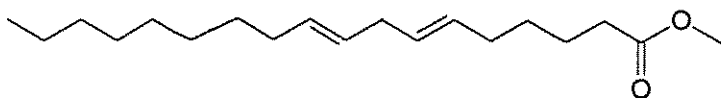
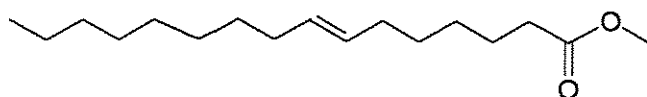
45. 1,13-tetradecadieno



46. 1-hexadeceno

Figura 11. Continuação.

## ésteres

**47.** hexanoato de metila**48.** octanoato de metila**49.** 3,7-dimetil-2,6-octadienoato de metila**50.** 9,12- octadienoato de metila**51.** 9-hexadecanoato de metila

## aldeídos

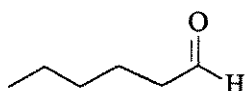
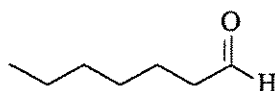
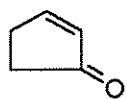
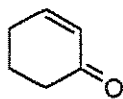
**52.** hexanal**53.** heptanal

Figura 11. Continuação.

## cetonas

**54.** 2-ciclopentenona**55.** 2-ciclohexenona

## álcoois

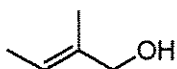
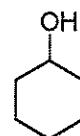
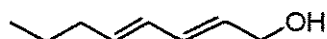
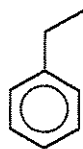
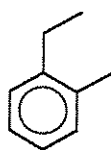
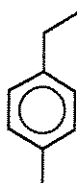
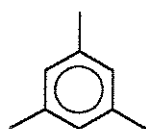
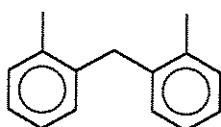
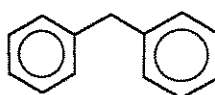
**56.** 2-metil-2-butenol**57.** 3-hexenol**58.** cicloexanol**59.** 1-hexanol**60.** 1-octanol**61.** 2,4-octadienol**62.** 1,10-decanodiol

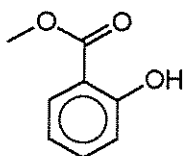
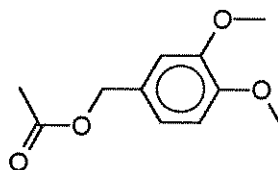
Figura 11. Continuação.

## BENZENÓIDES

## benzenos

**63.** etilbenzeno**64.** 1-etil-2-metilbenzeno**65.** 1-etil-4-metilbenzeno**66.** 1,3,5-trimetilbenzeno**67.** 2-metil-1,1'-bifenil**68.** 1,1'-metileno bibenzeno

## ésteres

**69.** 2-hidroxibenzoato de metila**70.** acetato de 3,4-dimetoxifenile

## álcoois

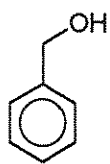
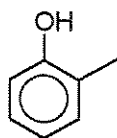
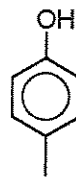
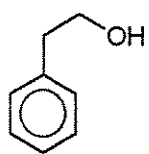
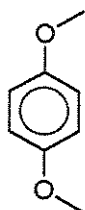
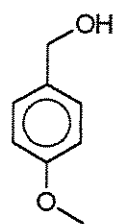
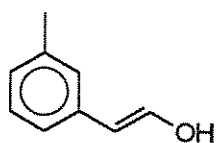
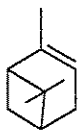
**71.** benzenometanol**72.** 2-metilfenol**73.** 4-metilfenol**74.** benzenoetanol**75.** 1,4 dimetoxibenzeno**76.** 4-metoxibenzenometano**77.** 3-fenil-2-propenol

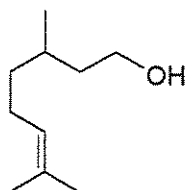
Figura 11. Continuação.



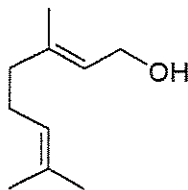
TERPENÓIDES  
monoterpenos



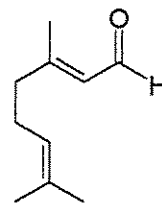
**78.** pineno



**79.** citronelol

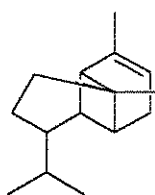


**80.** geraniol

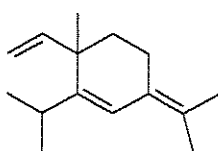


**81.** citral

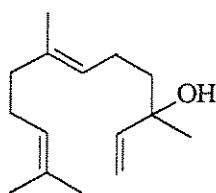
sesquiterpenos



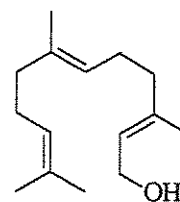
**82.** copaeno



**83.** elemeno

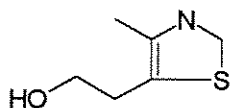


**84.** nerolidol



**85.** farnesol

OUTROS



**86.** 4-metil-5-tiazoetanol

Figura 11. Continuação.

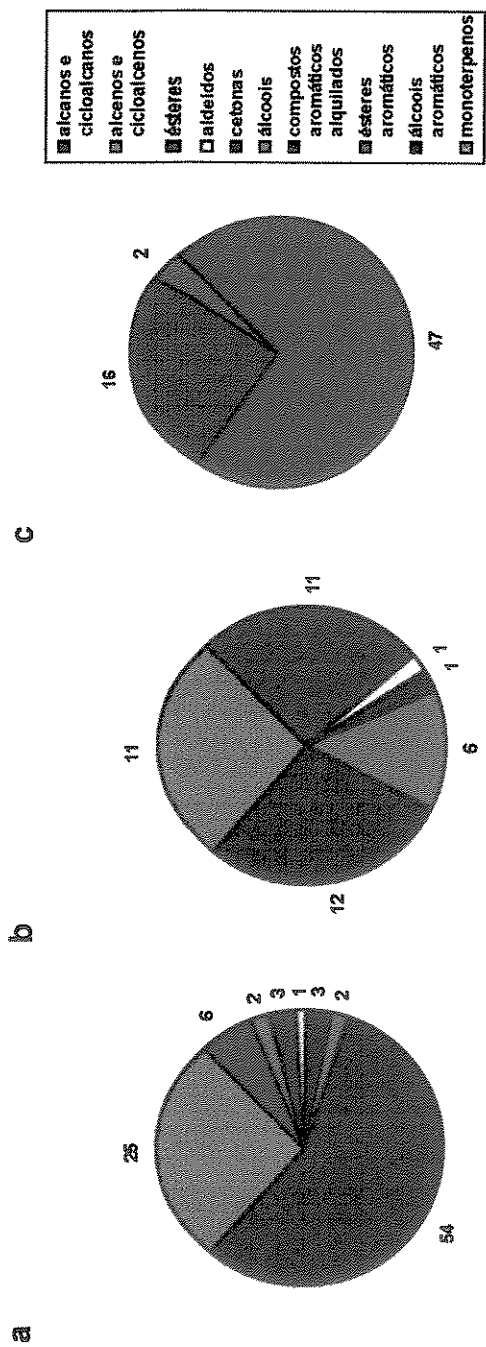


Figura 12. Percentagem de classes dos compostos encontrados nos extratos diclorometânicos das fímbricas de *P. alata* (a), *P. galbana* (b) e *P. speciosa* (c).

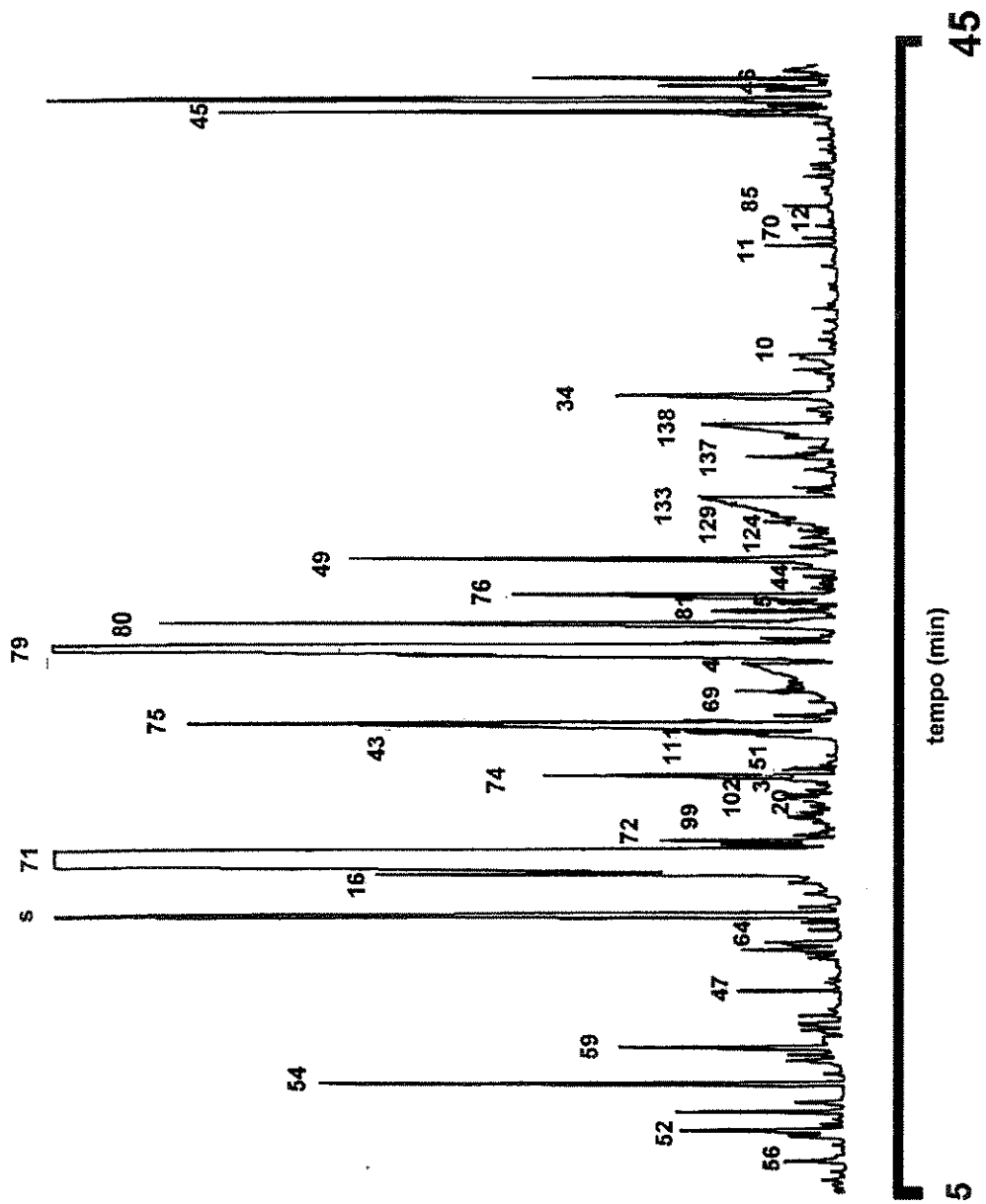


Figura 13. Cromatograma do extrato diclorometânico de fimbrias de *P. alata*. (s = solvente).

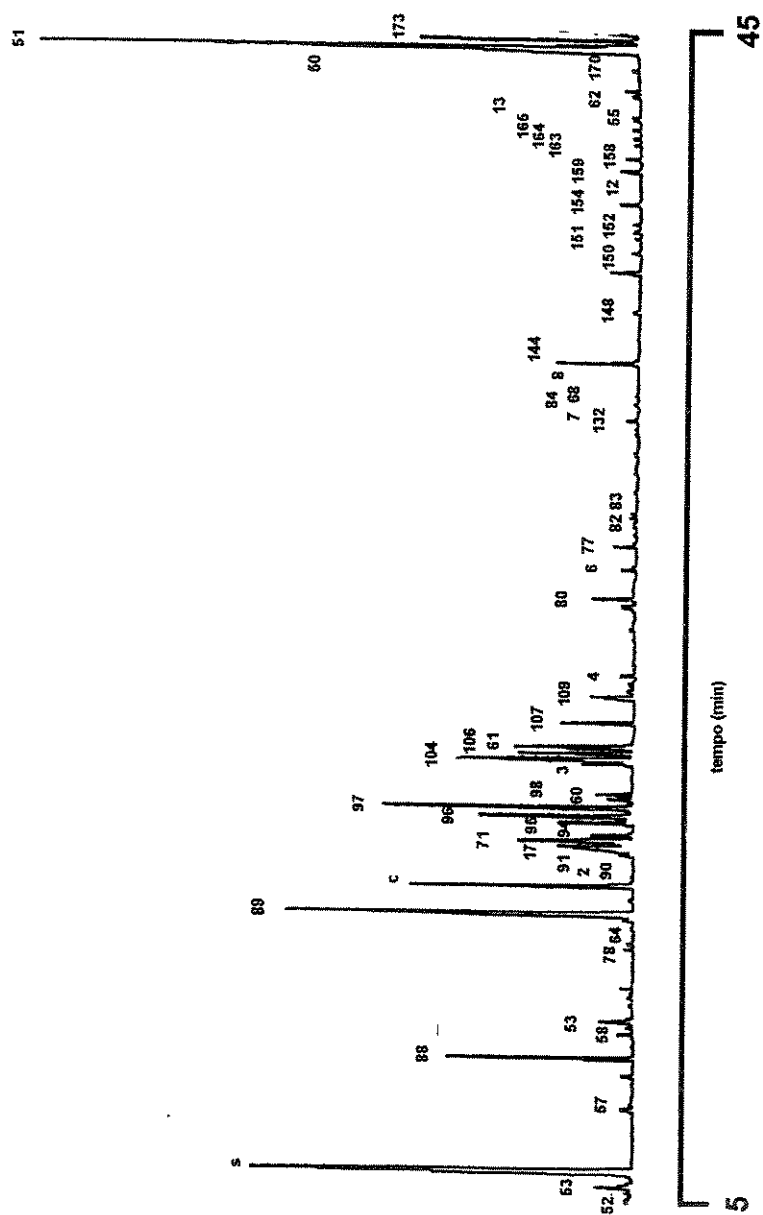


Figura 14. Cromatograma do extrato diclorometânico de fímbrias de *P. galbana*. (c = contaminante; s = solvente)

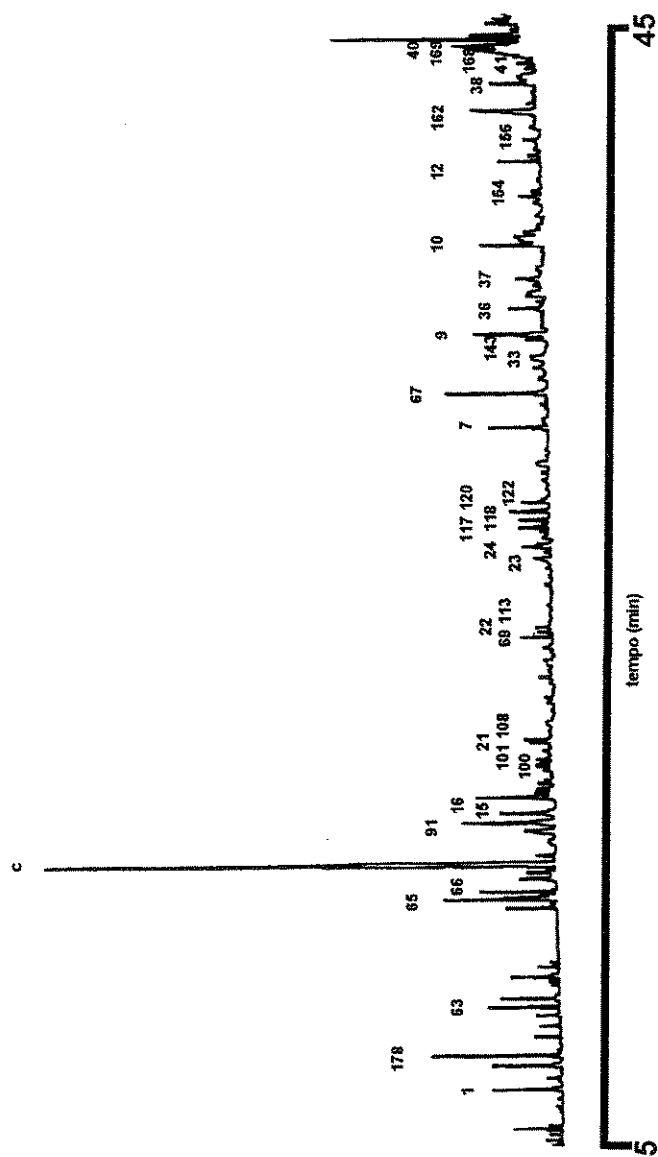


Figura 15. Cromatograma do extrato diclorometânico de fímbrias de *P. speciosa*. (c = contaminante).

## 4 DISCUSSÃO

---

### 4.1 A Biologia da Polinização

As espécies em estudo são polinizadas por animais distintos: *P. alata* é melitófila, *P. galbana* e *P. mucronata* são quiropterófilas, e *P. speciosa* é ornitófila (Fig. 2).

Nas quatro espécies, a polinização cruzada é imprescindível para a formação de frutos (Tabela 1). Nestas espécies, a polinização está relacionada à mudança de posição dos órgãos reprodutivos durante parte da antese, o que é comum no gênero *Passiflora* (Janzen, 1968; Sazima & Sazima, 1978; Endress, 1994).

A receptividade do estigma das espécies estudadas não está relacionada com a deflexão dos estiletes, diferindo da hipótese de Janzen (1968) que estes dois fatores estariam relacionados. A movimentação dos órgãos reprodutivos estabelece uma barreira temporal para a polinização em estigmas receptivos, mas não uma barreira fisiológica, pois o pólen está disponível durante toda a antese, e os estigmas estão receptivos.

Como em *P. alata* as fímbrias são bastante desenvolvidas, as abelhas têm necessariamente que se posicionar entre este verticilo e o androginóforo para terem acesso à câmara nectarífera (Fig. 1a). Assim, a posição inclinada das anteras favorece a deposição de pólen no dorso das abelhas de grande porte, como algumas espécies de *Centris* e as espécies de *Eulaema* e *Xylocopa* (Fig. 2a). A deposição de grãos de pólen que estão no dorso destas abelhas ocorre apenas em estigmas de flores que possuem os estiletes deflexionados. As flores que não possuem este deslocamento dos estiletes podem ser consideradas flores funcionalmente masculinas, assim como ocorre em *P. foetida* (Gottsberger et al., 1988), *P. quadrangularis* e *P. pinnatistipula* (Knuth, 1904 apud Gottsberger et al., 1988). O fato das fímbrias serem bastante desenvolvidas e carnosas em *P. alata* deve impedir o acesso à câmara nectarífera pelo beija-flor *Eupetomena macroura*, pois ele localiza as flores mas não coleta néctar.

Em *P. speciosa*, as fímbrias colaboram para o fechamento da câmara nectarífera (Fig. 1d), impedindo o acesso de coleópteros e formigas. As fímbrias, assim como o límen e o opérculo, podem participar da proteção do néctar (Tillett, 1988). Dentre as espécies estudadas, o límen exerce função de proteção do néctar apenas em *P. mucronata*, onde está bastante desenvolvido (Fig. 1c).

O límen, que pode corresponder ao último verticilo da corona (Lindman, 1906 *apud* Endress, 1994), delimita internamente a câmara nectarífera (Tillett, 1988). É ainda possível que o límen não seja o último verticilo da corona, resultando da redução dos estames. de Wilde (1974) sugere que o límen se origine a partir de estaminódios, ao comparar o gênero *Passiflora* com gêneros da tribo Passiflorae do velho mundo que apresentam maior número de estames e estames não fundidos ao ginóforo. O opérculo, que corresponde ao penúltimo verticilo da corona (Lindman, 1906 *apud* Endress, 1994), fecha a câmara nectarífera de *P. alata* e de *P. speciosa* (Figs. 1a e d), enquanto que nas espécies quiropterófilas, como o opérculo é reduzido e filamentoso (Figs. 1b e c), o néctar fica exposto, especialmente em *P. galbana*, facilitando a coleta de néctar pelos polinizadores, o que deve aumentar a eficiência de retirada de néctar. Koschnizke & Sazima (submetido) ressaltam a importância do tipo de opérculo no ajuste com o polinizador em cinco espécies de *Passiflora*. Consideram que opérculos plicados permitem o acesso ao néctar por visitantes menos especializados, enquanto que opérculos que fecham mais firmemente a câmara nectarífera, só permitem o acesso a determinados grupos de animais. Neste sentido, apenas *P. alata* e *P. speciosa* possuem opérculos que dificultam o acesso da câmara nectarífera por visitantes ilegítimos.

As flores de *P. galbana* e de *P. mucronata* são muito similares entre si (Figs. 1b e 1c). O fato do androginóforo ser curvo facilita o acesso à câmara nectarífera pelo animal, mas o vôo de abordagem à flor deve ser feito em uma determinada direção. Neste caso, a eficiência de deposição de pólen no corpo do animal é aumentada pela disposição das anteras em semi-círculo e por sua posição. Por vezes, em *P. mucronata*, existe uma barreira

de folhagem atrás da flor (Sazima & Sazima, 1978). Quando isto ocorre, o vôo de acesso à flor sofre mais restrições (Fig. 2c), o que não acontece em flores de *P. galbana*, que estão destacadas da folhagem.

Em *P. alata*, a sinalização olfativa é que parece ser essencial na localização das flores, pois as flores somente são visitadas após o início da produção de odores, que ocorre entre meia e uma hora após a abertura da flor. O atributo visual parece ser menos importante na localização das flores, uma vez que as abelhas encontram as flores oclusas na folhagem.

Distintamente, as flores de *P. galbana*, *P. mucronata* e *P. speciosa* são bem visíveis pois se destacam da folhagem através de um pedúnculo desenvolvido, constituindo um caráter morfológico que as torna bastante acessíveis aos polinizadores de grande porte, como morcegos (Sazima & Sazima, 1978) e beija-flores.

Em *P. speciosa* o atributo visual tem grande importância na localização das flores: a posição da flor e sua cor escarlate a torna facilmente distinguível à distância, fato particularmente importante para polinizadores que localizam flores visualmente, como beija-flores. Nesta espécie, a posição horizontal das anteras durante parte do período de antese favorece a deposição de pólen na cabeça do beija-flor, *Phaethornis idaliae*.

As fímbrias de *P. alata* são as mais longas, enquanto que as de *P. speciosa* são as de menor tamanho. *P. galbana* e *P. mucronata* possuem fímbrias de tamanho intermediário entre as anteriores (Fig. 1). Uma vez que são as fímbrias que emitem os odores, o desenvolvimento maior deste verticilo floral poderia significar maior investimento na produção de odores e, provavelmente, estaria relacionado com o tipo de polinizador. A importância dos odores na orientação de abelhas (Williams & Dodson, 1972, Vinson *et al.*, 1982; Borg-Karlson, 1990, Lunau, 1992) e morcegos (Rieger & Jakob, 1988; Thies *et al.*, 1995), animais que visitam as espécies de *Passiflora* estudadas, em relação à espécie ornitófila explicaria porque as fímbrias são mais desenvolvidas em *P. alata* e *P. galbana*, o que, no entanto, não ocorre em *P. mucronata*. Ao comparar espécies melitófilas e ornitófilas de *Passiflora*, Endress (1994) assinala que é possível que as espécies



polinizadas por beija-flores possam apresentar redução das fímbrias. A distinção feita por Endress é válida para a comparação das mesmas síndromes aqui apresentadas, melitofilia e ornitofilia, mas não se aplicou às espécies quiropterófilas, onde uma espécie exibe fímbrias longas e a outra fímbrias curtas.

#### 4.2 O Recurso Alimentar

A secreção de néctar das espécies estudadas não é homogênea ao longo do tempo. A dinâmica da secreção é provável consequência do metabolismo do amido armazenado nos nectários (Fig. 4) (Lüttge, 1971; Belmonte *et al.*, 1994). A antecipação da hidrólise de amido no nectário em relação à antese é que possibilitaria às flores quiropterófilas, *P. mucronata* e *P. galbana*, armazenarem néctar antes da abertura das flores, resultando em grandes volumes de néctar nas flores desde o início da antese. Este fenômeno é bem nítido em *P. mucronata* que já secretou todo néctar antes do início da antese e onde a maioria dos grãos de amido já foi hidrolisado antes da abertura das flores. *P. galbana*, no entanto, ainda armazena grãos de amido que serviriam para a secreção de néctar durante a primeira fase da antese. No entanto, a capacidade de produzir néctar antes da antese não está restrita a estas espécies; outras espécies de *Passiflora* também o fazem (Durkee *et al.*, 1981). Em *P. alata* e em *P. speciosa*, a hidrólise de amido ocorre durante a antese, à medida que o néctar está sendo secretado, o que possibilitaria que o recurso alimentar seja liberado aos poucos aos visitantes florais.

O acúmulo de amido, poucas vezes descrito em nectários (Durkee *et al.*, 1981; Belmonte *et al.*, 1994), deve ser possível graças à vascularização do parênquima que circunda a câmara nectarífera, ou do tecido subjacente. Acredita-se que o amido armazenado no parênquima amilífero seja oriundo do transporte de açúcares pelo floema. Esta hipótese foi formulada por Durkee *et al.* (1981) cujos estudos demonstram que o acúmulo de amido em nectários dos botões das flores de *Passiflora* ocorre somente após a maturação dos tecidos vasculares.

Durante a antese, ocorrem variações de volume e de concentração observadas em *Ipomopsis agragata* (Polemoniaceae) (Pleasant, 1983); *Combretum fruticosum* (Galetto & Bernardello, 1993) e *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae) (Galetto *et al.*, 1994). Os constituintes majoritários do néctar são açúcares, apresentando maior contribuição na concentração de solutos no néctar e, portanto, para seu índice de refração. Constituintes não glicídicos, como íons, têm uma contribuição expressiva no índice de refração (Inouye *et al.* 1980), mas ao se referir à variação de concentração ao longo da antese, apenas a variação de substâncias glicídicas foi enfocada.

Assim sendo, em *P. alata* a secreção de néctar parece depender tanto de uma produção contínua de açúcares como do aporte contínuo de água para o nectário (Figs. 5a e 6a). Experimentos indicam que o suprimento de água para a câmara nectarífera é mantido pela corrente gerada pelo gradiente de potencial hídrico entre o néctar e as células do nectário transpiração (Lüttge, 1971). Como há aumento do volume de néctar com o decorrer da antese (Fig. 5a), mas não da concentração (Fig. 6a), o néctar não sofre diluição. Lüttge & Schnepe (1976) propoem que durante o processo de secreção de açúcares alguma etapa seja mediada por transporte ativo. Esta pode se situar entre as células do parênquima e as células secretoras, ou das células secretoras para o néctar.

Em *P. galbana*, o aumento de volume acumulado de néctar durante a primeira fase da secreção ocasiona a diluição da concentração do néctar (Figs. 5d e 6d), uma vez que há queda da concentração ao longo da antese (Fig. 6d). Três hipóteses podem explicar este fato: a primeira é que a produção de açúcares não é proporcional ao volume de néctar secretado, assim sendo há mais água que açúcar secretado levando à diluição da concentração; a segunda é que todo o açúcar já foi secretado, e durante esta fase da antese ocorre apenas secreção de água; a terceira onde a reabsorção de açúcares tenha já iniciado nesta fase, uma vez que as flores desta espécie contêm néctar desde o início da antese (Fig. 5d). A segunda hipótese é a mais improvável, tendo em vista que o nectário ainda armazena muito grãos de amido no momento de abertura da flor.

A segunda fase de secreção de néctar em *P. galbana* é a de estabilização da variação do volume e da concentração e representa a fase de transição entre as outras duas fases. Durante a terceira fase, que é a de reabsorção de néctar (Fig. 5d), a queda da concentração prossegue mesmo não havendo mais aporte hídrico (Fig.6d); a reabsorção de açúcares deve ser portanto mais rápida que a da água. Isto parece demonstrar que a reabsorção de açúcares não depende de transporte de massa, mas deve-se a transporte ativo específico, como o modelo proposto por Lüttge & Schnepe (1976). Cruden *et al.* (1983) acreditam que reabsorção de açúcares não deva ocorrer muito freqüentemente porque deve ser tão custosa quanto sua produção, mas apesar da reabsorção envolver custo de ATP (Lüttge & Schnepe, 1976), a regeneração de muitas moléculas de ATP por esta mesma molécula de glicose deve tornar a reabsorção um processo vantajoso. Deve-se esperar, então, que a reabsorção diminua o custo da produção de néctar pela planta, em especial em *Passiflora* onde há secreção de grandes volumes de néctar. A curva da variação da taxa de produção instantânea de néctar (TIPN), quando extrapolada para pontos da pós antese (Fig. 7), demonstra que nas três espécies que apresentam variação de néctar, *P. alata*, *P. galbana* e *P. speciosa*, ocorre reabsorção de néctar. O mesmo deve acontecer em *P. mucronata*, onde deve ocorrer variação do volume de néctar somente após a antese, onde não foram feitas observações.

Em *P. mucronata*, ocorre reabsorção de açúcares durante a antese uma vez que não há variação de volume de néctar (Figs.5b e 6b).

Em *P. speciosa*, o aumento do volume de néctar gera diluição do néctar durante a primeira fase de secreção de néctar e a reabsorção do néctar, na terceira fase, provoca a concentração do néctar (Figs. 5c e 6c).

Abelhas consomem néctar em uma concentração média de 35% p/p; beija-flores, 23% p/p; borboletas, 25% p/p; morcegos, 17% p/p segundo Heyneman (1983). As diferenças de concentração de néctar segundo o tipo de polinizador têm suscitado discussões (Bolten & Feinsinger, 1978; Calder, 1979; Pyke & Waser, 1981; Heyneman, 1983; van Helversen & Reyer, 1984; Roces *et al.* 1992). O que parece paradoxal é que animais maiores, com necessidades energéticas maiores, alimentem-se de néctar mais diluídos.

O néctar de *P. speciosa* tendo concentração elevada, 39,5 % p/p, fornece energia suficiente para beija-flores que tem custo alto de deslocamento para alimentar-se, como os que adotam o forrageamento em linhas de captura (Heyneman, 1983). *P. speciosa* apresenta néctar com quase o dobro da concentração encontrada em média para flores polinizadas por beija-flores (23% p/p).

Embora os verticilos florais de *P. speciosa* não impeçam o acesso de abelhas e borboletas ao nectário, o que não é esperado para flores que exibem valores altos de concentração de néctar (Bolten & Feinsinger, 1978), é provável que o volume de néctar produzido por suas flores garanta recurso alimentar suficiente para os polinizadores, apesar da coleta de néctar por visitantes ilegítimos. A secreção contínua de néctar ao longo da antese diminuiria o impacto causado pela coleta de néctar por outros visitantes florais, assim como motivaria o uso de linhas de captura pelos beija-flores. Uma vez que beija-flores conseguem modular seu comportamento alimentar ao padrão de secreção de néctar visitando flores quando elas possuem mais néctar (Bernardello *et al.*, 1994; Varassin, 1996), se os beija-flores adotassem este tipo de forrageamento, a chance de encontrar flores mais néctar aumentaria, pois o intervalo entre uma visita e outra permitiria que o néctar acumulasse. Outro aspecto relevante é que a acessibilidade do néctar por ladrões de néctar parece não influir quando a planta exibe uma **TIPN** elevada ou quando há acúmulo de néctar antes da abertura das flores (Cruden *et al.*, 1983). Estes seriam fatores suficientes para permitir que as plantas continuassem competindo por polinizadores, apesar da retirada de néctar por ladrões de néctar (Cruden *et al.*, 1983). Como em *P. speciosa* a **TIPN** é alta durante as primeiras seis horas de antese (Fig. 7c), e os beija-flores parecem forragear em intervalos regulares, a planta consegue manter seus polinizadores.

*P. alata* também possui concentração de néctar alta (Fig. 6a), comum em espécies melitófilas. Como abelhas de grande porte, como as do gênero *Xylocopa*, produzem muita água metabólica devido ao sua alta taxa respiratória durante o vôo (Nicolson, 1990), a redução do ganho de água a partir de néctar mais concentrado como o de *P. alata* permitiria que seus

polinizadores se alimentassem mais vezes, sem comprometer a regulação osmótica de seus fluidos corporais. Se assim for, a polinização das flores com concentração mais elevada deve ser favorecida pelo aumento de frequência nas visitas. Esse controle do ganho de água parece ser tão importante que abelhas, como *Xylocopa mordax*, concentram gotas de néctar que apresentam concentração de 49% para 62%, antes de incorporá-las como alimento, valendo-se de movimentos bruscos da língua (Corbet & Willmer, 1980).

As concentrações de néctar de *P. galbana* e *P. mucronata* estão muito próximas de 26% p/p (Fig. 6b e c), valor que corresponde à maior eficiência de retirada de néctar por nectarívoros, como abelhas, beija-flores, mariposas, morcegos segundo o modelo proposto por Heyneman (1983). Segundo este autor, os animais que procuram reduzir o tempo de alimentação, como os que adejam ou os que estão muito expostos à predação durante a coleta de néctar, tenderiam a se alimentar de néctar mais diluído pois isso possibilita uma retirada mais eficiente. No entanto, a concentração de 26% p/p poderia superar o consumo diário de energia para o morcego *Anoura caudifer*, pois a concentração de néctar, estimada em laboratório, necessária para fornecer água e açúcar para indivíduos desta espécie se encontra na faixa de 17,8 - 20,7% p/p (van Helversen & Reyer, 1984).

Supondo que a necessidade de suprimento hídrico de um indivíduo de *A. caudifer* por dia seja de 13,4 ml, e o peso específico de uma solução açucarada 1,08 para néctar com cerca de 20% p/p de concentração (van Helversen e Reyer, 1984), um indivíduo precisaria, então, de 16,9 ml de néctar por dia, ou seja, cerca de 93 flores de *P. galbana* que produzam em média 182,5  $\mu$ l na concentração de 26,1% p/p de 19h às 22h, e precisaria de 15,6 ml de néctar, ou seja, cerca de 52 flores de *P. mucronata* que forneçam em média 300,7  $\mu$ l na concentração de 20,7% p/p até o amanhecer.

A partir do volume de néctar de *P. mucronata* e de *P. galbana* acima calculado, pode-se ainda estimar o número de visitas que um animal deve fazer às flores para suprir sua necessidade de água, e conseqüentemente de calorías. Se o animal coleta entre 15 e 20  $\mu$ l, ele terá

que fazer, respectivamente, de 1040 a 780 visitas em flores de *P. mucronata*, e de 1127 a 845 visitas em flores de *P. galbana*. Cada flor de *P. mucronata* seria então visitada de 20 a 15 vezes, e a de *P. galbana* de 12 a 9 vezes. Isto talvez seja a razão da baixa frequência de visitas às flores de *P. galbana* observada no campo. Se os animais não conseguem retirar todo o néctar das flores, o animal precisaria de um maior número de flores, e faria então um menor número de visitas por flor.

Parece contraditório pensar que morcegos tomarão mais néctar quando este for mais concentrado, uma vez que este néctar fornece mais calorias por volume suprimindo mais rapidamente o morcego do ponto de vista energético. Mas quando se considera a necessidade hídrica do animal, como acima discutido, essa observação faz sentido. Roces *et al.* (1992) atribuem à mesma razão as observações que mostram que *Glossophaga soricina antillarum*, toma mais néctar por visita quando este for mais concentrado até um limite de 50% e observam que o aumento da concentração de néctar implica no aumento da necessidade de água do animal.

Se os polinizadores visitarem as flores de forma mais uniformemente distribuída no tempo do que seria de se esperar de um processo aleatório, há possibilidade de acúmulo de néctar nas flores, pois a flor tem tempo para produzir mais néctar. Possingham (1989) chamou este comportamento de forrageamento sistemático. Para abelhas que exibem este comportamento, Kadmon (1992) sugere que a quantidade de néctar encontrada pelas abelhas é de 14 a 50% maior que a obtida por coleta aleatória. Se a frequência de visitas para satisfazer a necessidade alimentar do animal é otimizada à **TIPN**, então reduzem-se os custos do forrageamento.

O comportamento dos polinizadores das espécies de *Passiflora* quiropterófilas e da espécie ornitófila parece refletir a disponibilidade do recurso. Em *P. galbana* e *P. speciosa* as visitas ocorrendo de hora em hora, e de 45 em 45 minutos, respectivamente, o que leva a crer que a adequação do comportamento dos animais à **TIPN** por forrageamento sistemático realmente reduza os custos de forrageamento, limitando a possibilidade de encontrar uma flor sem néctar. Assim sendo, a **TIPN** pode ser responsável

em manter o limiar mínimo de recurso que garanta a visitação dos animais, segundo o teorema do valor marginal da teoria do forrageamento ótimo (Charnov, 1976). Em contraposição, em *P. mucronata* a disponibilidade de recurso é alta desde a antese, o que também explicaria porque os animais coletam néctar com frequência. Segundo Baumgarten (1994), é possível que o padrão de oferta contínua de néctar force o uso de linhas de captura por morcegos, com frequência de visitas próxima ao limite que as tornem compensatórias energeticamente.

Assim sendo, o ajuste do comportamento dos animais à produção de néctar reduz os custos do forrageamento e maximiza o número de visitas às flores (Heinrich & Raven, 1972). O uso deste tipo de estratégia pela planta manteria o polinizador forrageando por mais tempo, o que poderia aumentar sua chance de ser polinizada. Dreisig (1995) observa que, em *Anchusa officinalis*, flores que produzem mais néctar são mais visitadas por abelhas e as que produzem menos néctar são menos visitadas, resultando em um ganho constante de energia (volume de néctar) por flor. Segundo Dreisig (1995) isso é possível quando o animal associa o forrageamento sistemático a uma escolha não ao acaso das flores. Se realmente ocorre o uso deste tipo de estratégia alimentar pelos polinizadores vertebrados das espécies de *Passiflora*, não há perda de ganho energético pelo animal em plantas com TIPN mais baixa, e então aumentam as chances de mais indivíduos de *Passiflora* serem polinizados.

Os polinizadores de *P. alata*, abelhas de grande porte, não parecem forragear sistematicamente já que há grande número de espécies de abelhas que visitam suas flores. Abelhas como *Xylocopa virginica texana*, (Vinson *et al.* 1978) e *Apis mellifera ligustica* (Giurfa & Núñez, 1992) marcam as flores com feromônios, e só as visitam passados alguns minutos. Segundo Giurfa & Núñez (1992), este tipo de estratégia pode contribuir na economia do forrageamento pois as abelhas podem ajustar seus movimentos de maneira que não voltem de novo a uma flor recém visitada. Como uma flor recém visitada por uma espécie pode ser, a seguir, visitada por outras espécies, isto impede que a primeira visitante possa controlar a quantidade de recurso a ser encontrado na visita seguinte.

Um aspecto do recurso que pode influir no comportamento de forrageamento dos polinizadores diz respeito à variabilidade do volume de néctar encontrado. A variabilidade da concentração deve ter uma importância bem menor, visto que os intervalos de variação são muito mais baixos (Fig. 8).

Nota-se que as abelhas começam a visitar as flores com a queda do coeficiente de variação (**CV**) do volume de néctar, o que também pode estar relacionado com o período de atividade das abelhas, ou à produção de odor. O acúmulo de néctar, aqui, leva à diminuição da variabilidade do recurso encontrado e as abelhas podem, desta forma, ter mais chance de visitar flores com néctar (Fig. 8a). Em *P. galbana* a visitação às flores ocorre exatamente na faixa em que a variabilidade é mais baixa (Fig. 8b). O acúmulo inicial de néctar tende a diminuir a variabilidade, enquanto que a reabsorção leva ao aumento desta, após as 24:00h. Em *P. mucronata* a visitação por morcegos está restrita ao início da antese, antes do amanhecer, que também é o período onde a variabilidade do recurso é menor (Fig. 8c). A variabilidade aumenta quando a planta começa a reabsorver néctar (Fig. 5c e 7c). Na espécie em que o **CV** apresenta os valores mais baixos, *P. speciosa*, a atividade de *Phaethornis idaliae* não parece estar relacionada com a queda ou aumento do **CV** (Fig. 8d).

Mas o néctar não é apenas fonte calórica para os polinizadores, fornece lipídios importantes para manutenção da integridade das membranas celulares, como fosfolipídios e triglicerídios, que parecem mais importantes na dieta dos polinizadores vertebrados (Tabela 2), dado sua longevidade.

A razão  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  maior que 1,0 aparece nas três espécies polinizadas por vertebrados (Tabela 2). É bastante provável, como medido para flores ornitófilas (Hiebert & Calder, 1983), que os íons do néctar reponham as perdas diárias de eletrólitos pelos animais. Esta reposição pela ingestão de néctar é fundamental para o equilíbrio eletrolítico em abelhas de grande porte, como as do gênero *Xylocopa*, que dependem ainda da reabsorção de íons durante a excreção (Nicolson, 1990).

A presença de uma bainha impermeável ao potássio nos nervos de insetos, impedindo que haja inibição da condução dos impulsos nervosos



(Hoyle, 1952), poderia explicar porque apenas a espécie melitófila, *P. alata*, possui razão  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  menor que 1,0, como conhecido em algumas espécies melitófilas (Nicolson, 1990). Razão  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  maior que 1,0 em *P. speciosa* não parece ser comum em flores ornitófilas (Hiebert & Calder, 1983). Apesar disto, segundo estes autores, a predominância de  $\text{K}^+$  não deve estar associada com necessidades fisiológicas de beija-flores, e talvez corresponder a um caráter que se manteve, tendo em vista que espécies ornitófilas geralmente derivam de espécies polinizadas por insetos. Tendo em vista que apenas os insetos possuem bainha impermeável ao potássio, em flores ornitófilas deveria ser esperada uma razão  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  alta.

A presença de vetores de pólen é imprescindível para a reprodução das espécies de *Passiflora* estudadas. Os processos fisiológicos da planta, como o momento de antese, a taxa de produção de néctar e o controle da secreção e reabsorção de açúcares e água, a qualidade nutricional do recurso, combinados à fisiologia dos polinizadores, como necessidades nutricionais e hídricas, período de atividade, promovem o ajuste ecológico entre plantas e polinizadores, em que ambos são favorecidos.

### 4.3 Os Pigmentos e os Voláteis

O espectro de absorção nas faixas UV-VIS das flores das espécies de *Passiflora* em estudo se adequa à sensibilidade espectral da visão dos polinizadores (Fig. 11).

*P. alata* e *P. speciosa*, polinizadas por animais que possuem o sentido da visão mais aprimorado como insetos e beija-flores (Scogin, 1983) possuem pigmentos que absorvem tanto no ultravioleta (300 a 400nm), como nos comprimentos de onda maiores, como o vermelho (580 a 650 nm). As cores vinho e vermelho em flores destas espécies devem-se à presença de antocianidinas (Tabelas 4, 5 e 6), cujo comprimento de absorção máximo se encontra entre 515 e 545 nm (Harborne, 1984). Estes pigmentos também absorvem no ultravioleta, assim como os pigmentos com eles associados, flavonas ou flavonóis. A região refletida pelas pétalas de *P. alata*, em torno

de 450 nm e após 570 nm (Fig. 11a), está dentro da faixa sensível para insetos, como *Apis mellifera*, que enxergam desde 300 a 700 nm, e *Bombus* spp, outro grupo de abelhas que também apresenta sensibilidade para cores (Kevan, 1983). Abelhas, no entanto, não são sensíveis ao vermelho (Kevan, 1983). Em *P. speciosa* a faixa espectral absorvida abrange, em geral, os mesmos comprimentos de onda que *P. alata* (Fig. 11d). No entanto, refletem em toda região do vermelho, o que as torna particularmente atrativas para beija-flores que são bastante sensíveis à região do espectro do vermelho (Goldsmith 1980). Isto vem explicar porque o beija-flor *Eupetomena macroura* consegue localizar flores de *P. alata*, uma vez que *P. alata* também reflete na região do vermelho.

As espécies quiropterófilas possuem pigmentos que absorvem apenas no ultravioleta, e refletem na região do visível (Figs. 11b e c). Como as flores abrem a noite, pigmentos devem ter uma função menos importante na localização das flores. O contraste da cor branca das pétalas com o fundo escuro deve funcionar para sinalizar a flor. A presença de alguns flavonóides, em especial proantocianidinas, pode estar relacionada com a atividade antibiótica e/ou inibidora de herbivoria de seus polímeros (Berembaum e Siegler, 1992). A absorção em ultravioleta deve-se à presença das flavonas, flavonóis e isoflavonas (Tabelas 4, 5 e 6), que não são corados à luz visível (Harborne, 1984). A presença de antocianidina em *P. mucronata* deve decorrer da hidrólise de proantocianidinas (flavolanas) durante a extração. Proantocianidinas ao hidrolisarem-se liberam antocianidinas, que conferem cor ao extrato (Harborne, 1984).

A associação entre pigmentos é bastante comum, e, segundo Harborne (1988), flavonas ou flavonóis sempre ocorrem como co-pigmentos de antocianidinas, que alteram a cor original destas.

Enquanto que pigmentos parecem ter importância nas espécies que são polinizadas por animais que possuem o sentido da visão mais desenvolvido, a maior abundância de classes de compostos voláteis em *P. alata* e *P. galbana* e a baixa abundância em *P. speciosa* (Fig. 14) parece demonstrar que plantas polinizadas por animais olfativamente orientados, como abelhas e morcegos, investem mais na produção destes compostos.

Se for considerado o número de compostos que ocorrem, excluindo-se alcanos e alcenos dos hidrocarbonetos alifáticos e as substâncias não identificadas, *P. galbana* e *P. alata* possuem maior número de compostos voláteis (28 e 23, respectivamente) em relação a *P. speciosa* (7). A diversidade de classes encontradas em *P. alata* e *P. galbana* é quase o triplo da encontrada em *P. speciosa*, indicativo da importância do metabolismo de voláteis na espécie melitófila e na espécie quiropterófila. Como beija-flores não possuem o olfato tão desenvolvido (Kare & Mason, 1986), o investimento em odores não aumentaria a atração por estes polinizadores. Assim sendo, este investimento não seria compensatório para a planta pois não se traduziria em aumento de aptidão. É provável, contudo, que não seja número de compostos voláteis que demonstre o investimento na atração olfativa, senão a quantidade total de voláteis produzidos. Assim espécies bastante fragrantas como *P. alata* e *P. galbana* parecem produzir voláteis em grande quantidade, e *P. mucronata* também os produz, porém em quantidades menores, enquanto que *P. speciosa* parece ser a espécie que menos investe, já que seu odor é pouco perceptível. Para esta discussão, no entanto, a informação mais adequada seria a análise quantitativa que pondera a massa de voláteis produzida pela massa de tecido vegetal que os produz.

Para abelhas e morcegos, odores realmente parecem ser os sinais mais importantes na localização de recursos alimentares a longas distâncias (Harborne, 1988; Rieger & Jakob, 1988, Thies *et al.*, 1995) em detrimento de outros sinais. Estes parecem funcionar, para insetos, na orientação à curtas distâncias (Harborne, 1988) enquanto que, para morcegos, a aproximação final ao recurso alimentar parece ser guiada por ecolocação (van Helversen & van Helversen, 1995; Thies *et al.*, 1995). Sinais olfativos estariam permitindo a localização imprecisa do recurso, enquanto que sinais visuais ou acústicos seriam responsáveis pela orientação à curtas distâncias. Isto parece bastante evidente em *P. alata*, onde as flores oclusas na folhagem são igualmente localizadas por abelhas. Nestas flores o sinal visual não poderia estar atuando, a não ser na orientação à curtas distâncias.

As fragrâncias florais são uma combinação complexa de substâncias (Borg-Karlson, 1990, Tollsten *et al.*, 1994) formando o *bouquet* característico de cada espécie. Muitos compostos aromáticos hidroxilados e monoterpenos apresentam odor adocicado (Kaiser, 1993; Aldrich, 1993) e são provavelmente os responsáveis pelo perfume adocicado das flores de *P. alata*. Perfumes adocicados são conhecidos por atrair abelhas (Faegri & van der Pijl, 1971, Vogel, 1983), polinizadoras de *P. alata* e visitantes de *P. mucronata*. No entanto, também ocorrem em *P. mucronata*, polinizada por morcegos. Em *P. galbana*, os compostos mais abundantes são ésteres de hidrocarbonetos alifáticos, compostos aromáticos hidroxilados e monoterpenos, que talvez confira as suas flores o odor semelhante ao de peixe. Odores desagradáveis ao olfato humano geralmente atraem morcegos, polinizadores desta espécie. *P. speciosa* tem leve odor acre, que atrai algumas abelhas Euglossinae, provavelmente conferidos por hidrocarbonetos, e ainda compostos aromáticos alquilados.

A composição das fragrâncias das espécies de *Passiflora* analisadas evidencia a ocorrência de vários compostos que existem também em outras espécies de plantas, e alguns dos quais atuam na atração dos polinizadores (Borg-Karlson, 1990). Parece, portanto, que a composição química do odor em *Passiflora*, assim como em outras espécies, não sofre seleção muito forte por uma composição particular, única. Isto seria esperado se estiver correta a hipótese de que os voláteis que atuam na relação entre insetos e plantas teriam sua origem de compostos com atividade antibiótica ou de compostos que atuam como inibidores de herbivoria (Harrewijn *et al.* 1994/1995). Assim se esperaria maior distribuição destes compostos entre várias plantas do que se esperaria de uma interação mais específica.

Vários componentes do perfil de odores são encontrados em outras espécies de plantas, com polinizadores que pertencem a grupos de animais bastante distintos. Um dos compostos majoritários de *P. alata*, 1, 4 dimetoxibenzeno (72), é também um dos compostos majoritários de *Salix cinerea*, polinizada por várias espécies de *Bombus* (Tollsten & Knudsen, 1992) e está presente em *Coryanthes* spp, polinizadas por abelhas Euglossinae (Gerlach & Schill, 1988). Nesta última espécie, também foi

encontrado tetradecano (7), que ocorre em *P. galbana* e *P. speciosa*. Em *Cyphomandra* spp (Sazima *et al.*, 1993), polinizadas por abelhas Euglossinae, foram identificados o benzenometanol (71), hexadeceno (10) e hexadecanoato de metila (51), que participam do perfil de odores de *P. alata*, e copaeno (82), elemeno (83), heptadecano (12) e hexanol (59), que ocorrem em *P. galbana*. O benzenometanol (71) e geraniol (80), presentes em *P. alata* e *P. galbana*, atraem abelhas Euglossinae (Willams & Dressler, 1976, Ackerman, 1989), assim como metil-2-hidroxibenzoato (69) (Hills *et al.*, 1972, Willams & Dodson, 1972, Ackerman, 1989), que ocorre em *P. alata*. Tanto benzenometanol (71) e 2-hidroxibenzoato de metila (69) aparecem em espécies polinizadas por *Bombus terrestris* (Olsen & Knudsen, 1994) e diversas espécies esfigófilas e falenófilas (Knudsen & Tollsten, 1993). O farnesol (85) e geraniol (80), ocorrentes em *P. alata*, e copaeno (82) e 1-octanol (60), presentes em *P. galbana*, além do geraniol (80), atraem machos da abelha *Andrena* em testes realizados com compostos majoritários de *Ophrys* (Borg-Karlson, 1990).

É bastante provável que os animais sejam atraídos por substâncias que eles mesmos sintetizam, e que são usadas como feromônios. Grande número de compostos encontrados nas secreções exócrinas de abelhas (Vinson *et al.*, 1978; Vinson *et al.*, 1982; Hefetz, 1983; Willams *et al.*, 1987; Borg-Karlson, 1990) coincidem com os sintetizados pelas plantas (Hills *et al.*, 1972; Willams & Dodson, 1972; Willams & Dressler, 1976; Gerlach & Schill, 1988; Ackerman, 1989; Borg-Karlson, 1990; Tollsten & Knudsen, 1992; Knudsen & Tollsten, 1993; Sazima *et al.*, 1993; Olsen & Knudsen, 1994). Alguns compostos identificados nas espécies de *Passiflora* em estudo ocorrem em secreções exócrinas de abelhas. No gênero *Xylocopa* ocorrem hidrocarbonetos de cadeia longa como pentadecano (9), hexadecano (10), heptadecano (12), octadecano (13), que constituem parte da secreção das glândulas de Dufour (Vinson *et al.*, 1978) ou mandibulares (Hefetz, 1983) usada pela abelha para marcar flores e causar repelência. O farnesol (85) ocorre nas glândulas dorsais cujas secreções talvez estejam envolvidas na marcação de território (Willams *et al.*, 1987). Em *Centris*, aparecem o geraniol (80) nas glândulas mandibulares

e são empregados na marcação de território (Vinson *et al.*, 1982). Em *Andrena* e *Eucera* também foram isolados vários compostos presentes em fragrâncias florais (Borg-Karlson, 1990).

## 5 CONCLUSÕES

---

- A polinização cruzada é imprescindível para a formação de frutos nas espécies de *Passiflora* estudadas. Esse processo é mediado por animais, e depende do deslocamento dos órgãos reprodutivos.

- A receptividade do estigma não está relacionada com a deflexão dos estilete. A movimentação dos órgãos reprodutivos estabelece uma barreira temporal para a polinização, mas não uma barreira fisiológica.

- A dinâmica de secreção de néctar das espécies estudadas é provável consequência do metabolismo do amido armazenado nos nectários. Em *P. alata* e em *P. speciosa* a hidrólise de amido ocorre durante a antese, em *P. mucronata* inicia-se antes da antese, o que permitiria o acúmulo de néctar na câmara nectarífera antes da flor abrir, o que deve ocorrer também em *P. galbana*.

- O comportamento dos polinizadores das espécies de *Passiflora* quiropterófilas e da espécie ornitófila parece refletir a disponibilidade do recurso. O forrageamento ocorre durante o período onde há mais volume de néctar, onde a previsibilidade da quantidade de recurso encontrado é maior e onde a **TIPN** é alta .

- A razão  $Na^+/K^+$  maior que 1,0 aparece nas três espécies polinizadas por vertebrados. A presença de uma bainha das fibras nervosas de insetos deve explicar porque apenas a espécie melitófila, *P. alata*, possui razão  $Na^+/K^+$  menor que 1,0.

- O espectro de absorção nas faixas UV-VIS das flores das espécies de *Passiflora* em estudo se adequa à sensibilidade espectral da visão dos polinizadores visualmente orientados.

- As cores vinho e vermelho das flores de *P. alata* e *P. speciosa* devem-se à presença de antocianidinas. Estes pigmentos também absorvem no ultravioleta, assim como os pigmentos com eles associados, flavonas ou flavonóis.

- As espécies quiropterófilas possuem pigmentos que absorvem apenas no ultravioleta, e refletem em toda a região do visível. Estes pigmentos devem ter uma função menor na localização das flores.

- Há maior abundância de classes de compostos voláteis nas espécies polinizadas por animais cujo olfato é bastante desenvolvido.

- Compostos aromáticos hidroxilados e monoterpenos são provavelmente os responsáveis pelo perfume adocicado das flores de *P. alata*, conhecidos por atrair abelhas, polinizadoras de *P. alata* e visitantes de *P. mucronata*. Odor adocicado, no entanto, também atrai morcegos em *P. mucronata*.

- Em *P. galbana*, os compostos mais abundantes são ésteres de compostos aromáticos, compostos aromáticos hidroxilados e monoterpenos.

- *P. speciosa* tem leve odor acre, que atrai algumas abelhas Euglossinae, provavelmente conferido por hidrocarbonetos saturados e compostos aromáticos.

- Sinais olfativos devem estar permitindo a localização imprecisa do recurso a longa distância, enquanto que sinais visuais ou acústicos seriam responsáveis pela orientação à curtas distâncias.

- Ao que parece a composição química do odor em *Passiflora* não sofre seleção muito forte por uma composição única, pois a composição das fragrâncias das espécies de *Passiflora* analisadas evidencia a ocorrência de vários compostos que existem em outras espécies de plantas.

- É bastante provável que os animais sejam atraídos por substâncias que eles mesmos sintetizam, e que são usadas como feromônios, pois alguns compostos identificados nas espécies de *Passiflora* em estudo ocorrem em secreções exócrinas de abelhas.



## 6 BIBLIOGRAFIA CITADA

---

- Ackerman, J. D. 1989. Geographic and seasonal variation in fragrance choices and preferences of male euglossine bees. *Biotropica* **21**:340-347.
- Baumgartem, J. E. 1994. Oferta de néctar e produção de frutos em uma população de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) num cerrado do DF. Tese de Mestrado. Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- Belmonte, E., L. Cardemil e M. T. K. Arroyo. 1994. Floral nectary structure and nectar composition in *Eccremocarpus scaber* (Bignoniaceae), a hummingbird-pollinated plant of central Chile. *American Journal of Botany* **81**:493-503.
- Berembaum, M. e D. S. Seigler. 1992. Biochemicals: engineering problems for natural selection. Páginas 89- in B. D. Roitberg, editor *Insect chemical ecology, an evolutionary approach*. Chapman & Hall, New York.
- Bernardello, L., L. Galetto e I. G. Rodriguez. 1994. Reproductive biology, variability of nectar features and pollination of *Combretum fruticosum* (Combretaceae) in Argentina. *Botanical Journal of the Linnean Society* **114**:293-308.
- Biemann, K., D. C. De Jongh e H. K. Schones. 1963. Application of mass spectrometry to structure problems. XIII. Acetates of pentoses and hexoses. *Journal of American Chemical Society* **85**:1763-1771.
- Bolten, A. B., P e H. G. Feinsinger. 1978. Why do hummingbird flowers secrete dilute nectar? *Biotropica* **10**:307-304.
- Bolten, A. B., P. Feinsinger, H. G. Baker, e I. Baker. 1979. On the calculation of sugar concentration in flower nectar. *Oecologia* **41**:301-304.
- Bonato, P. S. 1991. Cromatografia gasosa, Páginas 141-181 in Collins, C. H., G. L. Braga e P. S. Bonato, Editores. *Introdução a métodos cromatográficos*. Editora da Unicamp, Campinas.
- Borg-Karlson, A. K. 1990. Chemical and ethological studies of pollination in the genus *Ophrys* (Orchidaceae). *Phytochemistry* **29**:1359-1387.
- Brasil. Ministério das Minas e Energia. Secretaria Geral. 1983a. Mapa geológico. Projeto RADAMBRASIL. SF 23/24 - Rio de Janeiro/Vitória. Scale 1:250.000.

- Brasil. Ministério das Minas e Energia. Secretaria Geral. 1983b. Levantamento de recursos naturais. Volume 32. Projeto RADAMBRASIL, Rio de Janeiro.
- Brasil. Ministério das Minas e Energia. Secretaria Geral. 1987. Levantamento de recursos naturais. Volume 34. Projeto RADAMBRASIL, Rio de Janeiro.
- Calder, W. A. 1979. The temperature-dependence of optimal nectar concentration for birds. *Journal of Theoretical Biology* **78**:185-196.
- Camillo, E. 1978. Polinização do maracujá (*Passiflora alata* v. *brasiliensis*). *Ciência e Cultura* 30<sup>a</sup> Reunião anual; Resumos. São Paulo, v.30, n.7, 1978, **Supl.**:594-595.
- Charnov, E. L. 1976. Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical Population Biology* **9**: 129-135.
- Corbet, S. A. e P. G. Willmer. 1980. Pollination of the yellow passionfruit: nectar, pollen, and carpenter bees. *Journal of Agriculture Science* **95**:655-666.
- Cruden, R. W., S. M. Hermann, e S. Peterson. 1983. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. Páginas 82-125 in B. Bentley e T. Elias, Editores. *The biology of nectaries*. Columbia University Press, New York.
- De Jongh, D. C. e K. Biemann. 1963. Application of mass spectrometry to structure problems. XIV. Acetates of partially methylated pentoses and hexoses. *Journal of American Chemical Society* **85**:2228-2294.
- van den Dool, H. e P. D. Kratz. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography* **11**:463:471.
- Dreisig, H. 1995. Ideal free distributions of nectar foraging bumblebees. *Oikos*. **72**: 161-172.
- Durkee, L. T., D. J. Gaal e W. H. Reisner. 1981. The floral and extrafloral nectaries of *Passiflora*. I. The floral nectary. *American Journal of Botany* **68**:453-462.
- Dusenbery, D. 1992. *Sensory ecology: how organisms acquire and respond to information*. W.H.Freeman, New York.
- Endress, P. K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Escobar, L. K. 1994. Two new species and a key to *Passiflora* subg. *Astropheia*. *Systematic Botany* **19**: 203-210.

- Faegri, K., e L. Van der Pijl, Editores. 1971. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, New York.
- Galetto, L. e L. M. Bernardello. 1993. Nectar secretion pattern and removal effects in three species of Solanaceae. *Canadian Journal of Botany* **71**:1394-1398.
- Galetto, L., L. M. Bernardello e H. R. Juliani. 1994. Characteristics of secretion of nectar in *Pyrostegia venusta* (Kir-Gawl) Miers (Bignoniaceae). *New Phytologist* **127**:465-471.
- Garcia, M. T. A. e P. Hoc. 1994. Aspectos da biologia floral de *Passiflora mooreana* (Passifloraceae). IV Congresso Latino-Americano de Botanica, Mar del Plata p:807.
- Gerlach, G. e R. Schill. 1989. Fragrances analyses, an aid to taxonomic relationships of the genus *Coryanthes* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* **168**:159-165.
- Giurfa, M. e J. A. Núñez. 1992. Honeybees mark with scent and reject recently visited flowers. *Oecologia*. 113-117
- Goldsmith, T. H. 1980. Hummingbirds see near ultraviolet light. *Science* **207**:786-788.
- Gottsberger, G., J. M. F. Camargo & I. Silberbauer-Gottsberger. 1988. A bee-pollinated tropical community: the beach dune vegetation of Ilha de São Luiz, Maranhão, Brazil. *Botanische Jahrbücher. Systematisches* **109**: 469-500.
- Hainsworth, F. R. e L. L. Wolf. 1976. Nectar characteristics and food selection by hummingbirds. *Oecologia* **25**:101-113.
- Harborne, J. B. 1984. Phenolic compounds. Páginas 37-99 in *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis*, 2ª Edição. Chapman and Hall, London.
- Harborne, J. B. 1988. Biochemistry of plant pollination. Páginas 42-81 in J. B. Harborne, editor. *Introduction to ecological biochemistry*, 3ª Edição Academic Press, London.
- Harrewijn, P., A. K. Minks e C. Mollema. 1994/1995. Evolution of plant volatile production in insect-plant relationships. *Chemoecology*. **5/6**:55-73.
- Hefetz, A. 1983. Function of secretion of mandibular gland of male territorial behavior of *Xylocopa sulcatipes* (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Chemical Ecology* **9**:923-931.

- Heinrich, B. e P. H. Raven. 1972. Energetics and pollination ecology. *Science* **176**:597-602.
- Henry, R. J.; D. C. Cannon e J. W. Winkelman. 1980a. *Química Clínica: principios y técnicas*. v.2. Editorial Jims, Barcelona, Espanha. 1626 p.
- Henry, R. J.; D. C. Cannon e J. W. Winkelman. 1980b. *Química Clínica: principios y técnicas*. v.1. Editorial Jims, Barcelona, Espanha. 819 p.
- Heyneman, A. J. 1983. Optimal sugar concentrations of floral nectars-dependence on sugar intake efficiency and foraging costs. *Oecologia* **60**:198-213.
- Heywood, V. H. 1994. *Flowering plants of the world*. B T. Batsford Ltd, London.
- Hiebert, S. M., e W. A. Calder III. 1983. Sodium, potassium, and chloride in floral nectars: energy-free contributions to refractive index and salt balance. *Ecology* **64**:399-402.
- Hills, H. G., N. H. Willams, e C. H. Dodson. 1972. Floral fragrances as isolating mechanism in the genus *Catasetum* (Orchidaceae). *Biotropica* **4**:61-76.
- Hoyle, G. 1952. Blood potassium and nerve conduction in insects; physiological saline insects. *Nature* **169**:281-282.
- Inouye, D. W., N. D. Favre, J. A. Lanum, D. M. Levine, J. B. Meyers, M. S. Roberts, F. C. Tsao, e Y.-Y. Wang. 1980. The effects of nonsugar nectar constituents on estimates of nectar energy content. *Ecology* **61**:992-996.
- Janzen, D. H. 1968. Reproductive behavior in the Passifloraceae and some of its pollinators in Central America. *Behavior* **32**:33-48.
- Jensen, W. A. 1962. Carbohydrates and cell wall constituents. Páginas 175-208 in W. A. Jensen, editor. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W.H.Freeman, San Francisco.
- Kadmon, R. 1992. Dynamics of forager arrivals and nectar renewal in flowers of *Anchusa strigosa*. *Oecologia* **92**:552-555.
- Kaiser, R. 1993. *The scent of orchids*. Elsevier, Amsterdam.
- Kare, MR e J. R. Mason. 1986. Chemical sense in birds. Páginas 59-73 in P. D. Sturkie, editor. *Avian physiology*. Springer Verlag, New York.

- Kevan, P. G. 1983. Floral colors through the insect eyes: what they are and what they mean. Páginas 3-30 in C. E. Jones e R. J. Little, editores. Handbook of experimental pollination biology. Scientific and Academic Editions New York.
- Killip, E. P. 1938. The American species of Passifloraceae. Field Museum of Natural History, Botanical Series 19,1:1-613.
- Kleenbaum, D. G. L. L. Kupper e K. E. Muller. 1988. Applied regression analysis and other multivariate methods. PWS-Kent Publishing Company, Boston.
- Knudsen, J. T. e L. Tollsten. 1993. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. Botanical Journal of the Linnean Society **113**:263-284.
- Knudsen, J. T., L. Tollsten e L. G. Bergström. 1993. Floral scents - a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. Phytochemistry **33**:253-280.
- Koschnitzke, C. 1993. Morfologia e biologia floral de cinco espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae). Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Lunau, K. 1992. Evolutionary aspects of perfume collection in male euglossine bees (Hymenoptera) and of nest deception in bee-pollinated flowers. Chemoecology. **3**:65-73
- Lüttge, U. 1971. Structure and function of plant glands. Annual Review of Plant Physiology **22**:23-44.
- Lüttge, U. e E. Schnepfe. 1976. Elimination process by glands: organic substances. Páginas 244-277 in U. Lüttge and M. G. Pitman, Editores. Encyclopedia of plant physiology. Transport in plants Iib. v 2. Springer-Verlag, Berlin.
- Lehninger, A. L. 1976. Enzimas: cinética e inibição in Bioquímica. Componentes moleculares das células. v. 1. Editora Edgard Blücher Ltda, São Paulo.
- Nicolson, S. W. 1990. Osmoregulation in a nectar-feeding insect, the carpenter bee *Xylocopa capitata*: water excess and ion conservation. Physiological Entomology **15**:433-440.
- Pellmyr, O. e L. B. Thien. 1986. Insect reproduction and floral fragrances: keys to the evolution of the angiosperms? Taxon **35**:76-85.
- Pellmyr, O., W. Tang, I. Groth, G. Bergström e L. B. Thien. 1991. Cycad cone and angiosperm floral volatiles: inferences for the evolution of insect pollination. Biochemical Systematics and Ecology **19**:623-627.

- Pleasants, J. M. 1983. Nectar production patterns in *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* **70**:1468-1475.
- Possingham, H. P. 1989. The distribution and abundance of resources encountered by a forager. *American Naturalist* **133**:42-60.
- Prosser, C. L. 1961. Inorganic ions. Páginas 57-80 in C. L. Prosser e F. A. Brown, Editores. *Comparative animal physiology*. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Pyke, G. H. e N. M. Waser. 1981. The production of dilute nectars by hummingbird and honeyeater flowers. *Biotropica* **13**:260-270.
- Rathcke, B. J. 1992. Nectar distribution, pollinator behavior, and plant reproductive success. Páginas 113-138 in M. D. Hunter, T. Ohgushi e P. W. Price, editores. *Effect of resource distribution on animal-plant interactions*. Academic Press, San Diego.
- Rieger, J. F. e E. M. Jakob. 1988. The use of olfaction in food location by frugivorous bats. *Biotropica* **20**:161-164.
- Roces, F., Y. Winter e O. van Helversen. 1992. Nectar concentration preference and water balance in a flower visiting bat, *Glossophaga soricina antillarum*. Páginas 159-165 in W. Barthlott, C. M. Naumann, K. Schmidt-Loske e K. Schuchmann, Editores. *Animal-plant interactions in tropical environments*. Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn, Alemanha.
- Roubik, D. W. 1992. *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sazima, I. e M. Sazima. 1989. Mamangavas e irapuás (Hymenoptera, Apoidea): visitas, interações e conseqüências para a polinização do maracujá (Passifloraceae). *Revista Brasileira de Entomologia* **33**:109-118.
- Sazima, M. e I. Sazima. 1978. Bat-pollination of the passion flower, *Passiflora mucronata*, in Southeastern Brazil. *Biotropica* **10**:100-109.
- Sazima, M. e I. Sazima. 1987. Additional observations on *Passiflora mucronata*, the bat-pollinated passionflower. *Ciência e Cultura* **39**:310-312.
- Sazima, M., S. Vogel, A. Cocucci e G. Hausner. 1993. The perfume flowers of *Cyphomandra* (Solanaceae): pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores, and volatiles. *Plant Systematics and Evolution* **187**:51-88.
- Semir, J. e K. S. Brown. 1975. Maracujá: a flor da paixão. *Revista Geográfica Universal* **2**: 40-47.

- Schultz, S., W. Francke, J. Edgar e D. Schneider. 1988. Volatile compounds from androconial organs of Danaiine and Ithomiinae butterflies. *Zeit für Naturforschung*. 43c:99-104.
- Scogin, R. 1983. Visible floral pigments and pollinators. Páginas 160-172 in C. E. Jones e R. J. Little, Editores. *Handbook of experimental pollination biology*. Scientific and Academic Editions New York.
- Sigrist, R. 1991. Biologia da polinização de *Passiflora speciosa* (Passifloraceae) em uma mata estacional decídua do ES. Congresso de Botânica, Goiânia, GO, p.463.
- Silverstein, R. M., G. C. Bassler, T. C. Morrill. 1991. Mass spectrometry. Páginas 3-89 in *Spectrometric identification of organic compounds*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Suguio, K. e M. G. Tessler. 1984. Planícies de cordões litorâneos quaternários do Brasil: origem e nomenclatura. Páginas 15-25 in *Simpósio sobre Restingas Brasileiras*. Anais. CEUFF, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.
- Suthers, R., J. Chase e B. Bradford. 1969. Visual form discrimination by echolocating bats. *Biological Bulletin* 137:535-546.
- Thies, W., E. K. V. Kalko e H.-U. Schnitzler. 1995. The role of odor and echolocation in two species of *Carollia* (Phyllostomidae) foraging for *Piper*. 10th International Bat Research Conference and 25th North American Bat Research Symposium, Boston. p:173.
- Thomas, G. B. e R. L. Finney. 1982. Taxa de variação de uma função. páginas: 1-65 in *Cálculo Diferencial e Integral 1*. Livros Técnicos e Científicos Editoras S.A., Rio de Janeiro, RJ.
- Tillett, S. S. 1988. *Passionis passifloris* II. Terminologia. *Ernestia* 48:1-40.
- Tollsten, L. e J. T. Knudsen. 1992. Floral scent in dioecious *Salix* (Salicaceae) - a cue determining the pollination system? *Plant Systematics and Evolution* 182:229-237.
- Tollsten, L., J. T. Knudsen e L. G. Bergström. 1994. Floral scent in generalistic *Angelica* (Apiaceae) - an adaptative character? *Biochemical Systematics and Ecology* 22:161-169.
- Trigo, J. R. 1993. Alcalóides pirrolizidínicos em borboletas Ithomiinae. Alguns aspectos em ecologia química. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- van der Pijl, K. 1960. Ecological aspects of flower evolution I. Phyletic evolution. *Evolution* 14:403-416.

- van Fleet, D. S. 1952. Histochemical location of enzymes in vascular plants. *Botanical Review* **18**:354-398.
- van Helversen, O. e D. van Helversen. 1995. An acoustic nectar guide in a bat pollinated flower. 10th International Bat Research Conference and 25th North American Bat Research Symposium, Boston p:253.
- van Helversen, O. e H.-U. Reyer. 1984. Nectar intake and energy expenditure in a flower visiting bat. *Oecologia* **63**:178-184.
- Varassin, I. G. 1992. A melitofilia em *Passiflora alata* Dryander (Bioquímica floral e implicações ecológicas). Monografia de Especialização. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES.
- Varassin, I. G. e A. G. Silva. 1994. Biologia da polinização de *P. cf. rhamnifolia* (Passifloraceae). 46ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Vitória.
- Varassin, I. G. 1996. Forrageamento de *Phaethornis superciliosus* em flores de *Passiflora coccinea*. V Congresso Brasileiro de Ornitologia, Campinas, SP, p:123.
- Vinson, S. B., G. W. Frankie, M. S. Blum e J. W. Wheeler. 1978. Isolation, identification, and function of the Dufour gland secretion of *Xylocopa virginica texana* (Hymenoptera:Anthophoridae). *Journal of Chemical Ecology* **4**:315-323.
- Vinson, S. B., H. J. Williams, G. W. Frankie, J. W. Wheeler, M. S. Blum e R. E. Coville. 1982. Mandibular glands of male *Centris adani* (Hymenoptera: Anthophoridae) Their morphology, chemical constituents and territorial behavior. *Journal of Chemical Ecology* **8**:319-327.
- Vogel, S. 1962. Durtrüsen im Dienste der Bestäubung: über Bau und Funktion der Osmophoren. *Abh. Akad. Wiss. Lit. Math-Nat. Kl.* **10**:601-763.
- Vogel, S. 1983. Ecophysiology of zoophilic pollination. *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Volume 12c, Physiological Plant Ecology III*. Springer-Verlag, Berlin.
- Ware, A. B., T. K. Perry e S. G. Compton. 1993. Fig volatiles: their role in attracting pollinators and maintaining pollinator specificity. *Plant Systematics and Evolution* **186**:147-156.
- de Wilde, W. J. J. O. 1974. The genera of tribe *Passifloreae* (Passifloraceae), with special regard to flower morphology. *Blumea* **22**:37-50.



- Willams, H. J., S. B. Vinson e G. W. Frankie. 1987. Chemical content of the dorsal mesosomal gland of two *Xylocopa* species (Hymenoptera: Anthophoridae) from Costa Rica. *Comparative Biochemical Physiology* **86B**:311-312.
- Willams, N. H. e C. H. Dodson. 1972. Selective attraction of male euglossine bees to orchid floral fragrances and its importance in long distance pollen flow. *Evolution* **26**:84-95.
- Willams, N. H. e R. Dressler. 1976. Euglossinae pollination of *Spathiphyllum* (Araceae). *Selbyana* **1**:349-356.
- Zar, J. A. 1984. *Biostatistical analysis*. 2ª Edição. Prentice-Hall International, New Jersey.