

Ary Gomes da Silva

**FRAGRÂNCIAS E NÉCTAR FLORAIS NA DETERMINAÇÃO DE PADRÕES
HORÁRIOS DE VISITAÇÃO ÀS FLORES DE CINCO ESPÉCIES VEGETAIS**

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo (a) candidato a)	<i>Ary Gomes da Silva</i>
e aprovada pela Comissão Julgadora	

03/12/97 Marlies Sazima

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual
de Campinas, como parte dos
requisitos para obtenção do Título
de Doutor em Ciências Biológicas,
área de concentração em Biologia
Vegetal

Orientadora: Profa. Dra. Marlies Sazima

Universidade Estadual de Campinas
Campinas, 1997

Si38f

32756/BC

9802468

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
SUBCOMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**FRAGRÂNCIAS E NÉCTAR FLORAIS NA DETERMINAÇÃO DE PADRÕES
HORÁRIOS DE VISITAÇÃO ÀS FLORES DE CINCO ESPÉCIES VEGETAIS**

Ary Gomes da Silva

**Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas,
como parte dos requisitos para obtenção
do Título de Doutor em Ciências
Biológicas, área de concentração em
Biologia Vegetal**

Orientadora: Profa. Dra. Marlies Sazima

Campinas

1997

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	7/2 UNICAMP
V.	32.38.7
Ex.	
TOMBO BC	32.38.7
PROC.	32.38.7
C	☐
D	☒
PREÇO	24.11.00
DATA	24.10.98
N.º CPD	

CM-00105157-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL DA UNICAMP

Si38f

Silva, Ary Gomes da

Fragrâncias e néctar florais na determinação de padrões
horários de visitação às flores de cinco espécies vegetais /
Ary Gomes da Silva. -- Campinas, SP : [s.n.], 1997.

Orientador: Marlies Sazima.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia.

1. Polinização. 2. Nectários. 3. Flores - Fragrância.
4. Plantas - Reprodução. 5. Interação animal - planta.
I. Sazima, Marlies. II. Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
SUBCOMISSÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

**FRAGRÂNCIAS E NÉCTAR FLORAIS NA DETERMINAÇÃO DE PADRÕES
HORÁRIOS DE VISITAÇÃO ÀS FLORES DE CINCO ESPÉCIES VEGETAIS**

Ary Gomes da Silva

Banca Examinadora:

Dra. Marlies Sazima (orientadora)

Marlies Sazima

Dra. Anita Jocelyne Marsaioli

Anita Marsaioli

Dra. Claudia Maria Jacobi

Claudia Maria Jacobi

Dr. George John Shepherd

George John Shepherd

Dr. Keith Spalding Brown Jr

Keith Spalding Brown Jr

Suplentes:

Dra. Maria do Carmo Estanislau do Amaral

Dr. Volker Bittrich

À Paola

Pela coragem rara de amar incondicionalmente

À Dra. Graziela M. Barroso e ao Dr. Geraldo Mariz

*Por terem voltado meus olhos para muito além da
Botânica, fazendo-me trilhar pelos campos do respeito à
pessoa humana*

Agradecimentos I

Algumas situações pedem atitudes um tanto formais...

À Dra. Marlies Sazima pela orientação e pela confiança demonstrada ao acompanhar a realização deste trabalho.

À Dra. Anita J. Marsaioli, por ter aberto as portas de seu laboratório no Instituto de Química, Unicamp, e permitido que eu fizesse e refizesse as análises químicas de minha tese.

A Isabela Galarda Varassin, pela companhia no pioneirismo e pelas valiosas contribuições à este trabalho.

A Simone de Pádua Teixeira pela revisão ortográfica e gramatical da tese.

Aos especialistas Dra. Graziela Maciel Barroso (JBRJ), Dr. Gustavo Martinelli (JBRJ), Dr. Hermógenes de Freitas Leitão Filho, in memoriam, Dr. João Semir (Unicamp), Dr. Nigel Taylor (Kew) e Dr. Olavo Araújo Guimarães (UFPR) pela identificação das espécies vegetais.

Ao Centro de Insetos Fitófagos da Universidade Federal do Paraná pela identificação de moscas, abelhas e vespas, ao Dr. Keith S. Brown Jr pela identificação das borboletas e ao Dr. Ivan Sazima e Dr. João Vasconcelos Neto pela identificação dos belja-flores.

Aos professores Dra. Anita J. Marsaioli, Dra. Claudia Maria Jacobi, Dr. George J. Shepherd, Dr. Keith S. Brown Jr pela leitura crítica e participação na banca examinadora, e à Dra Maria do Carmo E. Amaral e Dr. Volker Bittich pela disponibilidade em participar como suplentes na banca.

Aos professores Dr. Fernando R. Martins, Dr. Flávio Maes, Dr. George J. Shepherd, Dr. José Roberto Trigo, Dr. Keith S. Brown Jr e Dr. Miguel Petreire Jr, pelas disciplinas ministradas e que permitiram o refinamento do projeto inicial.

Aos pesquisadores Dr. Cajo J.F. ter Braak (Agricultural Mathematics Group-Wageningen) e Dr. Richard Furnas (Microcomputer Power), pela concessão gratuita da licença para uso do programa CANOCO e pelo suporte bibliográfico, e ao Dr. Michael Palmer (Oklahoma State University), por suas conferências que me serviram de guias na interpretação das análises de ordenação.

Ao Projeto de Florística e Fitossociologia do Programa Mata Atlântica, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela infra-estrutura para o trabalho na Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Rio de Janeiro.

Ao Laboratório Tommasi de Análises Clínicas pelo subsídio financeiro na realização das dosagens bioquímicas no néctar que, embora feitas e refetias, tão generosamente, não foi possível incluir neste trabalho

À FAPESP, pelo financiamento do projeto "Utilização de Microrganismos em Síntese e Produtos Naturais" (FAPESP96-7792-2), que custeou as análises de voláteis.

À Faculdade de Farmácia e Bioquímica do Espírito Santo pela licença para cursar o doutorado e à CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Agradecimentos II

... ma que não combinam nem um pouco comigo, portanto eu preciso dizer que sou imensamente grato

À Paola, porque só muito amor é capaz de agüentar alguém fazendo doutorado...

À Marlies por não ter fechado as portas a um projeto "melo esquisito", de alguém que ela não conhecia lá muito bem. Valeu!

Ao João Semir (não é o mesmo sem o sobrenome),, pois sem ele "eu nunca teria entrado na pós graduação", pelo carinho e pela leitura da tese.

A Anita, pela generosidade extrema com que me recebeu, com ônus e sem se preocupar com os louros,, e me permitiu aprender bastante não só com ela, mas com Vera, Bira e Paulo de forma mais próxima, além de conviver com um grupo de pessoas tão solidárias como Bira, Paulo, Denise, Clara, Gelson (meu conterrâneo), Laverde e Cecília que abriam espaços em meio a suas próprias teses para que eu fizesse e refizesse a minha.

A Anita, a Claudia e ao George, pela pré-banca formal, e ao João Semir e a Isabela, pela informal.

À Isabela pela amizade acima de tudo, mas também pela coragem de ter se iniciado com alguém tão iniciante quanto ela, e pelo estímulo a persistir trabalhando na área.

A Fernandinha, Paola e Simone pela paciência de ler os manuscritos antes da Marlies.

Aos companheiros de Sindicato na Botânica, Cláudio Müller (outro que não é o mesmo sem sobrenome), Alan, Zângela (e o Pl), Renato, Ingrid (e o Zé), Tetê Sposito, Matê (e o Nelson), Tereza Grambone, Hélida, Milene, Fernandinha, Tchesca e Elcida, Lu "Benzinho", Lu "Sertão", e além deles, os agregados da Pós da Eco, Adri Martini, Isa, Silvia, Zeca e Lenita que me acolheram como num ninho e foram tão companheiros que ajudaram a segurar a onda da pane que me deu no meio do curso.

Por falar nesta pane, tenho que agradecer à UFRJ, pelo concurso que me fez conhecer Silvana um pouco melhor como pessoa. Silvana e Marília, "agora em mares nunca dantes navegados", também deram a maior força no momento da pane.

Tenho que agradecer à Maravilhosa lara de Fátima, por ter sido muito mais que demais, a Josênia e a Sílvia, as mães secretárias, superdispostas a solucionar os problemas até a defesa, e a Maria Lúcia e a Esmê pelas gentilezas e socorros.

Pelo jeito, eu tenho que agradecer a tanta gente que eu flico com remorsos de dizer que este trabalho é meu. Uma vez me disseram que isto não é de fato remorso, a não ser que eu não pudesse ser eternamente grato a todos que deram um pouco de si neste trajeto. E eu sou. Lógico que eu devo ter esquecido alguém, mas não foi pela falta de importância, mas sim porque os agradecimentos são a última coisa que se escreve na tese.....☺

SUMÁRIO

	página
APRESENTAÇÃO.....	1
Referências Bibliográficas.....	4
CAPÍTULO I	
Sistema de Reprodução e Polinização de Cinco Espécies Vegetais	
Resumo.....	6
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Material e Métodos.....	8
Resultados.....	10
<i>Baccharis dracunculifolia</i> (Asteraceae).....	10
<i>Eriotheca candolleana</i> (Bombacaceae).....	12
<i>Melocactus violaceus</i> (Cactaceae).....	15
<i>Passiflora pentagona</i> (Passifloraceae).....	17
<i>Vriesea neoglutinosa</i> (Bromeliaceae).....	19
Discussão e Conclusões.....	21
<i>Baccharis dracunculifolia</i>	22
<i>Eriotheca candolleana</i>	23
<i>Melocactus violaceus</i>	25
<i>Passiflora pentagona</i>	26
<i>Vriesea neoglutinosa</i>	27
A Ligação entre as Espécies Sintópicas: <i>Melocactus violaceus</i> , <i>Passiflora pentagona</i> e <i>Vriesea neoglutinosa</i>	28
Referências Bibliográficas.....	30
Tabelas.....	35
Figuras.....	38
CAPÍTULO II	
Terpenos Florais e seu Papel na Polinização de <i>Baccharis dracunculifolia</i> (Asteraceae)	
Resumo.....	55
Abstract.....	55
Introdução.....	56
Material e Métodos.....	57
Padrões de Visitação.....	57
Extração, Análise e Identificação dos Voláteis Florais.....	57
Análise Multivariada dos Dados.....	59
Resultados.....	60
Padrões de Visitação.....	51
A Composição do Óleo Essencial.....	59
A Relação entre Terpenos e os Padrões de Visitação aos Capítulos.....	61
Discussão e Conclusões.....	63
Referências Bibliográficas.....	66
Tabelas.....	69
Figuras.....	72
CAPÍTULO III	
Relação entre Néctar, Fragrâncias Florais e a Visitação às Flores de <i>Eriotheca candolleana</i> (Bombacaceae)	
Resumo.....	76
Abstract.....	76
Introdução.....	77
Material e Métodos.....	78
Padrões de Visitação.....	78
Extração, Análise e Identificação dos Voláteis Florais.....	78
Características do Néctar.....	80

SUMÁRIO

página

CAPÍTULO III

Relação entre Néctar, Fragrâncias Florais e a Visitação às Flores de *Eriotheca candolleana* (Bombacaceae) cont.

Análise dos Dados.....	80
Resultados.....	82
Padrões de Visitação.....	82
A Composição do Óleo Essencial.....	83
As Características do Néctar.....	84
A Relação entre as Variáveis Ambientais e os Padrões de Visitação.....	85
Discussão e Conclusões.....	86
Referências Bibliográficas.....	89
Tabelas.....	92
Figuras.....	98

CAPÍTULO IV

Néctar e Voláteis como Sinais Florais de três Espécies Sintópicas e sua Relação com Beija-Flores e Abelhas

Resumo.....	104
Abstract.....	104
Introdução.....	105
Material e Métodos.....	106
Padrões de Visitação.....	106
Extração, Análise e Identificação dos Voláteis Florais.....	106
Características do Néctar.....	108
Análise dos Dados.....	108
Resultados.....	110
Padrões de Visitação.....	110
A Composição do Óleo Essencial.....	111
As Características do Néctar.....	111
A Relação entre os Voláteis, Néctar e Temperatura do Ar com a Visitação.....	112
Discussão e Conclusões.....	114
Referências Bibliográficas.....	118
Tabelas.....	121
Figuras.....	133
Considerações Finais.....	137
Referências Bibliográficas.....	141

APRESENTAÇÃO

A interação dos organismos e seu ambiente se dá através de três processos básicos: os físicos, envolvendo as diversas forças abióticas que operam na natureza; os informativos, nos quais algum tipo de sinal é transmitido, e os tróficos, que envolvem algum recurso ou energia capaz de produzir um dado efeito específico no metabolismo do receptor (Dusenbery, 1992).

Nos sistemas de polinização ocorre no mínimo o processo informativo. Através dele, a flor pode ser localizada por seus visitantes ou ainda, em muitos dos casos, ser associada a algum tipo de recurso explorável. Este representa o contexto no qual o termo *atração* tem sido aplicado (Dafni, 1992).

Sob um outro ponto de vista, os recursos florais têm sido considerados como atrativos primários para os visitantes das flores (Vogel, 1983). Alguns exemplos em que também é atribuída a função de sinalização ao recurso, podem ser encontrados nas flores em que o pólen é bem visível e de coloração amarela, assim como os casos em que o néctar é capaz de refletir luz ultravioleta (Dafni, 1992).

Entretanto, casos como os de polinização por pseudocópula demonstram que há independência entre sinais e recursos florais, pois existe um sinal que leva o visitante à flor, mas não há um recurso floral explorável (Nilsson, 1992). Como atração implica na existência de sinais que comuniquem o emissor e o receptor, caracterizando um processo informativo numa interação de seres vivos (Dusenbery, 1992), ainda que estes sinais estejam presentes no recurso, o recurso floral em si participa da polinização ao nível trófico (Waser, 1983).

Diante disto e considerando o fato de que essas interações não são finalistas quanto à consumação da polinização, Waser (1983) preferiu tratar o processo informativo como sendo mediado pelos diversos sinais emitidos pela flor, independentemente da existência de algum tipo de recurso. Esta foi a aceção de atração adotada neste trabalho.

Para as plantas, a atividade dos visitantes florais afeta diretamente o fluxo de pólen (Harder & Barret, 1996). Entre os animais visitantes pode ocorrer um ajustamento de seus ciclos reprodutivos à disponibilidade do recurso floral explorado (Hunter *et al.*, 1992; Barthlott *et al.*, 1993). Em ambos os casos, são

marcantes as conseqüências para a biologia dos organismos envolvidos, que podem apresentar variados graus de dependência e especialização recíprocas numa interação, ligados a sua sobrevivência e reprodução (Abrahamson, 1989).

Os sinais florais assumem um papel fundamental para a ecologia e a evolução de plantas e animais, pois participam da localização da flor na polinização (Harborne, 1993). A natureza dos sinais florais ligados à polinização é bastante diversificada. Entre eles, a forma da flor pode ser percebida visual ou ecograficamente (Dusenbery, 1992). Há também a emissão de sinais químicos detectáveis pelos sistemas de olfação e gustação (Harborne, 1993), provocando respostas semelhantes às descritas para a herbivoria (Spencer, 1988). Similares por serem interações tróficas, a polinização e a herbivoria diferem entre si pelas conseqüências ecológicas. Enquanto a herbivoria se caracteriza pelo antagonismo entre as partes, a polinização é principalmente mutualista (Weis & Campbell, 1992).

Quando a herbivoria e a polinização são analisadas em relação à essência de sua motivação, a busca de algum tipo de recurso se apresenta como um ponto comum entre elas, sendo que Pellmyr & Thien (1986) sugeriram que fragrâncias florais teriam evoluído a partir de inibidores de herbivoria. Apesar da repercussão ecológica e evolutiva da polinização não ser menos importante que a da herbivoria, os estudos sobre a química e bioquímica da polinização avançaram muito menos que os ligados à herbivoria (Spencer, 1988; Harborne, 1993).

Estudos sobre a mediação química dessas interações tornam-se ainda mais relevantes quando são considerados os progressos na investigação de voláteis florais (Williams & Whitten, 1983; Knudsen *et al.*, 1993). Muitos deles têm sido também isolados em secreções de abelhas (Vinson *et al.* 1978; Duffield *et al.*, 1984, Williams *et al.* 1987), apresentando desde sua estrutura química preservada, até modificações decorrentes do metabolismo dos insetos. Roubik (1989) propôs que o estímulo primário que guia as abelhas até a flor é a detecção de aromas semelhantes aos seus próprios. O aprendizado representa, portanto, um componente adicional na localização da flor e sua associação com algum tipo de recurso floral (Lewis, 1993).

Apesar das abelhas representarem um grupo importante de insetos antófilos, a diversidade de visitantes florais olfativamente orientados é ainda maior. Mesmo entre os insetos, a semelhança na composição de voláteis não parece ser o único

fator a orientar as visitas a flores. Além disto, sinais químicos têm sido relatados como capazes de estimular nos insetos, respostas etológicas ligadas a suas necessidades vitais, como alimentação e acasalamento (Bergström, 1991).

Sabe-se ainda que recursos florais estão sujeitos a variação em sua oferta diária, além da sazonal (Fleming, 1992). Se a associação entre o sinal químico e a disponibilidade do recurso for verdadeira, seria oportuno investigar como estes sinais e o recurso poderiam afetar nos padrões diários de visitação a flores.

Neste ponto, a produção de néctar também pode contribuir para dimensionar o grau de seletividade que existe neste tipo de interação, principalmente para as espécies vegetais que são exploradas por uma gama mais diversa de animais. Além disso, pode-se ainda reunir subsídios para avaliar a importância de um dado recurso floral, ao nível da comunidade, para a fixação local dos animais que utilizam este recurso.

Para avaliar a mediação química da polinização, cinco espécies vegetais foram estudadas neste trabalho: *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae), como um modelo de sistema sexual dióico; *Eriotheca candolleana* (K. Schum.) A. Robyns (Bombacaceae), como um modelo de dicogamia; *Melocactus violaceus* Pfeifer (Cactaceae), *Passiflora pentagona* Masters (Passifloraceae) e *Vriesea neoglutinosa* Mez (Bromeliaceae), como um sistema em que beija-flores e abelhas se distribuem entre as flores de plantas sintópicas.

Foram estabelecidos os seguintes objetivos gerais para este trabalho:

- Determinar o sistema de reprodução sexuada das cinco espécies vegetais nas populações estudadas para poder avaliar a necessidade de vetores de pólen;
- Identificar a constituição química das fragrâncias florais e
- Monitorar a oferta de néctar como recurso, as fragrâncias florais como sinais químicos e os padrões diários de visitação floral ao longo da duração da flor e verificar sua influência na determinação de padrões diários de visitação às flores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahamson, W.G (ed). (1989). *Plant-animal interactions*. MacGraw-Hill, New York.
- Barthlott, W., Naumann, C.M., Schmidt-Loske, K. & Schumann, K.L. (eds.). 1993. *Animal-plant interactions in tropical environments*. Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn.
- Bergström, G. (1991). Chemical ecology of terpenoid and other fragrances of angiosperm flowers. In: *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids* (eds. J.B. Harborne & F.A. Tommas-Barberan), pp. 287-296. Clarendon Press, Oxford.
- Dafni, A. (1992). Advertisement in flowers. In: *Pollination ecology: a practical approach*, pp. 91-126. Oxford University Press, New York.
- Duffield, R.N., Wheeler, J.W. & Eickwort, G.C. (1984). Sociochemicals of bees. In: *Chemical ecology of insects* (eds. W.J. Bell & R.T. Cardé), pp. 387-428. Chapman & Hall, London.
- Dusenbery, D. (1992). *Sensory ecology: how organisms acquire and respond to information*. W.H. Freeman, New York.
- Fleming, T. (1992). How do fruit- and nectar-feeding birds and mammal track their food resources? In: *Effects of resource distribution on animal-plant interactions* (eds. M.D. Hunter, T. Ohgushi & P.W. Price), pp. 355-391. Academic Press, San Diego.
- Harborne, J.B. (1993). *Introduction to ecological biochemistry*. 4.ed. Academic Press, London.
- Harder, L.D. & Barret, S.C.H. (1996). Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. In: *Floral biology, studies on floral evolution in animal-pollinated plants* (eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barret), pp. 140-190. Chapman & Hall, New York.
- Hunter, M.D, Ohgushi, T. & Price, P.W. (eds.). (1992). *Effects of resource distribution on animal-plant interactions*. Academic Press, San Diego.
- Knudsen, J.T., Tollsten, L. & Bergström, G. (1993). Floral scents: a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. *Phytochemistry*, **33**, 253-280.
- Lewis, A.C. (1993). Learning and the evolution of resources: pollinators and flower morphology. In: *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives* (eds. D.R. Papaj & A.C. Lewis), pp. 219-242. Chapman & Hall, London.
- Nilsson, L.A. (1992). Orchid pollination biology. *Trends in Ecology and Evolution*, **7**, 255-259.
- Pellmyr, O. & Thien, L.B. (1986). Insect reproduction and floral fragrances: keys to the evolution of the angiosperms? *Taxon*, **35**, 76-85.
- Roubik, D.W. (1989). *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press, New York.

- Spencer, K.C. (ed). (1988). *Chemical mediation of coevolution*. Academic Press, San Diego.
- Vinson, S.B., Frankie, G.W, Blum, M.S., Wheeler, J.W. (1978). Isolation, identification, and function of the Dufour gland secretion of *Xylocopa virginica texana* (Hymenoptera:Anthophoridae). *Journal of Chemical Ecology*, **4**,315-323.
- Vogel, S. (1983). Ecophysiology of zoophilic pollination. In: *Encyclopedia of plant physiology*, New Series, V.12c, Physiological plant ecology III (eds. O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler), pp. 559-624. Springer-Verlag, Berlin.
- Waser, N.M. (1983). The adaptative nature of floral traits: ideas and evidence. In: *Pollination biology* (ed. L. Real), pp. 242-285. Academic Press, Orlando.
- Weis, A.E. & Campbell, D.R. (1992). Plant genotype: a variable factor in insect-plant interactions. In: *Effects of resource distribution on animal-plant interactions* (eds. M.D. Hunter, T. Ohgushi & P.W. Price), pp. 75-111. Academic Press, San Diego.
- Williams, N.H. & Whitten, W.M. (1983). Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. *Biological Bulletin*, **164**, 355-395.
- Williams, N.H., Vinson,S.B. & Frankie, G.W. (1987). The chemical content of the dorsal mesosomal gland of two *Xylocopa* species (Hymenoptera: Anthophoridae) from Costa Rica. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **86b**, 311-312.

CAPÍTULO I

SISTEMA DE REPRODUÇÃO E POLINIZAÇÃO DE CINCO ESPÉCIES VEGETAIS¹

RESUMO

O sistema de reprodução e a polinização de cinco espécies vegetais foram investigados para estimar a dependência reprodutiva das plantas em relação aos visitantes florais. *Baccharis dracunculifolia*, um arbusto dióico com dimorfismo sexual, é polinizada por abelhas solitárias, moscas e vespas, pois as visitas de abelhas sociais e borboletas são restritas às flores masculinas. As outras quatro espécies vegetais têm flores hermafroditas. *Passiflora pentagona* e *Eriotheca candolleana* apresentam autoincompatibilidade pré- e pós-zigótica, respectivamente, sendo polinizadas por insetos e aves. *Vriesea neoglutinosa* e *Melocactus violaceus* são autocompatíveis, polinizadas apenas por beija-flores. *V. neoglutinosa*, *P. pentagona* e *M. violaceus* têm populações sintópicas cujas flores são visitadas pela mesma guilda de beija-flores. *M. violaceus* também sofre autopolinização espontânea e apresenta depressão endogâmica na forma de aborto de embriões. Não houve sinais de competição pela polinização dos beija-flores entre as três espécies vegetais sintópicas e a produção de sementes férteis em *M. violaceus* foi maior quando floresceu junto com as outras espécies sintópicas.

ABSTRACT

Breeding system and pollination of five plant species were investigated to estimate the plant reproductive dependence on floral visitors. *Baccharis dracunculifolia*, a dioecious shrub with sexual dimorphism, is pollinated by solitary bees, flies and wasps, since visits of social bees and butterflies are restricted to male flowers. The other four plant species have hermaphrodite flowers. *Passiflora pentagona* and *Eriotheca candolleana* have pre- and post-zygotic self-incompatibility, respectively, and are pollinated by insects and birds. *Vriesea neoglutinosa* and *Melocactus violaceus* are self-compatible, and are only pollinated by hummingbirds. *V. neoglutinosa*, *P. pentagona* and *M. violaceus* have syntopic populations which flowers are visited by the same guild of hummingbirds. *M. violaceus* is also spontaneously self-pollinated, and shows inbreeding depression in the form of embryo abortion. There were no signs of competition for hummingbird pollination among the three syntopic plant species, and the production of fertile seeds by *M. violaceus* was highest when it flowered together with the other two syntopic species.

¹ Trabalho apresentado segundo as normas da revista Functional Ecology

INTRODUÇÃO.

A relação de flores e polinizadores aparece entre as citações mais freqüentes e ilustrativas de coevolução das interações de plantas e animais (Herrera, 1996). Desta idéia deriva o conceito das síndromes de polinização (Waser *et al.*, 1996) como um conjunto de atributos florais, entre eles os atrativos e os recursos disponíveis, que refletem a especialização entre flores a alguns grupos de visitantes organizados no nível taxonômico de ordem ou níveis superiores (Faegri & van der Pijl, 1979).

Sistemas de polinização muito especializados realmente ocorrem em alguns grupos de plantas, havendo diversos exemplos entre as Orchidaceae que oferecem perfume como recurso para machos de abelhas da tribo Euglossini (Vogel, 1963; van der Pijl & Dodson, 1966). Apesar da elevada especialização desta relação, machos de Euglossini coletam substâncias voláteis em outras fontes que não as florais (Ackerman, 1983; Whitten *et al.*, 1993), indicando uma certa independência em relação às flores como fonte de perfumes.

Numerosas situações demonstram que, apesar de ser uma relação mutualista, a polinização não é uma interação exatamente simétrica quanto à dependência dos organismos envolvidos (Waser *et al.*, 1996). Na verdade, a relação entre polinizadores e flores tem se mostrado bastante flexível em comunidades tropicais, variando circunstancialmente ao longo do tempo biogeográfico e evolutivo (Roubik, 1992).

Existe uma dependência mais evidente das espécies vegetais em relação aos polinizadores, uma vez que a polinização interfere na aptidão das plantas, afetando a produção de sementes (Proctor *et al.*, 1996). Por isto, há uma expectativa de que um incremento na atração de polinizadores favoreça um aumento de óvulos fecundados entre as flores zoófilas (Harder & Barret, 1996). O aumento da atratividade da flor pode, contudo, levar a restrições à fecundação pelo aumento da geitonogamia, tanto em espécies autocompatíveis que apresentam depressão endogâmica, como nas auto-incompatíveis pela competição entre o pólen endógeno e o exógeno (Mulcahy *et al.*, 1992; Klinkhamer & de Jong, 1993; Harder & Barret, 1996; Snow *et al.*, 1996).

Considerando as conseqüências das visitas das flores sobre a reprodução vegetal, pretende-se estudar a polinização e verificar o sistema reprodutivo das cinco espécies vegetais escolhidas, estimando assim o grau de dependência delas em relação a seus visitantes, para a formação de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS.

A fenologia de floração e os visitantes florais das espécies vegetais foram observados entre agosto de 1993 e outubro de 1996. *Baccharis dracunculifolia* foi observada na Reserva Municipal Mata de Santa Genebra, Campinas (22°26'S e 47°06'W), SP. *Melocactus violaceus*, *Passiflora pentagona* e *Vriesea neoglutinosa* foram estudadas numa área de vegetação de restinga do Parque Estadual Paulo César Vinha (17°35'S e 40°23'W), Guarapari, ES. *Eriotheca candolleana* foi observada no Campus da Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas (22°26'S e 47°06'W), SP, próximo a dois fragmentos de mata semidecídua.

Os caracteres morfológicos, a produção de néctar e a receptividade do estigma foram avaliados em intervalos regulares de tempo apropriados para cada espécie vegetal, ao longo do período de duração da flor, em seis flores para cada intervalo. Foram medidos o comprimento e a largura da corola e o comprimento dos órgãos reprodutivos. A receptividade do estigma foi determinada em campo, pela atividade da catalase estigmática sobre H_2O_2 (van Fleet, 1952) a 10 volumes, diluído de 1:9 em água destilada.

O néctar acumulado foi coletado com micropipetas de 5 μ L e 20 μ L, em seis flores previamente protegidas por sacos de tule. A concentração foi medida no campo com refratômetro portátil. As amostras foram guardadas em frascos de vidro previamente pesados, refrigeradas entre 7-10°C para transporte e mantidas a -30°C até a pesagem. A massa de néctar obtida foi determinada em balança analítica com precisão de 0,01mg.

Nas observações realizadas em microscopia fotônica foi empregado o pistilo de flores após polinização manual. Depois de retirados, os pistilos foram fixados a vácuo em FAA-50 por 24 horas e estocados em álcool etílico 70% até a montagem

das lâminas (Jensen, 1962). A diafanização dos pistilos foi feita em NaOH 9N, a 60°C, em tempo variando de 15 a 60 minutos, conforme a espécie.

O desenvolvimento do tubo polínico foi acompanhado em cinco flores coletadas em intervalos de 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas após autopolinização e polinização cruzada. Os pistilos diafanizados foram corados com azul de anilina (Martin, 1959) e analisados em microscopia de fluorescência.

Foram retirados os óvulos de flores que sofreram autopolinização e polinização cruzada, em intervalos diários até 10 dias após a polinização. Depois disto, os óvulos foram diafanizados em fluido de Herr (Herr, 1971) por um período de 3 a 7 dias e seu desenvolvimento foi observado em microscopia de interferência por contraste diferencial de Normarski (Herr, 1973).

No estudo do sistema reprodutivo foram realizados testes para agamospermia, endogamia e xenogamia, respeitadas as limitações e necessidades de cada espécie. Em cada tratamento foram utilizadas, no mínimo, 25 flores. Botões e flores utilizados foram protegidos por sacos de papel impermeável ou de tule. No transporte do pólen para o estigma, empregou-se estiletes descartáveis de madeira. As flores polinizadas manualmente permaneceram ensacadas por quinze dias, quando foram registrados os resultados dos tratamentos. Flores não manipuladas foram marcadas, ficando expostas à polinização em condições naturais e o registro dos resultados foi feito dez dias após a marcação.

Para avaliar a ocorrência de depressão endogâmica em *Melocactus violaceus*, a produção total de sementes e o número de sementes férteis foi contada em uma amostragem de um controle com 50 frutos produzidos por autopolinização espontânea em laboratório. Este controle foi comparado com as sementes de outros cinco lotes de 50 frutos produzidos por polinização em condições naturais, em maio, julho, agosto e dezembro. Em maio, *M. violaceus* estava florindo sozinho e, nos meses seguintes, floresceu junto com populações sintópicas de *Vriesea neoglutinosa*, depois com *V. neoglutinosa* e *Passiflora pentagona* e depois apenas com *P. pentagona*, respectivamente.

Testes para ocorrência de anemofilia foram realizados apenas para *B. dracunculifolia*. Consistiram em proteger um grupo de capítulos femininos com sacos de tule, permitindo livre ventilação, e outro grupo com sacos de papel impermeável que impediu tanto o acesso dos insetos como do vento.

A agamospermia foi testada em flores não polinizadas e emasculadas em pré-antese ou pela extirpação dos estigmas até duas horas depois das flores abrirem. Autopolinização espontânea foi testada em flores não emasculadas e sem polinização manual. Autopolinização e polinização cruzada foram testadas através de polinizações manuais controladas, utilizando pólen do mesmo indivíduo e de indivíduos diferentes, respectivamente.

As análises estatísticas dos dados foram feitas através de métodos paramétricos e não-paramétricos, aplicados a duplas e a múltiplas comparações (Zar, 1996). A análise de regressão foi utilizada para testar a relação entre eventos florais e a idade da flor (Snedecor & Cochran, 1980; Zar, 1996). As regressões lineares e polinomiais foram realizadas pelo programa SYSTAT, versão 5.0, e as não lineares pelo programa ORIGIN, versão 4.1.

RESULTADOS

Baccharis dracunculifolia (Asteraceae)

B. dracunculifolia é uma espécie arbustiva dióica que apresenta três a quatro episódios de floração ao longo do ano, podendo durar de 45 a 60 dias cada um. Nesta espécie há diferenças marcantes entre os morfos sexuais relativas à inflorescência e à flor. O capítulo masculino é campanulado e não apresenta pappus conspícuo (Fig. 1.1a). O capítulo feminino é fusiforme, com o pappus aparente desde o início da abertura das flores (Fig. 1.1b). Ambos podem durar de 3 a 5 dias, com abertura centrípeta de flores que duram cerca de 12 horas.

A flor masculina tem cerca de 4mm de comprimento e 0,4mm de largura, apresentando um pistilódio cujos ramos estigmáticos não se abrem e nem se tornam receptivos. A corola tubulosa é creme-esverdeada, emerge das brácteas involucrais e tem cinco lacínios revolutos. As anteras amareladas têm um comprimento de cerca de 1mm e são totalmente exertas. O pólen é exposto secundariamente, ao ser empurrado pelo estilete que cresce para fora do tubo formado pelas anteras

conadas. Um nectário em forma de disco circunda a base do estilete e há escassa produção de néctar.

A flor feminina é um pouco menor e mais estreita que a masculina, com cerca de 3,5mm de comprimento e 0,3mm de largura. A corola creme-esverdeada é filiforme e está totalmente imersa no capítulo. Apenas o terço final do estilete e os estigmas bífidos emergem acima do ápice do pappus. Embora também haja uma estrutura em forma de disco circundando o estilete no nível de sua inserção no ovário, não foi detectado néctar.

Os resultados do sistema de reprodução (Tab. 1.1) demonstram que não ocorreu agamospermia nas populações estudadas e que não houve produção de frutos por anemofilia. A frutificação em condições naturais foi menor que a das polinizações cruzadas manuais ($\chi^2 = 185,81$; $p < 0.05$; $gl = 1$).

As flores masculinas são visitadas ao longo das seis horas que duram, ao passo que as femininas são visitadas por, no máximo, quatro horas. Há insetos que visitam apenas as flores masculinas. Entre eles, as abelhas *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae) (Fig. 1.1i), *Trigona spinipes* (Hymenoptera:Apidae), *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera:Apidae), *Plebeia mosquito* (Hymenoptera:Apidae) (Fig. 1.1j) coletam pólen, e a borboleta *Hemiargus hanno* (Lepidoptera:Polyommatainae) (Fig. 1.1k) foi o único visitante a tomar néctar.

Outros visitam ambos os morfos e efetivamente polinizam as flores. As abelhas *Augochloropsis cupreola* (Hymenoptera:Halictidae) (Fig. 1.1d-e) e *Paroxystoglossa jocasta* (Hymenoptera:Halictidae) coletam pólen nas flores masculinas e inspecionam as femininas, aparentemente sem retirar recurso. A mosca *Ornidia obesa* (Diptera:Syrphidae) (Fig. 1.1f-g) e vespa *Polistes suberosa* (Hymenoptera:Vespidae) (Fig. 1.1h) se alimentam com pólen nas flores masculinas. Aparentemente *O. obesa* apenas inspeciona as flores femininas, enquanto *P. suberosa* foi vista cortando as cerdas do pappus em capítulos femininos, tanto em fase de flor como de fruto, quando o pappus está facilmente acessível.

Eriotheca candolleana (Bombacaceae)

Os quatro indivíduos observados tinham altura entre 2,5 e 8,0m e apresentaram um episódio anual de floração com duração aproximada de três meses, coincidente com a perda das folhas. Num dos anos, a florada iniciou-se em maio e terminou em agosto. Outras duas iniciaram-se em julho e terminaram em outubro.

As flores abrem em pulsos assíncronicos que ocorrem entre 07:00h de um dia e 01:00h do dia seguinte. Antes de uma flor se abrir, as pétalas começam a afastar-se da base para o ápice do botão e mantêm-se coesas na porção distal, formando uma hélice devido à imbricação contorta (Fig. 1.2a). A abertura se dá de forma explosiva e pode ser espontânea ou provocada por abelhas de grande porte. As pétalas têm forma espatulada e cor creme clara, e a corola tem um diâmetro de 44 a 53mm. O pólen está disponível, mas os estigmas estão imersos no feixe de estames (Fig. 1.2a-d), com os cinco lobos fechados e ainda não receptivos.

Depois da abertura, as pétalas se fletem em oposição ao ápice dos estames. A imbricação das pétalas, associada ao cálice gamossépalo, forma uma flor funcionalmente tubulosa, com um tubo que mede 13 a 21mm de comprimento. Progressivamente a corola e os estames murcham e sua cor creme se intensifica, passando a um castanho-avermelhado. Até seis horas após a abertura ocorrem a redução mais intensa do diâmetro externo da flor na altura da fauce (Fig 1.3a) e a retração no nível das anteras (Fig. 1.3b).

Concomitantemente, o estilete se projeta em oposição aos estames. Partindo de um ângulo entre 3° e 9°, o estilete passa a ângulos de 13° a 20° cerca de seis horas após a abertura da flor (Fig. 1.3c), expondo o terço distal do estilete, apesar dos estigmas ainda não estarem com seus ramos afastados e nem receptivos. Cerca de dez horas após a flor abrir, os estigmas se afastam (Fig. 1.2e), tornando-se secretores, mantendo-se assim por mais 24 horas e fechando após este período.

O nectário está na face interna da base do cálice (Fig. 1.2d) e sua secreção se acumula entre as pétalas e o tubo estaminal (Fig. 1.2c). Durante a fase receptiva do estigma, a produção de néctar foi cerca de três vezes maior que a da não receptiva (Fig.1.3D). A concentração do néctar variou de 5 a 65% (Fig. 1.10), sem apresentar diferença entre as duas fases funcionais do estigma ($t_{0.461;86} = -0.741$).

Como a abertura de flores não é sincrônica, flores em diferentes estádios ocorrem numa mesma inflorescência (Fig. 1.2g).

Apesar do estilete ficar pelo menos seis horas em meio às anteras, nenhum fruto foi produzido nos experimentos de autopolinização espontânea, nem nos de polinização cruzada realizada em estigmas não receptivos. Não ocorreu agamospermia e apenas frutos resultantes de polinização cruzada amadureceram (Tab. 1.1), com um sucesso significativamente maior que o da polinização em condições naturais ($\chi^2 = 51,84$; $p < 0.01$; $gl = 1$).

Tanto nos tratamentos de autopolinização como nos de polinização cruzada, os grãos de pólen germinaram nos estigmas (Fig. 1.4a-b) seis horas após a polinização. Os tubos polínicos cresceram sem alterações morfológicas ao longo do estilete (Fig. 1.4c-d), chegando ao ovário e iniciando a penetração nos óvulos em 72 horas após a polinização (Fig. 1.4e-f). Entretanto, não foram obtidos frutos por autopolinização (Tab. 1.1), sendo que os ovários sofreram abscisão entre o quinto e o sétimo dias após o tratamento.

Na ocasião da abertura da flor, o saco embrionário ainda não pode ser visto nos óvulos (Fig. 1.5a). Entre 24 e 48 horas após o estigma estar receptivo, ocorre uma progressiva hialinização do saco embrionário em meio ao nucelo (Fig. 1.5b). Depois do tubo polínico penetrar os óvulos, a fecundação ocorre em ambos os tratamentos (Fig. 5 c-d), com formação do zigoto. Os zigotos se formam em ambos entre 72 e 96 horas após a polinização.

Não foram vistos núcleos do endosperma contemporâneos ao zigoto nos óvulos autofecundados (Fig. 1.5c), ao contrário dos que sofreram fecundação cruzada (Fig. 1.5d). O zigoto formado não se dividiu após a autofecundação, degenerando-se após um a dois dias, quando foram vistos núcleos do endosperma na porção central do saco embrionário (Fig. 1.5e) e, a partir deste ponto, os ovários autofecundados sofrem abscisão. Para o mesmo período, os zigotos da fecundação cruzada sofreram uma divisão periclinal, com diferenciação da primeira célula do suspensor (Fig. 1.5f).

A interação de flores e visitantes começa nos botões na iminência de abrir. *Xylocopa brasiliatorum* (Hymenoptera:Anthophoridae) (Fig. 1.6a,d,g) e *X. ordinaria* tanto podem abri-los, utilizando as partes bucais para forçar o ápice dos botões (Fig. 1.6a), como podem tomar néctar, introduzindo a língua no espaço entre as pétalas,

na altura do cálice (Fig. 1.6g,h). Depois de abrir os botões, estas espécies seguram o androceu com as pernas (Fig. 1.6d) e, vibrando o conjunto, recebem grande quantidade de pólen na parte ventral do corpo.

Megachile sp (Hymenoptera:Megachilidae) (Fig.1.6b) e *E. fulvopilosa* (Fig. 1.6c) também tentam, sem sucesso, abrir botões e coletam pólen em flores recém abertas (Fig. 1.6e,f). *Trigona spinipes* (Hymenoptera:Apidae) coleta pólen nas flores, mas também perfura botões em busca de pólen (Fig. 1.6i). A atividade destas abelhas ocasiona redução drástica na quantidade de pólen das flores visitadas.

Megachile sp (Fig. 1.7a), *X. ordinaria* (Fig. 1.7b), *Centris fuscata* (Hymenoptera:Anthophoridae) (Fig. 1.7c), *Pterourus scamander grayi* (Lepidoptera: Papilionidae) (Fig. 1.7d), *Polygonus leo leo* (Lepidoptera:Hesperiidae), (Fig. 1.7e), *Polytrix octomaculata octomaculata* (Lepidoptera:Hesperiidae) (Fig. 1.7f), *Coereba flaveola* (Passeriformes:Coerebidae) (Fig. 1.7g), *Amazilia lactea* (Apodiformes: Trochilidae) (Fig. 1.7h) e *Eupetomena macroura* (Apodiformes: Trochilidae) (Fig. 1.7i) são os visitantes que exploram néctar nas fases masculina e feminina da flor. A coleta de néctar começa após a redução da carga polínica das anteras. Quando os estames estão murchos, cerca de oito horas após a antese, pouco pólen resta nas anteras. Os estigmas tornam-se receptivos enquanto as flores passam por um período noturno de oito horas em que não recebem visitas.

O pólen adere na parte ventral do corpo das abelhas e na face inferior do corpo e das asas das borboletas durante a visita às flores na fase masculina. Abelhas e borboletas contactam os estigmas quando se movimentam pela flor e enquanto introduzem a língua para tomar néctar. Entre as aves, *C. flaveola* recebe pólen no bico e na fronte, tocando os estigmas com estas partes. Os beija-flores recebem pólen no bico, sendo que em *A. lactea* também foi visto pólen, eventualmente, aderido às penas do pescoço. O contato dos beija-flores com os estigmas é ocasional.

Apenas *X. brasiliatorum* não visitou flores em fase feminina. *E. fulvopilosa* (Fig. 1.6c,f), *P. leo leo* (Fig. 1.7e) e *P. octomaculata octomaculata* (Fig. 1.7f) são visitantes esporádicos. A não ser as borboletas, os demais visitantes promovem predominantemente a geitonogamia. *A. lactea* e *E. macroura* apresentam um comportamento territorial de defesa de recurso, com encontros agonísticos intra- e interespecíficos, inclusive com *C. flaveola*.

Melocactus violaceus (Cactaceae)

As populações de *M. violaceus* se estabelecem nas manchas de areia expostas entre as moitas da vegetação de restinga da área estudada. Os indivíduos podem medir até 15cm de altura, incluindo o corpo vegetativo, freqüentemente não ramificado, e o cefálio (Fig. 1.8a). A propagação vegetativa pode ocorrer em condições naturais, tanto por brotamentos aéreos em indivíduos senis (Fig. 1.8b) como subterrâneos, resultando em grupos de dois a três perfilhos para um mesmo sistema radicular (Fig. 1.8d).

Nas populações estudadas, grupos de indivíduos se alternam em episódios de floração que duram de 15 a 29 dias, havendo intervalos de 17 a 25 dias sem flor entre cada episódio. Em consequência, existem flores e frutos disponíveis em todos os meses do ano. A inflorescência de *M. violaceus* está imersa no denso conjunto de tricomas e cerdas do cefálio (Fig. 1.8e). Em cada indivíduo da população de *M. violaceus* abre, comumente, uma flor de cada vez, sendo mais rara a abertura de duas ou três flores (Fig. 1.8c). O diâmetro do perigônio mede 7mm. O tubo formado pelo hipanto mede 12,5 a 13,3mm de comprimento, com diâmetro externo de 2,7 a 3,4mm, enquanto o interno é de 0,7 a 1,3mm.

Após as 14:00h, quando o perigônio de coloração magenta aparece na superfície do cefálio, o estilete está com sua base recurvada, acomodada no interior da câmara nectarífera (Fig. 1.8f). Assim que as primeiras tépalas se afastam, o estilete se distende e passa entre as anteras (Fig. 1.8g-h), quando os estigmas são autopolinizados. Até as 15:00h, a flor está aberta e, após as 18:00h, as tépalas estão fechadas. A flor está novamente imersa no cefálio até as 21:00h.

A secreção de néctar inicia-se quase no mesmo horário em que o perigônio completa sua abertura e o acúmulo máximo ocorre cerca de duas horas após, por volta das 17:00h. Logo em seguida começa a reabsorção do néctar, sendo que a flor se fecha antes de completar a reabsorção (Fig. 1.9a). A concentração do néctar variou de 15 a 65% durante a primeira hora de abertura da flor e, a partir daí, variou entre 24 e 42% (Fig. 1.10).

As flores são visitadas pelos beija-flores *Amazilia fimbriata* (Fig. 1.17e) e *Polytmus guainumbi* (Trochilidae: Trochilinae) durante as três horas que ficam abertas. Os beija-flores foram avistados freqüentemente em poleiros próximos a

manchas de *M. violaceus*, mas não foram vistos encontros agonísticos intra- ou interespecíficos durante o período de visitas.

De 30 flores fixadas após a autopolinização espontânea, 3 (10%) não foram polinizadas, em 11 (36,7%) havia menos de 30 grãos de pólen em todo o estigma e, nas outras 16 (53,3%) havia bem mais de 40 grãos. Os grãos de pólen germinam no estigma (Fig. 1.11a) em, no máximo, seis horas. O tubo polínico cresce sem reações de incompatibilidade (Fig. 1.11b), atingindo o ápice do ovário de 36 a 48 horas depois (Fig. 1.11c-d). Os sacos embrionários são penetrados entre 60 e 72 horas após a polinização (Fig. 1.11e-f).

No instante da abertura da flor, o saco embrionário ainda não está visível nos óvulos (Fig. 1.12a), o que só ocorre cerca de 18 horas após a antese. Os zigotos podem ser vistos 24 horas após a fecundação (Fig. 1.12b), quando os ovários apresentam, no mínimo, o dobro do tamanho inicial. Os pró-embriões se apresentam como uma faixa única de três células (Fig. 1.12c) 48 horas após a formação do zigoto. A célula apical sofre uma primeira divisão anticlinal de 24 a 36 horas após este estágio, delimitando um suspensor com duas células e caracterizando o embrião propriamente dito (Fig. 1.12d).

O desenvolvimento embrionário pode ser interrompido em qualquer ponto entre a formação do zigoto (Fig. 1.12e) e a diferenciação do embrião (Fig. 1.12f). Em ambos os casos, a degeneração celular é acompanhada de retração do endosperma (Fig. 1.12e-f), resultando em sementes estéreis desde estádios anteriores à pigmentação da testa, até sementes que só não têm embrião, mas que o aspecto da testa é igual ao da semente fértil.

Não ocorreu agamospermia e a produção de frutos por autopolinização espontânea foi menor que a da polinização em condições naturais (Tab. 1, $\chi^2=13,83$; $p < 0.01$; $gl=1$). A produção de sementes por fruto, em condições naturais, apresentou diferenças significativas entre os diferentes meses amostrados e em relação à autopolinização espontânea (Tab. 1.2).

No mês de maio, quando *M. violaceus* floriu sozinho, o número de sementes por fruto foi menor que o dos outros meses e não houve diferenças em relação à autopolinização espontânea. Em agosto, quando *P. pentagona* e *V. neoglutniosa* também estavam em flor, a produção de sementes por fruto de *M. violaceus* foi maior que nos demais meses, bem como nos resultados da autopolinização

espontânea. As diferenças entre os demais meses e a autopolinização espontânea não foram significativas (Tab. 1.3).

O número de sementes férteis apresentou diferenças mais expressivas que a produção total de sementes por fruto (Tab. 1.4). O número de sementes férteis em frutos obtidos por autopolinização espontânea foi menor que o obtido pela polinização em condições naturais em julho e agosto, não havendo diferenças em relação a maio e dezembro. A produção de maio e a de dezembro não foram diferentes entre si, mas a quantidade de sementes férteis produzida por fruto naqueles meses foi menor que nos demais. Não houve diferenças significativas entre o número de sementes férteis obtido em julho e em agosto (Tab. 1.5).

Passiflora pentagona (Passifloraceae)

P. pentagona é um subarbusto escandente por gavinhas, com ramos longos e flexuosos, predominantemente associado a outros subarbustos e arbustos eretos nas moitas da vegetação de restinga. Também pode ocupar, mas com menor frequência, as manchas de areia exposta entre as moitas. Em meados de julho surgem os primeiros botões e suas flores estão disponíveis, com maior abundância, de agosto até janeiro. Entre janeiro e abril, as flores tornam-se menos numerosas, desaparecendo entre maio e junho.

A abertura das flores começa por volta de 07:00h. Nesta ocasião possui néctar na câmara nectarífera (Fig. 1.13b), mas ainda não iniciou a liberação de odor. Uma hora após a abertura das flores, começa a emissão de um perfume forte e adocicado. Os estigmas estão receptivos e ainda estão orientados em oposição aos estames (Fig. 1.13a). O nectário secreta continuamente até o fechamento da flor, entre 18:00 e 19:00h (Fig. 1.9b). A concentração do néctar variou entre 5 e 50% ao longo do período de duração da flor (Fig. 1.10). O número diário de flores que não recebem visitas é elevado. Flores que não foram visitadas podem ser reconhecidas pelo fato do volume acumulado de néctar ultrapassa o nível do opérculo fimbriado, podendo preencher o tubo do hipanto cujo diâmetro varia de 4 a 8mm (Fig. 1.13b), quando o néctar não é retirado.

Pétalas e sépalas formam um conjunto de coloração branca, em vista superior, com envergadura de 43 a 56mm. A coroa circunda a abertura do tubo do hipanto. Possui duas séries de filamentos crassos e laminares, de coloração amarelo-esverdeada, com máculas vinosas. No ciclo externo da coroa, os filamentos têm de 11 a 19mm de altura, sendo de três a quatro vezes maiores que os do ciclo interno. Os estames e a base do ovário são elevados de 14 a 20mm acima da fauce pelo androginóforo. Quando as anteras e os estigmas estão totalmente fletidos, ficam na mesma altura que o ápice da coroa ou de 3 a 5mm acima (Fig. 1.13b-c).

Antes da segunda hora após a abertura da flor, os estames sofrem sua deflexão máxima. A movimentação dos estiletes é mais lenta que a dos estames, e sua deflexão máxima ocorre entre cinco e seis horas após a abertura da flor. Por volta das 13:00h, os estiletes estão numa inclinação de 80 a 120° em relação a seu estado inicial (Fig. 1.14A). A partir daí, os estiletes começam a voltar ao seu estado original, porém de forma mais lenta que a deflexão (Fig. 1.14A).

A polinização cruzada foi o único experimento em que houve formação de frutos (Tab. 1.1). A germinação do pólen ocorre de quatro a seis horas após a deposição nos estigmas, tanto na autopolinização como na polinização cruzada. Na polinização cruzada, os tubos polínicos têm espessura regular e alcançam a porção mediana do estilete após 8 a 12 horas (Fig. 1.15b). Na autopolinização, os tubos crescem sem direção bem definida e adquiriram pontos de alargamento irregular (Fig. 1.15a,c), demorando, no mínimo 36 horas para atingir o topo do ovário. Os tubos mantiveram-se retorcidos na placenta, sem conseguir penetrar nos óvulos mesmo 48 horas após a polinização (Fig. 1.15e). Na polinização cruzada, os tubos alcançam o ápice do ovário (Fig. 1.15d) entre 18 e 24 horas e penetram nos óvulos (Fig. 1.15f) a partir de 24 horas.

Cerca de três horas após a abertura das flores, o saco embrionário já pode ser visto nos óvulos (Fig. 1.16a). O zigoto pode ser observado entre 12 e 24 horas após a penetração do óvulo pelo tubo polínico (Fig. 1.16b,d,f). Nos óvulos que não são fecundados ocorre a separação dos dois tegumentos, cerca de 36 horas após a abertura da flor (Fig. 1.16c). Decorridas mais 12 a 24 horas, este processo atinge todo o óvulo, com sinais de necrose na região do saco embrionário e do nucelo, que também se separa do tegumento interno (Fig. 1.16e).

As flores são polinizadas por abelhas de grande porte e por beija-flores que realizam visitas ao longo de 10 horas. Entre as abelhas, estão fêmeas de *Centris longimana*, *C. lutea*, *Epicharis flava*, *E. rustica* (Anthophoridae:Centridini), *Xylocopa brasilianorum*, *X. frontalis* e *X. ordinaria* (Fig. 1.17.c) (Anthophoridae:Xylocopini); machos e fêmeas de *Eulaema cingulata* e *E. nigrita*; e machos de *E. seabrae* e *Euplusia surinamensis* (Apidae: Euglossini). Durante a coleta de néctar, as abelhas colocam-se entre a coroa e as anteras. Nesta ocasião as abelhas recebem pólen sobre o dorso do tórax, mas só realizam polinização nototribica após as 13:00h, quando os estigmas estão fletidos com ângulo maior que 90°(Fig 1.17a-b).

Nas primeiras horas da manhã e nas últimas do entardecer, ocorre a atividade mais intensa dos beija-flores *A. fimbriata* (Fig. 1.17d) e *P. guainumbi*. Durante a visita, recebem pólen na fronte e na região próxima da maxila, contactando um dos três estigmas ao introduzir o bico na flor para tomar néctar (Fig. 1.17a-b). Ambos foram vistos utilizando outros arbustos como poleiros tanto nas moitas de *P. pentagona* como em outras moitas até 100m de distância. Não foram observados encontros agonísticos intra- ou interespecíficos.

Outros insetos utilizam o néctar da flor durante suas visitas, mas não são polinizadores devido a suas pequenas dimensões em relação à distância entre os órgãos reprodutivos da flor. Foram observados indivíduos de *Musca domestica* (Diptera:Muscidae), fêmeas de *Augochloropsis cupreola* (Hymenoptera:Halictidae), fêmeas de *Centris analis* (Hymenoptera:Anthophoridae) e machos de *Euglossa cordata* (Hymenoptera:Apidae). Operárias de *Apis mellifera* (Hymenoptera:Apidae) foram as únicas que coletaram pólen ativamente nas anteras, mas não utilizaram o néctar.

Vriesea neoglutinosa (Bromeliaceae)

Esta é uma bromélia heliófila terrestre cujos indivíduos estão isolados em manchas ou contornando a periferia das moitas da vegetação de restinga. Pode também ocorrer, menos comumente, como epífita sobre arbustos e subarbustos desta vegetação. Propaga-se vegetativamente através de brotamentos no eixo caulinar em meio às folhas secas. As inflorescências surgiram no início de junho em

quase todos os indivíduos da população estudada. As primeiras flores abriram em julho e a espécie permaneceu em flor até setembro.

As inflorescências são panículas com sete a nove ramificações secundárias do escapo principal, cada um com oito a dez flores. Em cada inflorescência abre-se uma flor por dia. A abertura de duas ou três flores é mais rara numa mesma inflorescência. As sépalas e as pétalas são crassas e de cor amarela e, apesar de livres entre si, estão imbricadas e formam uma flor funcionalmente tubulosa. Uma bráctea vermelha envolve a flor (Fig. 1.13e) e reforça o formato tubuloso do perianto.

A abertura das flores inicia-se a partir de 01:00h, com pequeno afastamento entre as pétalas, insuficiente para expor os estames e o estigma. Nesta ocasião, as anteras estão fechadas, o estigma não está receptivo e não há néctar. Esta situação não se altera muito até as 04:00h, quando as pétalas estão suficientemente afastadas para expor os estames e o estigma, conjunto que está praticamente ao nível da fauce. Os estames, apesar de livres, estão agrupados num feixe, no plano superior da flor (Fig. 1.13e-h).

Após as 04:00h, os ápices das pétalas tornam-se reflexos (Fig. 1.13f), até o tubo da flor medir 40 a 46mm de comprimento (Fig. 1.14B). Os órgãos reprodutivos continuam se alongando e a retração do nível da abertura do tubo floral facilita sua exposição. As anteras expõem o pólen entre 06:00 e 07:00h, quando os filetes praticamente se alongaram ao máximo (Fig. 1.14C), situando-se 4 a 6mm acima da abertura do tubo. O estigma ainda não está receptivo e o estilete continua se alongando (Fig. 1.14D). A partir de 11:00h o estigma torna-se receptivo, podendo estar em meio às anteras (Fig. 1.13f), ao nível (Fig. 1.13g), ou ainda 3 a 6mm acima (Fig. 1.13h).

A secreção de néctar começa por volta de 04:00h e a massa acumulada aumenta até sete horas após, sem variações expressivas entre 11:00 e 14:00h. Depois deste período, o néctar passa a ser reabsorvido (Fig. 1.9C). A concentração do néctar varia entre 5 a 35%, ao longo do período de secreção (Fig. 1.10). Após as 16:00h, os estigmas e as anteras apresentam sinais de oxidação e até as 19:00h, a corola murcha, fechando o tubo. O estigma e parte das anteras permanecem expostos.

Os beija-flores *A. fimbriata* e *P. guainumbi* (Fig. 1.17f) visitam as flores em intervalos de 40 a 60 minutos desde as 05:00h até as 14:00h. Depois disto, as

visitas tornam-se irregulares, cessando após as 16:00h. Durante a visita, anteras e estigma tocam o topo da cabeça dos beija-flores, efetuando a polinização. Quando as primeiras flores estão disponíveis em julho, os encontros agonísticos intra-específicos ocorrem com muita frequência entre os beija-flores. A partir de agosto, quando as flores são mais abundantes, indivíduos de ambas as espécies de beija-flores visitam indivíduos de *V. neoglutinosa* em comum, sem encontros agonísticos.

Quase todas as flores desenvolvem frutos em condições naturais de polinização. Não ocorreu agamospermia e não houve diferença entre os frutos obtidos por autopolinização manual e por polinização cruzada (Tab. 1; $\chi^2=3,81$; $p>0.05$; $gl=2$). Em ambos os tratamentos, também não houve diferenças quanto à germinação do pólen, ao crescimento de tubo polínico e ao desenvolvimento dos óvulos após a fecundação.

Os tratamentos de autopolinização manual feitos em estigmas não receptivos produziram frutos sem diferenças significativas em relação aos realizados em estigmas receptivos ($\chi^2=1,48$; $p>0.05$; $gl=1$), apesar da flor ser protândrica. Menor proporção de frutos foi obtida por autopolinização espontânea (Tab. 1.1), que ocorre pelo contato do estigma com as anteras durante o alongamento do estilete.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Tomando o sistema de reprodução como indicador da necessidade de polinizadores, foram caracterizadas demandas bem diferenciadas entre as cinco espécies vegetais estudadas. Os casos encontrados podem ser organizados numa seqüência que vai da dioícia, com dependência total de agentes polinizadores (Lloyd, 1982; Bawa, 1990; Renner & Feil, 1993; Bawa, 1994; Renner & Ricklefs, 1995), até a autopolinização espontânea, com variados graus de sucesso na produção de sementes.

B. dracunculifolia foi o caso de dioícia. As outras quatro espécies possuem flores hermafroditas que apresentam desde depressão endogâmica à auto-incompatibilidade pré- e pós-zigótica. As particularidades de cada espécie levaram à delimitação das questões relevantes para a investigação química dos voláteis florais.

Baccharis dracunculifolia

Unidades florais como as de *B. dracunculifolia*, pequenas, esverdeadas e com escassa produção de néctar, têm sido encontradas nos trópicos, em espécies dióicas de florestas (Bawa, 1990) e na vegetação lenhosa do cerrado (Oliveira, 1996). Flores assim descritas como simples e inconspícuas (Bawa 1990, Renner & Feil, 1993; Bawa, 1994; Renner & Ricklefs, 1995; Oliveira, 1996) têm sido associadas a sistemas de polinização que envolvem diversas ordens de insetos pequenos que apresentam variados graus de especialização para os recursos florais (Bawa 1990, Renner & Feil, 1993; Bawa, 1994; Renner & Ricklefs, 1995).

Em *B. dracunculifolia*, a inflorescência feminina não tem pólen e, praticamente, também não possui néctar. Em casos como este, o mimetismo intersexual tem sido apontado como um dos possíveis promotores de visitas a ambas as flores (Bawa, 1980; Wilson & Ågren, 1989; Schemske *et al.*, 1996).

As flores e as inflorescências masculinas e femininas de *B. dracunculifolia* apresentam, entretanto, diferenças morfológicas bem marcadas, caracterizando dimorfismo sexual comum entre as espécies de *Baccharis* (Barroso, 1976). O dimorfismo sexual, em relação ao tamanho da flor, é um evento relativamente comum entre flores unissexuadas e parece não sofrer pressão seletiva dos polinizadores, pois não tem apresentado associação significativa com sistemas bióticos ou abióticos de polinização (Delph, 1996). O dimorfismo sexual em *B. dracunculifolia* (Fig. 1.1a-b) dificulta, entretanto, a aceitação de que semelhanças morfológicas ou visuais entre as flores pudessem guiar mimeticamente os visitantes a ambos os tipos de flores.

Além das diferenças morfológicas, em *B. dracunculifolia* ocorre também a segregação entre abelhas sociais que visitam apenas os capítulos masculinos, e as abelhas solitárias, as vespas e as moscas que visitam ambos os morfos. Este fato pode ser relacionado à capacidade de aprendizado e memória de abelhas sociais, o que tem justificado, experimentalmente, os casos em que as abelhas se mantêm forrageando em determinadas flores, mesmo quando há outras disponíveis, com quantidade de recurso equivalente (Lewis, 1993; Dukas & Real, 1993).

A expectativa de memória de abelhas solitárias é bem menor que a das sociais, dificultando que associem sinais florais à oferta de recurso, por limitações de

aprendizado (Dukas & Real, 1993). De fato, abelhas e outros insetos solitários têm sido associados a serviços de polinização de plantas dióicas em que apenas um dos morfos oferece recurso (Schemske *et al.*, 1996), sendo que a polinização depende da inexperiência de insetos jovens recém eclodidos (Dobson, 1987).

Como a produção de sementes em *B. dracunculifolia* depende da atividade dos polinizadores (Tab. 1) e há pouca semelhança morfológica intersexual (Fig. 1.1a-b), falta esclarecer que sinal levaria os visitantes a ambos os morfos. Nestes casos, sugeriu-se que a semelhança entre os morfos sexuais pode ser estabelecida por um perfil comum de odores florais (Bawa, 1980; Little, 1983; Wilson & Ågren, 1989), o que resultou num estudo mais detalhado sobre a participação dos voláteis florais na polinização de *B. dracunculifolia* (vide Capítulo II).

Eriotheca candolleana

E. candolleana apresentou reação de autoincompatibilidade tardia, como ocorre em *Eriotheca gracilipes* (Oliveira *et al.*, 1992). Nestes casos, a produção de sementes em populações auto-incompatíveis é fortemente influenciada e dependente da distância entre diferentes genetas disponíveis na área de ocorrência (Richards, 1997; Talavera *et al.*, 1993; Reinartz & Les, 1994).

Em função da baixa densidade em formações florestais, as flores de *E. candolleana* se apresentam como um recurso disposto em mancha, em meio à vegetação (Silva *et al.* 1997). Nestas condições, há grandes distâncias entre indivíduos co-específicos e a geitonogamia é freqüente devido à tendência de deslocamento de visitantes entre flores próximas (Snow *et al.*, 1996). Como em *E. candolleana* a autoincompatibilidade é pós-zigótica, a geitonogamia tende a reduzir a reprodução sexuada, uma vez que o pólen que circula entre as flores de uma mesma planta não sofre restrições quanto à germinação e nem quanto à fecundação e os óvulos autofecundados não produzem sementes (Mulcahy *et al.*, 1992, Snow *et al.*, 1996, Proctor *et al.*, 1996).

A assincronia dos pulsos de abertura de flores minimiza o efeito da dicogamia de *E. candolleana* na redução da geitonogamia (Snow *et al.*, 1996). Por outro lado, diversos fatores, entre os quais o nível de saciedade do visitante, tendem a restringir

a atividade dos visitantes quanto ao número de flores visitadas em relação às disponíveis e podem assumir um papel mais relevante que a dicogamia para aumentar a produção de sementes (Klinkhamer & de Jong, 1993; Snow *et al.*, 1996).

Oliveira *et al.* (1992) consideraram as flores de *Eriotheca* como melitófilas devido, principalmente, à morfologia do androceu, e propuseram a melitofilia como uma condição derivada neste grupo taxonômico primitivamente polinizado por vertebrados. Se forem consideradas, entretanto, outras características do gênero, como os pedicelos proporcionalmente longos e as inflorescências que podem aparentar fasciculadas ou umbeliformes, dependendo do grau de redução do eixo (Robyns, 1963), *E. candolleana* apresenta atributos em comum com outras flores polinizadas por passeriformes (Westerkamp, 1990; Sazima *et al.*, 1993; Bittrich & Amaral, 1996).

A importância de insetos e aves na polinização de *E. candolleana* pode, contudo, variar entre as áreas de ocorrência que vai desde de Goiás (Robyns, 1963) até regiões com altitude entre 900 e 1100m no sudeste do Brasil, com temperaturas baixas (18 a 20°C), mesmo nos períodos mais quentes do ano (Oliveira-Filho *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 1997). Nestas condições, a polinização por insetos tenderia a perder importância em relação a vertebrados (Cruden, 1972; Arroyo *et al.*, 1982), principalmente pelo fato da floração de *E. candolleana* poder iniciar-se em meados de maio, prolongando-se por três meses (Robyns, 1963) que podem estar contidos em parte do inverno, com temperaturas entre 10-16°C (Silva *et al.*, 1997).

As espécies de aves e de borboletas visitantes de *E. candolleana*, possuem ampla distribuição geográfica (Grantsau, 1986; Sick, 1988; Brown, 1992), sobrepondo-se à área de distribuição da planta (Robyns, 1963). Por isto, é provável que *E. candolleana* utilize aves e insetos como polinizadores, dependendo de variações locais e sazonais de temperatura.

Diante destas possibilidades, a próxima etapa desta investigação pretende verificar como os sinais químicos voláteis e a oferta de néctar influenciam a visitação a *E. candolleana* em indivíduos cultivados em área próxima a dois fragmentos de mata semidecídua (vide Capítulo III).

Melocactus violaceus

Numa revisão de *Melocactus* para as Américas Central e do Sul, Taylor (1991) concluiu que as espécies deste gênero se reproduzem em seu *habitat* exclusivamente através de sementes, pelo fato dos indivíduos normalmente não apresentarem caule ramificado, a não ser quando danificado. Em *M. violaceus* ocorreu, entretanto, propagação vegetativa em condições naturais tanto por brotamento aéreo de indivíduos senis (Fig. 1.8b) como subterrâneo (Fig. 1.8d), sem dano caulinar aparente. Indivíduos afastados cerca de 1,0 a 1,5 m e ligados pelo sistema radicular foram observados numa vegetação semelhante à de restinga, próxima a uma floresta de tabuleiro em Linhares (19°12'S e 40°02'W), ES (J. Vasconcelos-Neto, com. pes.).

Taylor (1991) admitiu a ocorrência de autopolinização nas espécies do gênero como um evento secundário, pois seriam adaptadas à polinização cruzada, realizada por beija-flores. Em *M. violaceus*, o sucesso na formação de frutos por autopolinização espontânea foi, entretanto, apenas um pouco menor que a frutificação em condições naturais (Tab. 1.2, 1.3). A atividade dos beija-flores promoveu, contudo, um aumento tanto da produção total de sementes como de sementes férteis em condições naturais (Tab. 1.4, 1.5).

A produção de sementes férteis, em particular, foi menor quando apenas *M. violaceus* estava florindo sem as outras espécies sintópicas. Nesta condição, a seleção *a posteriori* de zigotos por depressão endogâmica tem sido relatada como uma estratégia capaz de garantir algumas sementes e uma certa variabilidade genética, principalmente quando as espécies envolvidas são pluri-espérmicas (Charlesworth & Charlesworth, 1990; Comes, 1994; Kraus, 1994).

Assim como *M. violaceus*, outras espécies do gênero são regularmente visitadas por beija-flores (Rogers & Evans, 1981; Howard, 1989). Mesmo considerando que pequenas abelhas, borboletas, formigas e até mesmo um pequeno lagarto possam, no mínimo, influenciar a polinização das espécies deste gênero, Taylor (1991) concluiu que as flores de *Melocactus* seriam primariamente adaptadas à ornitofilia. Entretanto, em função da importância da autopolinização espontânea para a produção de sementes em *M. violaceus*, os beija-flores

funcionam como co-polinizadores, responsáveis por um aumento na produção de sementes férteis e variabilidade genética.

Passiflora pentagona

P. pentagona pertence ao subgênero *Astrophea*, para o qual Escobar (1994) formulou a hipótese da existência de dois grupos de síndromes de polinização zoófila, baseados em atributos morfológicos da flor. Um deles reúne as espécies provavelmente polinizadas por beija-flores, com flores de coloração brilhante entre o púrpura e o alaranjado, e tubo do hipanto bem desenvolvido. No outro estão as espécies provavelmente polinizadas por abelhas de grande porte, com flores como as de *P. pentagona*, de cor branca ou alvo-esverdeada, com corona amarelada, com tubo do hipanto curto. *P. pentagona* é efetivamente polinizada por abelhas de grande porte, como outras espécies de flores perfumadas de diferentes sub-gêneros de *Passiflora* (Koschinitzke & Sazima, 1997; Varassin & Silva, 1997), mas os beija-flores também atuam como polinizadores.

As flores de *P. pentagona* são funcionalmente protândricas para as abelhas, de cuja atividade matinal resulta a remoção de pólen do flor, antes que os estigmas se tornem acessíveis à polinização nototribica. Separação funcional semelhante a esta ocorre em flores de outras espécies de *Passiflora*, mas representa uma consequência da assincronia na deflexão dos estiletes (May & Spears-Jr, 1988; Varassin & Silva, 1997). Desta forma, flores predominantemente doadoras de pólen coexistem com outras funcionalmente hermafroditas, caracterizando uma andromonoiccia funcional (Gottsberger *et al.*, 1988; May & Spears-Jr, 1988; Varassin & Silva, 1997), proposta como mecanismo modulador da alocação de recursos para produção de sementes (May & Spears-Jr, 1988). O número de flores de *P. pentagona* disponível é, entretanto, muito maior que a capacidade de visita das abelhas. Por isto flores predominantemente femininas podem ser encontradas após as 13:00h, junto com flores que ainda têm pólen e os estigmas estão fletidos, caracterizando ginomonoiccia funcional em *P. pentagona*.

P. pentagona é autoincompatível, como outras espécies de *Passiflora* da mesma área (Varassin, 1996). Como as abelhas tendem a circular entre as flores de

um mesmo indivíduo, a competição entre pólen endógeno e exógeno pela germinação pode causar redução de fecundidade dos cruzamentos, em decorrência da geitonogamia (Mulcahy *et al.*, 1992, Snow *et al.*, 1996, Proctor *et al.*, 1996). É possível que a ginomonoiccia funcional de *P. pentagona* contribua para reduzir o impacto da geitonogamia sobre a produção de sementes (Mulcahy *et al.*, 1992, Snow *et al.*, 1996) nesta espécie autoincompatível.

Vriesea neoglutinosa

A população de *V. neoglutinosa* em Guarapari, ES, apresenta algumas diferenças quanto ao período de floração, horário de abertura da flor e crescimento do estilete, em relação à estudada por Martinelli (1994) em Paratyrimirim, RJ. De um modo geral, as flores da população de Guarapari começam a abrir quatro horas mais cedo e fecham-se também cerca de quatro horas mais cedo que a de Paratyrimirim (Martinelli, 1994).

A população de Guarapari é autocompatível como a de Paratyrimirim (Martinelli, 1994). A autopolinização espontânea teve algum sucesso na produção de frutos (Tab. 1.1). Martinelli (1994) não investigou a ocorrência de autopolinização espontânea na população de Paratyrimirim, mas encontrou uma produção de frutos com sucessos muito próximos entre a autopolinização e a polinização cruzada. Não houve diferenças quanto ao crescimento dos tubos polínicos e ao número de fecundações entre a autopolinização e a polinização cruzada na população de Guarapari. Martinelli (1994) apontou indícios, entretanto, de crescimento mais acelerado dos tubos polínicos na polinização cruzada, na população de Paratyrimirim.

Os encontros agonísticos intra-específicas dos beija-flores que ocorreram no início da florada de *V. neoglutinosa* também foram observados numa disjunção de vegetação de restinga, próxima a uma floresta de tabuleiro em Linhares, ES, numa população em que *A. fimbriata* e *P. guainumbi* foram os principais polinizadores (van Sluys & Stoltz, 1995). Esta característica de comportamento territorial (Armstrong, 1992) não foi mais observada em Guarapari após um número maior de indivíduos oferecer flores abertas.

Quando aumentou a frequência de indivíduos com flores abertas em Guarapari, houve ocasiões em que as duas espécies de beija-flores usaram uma mesma planta, sem encontros agonísticos. Este fato se repetiu na população de *V. neoglutinosa* de Linhares (van Sluys & Stoltz, 1995). Para explicar o uso comum de um recurso floral por beija-flores de comportamento territorial, sem interações agonísticas, van Sluys & Stoltz (1995) propuseram que, em função da distribuição esparsa de indivíduos na população de *V. neoglutinosa* observada em Linhares, os beija-flores estabeleceriam territórios tão grandes que invasões poderiam ocorrer sem que houvesse possibilidade de defesa dos territórios estabelecidos. Em condições de escassez do recurso alimentar, Armstrong (1992) propôs que os animais precisariam forragear em áreas tão extensas, que a defesa territorial não seria dependente da disponibilidade do alimento, mas sim da possibilidade de defender o recurso disperso numa área tão grande.

Na população de Guarapari, o avistamento de encontros agonísticos foi mais comum quando a densidade de indivíduos em flor era menor. Os indivíduos desta população apresentam-se em manchas bastante dispersas na área, assim como a de Linhares (van Sluys & Stoltz, 1995). No início da florada, embora a densidade de indivíduos com flores abertas seja baixa, aqueles que florescem primeiro tendem a estar agrupados em manchas e este padrão espacial tem sido associado à defesa territorial por nectarívoros (Carpenter, 1987) e também por herbívoros (Ostfeld, 1992).

A Ligação entre as Espécies Sintópicas: *Melocactus violaceus*, *Passiflora pentagona* e *Vriesea neoglutinosa*

Estas três espécies sintópicas representam um dos poucos recursos alimentares explorados por beija-flores na área estudada, durante quase três meses. A competição interespecífica de plantas por polinizadores tem sido apontada como fator de pressão importante na interação entre plantas e guildas de beija-flores (Stiles, 1977), havendo uma controvérsia a respeito do impacto real que esta competição provoca sobre o deslocamento de caracteres (Stiles, 1977; Stiles, 1978; Murray *et al.*, 1987, Pleasants, 1990).

Como *P. pentagona* recebe visitas de 13 espécies de abelhas, além dos beija-flores, a eventual competição por guilda comum de polinizadores deveria ocorrer entre *V. neoglutinosa* e *M. violaceus*. Ao contrário do esperado para a competição (Rathcke, 1983; Rathcke, 1992), em condições naturais, o aproveitamento de flores na produção de frutos foi quase total em *V. neoglutinosa* (Tab. 1.1) e houve aumento da produção de sementes férteis em *M. violaceus* no período em que as espécies sintópicas floriram juntas (Tab. 1.4, 1.5). *V. neoglutinosa* e *M. violaceus* possivelmente se beneficiam da florada simultânea, como no tipo de interação caracterizada como cooperativa por Rathcke (1983).

Este sistema formado pelas três espécies vegetais foi utilizado para testar a participação de compostos voláteis florais e da oferta de néctar na relação entre abelhas e beija-flores e as flores destas plantas (vide Capítulo IV).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackerman, J.D. (1983). Specificity and mutual dependency of the orchid-euglossine bee interaction. *Biological Journal of Linnean Society*, **20**, 301-314.
- Armstrong, D.P. (1992). Correlation between nectar supply and aggression in territorial honeyeaters: causation or coincidence? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **30**, 95-102.
- Arroyo, M.T.K., Primack, R. & Armesto, J. (1982). Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of central Chile. I. Pollination mechanisms and altitudinal variation. *American Journal of Botany*, **69**, 82-97.
- Barroso, G.M. (1976). Compositae - subtribo Baccharidinae Hoffmann. Estudo das espécies ocorrentes no Brasil. *Rodriguesia*, **28**, 3-273.
- Bawa, K.S. (1980). Mimicry of male by female flowers and intrasexual competition for pollinators in *Jacaratia dolichaula* (D. Smith) Woodson (Caricaceae). *Evolution*, **34**, 467-474.
- Bawa, K.S. (1990). Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**, 15-39.
- Bawa, K.S. (1994). Pollinators of tropical dioecious angiosperms, a reassessment? No, not yet. *American Journal of Botany*, **81**, 456-460.
- Bittrich, V. & Amaral, M.C.E. (1996). Pollination biology of *Symphonia globulifera* (Clusiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **200**, 101-110.
- Brown Jr, K.S. (1992). Borboletas da Serra do Japi: diversidade, habitats, recursos alimentares e variação temporal. In: *História natural da Serra do Japi; ecologia e preservação de uma área florestal do Sudeste do Brasil* (org. L.P.C. Morellato), pp. 142-186. UNICAMP, Campinas.
- Carpenter, F.L. (1987). Food abundance and territoriality: to defend or not to defend? *American Zoologist*, **27**, 387-399.
- Charlesworth, D. & Charlesworth, B. (1990). Inbreeding depression with heterozygote advantage and its effect on selection for modifiers changing the outcrossing rate. *Evolution*, **44**, 870-888.
- Comes, H.P. (1994). Selfing ability and male sterility in *Senecio vernalis* Waldst. et Kit. (Asteraceae) from Israel. *Israel Journal of Plant Sciences*, **42**, 89-103.
- Cruden, R.W. (1972). Pollinators in high-elevation ecosystems: relative effectiveness of birds and bees. *Science*, **176**, 1439-1440.
- Delph, L.F. (1996). Flower size dimorphism in plants with unisexual flowers. In: *Floral biology, studies on floral evolution in animal-pollinated plants* (eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barret), pp. 217-237. Chapman & Hall, New York.
- Dobson, H.E.M. (1987) Role of flower and pollen aromas in host-plant recognition by solitary bees. *Oecologia*, **72**, 618-623.
- Dukas, R. & Real, L.A. (1993). Cognition in bees: from stimulus reception to behavioral changes. In: *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives* (eds. D.R. Papaj & A.C. Lewis), pp. 343-373. Chapman & Hall, London.

- Escobar, L.K. (1994). Two new species and a key to *Passiflora* subg. *Astrophea*. *Systematic Botany*, **19**, 203-210.
- Faegri, K. & van der Pijl, L. (1979). *Principles of pollination ecology*. Pergamon Press, Oxford.
- Gottsberger, G., Camargo, J.M.F. & Silberbauer-Gottsberger, I. (1988). A bee-pollinated tropical community: the beach dune vegetation of Ilha de São Luiz, Maranhão, Brazil. *Botanische Jahrbücher der Systematisches*, **109**, 469-500.
- Grantsau, R. (1986). *Os beija-flores do Brasil*. 2. ed. Expressão e Cultura, Rio de Janeiro.
- Harder, L.D. & Barret, S.C.H. (1996). Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. In: *Floral biology, studies on floral evolution in animal-pollinated plants* (eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barrett), pp. 140-190. Chapman & Hall, New York.
- Herr, J.M. (1971). A new clearing-squash technique for the study of ovule development in angiosperms. *American Journal of Botany*, **58**, 785-790.
- Herr, J.M. (1973). The use of Normarski interference microscopy for the study of the structural features in cleared ovules. *Acta Botanica Indica*, **171**, 203-205.
- Herrera, C.M. (1996). Floral traits and plant adaptation to insect pollinators: a devil's advocate approach. In: *Floral Biology, studies on floral evolution in animal pollinated plants* (eds. D.C. Lloyd & S.C.H. Barrett). pp. 65-87. Chapman & Hall, New York.
- Howard, R.A. (1989). *Flora of the lesser Antilles*, v. **5**, pp. 408-410. Arnold Arboretum, Havard.
- Jensen, W.A. (1962). *Botanical hystochemistry, principles and practice*. W.H. Freedman, San Frnacisco.
- Klinkhamer, P.G.L. & de Jong, T.J. (1993). Attractiveness to pollinators: a plant's dilemma. *Oikos*, **66**, 180-184.
- Koschnitzke, C. & Sazima, M. 1997. Biologia floral de cinco espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) em mata mesófila. *Revista Brasileira de Botânica*, **20**, 119-126.
- Kraus, S.L. (1994). Preferential outcrossing in the complex species *Personia mollis* R. Br. (Proteaceae). *Oecologia*, **97**, 256-264.
- Lewis, A.C. (1993). Learning and the evolution of resources: pollinators and flower morphology. In: *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives* (eds. D.R. Papaj & A.C. Lewis), pp. 219-242. Chapman & Hall, London.
- Little, R.J. (1983). A review of floral food deception mimics with comments on floral mutualism. In: *Handbook of experimental pollination biology* (eds. C.E. Jones & R.J. Little), pp. 294-309. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Lloyd, D.G. (1982). Selection of combined versus separate sexes in seed plants. *American Naturalist*, **120**, 571-585.
- Martin, F.W. (1959). Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology*, **34**, 125-128.

- Martinelli, G. (1994). *Vriesea neoglutinosa* Mez. In: *Reproductive biology of Bromeliaceae in the Atlantic Rainforest of southeastern Brazil*, pp.90-94. PhD Thesis. University of St. Andrews, Saint Andrews.
- May, P.G. & Spears-Jr, E.E. (1988). Andromonoecy and variation in phenotypic gender of *Passiflora incarnata* (Passifloraceae). *American Journal of Botany*, **75**, 1830-1841
- Mulcahy, D.L., Mulcahy, G.B. & Searcy, K.B. (1992). Evolutionary genetics of pollen competition. In: *Ecology and evolution of plant reproduction* (ed. R. Wyatt), pp. 25-36. Chapman & Hall, London.
- Murray, K.G., Feinsinger, P., Busby, W.H., Linhart, Y.B., Beach, J.H. & Kinsman, S. (1987). Evaluation of character displacement among plants in two tropical pollination guilds. *Ecology*, **68**, 1283-1293.
- Oliveira, P.E. (1996). Dioecy in the cerrado vegetation of central Brazil. *Flora*, **191**, 235-243.
- Oliveira, P.E., Gibbs, P.E., Barbosa, A.A. & Talavera, S. (1992). Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. *Plant Systematics and Evolution*, **179**, 207-219.
- Oliveira-Filho, A.T., Vilela, E.A., Carvalho, D.A. & Gavilanes, M.L. (1994). Differentiation of streamside and upland vegetation in an area of montane semideciduous forest in southeastern Brazil. *Flora*, **189**, 287-305.
- Ostfeld, R.S. 1992. Small-mammal herbivores in a patchy environment: individual strategies and population responses. In: *Effects of resource distribution on animal-plant interactions* (eds. M.D. Hunter, T. Ohgushi & P.W. Price), pp. 43-74. Academic Press, San Diego.
- Pleasants, J.M. (1990). Null-model tests for competitive displacement: the fallacy of not focusing on the whole community. *Ecology*, **71**, 1078-1084.
- Proctor, M., Yeo, P. & Lack, A. (1996). The study of pollination: a short history. In: *The natural history of pollination*. pp. 12-23. Harper Collins, London.
- Rathcke, B.J. (1983). Competition and facilitation among plants for pollination. In: *Pollination biology* (ed. L. Real), pp. 305-329. Academic Press, Orlando.
- Rathcke, B.J. (1992). Nectar distributions, pollinator behavior, and plant reproductive success. In: *Effects of resource distribution on animal-plant interactions* (eds. M.D. Hunter, T. Ohgushi & P.W. Price), pp. 113-138. Academic Press, San Diego.
- Reinartz, J.A. & Less, D.H. (1994). Bottleneck-induced dissolution of self-incompatibility and breeding system consequences in *Aster furcatus* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, **81**, 446-455
- Renner, S.S. & Feil, J.P. (1993) Pollinators of tropical dioecious angiosperms. *American Journal of Botany*, **80**, 1100-1107.
- Renner, S.S. & Ricklefs, R.E. (1995). Dioecy and its correlations in the flowering plants. *American Journal of Botany*, **82**, 596-606.
- Richards, A.J. (1997). *Plant breeding systems*. George Allen & Unwin, London.

- Robyns, A. (1963). Essai de monographie du genre *Bombax* s.l. (Bombacaceae). *Bulletin du Jardin Botanique de L'État*, **33**, 1-316.
- Rogers, C.N. & Evans, P.A. (1981). *Melocactus macracanthos* in habitat. *Cactus and Succulents Journal of Great Britain* **43**, 33-36.
- Roubik, D.M. (1992). Loose niches in tropical communities: why are there so few bees and so many trees? In: *Effects of resource distribution on animal-plant interactions* (eds. M.D. Hunter, T. Ohgushi & P.W. Price), pp. 327-354. Academic Press, San Diego.
- Sazima, I., Buzato, S. & Sazima, M. (1993). The bizarre inflorescence of *Norantea brasiliensis* (Marcgraviaceae): Visits of hovering and perching birds. *Botanica Acta*, **106**, 507-513.
- Schemske, D.W., Ågren, J. & Le Corff, J. (1996). Deceit pollination in the monoecious, neotropical herb *Begonia oaxacana* (Begoniaceae). In: *Floral biology, studies on floral evolution in animal-pollinated plants* (eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barret), pp. 292-318. Chapman & Hall, New York.
- Sick, H. (1988). *Ornitologia brasileira*. 3. ed. 2 v. UnB, Brasília.
- Silva, A.G. da, Guedes-Bruni, R.R. & Lima, M.P.M. de. (1997). Sistemas sexuais e recursos florais do componente arbustivo-arbóreo em mata preservada na Reserva Ecológica de Macaé de Cima. In: *Serra de Macaé de Cima: diversidade florística e conservação em Mata Atlântica* (eds. H.C. Lima & R.R. Guedes-Bruni), pp. 187-211. JBRJ, Rio de Janeiro.
- Snedecor, G.W. & Cochran, W.G. (1980). *Statistical methods*. 7 ed. Iowa State University Press, Iowa.
- Snow, A.A., Spira, T.P., Simpson, R. & Klips, R.A. (1996). The ecology of geitonogamous pollination. In: *Floral biology, studies on floral evolution in animal-pollinated plants* (eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barret), pp. 191-216. Chapman & Hall, New York.
- Stiles, F.G. (1977). Coadapted competitors: the flowering seasons of hummingbird-pollinated plants in a tropical forest. *Science*, **10**, 194-210.
- Stiles, F.G. (1978). Temporal organization of flowering among the hummingbird foodplants of a tropical wet forest. *Biotropica*, **198**, 1177-1178.
- Talavera, S., Gibbs, P.E. & Herrera, J. (1993). Reproductive biology of *Cistus ladanifer* (Cistaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **186**, 123-134.
- Taylor, N.P. (1991). The genus *Melocactus* (Cactaceae) in Central and South America. *Bradleya*, **9**, 1-80.
- van der Pijl, L. & Dodson, C. (1966). *Orchid flowers: their pollination and evolution*. Miami University Press, Coral Gables.
- van Fleet, D.S. (1952). Histochemical location of enzymes in vascular plants. *Botanical Review*, **18**, 354-398.
- van Sluys, M. & Stoltz, D.F. (1995). Patterns of hummingbird visitation to *Vriesea neoglutinosa* (Bromeliaceae) flowers in Espírito Santo, southeastern Brazil. *Bromelia*, **2**, 27-35.

- Varassin, I.G. & Silva, A.G. da. (1997). A melitofilia em *Passiflora alata* Dryander em vegetação de restinga. *Rodriguesia*, no prelo.
- Varassin, I.G. (1996). *Néctar e voláteis florais na polinização de quatro espécies de Passiflora L. (Passifloraceae)*. Dissertação de Mestrado. UNICAMP, Campinas.
- Vogel, S. (1963). Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung, über Bau und Funktion der Osmophoren. *Abhandlungen der Akademie der Wissenschaften und Literatur Mainz, Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Klasse*, **10**, 1-165.
- Waser, N.M., Chittka, L., Price, M.V., Williams, N.M. & Ollerton, J. (1996). Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, **77**, 1043-1060.
- Westerkamp, C. (1990). Bird-flowers: hovering versus perching exploitation. *Botanica Acta*, **103**, 366-371.
- Whitten, W.M., Young, A.M. & Stern, D.L. (1993). Nonfloral sources of chemicals that attract male euglossine bees (Apidae:Euglossini). *Journal of Chemical Ecology*, **20**, 3017-3027.
- Willson, M.F. & Ågren, J. (1989). Differential floral rewards and pollination by deceit in unisexual flowers. *Oikos*, **55**, 23-29
- Zar, J.H. (1996). *Biostatistical analysis*. 3 ed. Prentice Hall, New Jersey.

Tabela 1.1. Número de frutos / número de flores obtidos em experimentos de polinização e em condições naturais nas cinco espécies vegetais estudadas: *Baccharis dracunculifolia*, *Eriotheca candolleana*, *Melocactus violaceus*, *Passiflora pentagona* e *Vriesea neoglutinosa*.

Experimentos	Espécies				
	<i>B. dracunculifolia</i>	<i>E. candolleana</i>	<i>M. violaceus</i>	<i>P. pentagona</i>	<i>V. neoglutinosa</i>
Agamospermia	0 / 190	0 / 45	0 / 30	0 / 25	0 / 50
Autopolinização espontânea	n	0 / 45	11 / 30	0 / 25	7 / 50
Autopolinização manual					
em estigmas não receptivos	n	0 / 45	n	0 / 25	43 / 50
em estigmas receptivos	n	0 / 45	n	0 / 25	45 / 50
Polinização cruzada					
em estigmas não receptivos	n	0 / 45	n	21 / 25	41 / 50
em estigmas receptivos	84 / 190	23 / 45	n	19 / 25	42 / 50
Polinização em condições naturais	29 / 180	2 / 45	18 / 30	11 / 25	43 / 50

Legenda: n: tratamento não realizado

Tabela 1.2. Análise de Variância não-paramétrica por Kruskal-Wallis (Zar, 1996) da produção total de sementes, em amostras de 50 frutos de *Melocactus violaceus*, sendo um conjunto obtido por autopolinização espontânea (AE) e quatro obtidos em condições naturais.

Amostra	Soma dos "Ranks"
AE	6087,5
Maio	4477,5
Julho	7519,5
Agosto	6996,5
Dezembro	6294,5
Kruskal-Wallis	Graus de liberdade
20,46 $p < 0,01$	4

Tabela 1.3. Matriz dos níveis de significância das diferenças detectadas pelo teste de Tukey não-paramétrico (Zar, 1996) entre a produção total de sementes em amostras de 50 frutos de *Melocactus violaceus* obtidos a partir de autopolinização espontânea (AE) e em condições naturais de polinização.

	Apenas <i>M.violaceus</i>	Junto com <i>V.neoglutinosa</i>	Junto com <i>V.</i> <i>neoglutinosa</i> e <i>P. pentagona</i>	Junto com <i>P.pentagona</i>
AE				
> 0,05	Maio			
> 0,05	< 0,01	Julho		
> 0,05	< 0,01	> 0,05	Agosto	
> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	Dezembro

Tabela 1.4. Análise de Variância não-paramétrica por Kruskal-Wallis (Zar, 1996) da produção total de sementes férteis em amostras de 50 frutos de *Melocactus violaceus*, sendo um conjunto obtido a partir de autopolinização espontânea (AE) e quatro em condições naturais.

AMOSTRA	Soma dos "Ranks"
AE	4527,0
Maio	4980,5
Julho	8127,5
Agosto	7720,5
Dezembro	6019,5
Kruskal-Wallis	Graus de liberdade
39,58 $p < 0,01$	4

Tabela 1.5. Matriz dos níveis de significância das diferenças detectadas pelo teste de Tukey não-paramétrico (Zar, 1996), entre a produção total de sementes férteis nas amostras de frutos de *Melocactus violaceus* obtidos a partir de autopolinização espontânea (AE) e em condições naturais de polinização.

	Apenas <i>M.violaceus</i>	Junto com <i>V.neoglutinosa</i>	Junto com <i>V. neoglutinosa</i> e <i>P. pentagona</i>	Junto com <i>P.pentagona</i>
AE				
> 0,05	Maio			
< 0,01	< 0,01	Julho		
< 0,01	< 0,01	> 0,05	Agosto	
> 0,05	> 0,05	0,05< p <0,01	> 0,05	Dezembro



Figura 1.1. *Baccharis dracunculifolia*. Capitulo. a: σ em flor ($\square$ = 5mm); b: φ em flor ($\square$ = 5mm); c: φ em fruto ($\square$ = 4mm). *Augochloropsis cupreola* d: no capitulo σ ($\square$ = 16mm); e: no capitulo φ ($\square$ = 12mm). *Ornidia obesa* f: no capitulo σ ($\square$ = 18mm); g: no capitulo φ ($\square$ = 14mm). *Polistes suberosa* h: no capitulo φ ($\square$ = 10mm). *Apis mellifera* i: no capitulo σ ($\square$ = 18mm). *Plebeia* mosquito j: no capitulo σ e *Hemiargus hanno* k: no capitulo σ ($\square$ = 16mm).

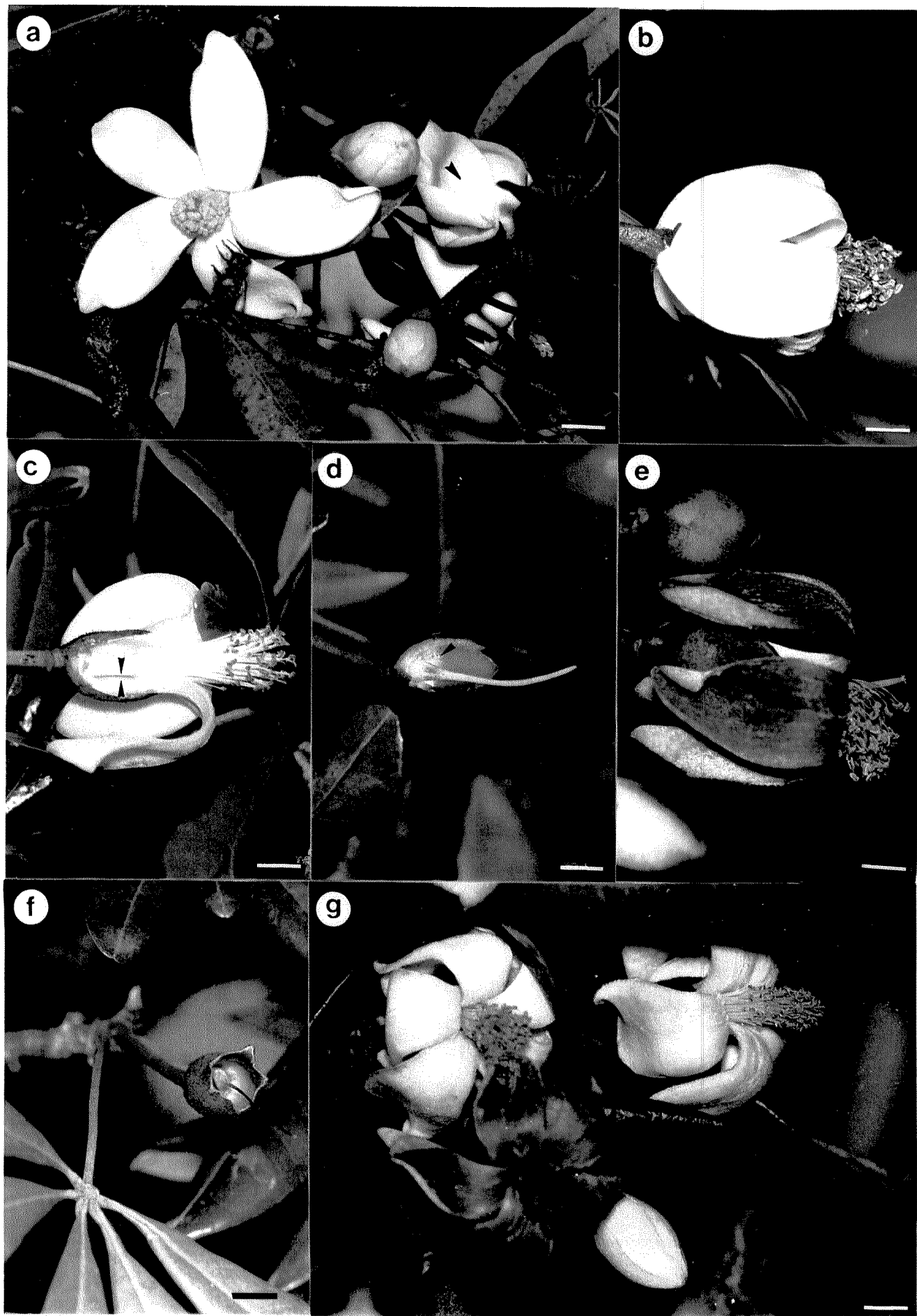


Figura 1.2. *Eriotheca candolleana*. a: flor recém aberta e botão (seta) prestes a abrir (■ = 7mm); b: flor com as pétalas reflexas, antes de expor os estigmas (■ = 6mm); c: corte longitudinal da flor, mostrando o local (seta) onde o néctar se acumula (■ = 6mm); d: gineceu com o estilete inclinado e os ramos do estigma fechados e nectário (seta) na base do cálice (■ = 6mm); e: flor com os ramos do estigma abertos e os estames murchos, com nectários extranupciais (seta) na base do cálice (■ = 4mm); f: ovário com o estilete dessecado 72 horas depois da polinização (■ = 4mm); g: inflorescência portando flores em diversos estádios de antese (■ = 6mm).

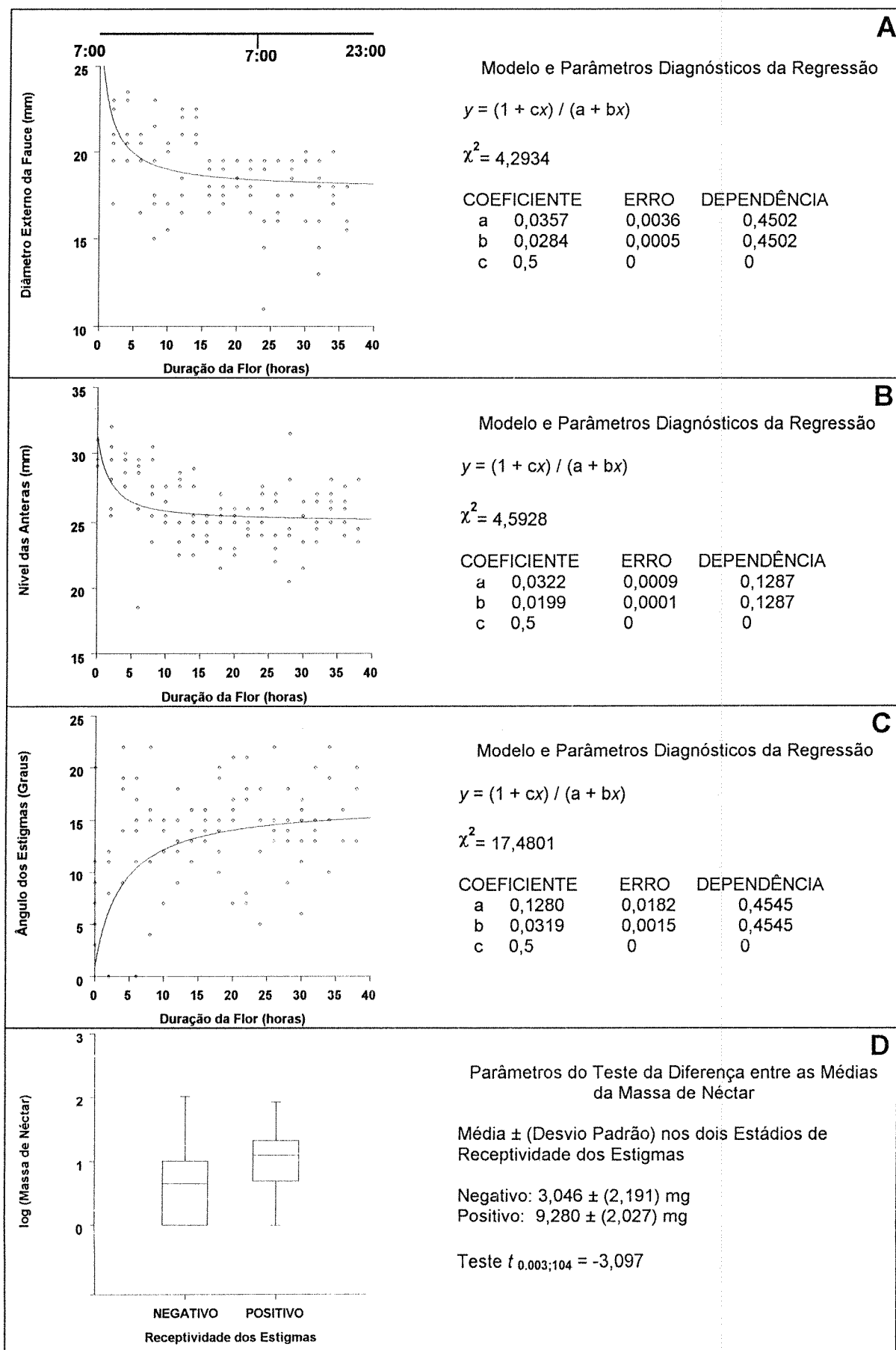


Figura 1.3. Variações em eventos florais de *Eriotheca candolleana* ligadas à idade da flor. **A**: redução do diâmetro externo da flor ao nível da fauce; **B**: retração do nível das anteras em relação ao receptáculo; **C**: ângulo dos estigmas em relação ao eixo do estilete; **D**: Diagrama de Box-Whisker para os dados brutos de massa de néctar produzida nas fases receptiva e não receptiva dos estigmas.

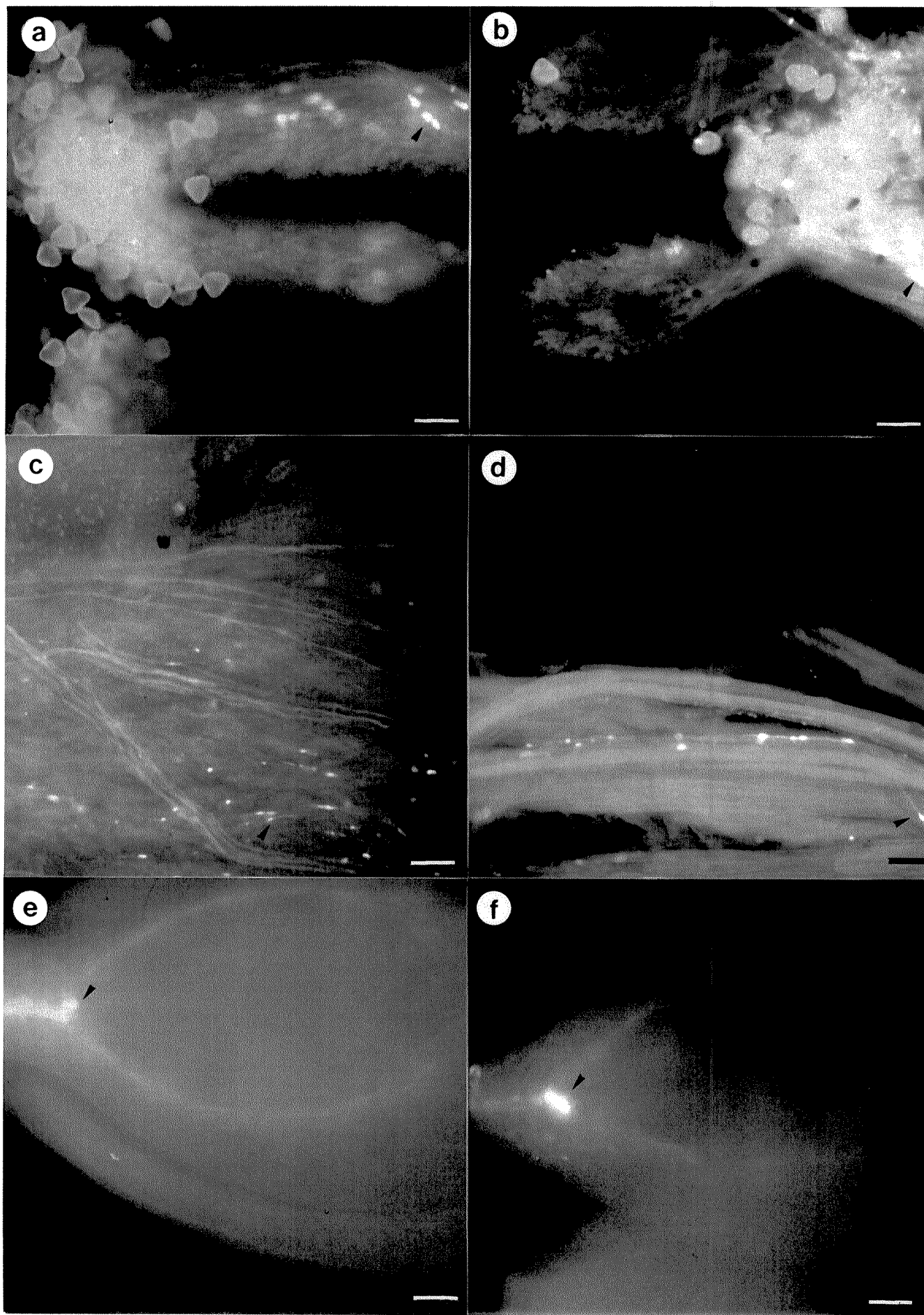


Figura 1.4. *Eriotheca candolleana*. Pólen germinando no estigma e tubos polínicos (seta) penetrando no estilete, seis horas após a polinização (■ = 70µm). a: autopolinização; b: polinização cruzada, com tubo polínico. Tubos polínicos (seta) crescendo no estilete 24 horas após a polinização (■ = 70µm). c: autopolinização; d: polinização cruzada. Tubo polínico (seta) chegando ao saco embrionário 72 horas após a polinização (■ = 30µm): e: autopolinização; f: polinização cruzada.

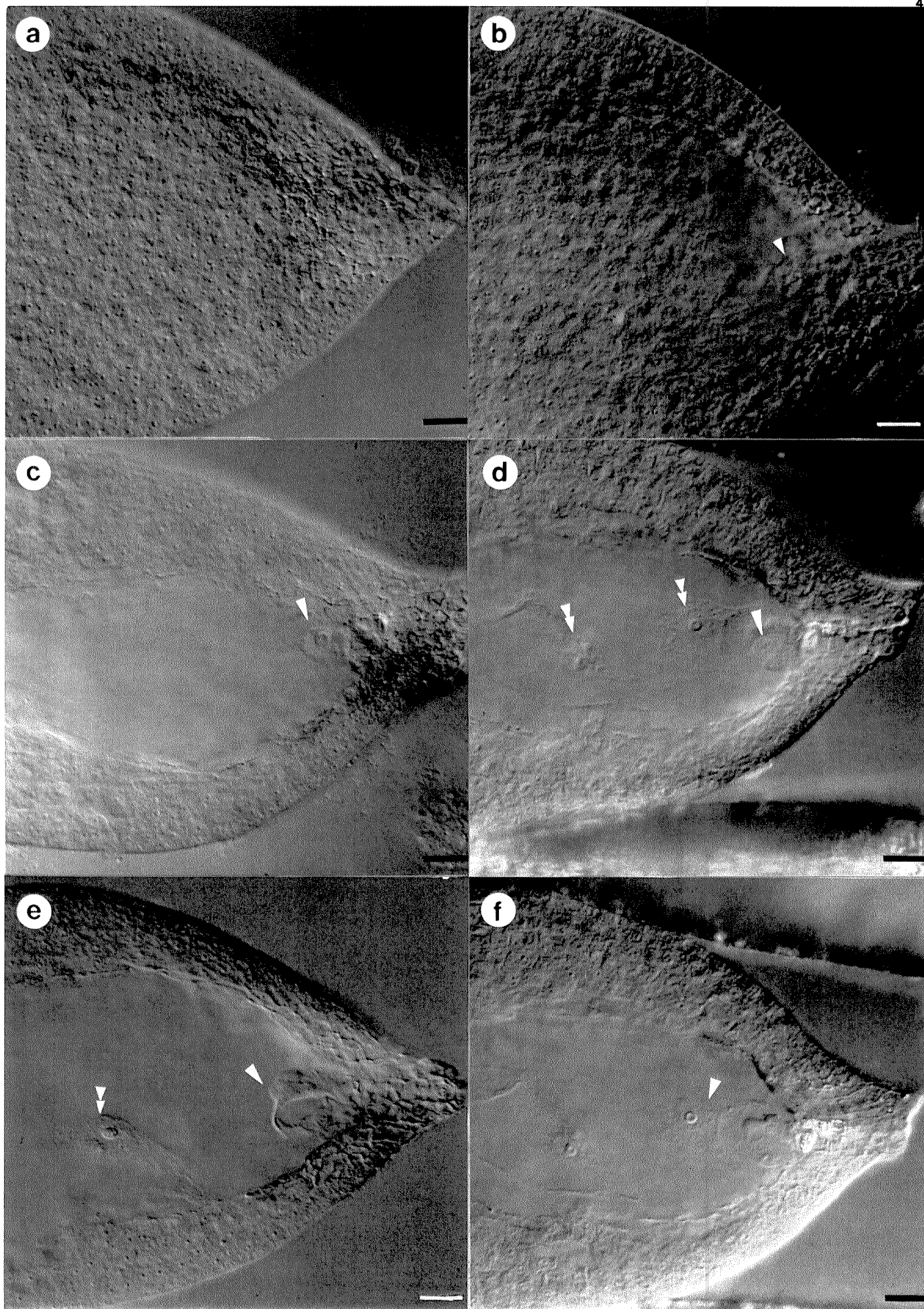


Figura 1.5. *Eriotheca candolleana*. Óvulo ($\blacksquare = 35\mu\text{m}$): a: saco embrionário indiferenciado após a abertura da flor; b: saco embrionário diferenciado, 34 horas após a abertura; c: zigoto de autofecundação, sem núcleos do endosperma, 72 horas após a polinização; d: zigoto (seta) de fecundação cruzada, com núcleos do endosperma (dupla seta), 72 horas após a polinização; e: zigoto se degenerando (seta), 6 dias depois da autopolinização, com núcleos do endosperma (dupla seta); f: pró-embrião (seta), 7 dias após a polinização cruzada, formado por uma célula apical e outra do suspensor.

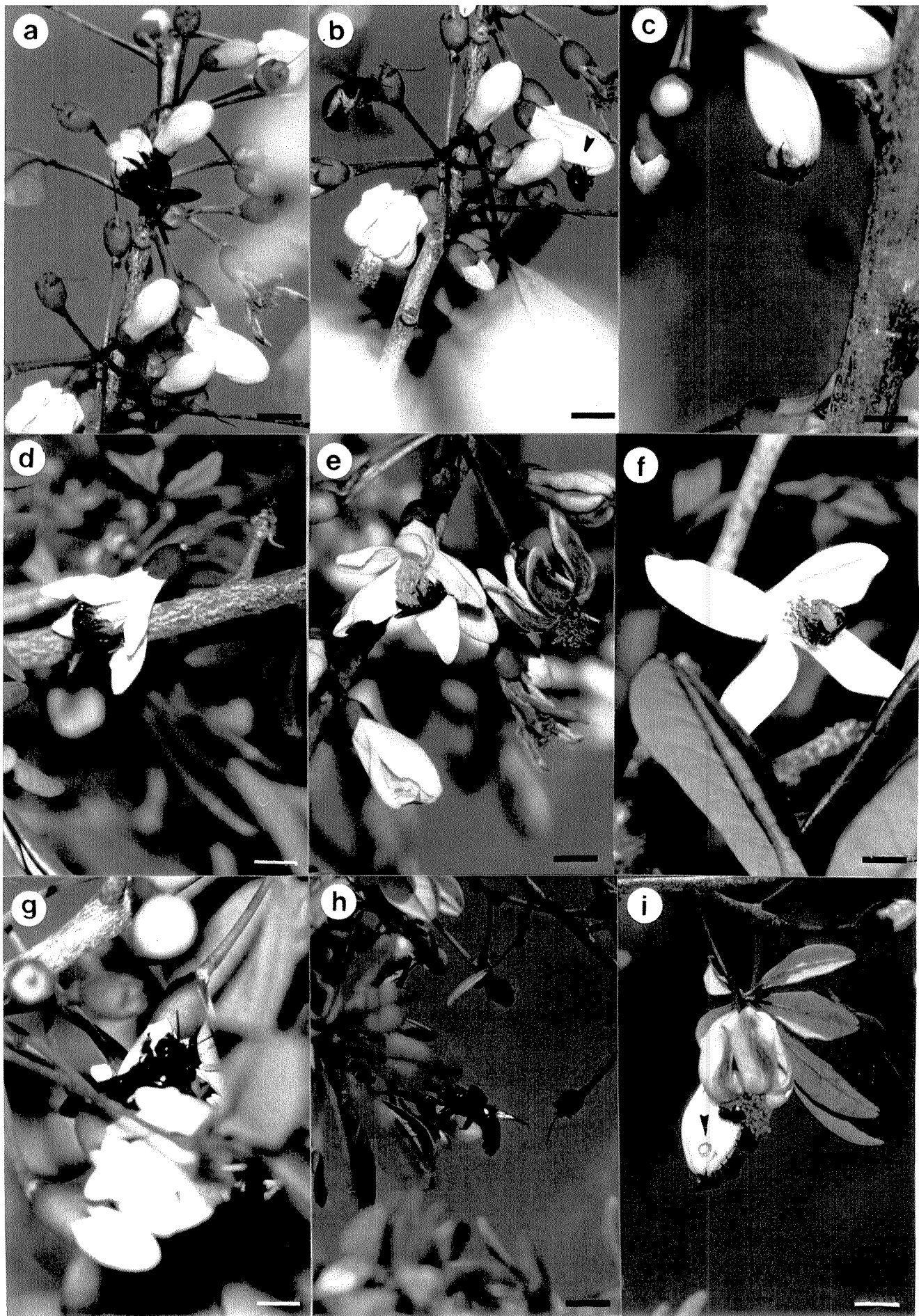


Figura 1.6. *Eriotheca candolleana*. Visitantes na fase σ da flor. a: *Xylocopa brasilianorum* ($\blacksquare$ = 15mm), b: *Megachile* sp (seta, $\blacksquare$ = 15mm) e c: *Exomalpsis fulvopilosa* ($\blacksquare$ = 10mm) forçando o ápice do botão; d: *X. brasilianorum* ($\blacksquare$ = 15mm), e: *Megachile* sp ($\blacksquare$ = 15mm) e f: *E. fulvopilosa* ($\blacksquare$ = 10mm) coletando pólen; g: *X. brasilianorum* ($\blacksquare$ = 10mm) e *X. ordinaria* ($\blacksquare$ = 25mm) tomam néctar no botão, próximo ao cálice, através do espaço entre as pétalas; i: *Trigona spinipes*, em recrutamento, perfurando um botão (seta, $\blacksquare$ = 10mm).

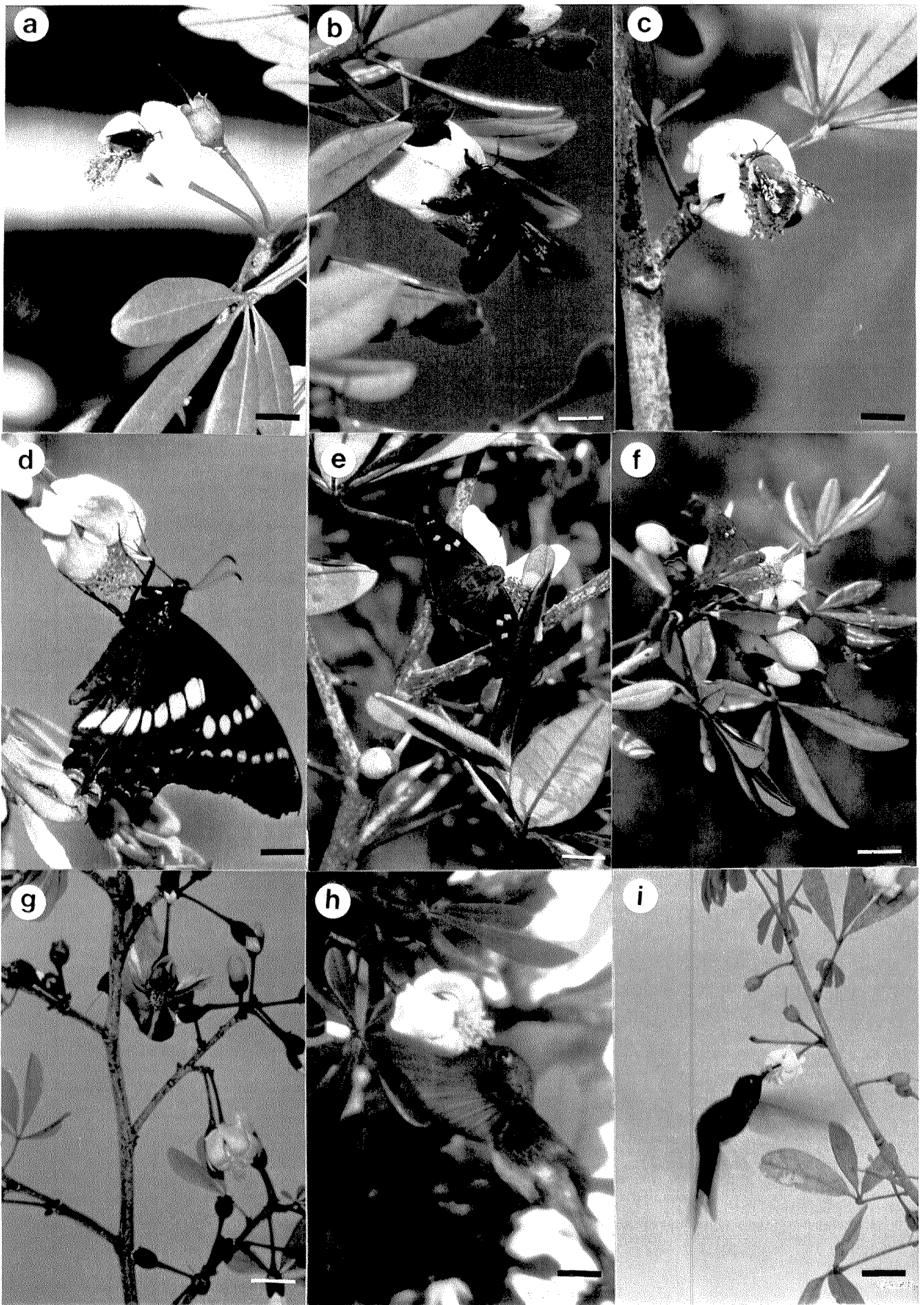


Figura 1.7. *Eriotheca candolleana*. Visitantes na fase ♀ da flor. a: *Megachile* sp. (■ =10mm); b: *Xylocopa ordinaria* (■ =10mm); c: *Centris fuscata* (■ =10mm); d: *Pterourus scamander grayi* (■ =15mm); e: *Polygonus leo leo* (■ =18mm); f: *Polythrix octomaculata octomaculata* (■ =20mm); g: *Coereba flaveola* (■ =30mm); h: *Amazilia lactea* (■ =10mm); i: *Eupetomena macroura* (■ =30mm).

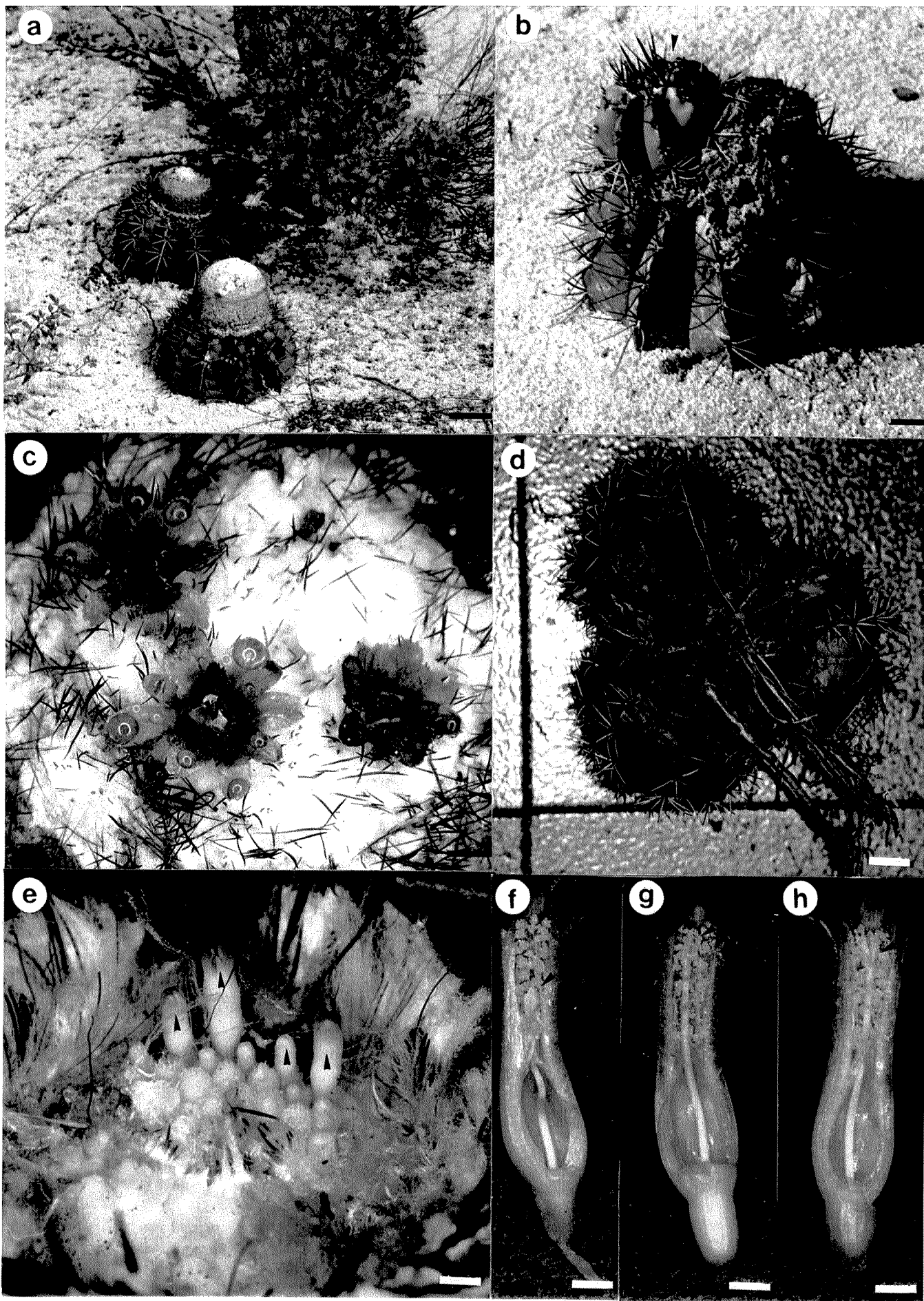


Figura 1.8. *Melocactus violaceus*. a: dois indivíduos em fase reprodutiva (■=35mm); b: brotamento aéreo (seta) em indivíduo senil (■=20mm); c: flores em diferentes estádios de antese, com perigônio aparente na superfície do cefálio (■=1,7mm); d: três perfilhos, com sistema radicular comum (■=24mm); e: cefálio sem os pêlos, expondo botões (setas) em diferentes fases (■=4mm); f: flor aberta, com estilete recurvado dentro da câmara nectarífera e os ramos do estigma (seta) fechados (■=1,4mm); g: estilete alongando e ramos do estigma (seta) abrindo (■=1,4mm); h: estilete alongado e ramos do estigma (seta) abertos (■=1,4mm).

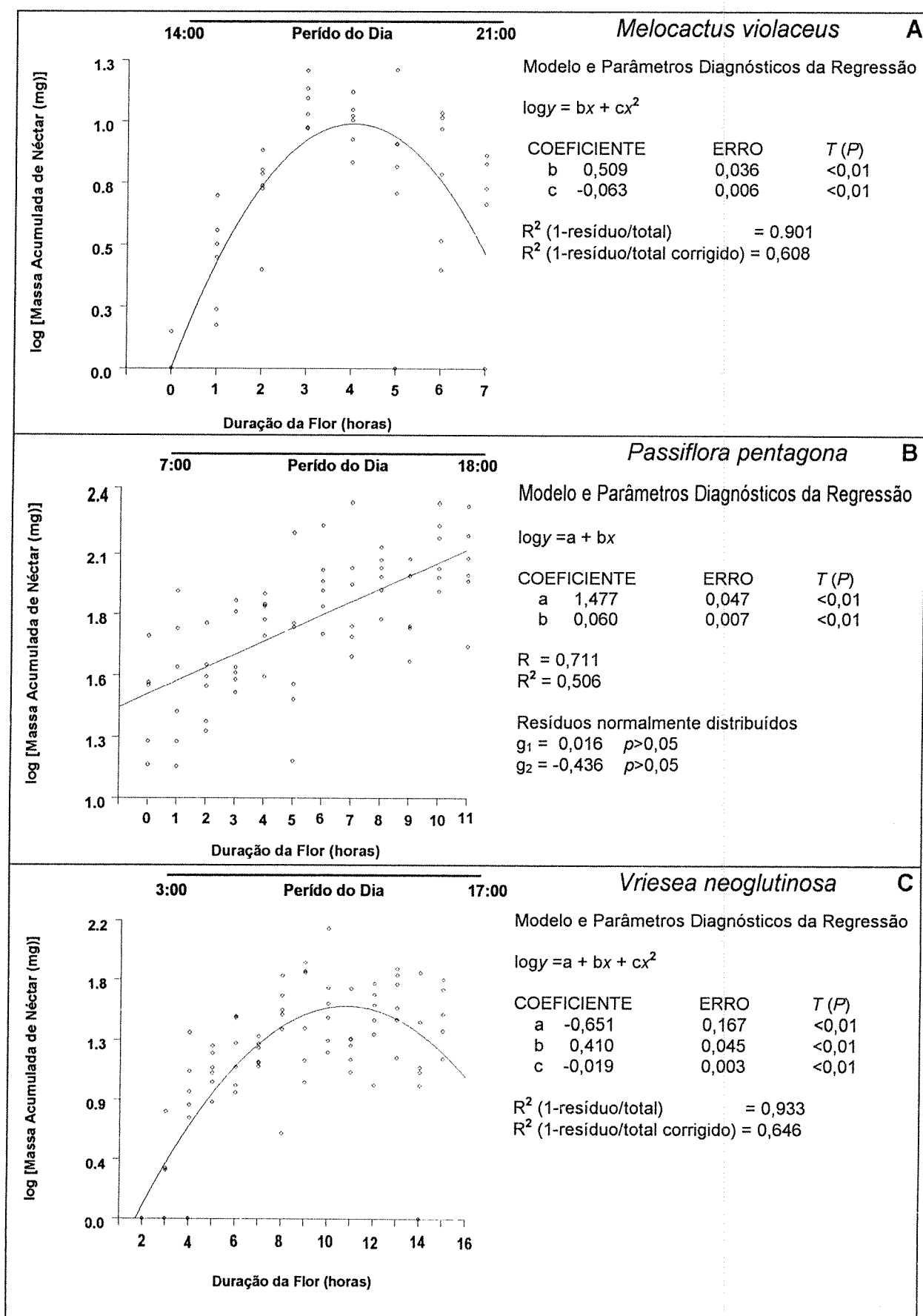


Figura 1.9. Dinâmica da secreção de néctar em função da idade da flor em três espécies de plantas que oferecem recurso simultaneamente a uma guilda de beija-flores, do início de agosto ao final de outubro, numa área de vegetação de restinga, no litoral sul do Espírito Santo.

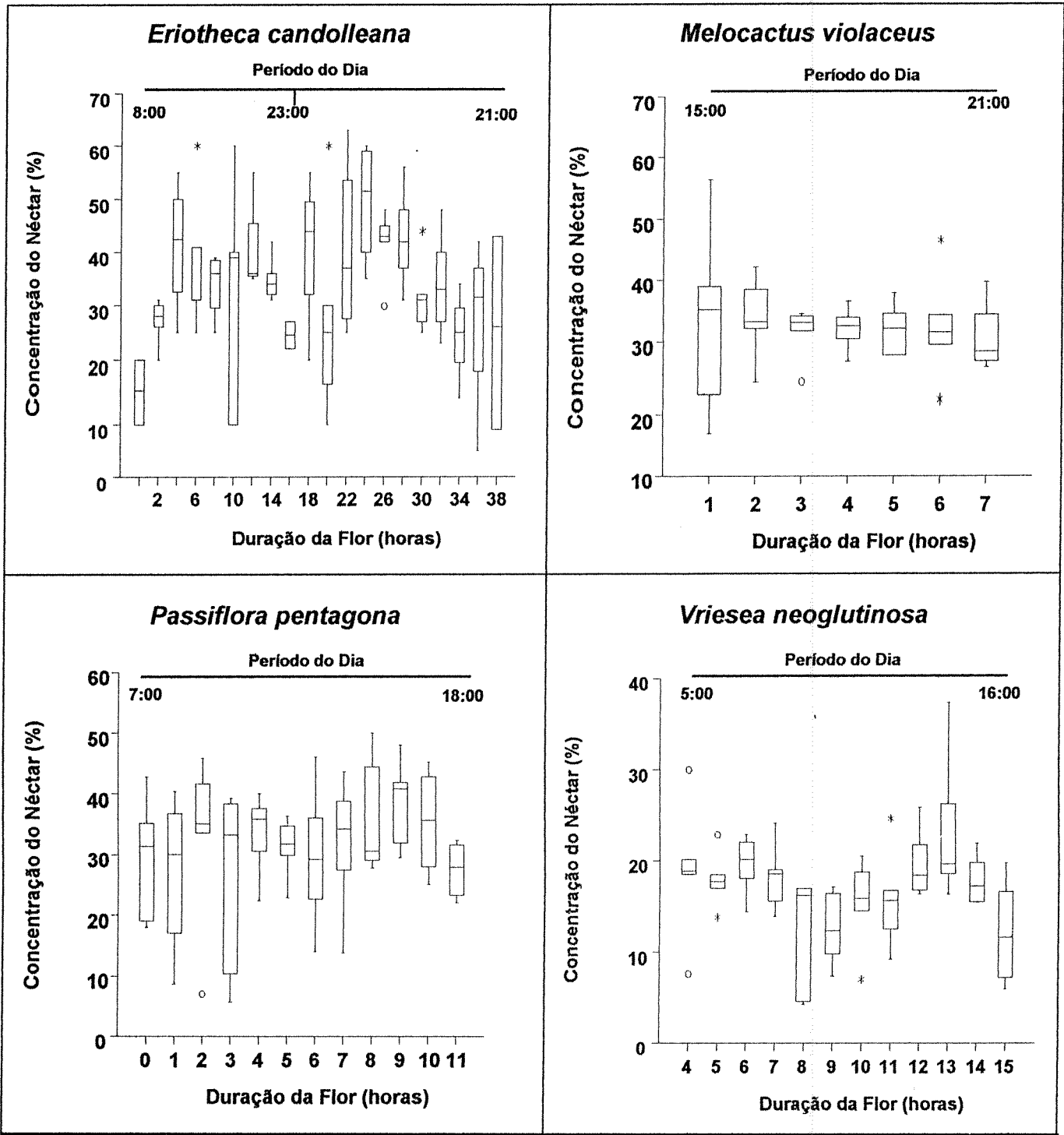


Figura 1.10. Variação da concentração do néctar acumulado ao longo do período de duração das flores de *Eriotheca candolleana*, *Melocactus violaceus*, *Passiflora pentagona* e *Vriesea neoglutinosa*.

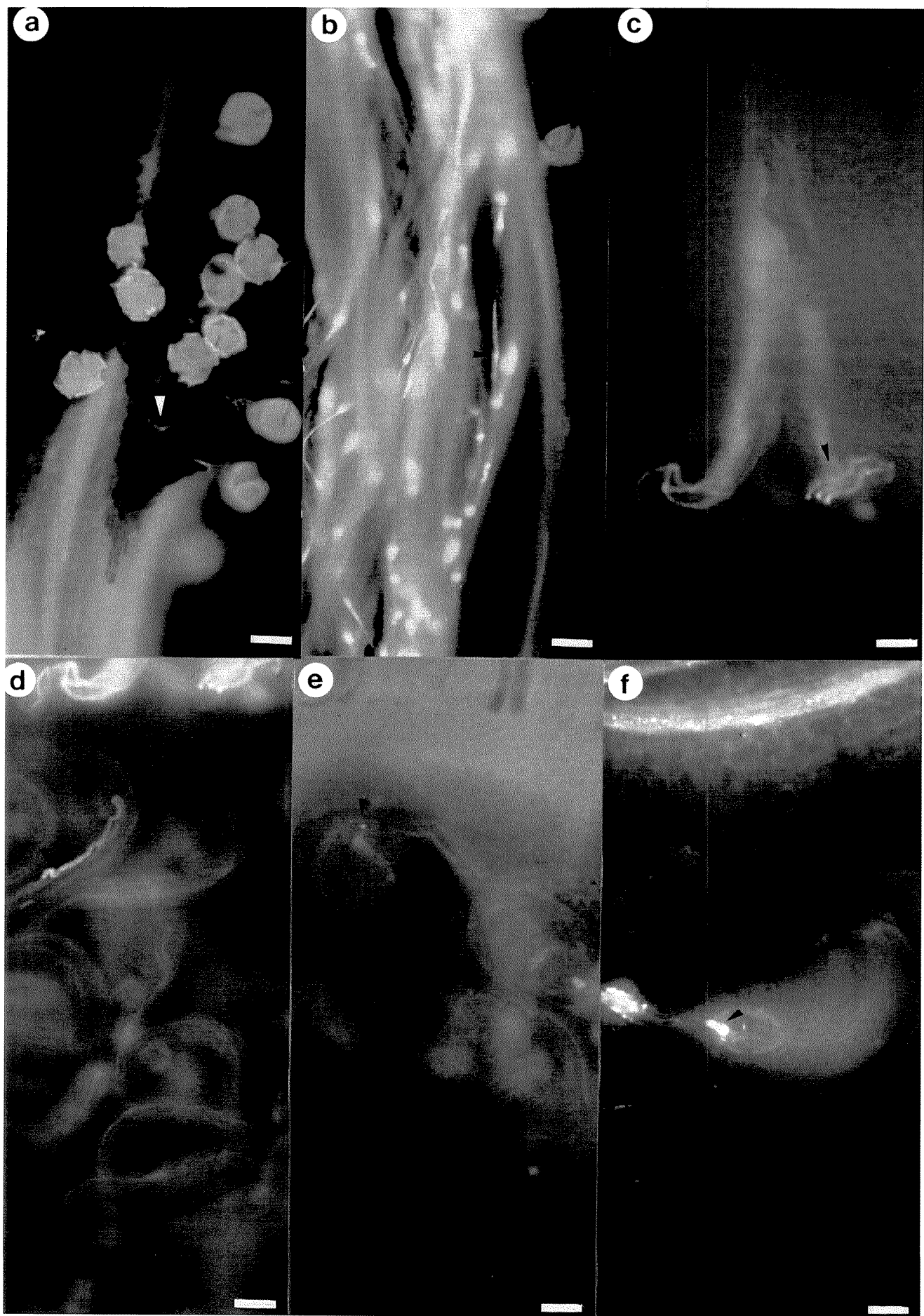


Figura 1.11. *Melocactus violaceus*. a: pólen germinando no estigma seis horas após a abertura da flor com tubos polínicos (seta) penetrando nos ramos do estigma ($\blacksquare = 70\mu\text{m}$); b: tubo polínico (seta) crescendo no estilete seis horas após a germinação ($\blacksquare = 70\mu\text{m}$); c: tubos polínicos (seta) chegando ao ápice do ovário de 36 a 48 horas após a germinação ($\blacksquare = 70\mu\text{m}$); d: tubo polínico (seta) alinhado com o funículo 60 horas após a germinação ($\blacksquare = 70\mu\text{m}$); e: tubo polínico (seta) na micrópila do óvulo em 72 horas após a germinação ($\blacksquare = 70\mu\text{m}$); f: tubo polínico (seta) alcançando o saco embrionário 72 horas após a germinação ($\blacksquare = 30\mu\text{m}$).

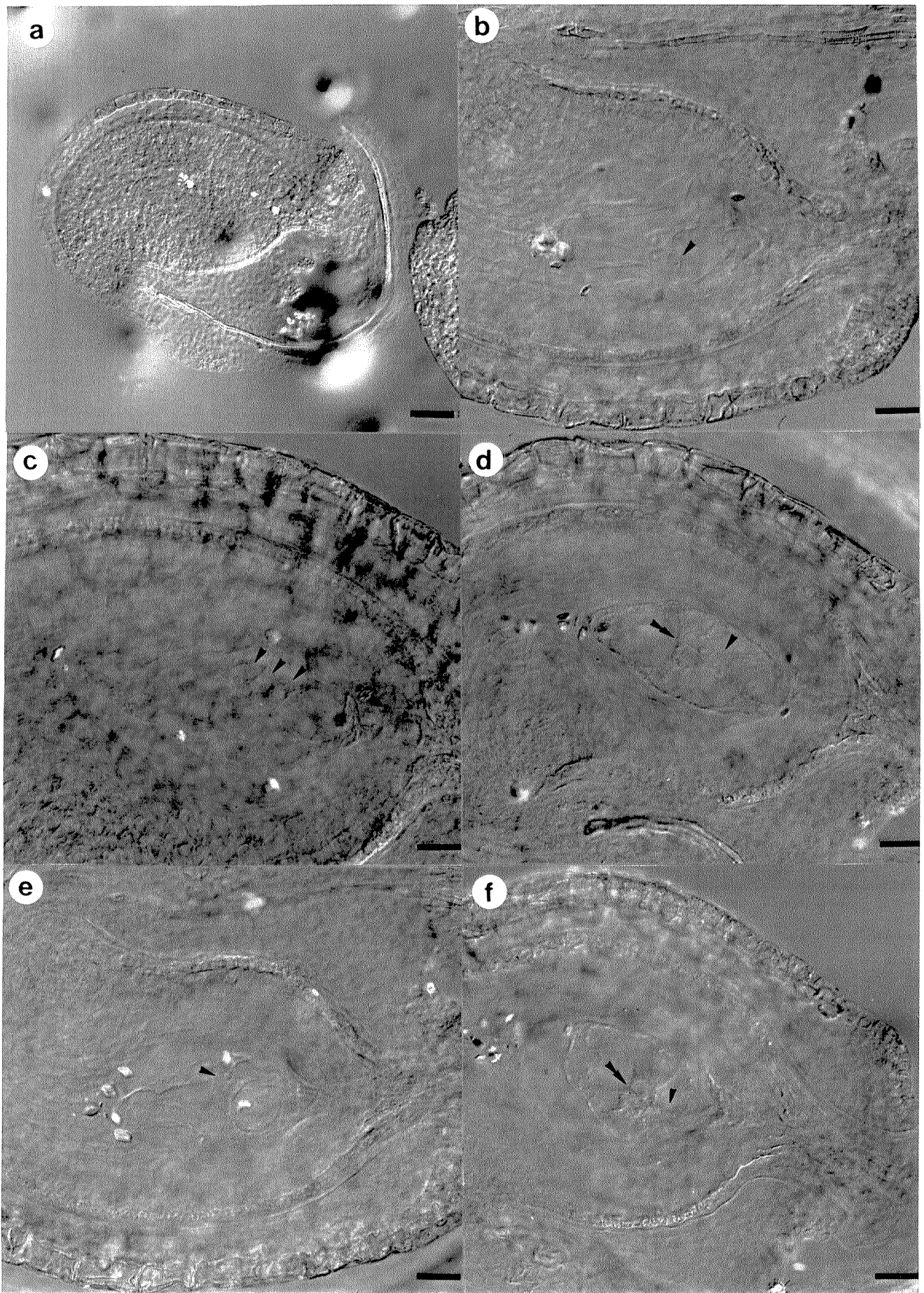


Figura 1.12. *Melocactus violaceus* a: óvulo com saco embrionário indiferenciado na abertura da flor (▬ = 70 μm). Óvulo fecundado (▬ = 35 μm). b: zigoto (seta), três a quatro dias após a autopolinização; c: pró-embrião com uma faixa de três células (seta), cinco dias após a autopolinização; d: divisão anticlinal da célula apical do embrião (dupla seta) e um suspensor com duas células (seta), sete dias após a autopolinização; e: zigoto e endosperma se degenerando (seta), nove dias após a autopolinização; f: embrião com as células apicais íntegras (dupla seta), com o suspensor (seta) e o endosperma se degenerando 11 dias após a autofecundação.

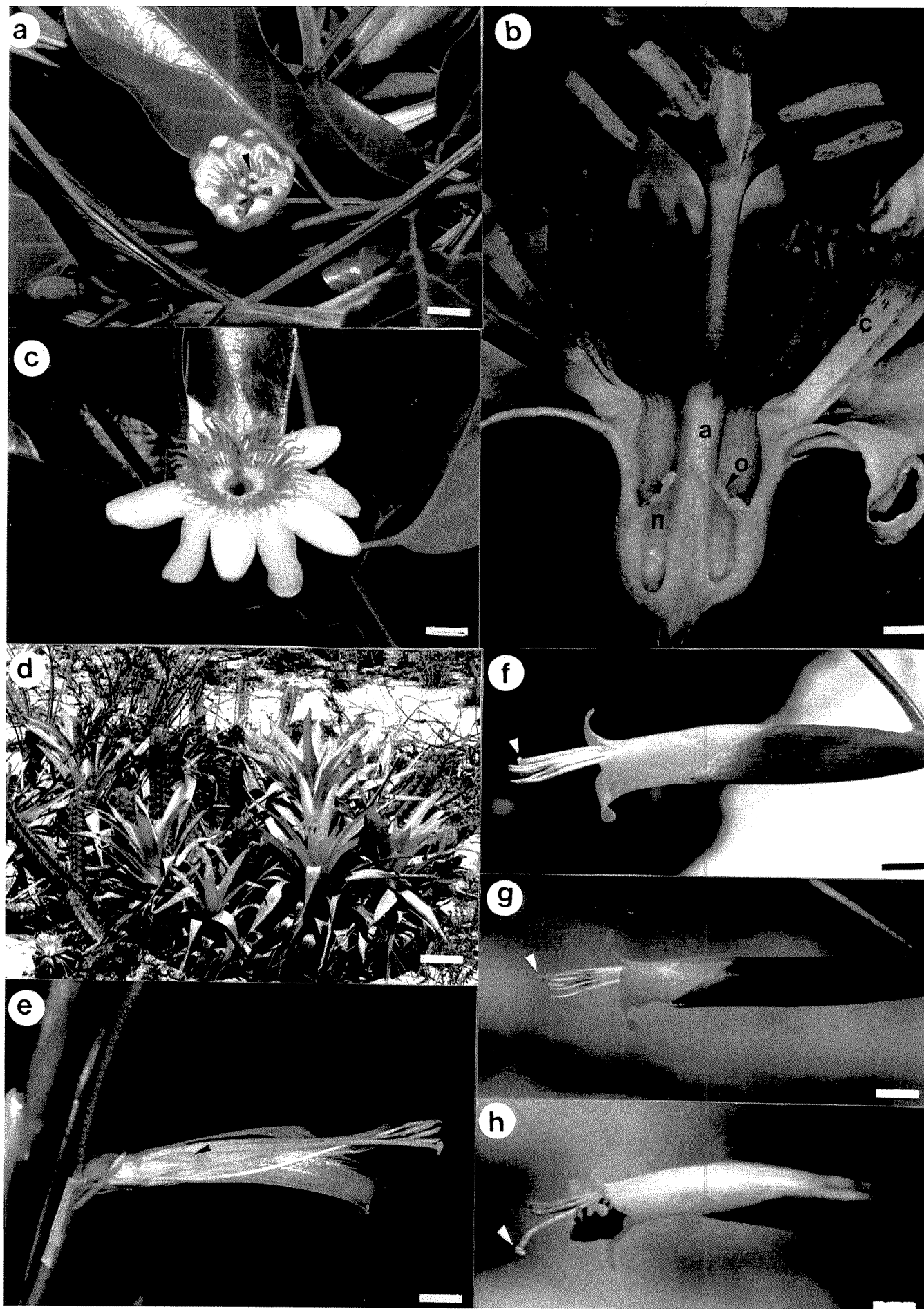
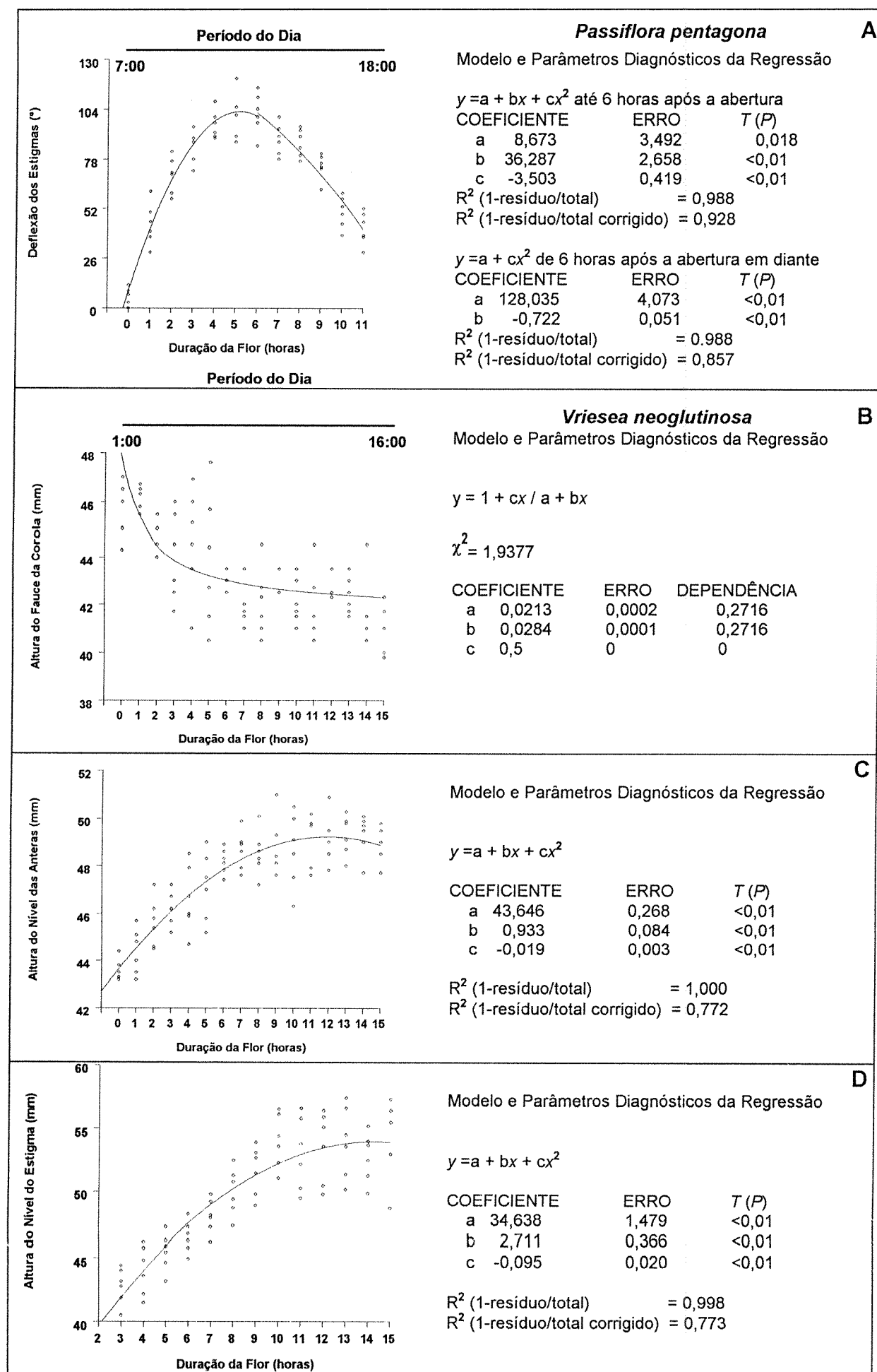


Figura 1.13. *Passiflora pentagona*. a: Estiletes fechados (seta) no início da antese (■ = 10mm); b: corte longitudinal da flor mostrando o nectário(n) abaixo do opérculo(o), o androgínóforo(a) e a coroa(c) (■ = 3mm); c: estames e estiletes no máximo da deflexão, após a abertura da flor (■ = 10mm). *Vriesea neoglutinosa*. d: indivíduos na vegetação de restinga (■ = 10cm); e: corte longitudinal da flor mostrando o local (seta) de acúmulo de néctar (■ = 12mm). Nível do estigma (seta) em relação ao das anteras: f: um pouco abaixo (■ = 7mm); g: ao nível (■ = 6mm); h: acima (barra = 7mm).



C

Modelo e Parâmetros Diagnósticos da Regressão

$y = a + bx + cx^2$

COEFICIENTE	ERRO	T (P)
a 43,646	0,268	<0,01
b 0,933	0,084	<0,01
c -0,019	0,003	<0,01

R^2 (1-resíduo/total) = 1,000
 R^2 (1-resíduo/total corrigido) = 0,772

D

Modelo e Parâmetros Diagnósticos da Regressão

$y = a + bx + cx^2$

COEFICIENTE	ERRO	T (P)
a 34,638	1,479	<0,01
b 2,711	0,366	<0,01
c -0,095	0,020	<0,01

R^2 (1-resíduo/total) = 0,998
 R^2 (1-resíduo/total corrigido) = 0,773

Figura 1.14. Variações em medidas florais, ligadas à idade da flor. *Passiflora pentagona*. A: deflexão dos estiletes; *Vriesea neoglutinosa*. B: altura da fauce, C: altura do nível das anteras, D: altura do nível do estigma.

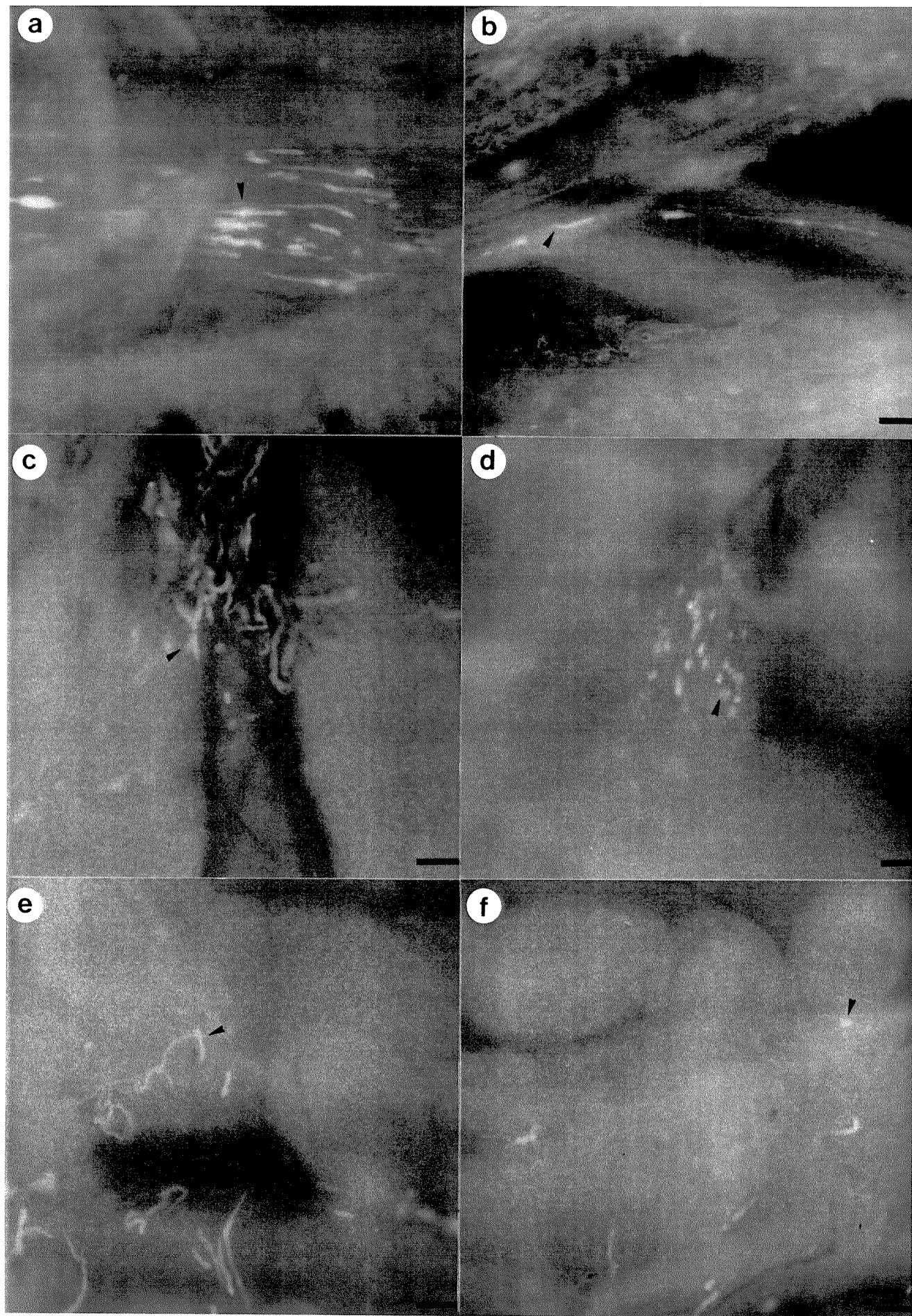


Figura 1.15. *Passiflora pentagona*. Tubos polínicos ($\blacksquare = 70\mu\text{m}$). No estilete. a: 18 horas após a autopolinização, com intumescimentos irregulares (seta); b: regulares, 8 horas após a polinização cruzada (seta). Chegando no ovário. c: 48 horas depois da autopolinização, com intumescimentos (seta) e desorientação de crescimento; d: regulares (seta), 24 horas após a polinização cruzada. Na placenta. e: entre 48-72 horas depois da autopolinização, sem penetrar na micrópila (seta); f: penetração dos óvulos (seta) entre 24-36 horas depois da polinização cruzada.

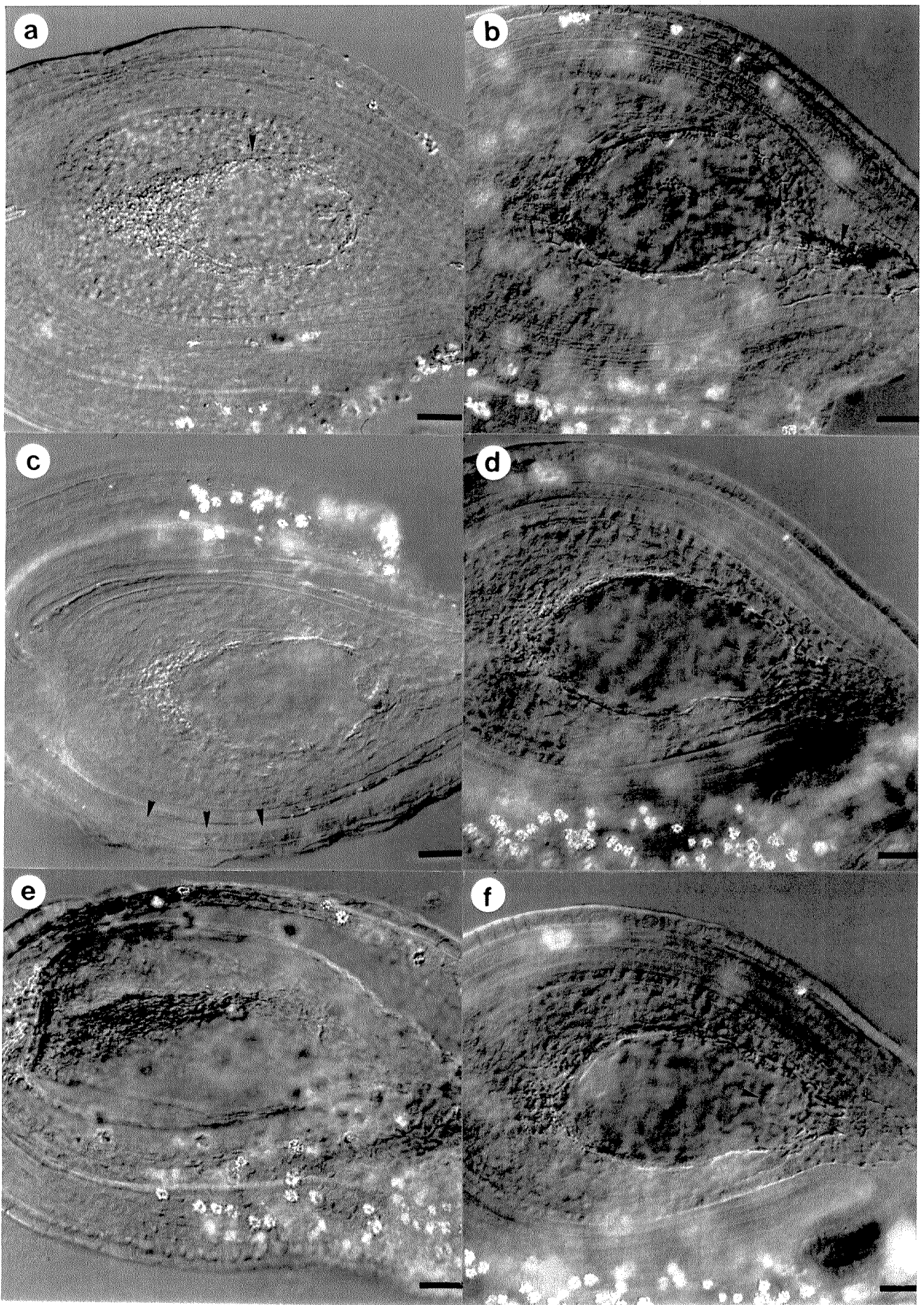


Figura 1.16. *Passiflora pentagona*. Óvulo (■=35µm). **a:** saco embrionário diferenciado (seta), três horas após a abertura da flor; **b:** tubo polínico (seta) chegando ao saco embrionário, 24 horas após polinização cruzada; **c:** não fecundado 36 horas após autopolinização, com um descolamento (seta) entre os tegumentos; **d:** zigoto (seta) 48 horas após polinização cruzada; **e:** degenerado sem fecundação, 60 horas após autopolinização, com os tegumentos e o nucelo já descolados, e necrose no saco embrionário; **f:** zigoto (seta), 60 horas após polinização cruzada.

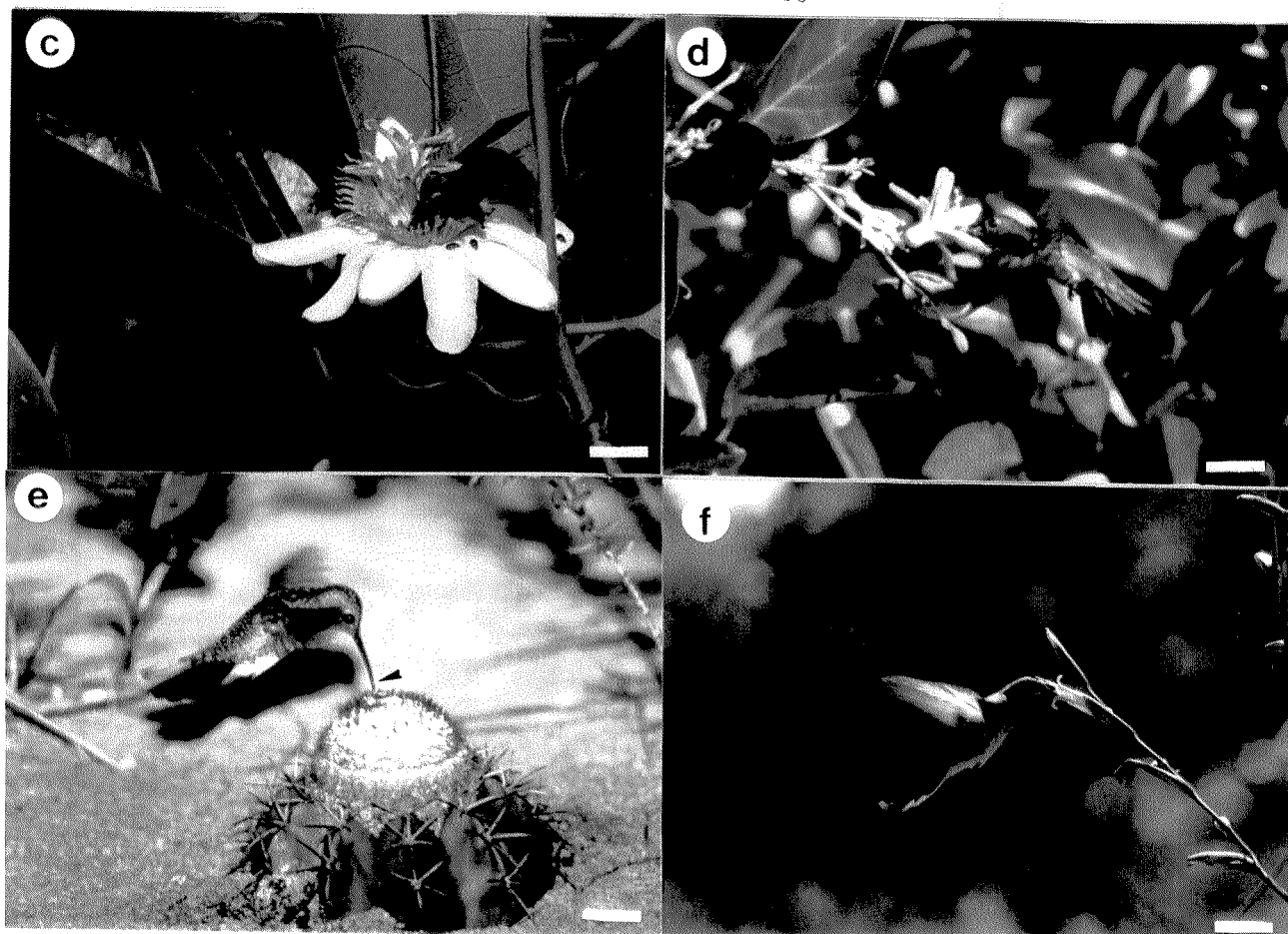
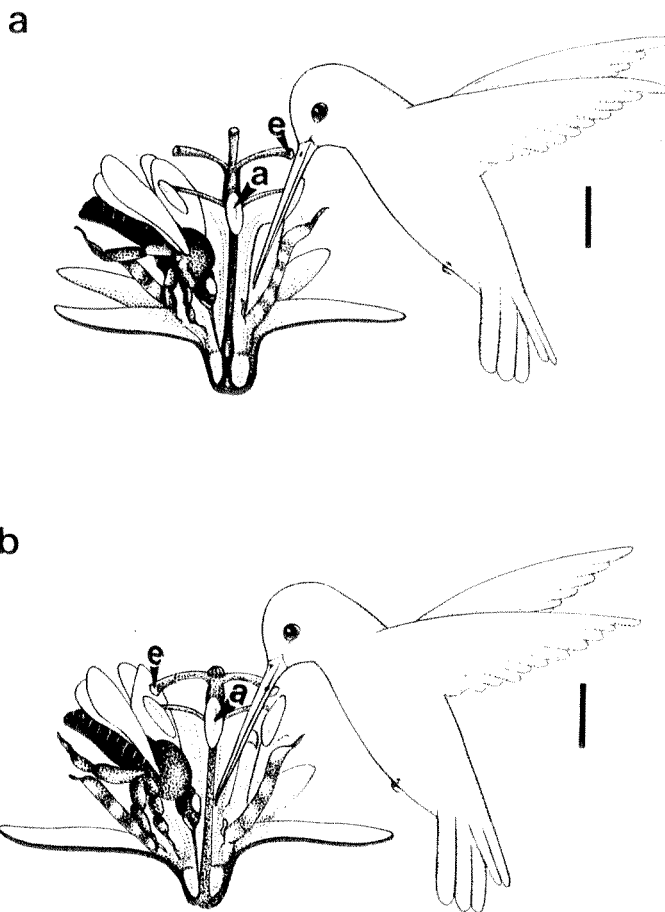


Figura 1.17. *Passiflora pentagona*. Diagrama da posição dos estigmas (e) e das anteras (a), em relação à silhueta de uma abelha e um beija-flor. a: estigma (e) em posição favorável à polinização por beija-flor (15mm); b: estigma (e) em posição favorável à polinização por abelha (15mm); c: *X. brasiliatorum*, contactando anteras (10mm); d: *Amazilia fimbriata* contactando anteras (22mm). *Melocactus violaceus*: e: *Amazilia fimbriata* com pólen (seta) no bico (23mm); *Vriesea neoglutinosa*: f: *Polytmus guainumbi* tocando, simultaneamente, anteras e estigma com o topo da cabeça, enquanto toma néctar na flor (30mm).

CAPÍTULO II

TERPENOS FLORAIS E SEU PAPEL NA POLINIZAÇÃO DE *Baccharis dracunculifolia* (ASTERACEAE) ¹

Resumo

Neste trabalho investigamos a importância de voláteis florais na determinação de padrões horários de visita de insetos às flores de *Baccharis dracunculifolia*. Esta espécie é um arbusto dióico, cuja polinização envolve abelhas, moscas e vespas. As diferenças intersexuais no perfil de voláteis foram significativamente associadas aos padrões horários de visitação. Hidrocarbonetos sesquiterpênicos foram correlacionados às abelhas sociais nativas que forragearam apenas nos capítulos masculinos. Monoterpenos oxigenados foram associados à presença das abelhas solitárias nas inflorescências masculinas e femininas, enquanto os álcoois sesquiterpênicos foram associados à presença de abelhas solitárias e de moscas em ambos os capítulos. A atividade floral das vespas não apresentou correlação significativa aos voláteis florais. Apesar da baixa similaridade intersexual na constituição dos aromas, há sinais voláteis comuns que atraem alguns dos visitantes para ambas as inflorescências.

Abstract

In this paper, we have investigated the importance of floral volatiles in determining the hourly visitation patterns of insects to the flowers of *Baccharis dracunculifolia*. This is a dioecious shrub, in which pollination involves bees, flies and wasps. Intersexual differences between scent profiles were significantly associated with hourly visitation patterns. Sesquiterpene hydrocarbons were mainly correlated with native social bees that foraged only on male capitula. Oxygenated monoterpenes were associated with the presence of solitary bees in male and female inflorescences while sesquiterpene alcohols were associated with the presence of solitary bees and flies in both capitula. The floral activity of the wasps had no significant correlation with floral volatiles. Despite the relatively low overall intersexual floral scent similarity, some common volatile signs grant that some of the floral visitors are driven to both to both sexual morphs.

¹ Trabalho apresentado segundo as normas da revista Functional Ecology

INTRODUÇÃO

A dioicia ocorre em cerca de 6% das espécies das angiospermas (Renner & Ricklefs, 1995), tendo evoluído em diferentes famílias sem ligações filogenéticas entre si. Este padrão de distribuição sugere que a dioicia teve origem polifilética, como um caráter derivado que se originou a partir de populações endogâmicas autocompatíveis (Richards, 1997).

Se por um lado a separação entre os órgãos reprodutivos masculino e feminino em diferentes genetas garante a xenogamia em uma população vegetal, por outro ela torna estas plantas dependentes de serviços de polinização. Os mecanismos envolvidos nesta transferência de pólen podem variar desde os abióticos, entre as plantas polinizadas pelo vento ou pela água, até os bióticos, nos quais a entomofilia pode se apresentar com diferentes níveis de especialização (Bawa, 1980; Renner & Feil, 1993; Bawa, 1994).

Os relatos sobre o sistema de polinização de espécies vegetais dióicas têm indicado que a entomofilia é sustentada por um conjunto de eventos que causam similaridade entre as flores dos dois morfos sexuais. Estas semelhanças levam à polinização por engano, ou devido ao mimetismo entre os morfos quanto à oferta de recurso, ou à inexperiência dos visitantes (Little, 1983). Os odores florais também têm sido relatados como fatores de semelhança entre os morfos cuja importância Tollsten & Knudsen (1992) demonstraram recentemente no sistema de polinização de espécies entomófilas dióicas de *Salix* (Salicaceae).

Ao contrário do que se espera para uma espécie dióica, *Baccharis dracunculifolia*, um arbusto pioneiro de vegetação aberta e de borda de mata, apresenta uma composição de terpenos florais diferente entre os morfos sexuais, compensando a variação de mono- e sesquiterpenos ao longo do dia (Ferracini *et al.*, 1995).

Este fato permite levantar algumas perguntas sobre o funcionamento de seu sistema de polinização e sobre a influência que o perfil de terpenos possa ter como sinalização para os visitantes florais. Neste estudo, investigamos a importância dos voláteis florais na determinação dos padrões de visitas aos capítulos, assim como suas consequências para a polinização de *B. dracunculifolia*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Padrões de Visitação

O trabalho de campo foi realizado em novembro de 1994, em populações de *B. dracunculifolia* espontâneas em áreas abertas do campus da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, e em bordas de um fragmento (250 ha) de mata mesófila semidescídua, a Reserva Municipal Mata de Santa Genebra. Ambas as áreas são da região de Campinas (22°26'S e 47°06'W), SP.

As observações sobre a visitação floral incluíram o período de abertura e o tempo de duração das flores e a coleta, a identificação e o registro do comportamento de forrageio dos visitantes. Os padrões horários de visitação foram caracterizados pelo período do dia em que indivíduos de cada espécie foram observados nos capítulos e foram tomados como indicadores de resposta dos visitantes aos sinais voláteis da flor. Estes dados foram obtidos em intervalos de uma hora, no período de 07:00 a 14:00h.

Extração, Análise e Identificação dos Voláteis Florais

Para a extração dos voláteis florais foram utilizadas dez inflorescências em cinco indivíduos de cada morfo, perfazendo 50 capítulos masculinos e 50 femininos (cerca de 1g), coletados em intervalos horários de 07:00 às 13:00h, em novembro de 1994. Cada uma das 14 amostras de inflorescência, sete para cada morfo, foi submetida à hidrodestilação com 40mL de água desionizada por amostra. O destilado foi extraído três vezes com 7mL de acetato de etila. O óleo essencial foi obtido após a secagem da fase orgânica em sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente a vácuo.

A cromatografia gasosa (CG) analítica de alta resolução foi realizada em cromatógrafo a gás HP-5970 com detector de ionização de chama (DIC), em coluna capilar de sílica fundida DB-5 J&W Scientific (25m x 0,2mm x 0,3µm). Para fins de integração dos picos, o aumento da temperatura da coluna foi programado em

20°C/min, entre 55-120°C; em 1,5°C, entre 120-150°C e em 20°C/min, entre 150-180°C. As temperaturas do injetor e do detector foram de 210°C e 280°C, respectivamente. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste, a uma razão de fluxo de 30mL/min, no modo *split*. O volume de injeção foi de 1µL de uma solução do óleo essencial em acetato de etila (1:3). O sinal elétrico obtido pela integração da detecção de cada composto não foi corrigido pelo respectivo fator de resposta do detector para o cálculo das proporções das substâncias na amostra.

Na análise em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foi utilizado o sistema HP-5890/5970, formado por um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas. A coluna capilar de sílica fundida utilizada foi uma DB-5 J&W Scientific (30m x 0,25mm x 0,25µm). O gás de arraste foi o hélio e os programas de temperatura da coluna foram os mesmos utilizados na CG analítica. Os espectros de massas foram obtidos a 70eV, a uma velocidade de varredura de 0,84 scan/seg, na faixa de m/z 40-500.

Os Índices de Retenção (IR) foram obtidos a partir dos tempos de retenção dos componentes da amostra e de uma mistura de *n*-alcanos entre C11-C30, co-injetados no sistema de CG-EM com um programa de temperatura da coluna aumentando 2°C/min, entre 105-280°C. O cálculo dos IR foi feito através da equação de Van der Dool & Kratz (1963):

$$IR = \left(100 \cdot \Delta n \cdot \frac{T_s - T_n}{T_{n+1} - T_n} \right) + 100n \quad \text{onde}$$

Δn = diferença do número de carbonos dos dois *n*-alcanos que eluem antes e depois da substância analisada

T_s = tempo de retenção da substância analisada

T_n = tempo de retenção do *n*-alcano que elui antes da substância analisada

T_{n+1} = tempo de retenção do *n*-alcano que elui depois da substância analisada

n = número de carbonos do *n*-alcano que elui antes da substância analisada

A identificação dos componentes do óleo essencial foi feita com base na co-injeção de padrões comerciais, sintetizados ou previamente isolados nas partes vegetativas de *B. dracunculifolia* (Queiroga *et al.*, 1990; Loayza *et al.*, 1995) e caracterizados pelos espectros no infra-vermelho e de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C . Além disto, foram realizadas comparações dos índices de retenção obtidos com os disponíveis na literatura (Adams, 1995) e dos espectros de massa com os arquivos da biblioteca espectral Wiley/NBS que compõe o sistema CG-EM.

A Análise Multivariada dos Dados

Dois conjuntos de dados foram submetidos à análise de agrupamento. Um deles foi constituído por todos os terpenos isolados dos capítulos de *B. dracunculifolia* e o outro foi formado pela organização desses terpenos em seis grupos, segundo o seu índice de retenção e características moleculares gerais. A análise de agrupamento foi baseada numa matriz de distância métrica de Canberra e o método de ligação foi o de Média de Grupo (Sneath & Sokal, 1973), realizados no programa FITOPAC, desenvolvido pelo Dr. George J. Shepherd, da Unicamp.

Os compostos terpênicos foram agrupados segundo critérios de similaridade estrutural e foram utilizados como uma matriz de variáveis ambientais para testar sua influência sobre os padrões horários de visitação. Uma avaliação exploratória desta matriz foi realizada pela Análise de Correspondência (CA) e pela Análise de Correspondência Distendida (DCA), para medir o gradiente em torno dos eixos em unidades de desvio padrão (ter Braak, 1987; ter Braak & Wiertz, 1994) realizadas pelo programa CANOCO, versão 3.10.

A seleção dos grupos de terpenos foi feita primeiro, com base em sua importância marginal e, segundo, em sua importância condicional para explicação da inércia total da matriz de visitação (ter Braak & Verdonschot, 1995). A associação entre os grupos de terpenos e os padrões horários de visitação aos capítulos foi testada através da Análise de Correspondência Canônica (CCA). A seleção das variáveis ambientais e a CCA foram realizadas utilizando o programa CANOCO, versão 3.10, sendo que o nível de significância de ambas foi estabelecido pelo teste de permutação de Monte Carlo (ter Braak, 1988; ter Braak, 1990).

RESULTADOS

Padrões de Visitação

A abertura das flores começa por volta das 06:00h. Um odor adocicado, semelhante ao de mel, é exalado pela inflorescência masculina desde a abertura das flores, sendo fraco no início e atingindo o máximo de sua intensidade entre 10:00 e 13:00h. A inflorescência feminina não apresenta odor perceptível até o período entre 11:00-12:00 h e, daí em diante, passa a exalar um odor similar ao da masculina, porém menos intenso.

Os insetos que forrageiam na inflorescência masculina utilizam pólen e/ou eventualmente néctar e recebem pólen nas cerdas das pernas e do abdômen. Os insetos que também visitam as inflorescências femininas tocam os estigmas com as partes de seu corpo que estão sujas de pólen e realizam a polinização.

Os padrões horários de visita dos insetos às flores (Tab. 2.1) são caracterizados pela segregação de dois grupos de visitantes. Um deles é predominantemente constituído por insetos solitários, e o outro por insetos sociais. Entre os solitários estão os que visitam ambas as inflorescências, enquanto os sociais se limitam aos capítulos masculinos.

As abelhas solitárias *Augochloropsis cupreola* e *Paraoxystoglossa jocasta* (Halictidae) visitam as flores masculinas e femininas entre 08:00 e 09:00h e permanecem em atividade até as 12:00h. As visitas aos capítulos masculinos duram até dez segundos, enquanto nos femininos, as visitas duram, no máximo, quatro segundos. Nos capítulos masculinos, estas abelhas usam as partes bucais para comprimir ou romper o tubo formado pelas anteras e coletam o pólen com os pares de pernas medianas e dianteiras.

A vespa *Polistes suberosa* (Vespidae) e a mosca *Ornidia obesa* (Syrphidae) também visitam as flores dos dois morfos desde as 07:00h até as 13:00h, sendo que *O. obesa* é mais freqüente entre 11:00 e 12:00h. Estas duas espécies se alimentam apenas de pólen. As visitas de *O. obesa* duraram até 30 segundos nos capítulos femininos.

As abelhas sociais nativas *Plebeia mosquito*, *Tetragonisca angustula* e *Trigona spinipes* (Apidae) foram vistas apenas nas flores masculinas. Visitam flores entre 09:00 e 11:00h e forrageiam até as 13:00h. A espécie social exótica *Apis mellifera* (Apidae) visita principalmente flores masculinas desde 07:00h, mas também foi vista nas flores femininas entre 11:00 e 12:00h. As abelhas sociais retiram pólen, usando as partes bucais para comprimir o tubo formado pelas anteras.

A Composição do Óleo Essencial

Os compostos no óleo essencial de *B. dracunculifolia* são mono- e sesquiterpenos, compreendendo 75 substâncias organizadas em seis grupos principais (Tab. 2.3). Das 75 substâncias do óleo essencial, 21 (28%) foram identificadas. Muitas ocorrem apenas como traços na composição do óleo, enquanto cerca de 15 compostos contribuem com 50-60% da massa total extraída. Os álcoois sesquiterpênicos representam o grupo majoritário, sendo o nerolidol o composto mais abundante.

A variação percentual horária de cada um dos grupos (Tab. 2.2), associada à massa total extraída, evidencia que a produção de terpenos ocorre em pulsos, em cada morfo, que se alternam de maneira complementar (Fig. 2.1, 2.2).

A Relação entre Terpenos e os Padrões de Visitação aos Capítulos

Na análise de agrupamento que considerou todos os 75 terpenos isoladamente, as ligações mais próximas ocorreram, mais comumente, entre as amostras horárias de um mesmo morfo (Fig. 2.3A). Mesmo depois da reorganização destes compostos em seis grupos, a semelhança continuou maior entre as amostras de um mesmo morfo. No respectivo dendrograma (Fig. 2.3B), níveis de ligação próximos a 0,20 ocorreram apenas duas vezes entre amostras dos diferentes morfos.

Dos seis grupos de terpenos, apenas três tiveram participação significativa ($p < 0,05$) sobre a variação dos padrões de visitação aos capítulos: os hidrocarbonetos monoterpênicos (A), os monoterpenos oxigenados (B) e os álcoois sesquiterpênicos (D) que, apesar de majoritários, explicaram apenas 13% da variância total da matriz de visitantes (Tab. 2.4). Mesmo diante da pequena similaridade no perfil de terpenos entre os morfos, os referidos grupos de compostos deram uma contribuição altamente significativa (Tab. 2.5) para explicar os padrões de visitação (Tab. 2.1) aos capítulos de *B. dracunculifolia*.

Esta influência foi marcante em relação às abelhas sociais nativas *P. mosquito*, *T. angustula* e *T. spinipes* que forrageiam apenas nas inflorescências masculinas. A não ser *T. spinipes*, cujo padrão de atividade apresentou alguma correlação aos monoterpenos oxigenados, a atividade dessas três espécies foi fortemente associada aos hidrocarbonetos monoterpênicos (Fig. 2.4). Os teores desses compostos nas flores femininas foi cerca de dez vezes menor que nas masculinas, nas quais os níveis mais altos foram detectados entre 10:00 e 12:00h. Neste período, a produção de hidrocarbonetos monoterpênicos nos capítulos femininos caiu para zero (Fig. 2.1). As abelhas sociais nativas não foram vistas forrageando ou visitando flores femininas, apesar de outros sinais voláteis, como monoterpenos oxigenados ou álcoois sesquiterpênicos que são produzidos pelos dois morfos (Fig. 2.1, 2.2).

Os visitantes que polinizaram as flores femininas de *B. dracunculifolia* são as abelhas *A. cupreola* e *P. jocasta*, a vespa *P. suberosa* e a mosca *O. obesa*, que tiveram sua atividade nas flores associada principalmente aos monoterpenos monoxigenados e pelos álcoois sesquiterpênicos (Fig. 2.4A).

Analisando os dois primeiros eixos canônicos, *A. cupreola* e *P. jocasta* apresentaram pouca correlação aos três grupos de terpenos. Entretanto, quando foi incluída a contribuição do terceiro eixo canônico, a atividade dessas abelhas mostrou uma pequena correlação aos monoterpenos oxigenados e aos álcoois sesquiterpênicos, respectivamente (Fig. 2.4B).

A atividade floral de *O. obesa* foi fortemente correlacionada aos álcoois sesquiterpênicos, grupo de compostos majoritários em ambos os morfos e o mais abundante no capítulo feminino (Fig. 2.2). *P. suberosa* foi ordenada numa posição

oposta aos vetores dos grupos de terpenos, não indicando nenhuma resposta muito ligada a qualquer um deles (Fig. 2.4).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Unidades florais pequenas e esverdeadas como as de *B. dracunculifolia*, com escassa produção de néctar, são comuns em muitas espécies arbóreas dióicas tropicais (Bawa, 1990). Como nestes casos o pólen está restrito a um dos morfos, a motivação para visitas às flores de ambos relaciona-se a sinais comuns entre eles, reforçando a idéia de mimetismo intersexual (Little, 1983). Os odores florais, em casos como este, também são apontados como componentes importantes na semelhança intersexual de espécies dióicas entomófilas (Bawa, 1980; Wilson & Ågren, 1989).

As variações entre a razão mono- / sesquiterpenos nos morfos (Ferracini *et al.*, 1995) indicam que os perfis de voláteis desta espécie representam mais um componente do dimorfismo sexual. De fato, os níveis de ligação obtidos pela análise de agrupamento entre as amostras horárias de *B. dracunculifolia* (Fig. 2.3) mostram similaridade intersexual baixa, a ponto de se aproximarem dos níveis de ligação encontrados por Tollsten e Knudsen (1992) para os morfos das espécies dióicas de *Salix*, cuja polinização é predominantemente abiótica.

Padrões de diferenciação de odor floral são relatados entre espécies de Apiaceae do gênero *Angelica* (Tollsten *et al.*, 1994) e entre populações numa espécie monóica de *Conopodium* (Tollsten & Øvstedal, 1994); e em nível infra-específico em Pyrolaceae, no complexo *Pyrola rotundifolia* (Knudsen, 1994). Em todos esses casos, a diferenciação quanto aos polinizadores é proposta como resposta ao perfil diferenciado de voláteis, sendo reforçada a idéia de que a polinização ocorre entre os indivíduos de um mesmo quimiotipo (Knudsen, 1994; Tollsten & Øvstedal, 1994; Tollsten *et al.*, 1994).

Como a atividade dos visitantes de *B. dracunculifolia* foi significativamente associada aos terpenos florais (Tab. 2.5, Fig. 2.4), é possível que, mesmo neste nível de diferenciação quanto aos voláteis florais, ainda há sinais químicos que direcionam os visitantes a ambos os morfos.

A atividade das abelhas sociais nativas representou uma combinação linear com a liberação de hidrocarbonetos monoterpênicos. Mas isto não significa que sejam insensíveis a mono- ou a sesquiterpenos oxigenados. O linalool e o geraniol, por exemplo, dois álcoois monoterpênicos isolados em *B. dracunculifolia* (Tab. 2.2), são isômeros do nerol, um feromônio de alarme isolado de *Trigona fulviventris* (Johnson & Wiemer, 1982). A atração em direção a iscas químicas, acompanhada de recrutamento, é um dos componentes típicos do comportamento de alarme em *Trigona* (Blum *et al.*, 1970; Johnson, 1980; Johnson *et al.*, 1985).

Esta associação entre os hidrocarbonetos monoterpênicos e as abelhas sociais parece ser um tipo de resposta de forrageio, discriminatória em relação à localização do recurso floral. Situação similar foi descrita para *Apis mellifera*, cujo comportamento de forrageio afetou significativamente a produção de sementes em cultivares de girassol *Helianthus annuus* (Parker, 1981; Freund & Furgala, 1982), estando associado ao fato desta abelha ser capaz de discriminar os perfis químicos de voláteis florais entre diferentes genótipos e estádios florais desses cultivares (Pham-Delegue *et al.*, 1989).

A associação feita por um visitante entre qualquer sinal floral e algum recurso existente na flor representa a motivação mais efetiva da interação de flores e animais (Waser *et al.*, 1996). A capacidade discriminatória pode restringir a atividade das abelhas sociais aos capítulos do morfo masculino, pelo fato dos hidrocarbonetos monoterpênicos aparecerem primeiro neste morfo, levando a uma associação entre os sinais voláteis e o pólen. Devido a isto, a participação deste grupo de insetos na polinização de *B. dracunculifolia* é fortemente limitada.

Em função dos sinais voláteis, as abelhas sociais localizam primeiro o morfo masculino e, como uma das características do hábito social entre abelhas é o forrageamento em grupo (Roubik, 1989), elas permanecem nesta fonte de recurso, recrutando co-específicos enquanto houver pólen nas flores. Situações similares foram descritas para *A. mellifera*, cujo forrageamento levou a subdivisões bem restritas de sítios de forrageio, tanto em meio a canteiros experimentais, como em formações vegetais naturais (Handel, 1983).

O padrão de visitas de *O. obesa* manteve correlação bastante consistente com os álcoois sesquiterpênicos. Este sinal químico pode contornar um eventual desestímulo pela falta de recurso nas flores femininas, pois, assim como outros

sirfídeos, os adultos desta espécie de mosca alimentam-se primariamente de pólen e néctar (Haslet, 1989a,b; Thompson, 1991). Como os sirfídeos são altamente dependentes de recursos florais, sua participação na polinização de plantas predominantemente generalistas, como em espécies de Apiaceae dos gêneros *Thaspium* e *Zizia* (Lindsey, 1984), foi associada a odores adocicados, como o de *B. dracunculifolia*.

Considerando os outros grupos de insetos que polinizam *B. dracunculifolia* por visitar ambos os capítulos, a mediação química das interações envolvendo halictídeos e vespas não foram suficientemente investigadas. No caso da vespa *P. suberosa*, a atividade floral não apresentou correlação expressiva com os voláteis florais, pela contribuição do primeiro eixo canônico da CCA (Fig. 2.4A). É possível, inclusive, que suas visitas ao capítulo feminino sejam motivadas pela utilização das cerdas do pappus, e não por algum sinal químico ou outro eventual recurso floral.

Entre os halictídeos, *A. cupreola* e *P. jocasta* demonstram pequena associação com monoterpenos oxigenados e com os álcoois sesquiterpênicos. No que diz respeito à ecologia química, existem poucos dados sobre os feromônios sexuais (Smith *et al.*, 1985) e a composição da secreção da glândula de Dufour (Hefetz *et al.*, 1986) de halictídeos. Isto constitui uma limitação para a correlação com uma eventual mediação química nas interações em que participam.

Finalmente, é possível concluir que as visitas de insetos às flores de *B. dracunculifolia* não são aleatórias em relação aos voláteis florais que, ao contrário, estão significativamente os padrões horários de visitação. O nível de similaridade é baixo entre o perfil de terpenos das amostras horários dos dois morfos, para que fosse caracterizado mimetismo químico entre os morfos. Apesar disto, há sinais químicos que atraem os visitantes a ambas as flores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, R.P. (1995). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Allured Publishing, Carol Stream.
- Bawa, K.S. (1980). Mimicry of male by female flowers and intrasexual competition for pollinators in *Jacaratia dolichaula* (D. Smith) Woodson (Caricaceae). *Evolution*, **34**, 467-474.
- Bawa, K.S. (1990). Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**, 15-39.
- Bawa, K.S. (1994). Pollinators of tropical dioecious angiosperms, a reassessment? no, not yet. *American Journal of Botany*, **81**, 456-460.
- Blum, M.S., Crewe, R.M., Kerr, W.E., Keith, L.H., Garrison, A.W. & Walker, M.M. (1970). Citral in stingless bees, isolation and function in trail-laying and robbing. *Journal of Insect Physiology*, **16**, 1637-1648.
- Ferracini, V.L., Paraiba, L.C., Leitão-Filho, H.F., Silva, A.G. da, Nascimento, L.R. & Marsaioli, A.J. (1995). Essential oils of seven brazilian *Baccharis* species. *Journal of Essential Oil Research*, **7**, 355-367.
- Freund, D.E. & Furgala, B. (1982) Effect of pollination by insects on the seed set and yield of ten oilseed sunflower cultivars. *American Bee Journal*, **122**, 648-652.
- Handel, S.N. (1983) Pollination ecology, plant population structure, and gene flow. In: *Pollination biology* (ed. L. Real), pp. 163-211. Academic Press, Orlando.
- Haslett, J.R. (1989a). Interpreting patterns of resource utilization, randomness and selectivity in pollen feeding by adult hoverflies. *Oecologia*, **78**, 433-442.
- Haslett, J.R. (1989b). Adult feeding by holometabolous insects, pollen and nectar as complementary nutrients sources for *Rhingia campestris* (Diptera, Syrphidae). *Oecologia*, **81**, 361-363.
- Hefetz, A., Bergström, G & Tengö, J. (1986). Species, individual and kin specific blends in Dufour's gland secretion of halictine bees. *Journal of Chemical Ecology*, **11**, 197-208.
- Johnson, L.K. (1980) Alarm response of foraging *Trigona fulviventrís* (Hymenoptera: Apidae) to mandibular gland components of competing bee species. *Journal of Kansas Entomological Society*, **53**, 357-362.
- Johnson, L.K. & Wiemer, D.F. (1982). Nerol, an alarm substance of the stingless bee *Trigona fulviventrís* (Hymenoptera, Apidae). *Journal of Chemical Ecology*, **9**, 1167-1181.
- Johnson, L.K., Haynes, L.W., Carlson, M.A., Fortnum, H.A & Gorgas, D.L. (1985). Alarm substances of the stingless bee *Trigona silvestriana*. *Journal of Chemical Ecology*, **11**, 409-416.
- Knudsen, J.T. (1994) Floral scent variation in the *Pyrola rotundifolia* complex in Scandinavia and Western Greenland. *Nordic Journal of Botany*, **14**, 277-282.

- Lindsey, A.H. (1984). Reproductive biology of Apiaceae I, floral visitors to *Thaspium* and *Zizia* and their importance to pollination. *American Journal of Botany*, **71**, 375-387.
- Little, R.J. (1983). A review of floral food deception mimicries with comments on floral mutualism. In *Handbook of experimental pollination biology* (eds Jones, C.E. & Little, R.J.), pp.294-309. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Loayza, I., Abujder, D., Aranda, R., Jakupovic, J., Collin, G., Deslauriers, H. & France-Ida, J. (1995) Essential oils of *Baccharis salicifolia*, *B. latifolia* and *B. dracunculifolia*. *Phytochemistry*, **38**, 381-389.
- Parker, F.D. 1981. Sunflower pollination, abundance, diversity and seasonality of bees on male-sterile and male-fertile cultivars. *Environmental Entomology*, **10**, 1012-1017.
- Pham-Delegue, M.H., Etievant, P., Guichard, E. & Masson, C. (1989). Sunflower volatiles involved in honeybee discrimination among genotypes and flowering stages. *Journal of Chemical Ecology*, **15**, 329-343.
- Queiroga, C.L., Fukai, A. & Marsaioli, A.J. (1990). Composition of the essential oil of Vassoura. *Journal of the Brazilian Chemistry Society*, **1**, 105-109.
- Renner, S.S. & Feil, J.P. (1993) Pollinators of tropical dioecious angiosperms. *American Journal of Botany*, **80**, 1100-1107.
- Renner, S.S. & Ricklefs, R.E. (1995). Dioecy and its correlations in the flowering plants. *American Journal of Botany*, **82**, 596-606.
- Richards, A.J. (1997). Dicliny. In: *Plant breeding systems*, pp. 297-356 George Allen & Unwin, London.
- Roubik, D.W. (1989). *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press, New York.
- Smith, B.H., Carlson, R.G. & Fazier, J. (1985). Identification and bioassay of macrocyclic lactone sex pheromone of the *Lasioglossum zephyrum*. *Journal of Chemical Ecology*, **11**, 1447-1456.
- Sneath, P.H.A. & Sokal, R.R. (1973). *Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman & Co., San Francisco
- ter Braak, C.J.F. (1988). CANOCO - a FORTRAN program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis, principal component analysis and redundancy analysis (version 2.1). Technical report. Microcomputer Power, Ithaca.
- ter Braak, C.J.F. (1990). *Update notes, CANOCO version 3.10*. Microcomputer Power, Ithaca.
- Thompson, F.C. (1991) The flower fly genus *Ornidia* (Diptera, Syrphidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, **93**, 248-261.
- Tollsten, L. & Knudsen, J.T. (1992). Floral scents in dioecious *Salix* (Salicaceae)-a cue determining pollination system? *Plant Systematics and Evolution*, **82**, 229-237.

- Tollsten, L., Knudsen, J.T. & Bergström, L.G. (1994) Floral scent in generalistic *Angelica* (Apiaceae) - an adaptative character? *Biochemical Systematics and Ecology*, **22**, 161-169.
- Tollsten, L. & Øvstedal, D.O. (1994). Differentiation in floral scent chemistry among populations of *Conopodium majus* (Apiaceae). *Nordic Journal of Botany*, **14**, 361-367.
- Van der Dool, H. & Kratz, P.D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, **11**, 463-471.
- Waser, N.M., Chittka, L., Price, M.V., Williams, N.M. & Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, **77**, 1043-1060.
- Willson, M.F. & Ågren, J. (1989). Differential floral rewards and pollination by deceit in unisexual flowers. *Oikos*, **55**, 23-29.

Tabela 2.1. Padrões horários de visitação de insetos às inflorescências masculinas e femininas de *Baccharis dracunculifolia*

Amostra	Apml	Aucu	Orob	Pajo	Plmo	Posu	Teau	Trsp
M07	1	0	0	0	0	1	0	0
F07	0	0	1	0	0	1	0	0
M08	1	1	0	0	0	1	0	0
F08	0	0	0	0	0	1	0	0
M09	1	1	0	0	0	0	0	1
F09	0	1	0	1	0	1	0	0
M10	1	1	0	1	0	1	1	1
F10	0	1	0	1	0	1	0	0
M11	1	1	1	1	1	0	1	1
F11	1	1	0	1	0	0	0	0
M12	1	1	1	1	1	1	1	1
F12	1	1	1	1	0	1	0	0
M13	1	0	0	0	1	0	1	1
F13	0	0	0	0	0	1	0	0

Legenda: Apml: *Apis mellifera*; Aucu: *Augochloropsis cupreola*; Orob: *Ornidia obesa*; Pajo: *Paraoxystoglossa jocasta*; Plmo: *Plebeia mosquito*; Posu: *Polistes suberosa*; Teau: *Tetragonisca angustula*; Trsp: *Trigona spinipes*; M: masculino, F: feminino

Tabela 2.2. Percentual dos grupos de terpenos florais nos capítulos masculinos e femininos de *Baccharis dracunculifolia*.

Amostra	A	B	C	D	E	F
M07	0,28	0,91	4,81	76,53	14,90	2,57
F07	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
M08	0,00	0,45	2,73	71,69	6,12	4,28
F08	0,14	0,36	3,61	40,75	18,69	0,66
M09	0,47	1,88	8,62	70,13	13,74	5,11
F09	0,00	0,00	7,71	82,92	9,37	0,00
M10	0,51	0,64	3,99	81,19	11,54	1,00
F10	0,00	0,00	0,00	91,75	7,03	0,00
M11	5,01	0,00	0,00	94,90	0,00	0,00
F11	0,00	1,21	2,17	67,17	13,39	0,00
M12	2,09	0,29	11,24	77,03	9,55	0,53
F12	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
M13	0,96	0,64	3,02	87,10	8,29	0,00
F13	0,00	0,49	32,10	48,73	16,72	0,00

Legenda: A: hidrocarbonetos monoterpênicos; B: monoterpenos oxigenados; C: hidrocarbonetos sesquiterpênicos; D: álcoois sesquiterpênicos; E: dióis sesquiterpênicos; F: cetonas e epóxidos sesquiterpênicos; M: masculino, F: feminino

Tabela 2.3. Compostos terpênicos identificados nas inflorescências masculinas e femininas de *Baccharis dracunculifolia*.

Compostos	Método de Identificação	Índice de Retenção
Grupo A: Hidrocarbonetos monoterpênicos		
α -pineno	IRpc, EM	1126
α -terpineno	IRb, EM	1177
Grupo B: Monoterpenos oxigenados		
linalool	IRb, EM	1222
α -terpineol	IRb, EM	1295
geraniol	IRpc, EM	1325
Grupo C: Hidrocarbonetos sesquiterpênicos		
β -cariofileno	IRpc, EM	1475
aromadendreno	IRpc, EM	1495
humuleno	IRpc, EM	1505
alloaromadendreno	IRpc, EM	1508
β -selineno	IRb, EM	1537
β -cadineno	IRps	1541
germacreno-d	IRpc, EM	1550
γ -cadineno	IRb, EM	1567
δ -cadineno	IRb, EM	1579
Grupo D Álcoois sesquiterpênicos		
epi-globulol	IRps, EM	1619
nerolidol	IRpi, EM	1627
espatulenol	IRpi, EM	1638
globulol	IRps, EM	1645
viridiflorol	IRps, EM	1652
guaiol	IRpc, EM	1672
α -cadinol	IRpi, EM	1707
t-muuroiol	IRpc, EM	1715
Grupo E Dióis Sesquiterpênicos		
aromadendrenodiol	IRps, EM	1740
Grupo F Cetonas e epóxidos sesquiterpênicos		>1760

Legenda: IRb: índice de retenção (Adams, 1995); IRpc: índice de retenção comparado com padrão comercial; IRpi: índice de retenção comparado ao de padrões isolados e caracterizados por espectroscopia de Infra-vermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C ; IRps: índice de retenção comparado ao de padrões sintéticos (Queiroga *et al.*, 1990); EM: espectrometria de massas.

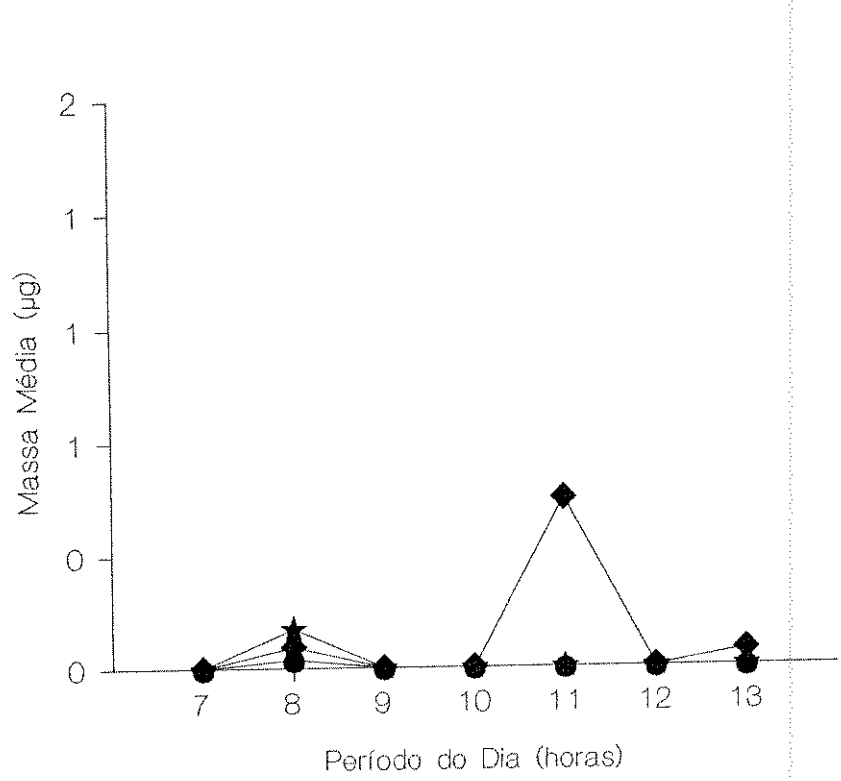
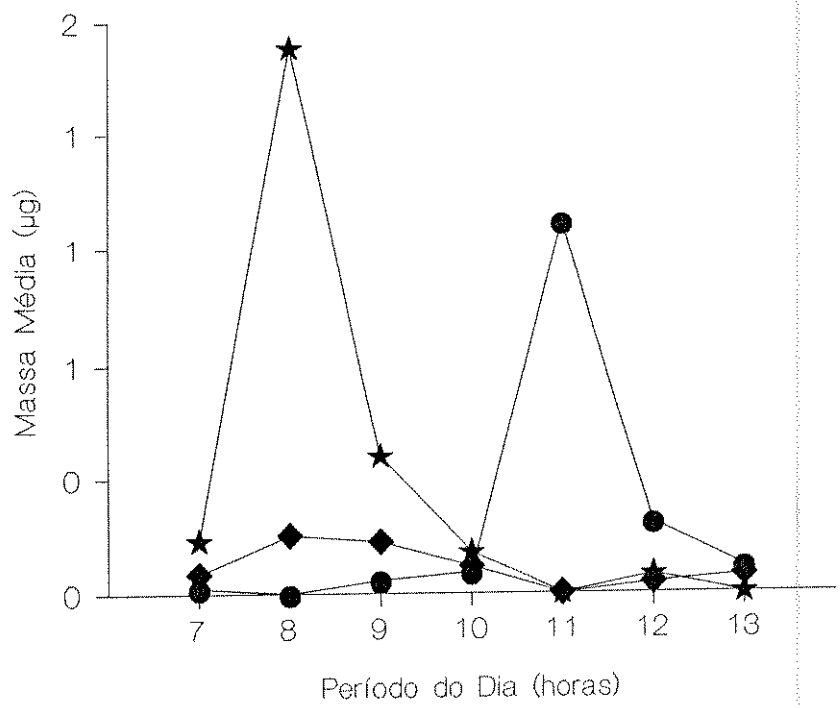
Tabela 2.4. Nível de significância da variância explicada pelos grupos de terpenos para os padrões horários de visita às flores de *Baccharis dracunculifolia*.

Grupo de Terpenos	Variância Explicada	Teste de Monte Carlo	
		F	p
A	0.21	3.27	0.01
B	0.13	2.64	0.04
C	0.05	0.28	0.96
D	0.11	2.58	0.01
E	0.11	1.25	0.26
F	0.10	0.91	0.52

Legenda: A: hidrocarbonetos monoterpênicos; B: monoterpênos oxigenados; C: hidrocarbonetos sesquiterpênicos; D: álcoois sesquiterpênicos; E: dióis sesquiterpênicos; F: cetonas e epóxidos sesquiterpênicos

Tabela 2.5. Sumário da Análise de Correspondência Canônica (CCA) para a relação entre visitantes florais e grupos de terpenos de *Baccharis dracunculifolia*

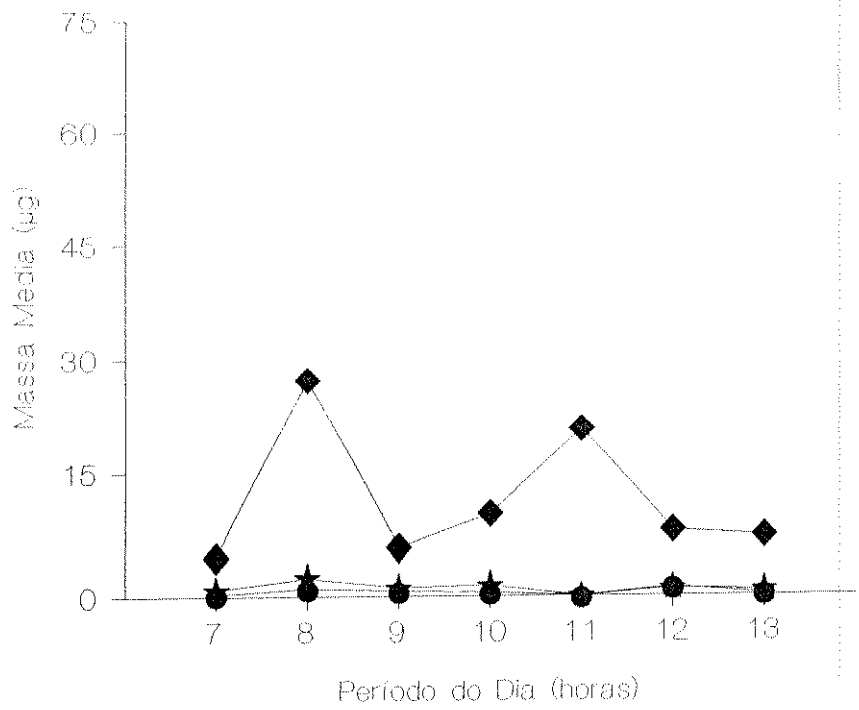
Parâmetros da CCA	Eixos Canônicos		
	1	2	3
Autovalores	0.241	0.113	0.039
Correlação espécies / terpenos	0.921	0.802	0.500
Variância acumulada (%) para:			
matriz de espécies	34.3	45.7	49.9
relação espécies/ terpenos	69.1	92.1	100.0
Coefficiente de Regressão/Canônico para variáveis estandardizadas:			
hidrocarbonetos monoterpênicos (A)	-0.72	-0.22	0.69
monoterpenos oxigenados (B)	-0.89	0.78	-0.63
álcoois sesquiterpênicos (D)	-0.73	-0.22	-1.12
Teste de Monte Carlo para o Primeiro Eixo	F	p	
	5.23	0,01	



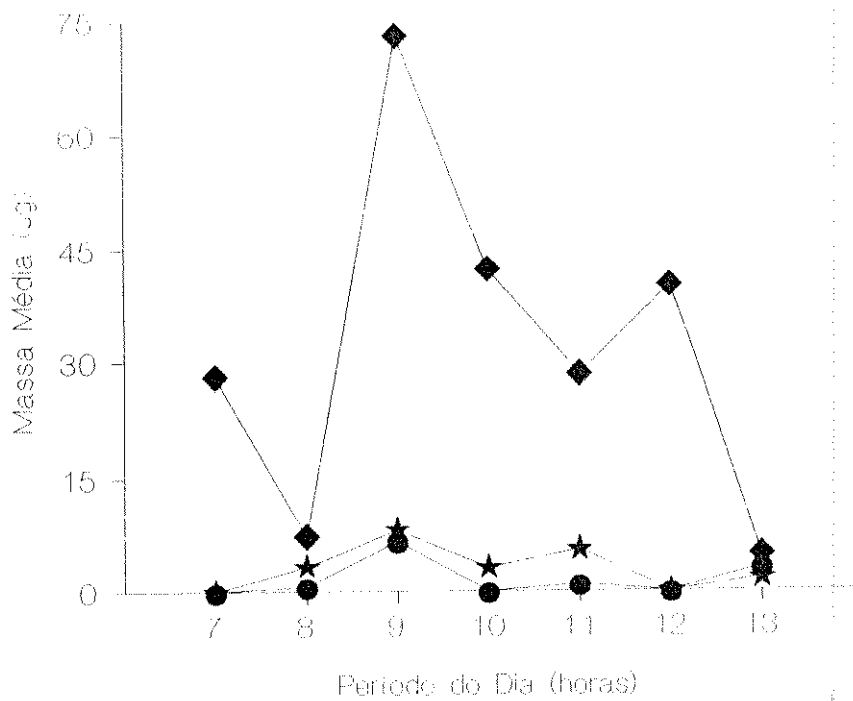
(●) hidrocarbonetos monoterpênicos; (◆) monoterpenos oxigenados; (★) cetonas e epóxidos sesquiterpênicos

Figura 2.1. *Baccharis dracunculifolia*. Variação horária entre 07:00-13:00h da massa média dos grupos minoritários de terpenos na fração volátil dos capítulos masculinos e femininos, cuja massa / capítulo não atingiu 2µg.

♂



♀



(●) hidrocarbonetos sesquiterpênicos; (◆) álcoois sesquiterpênicos; (★) diois sesquiterpênicos

Figura 2.2. *Baccharis dracunculifolia*. Variação horária entre 07:00-13:00h da massa média dos grupos majoritários de terpenos, na fração volátil dos capítulos masculinos e femininos, cuja massa / capítulo superou 2µg.

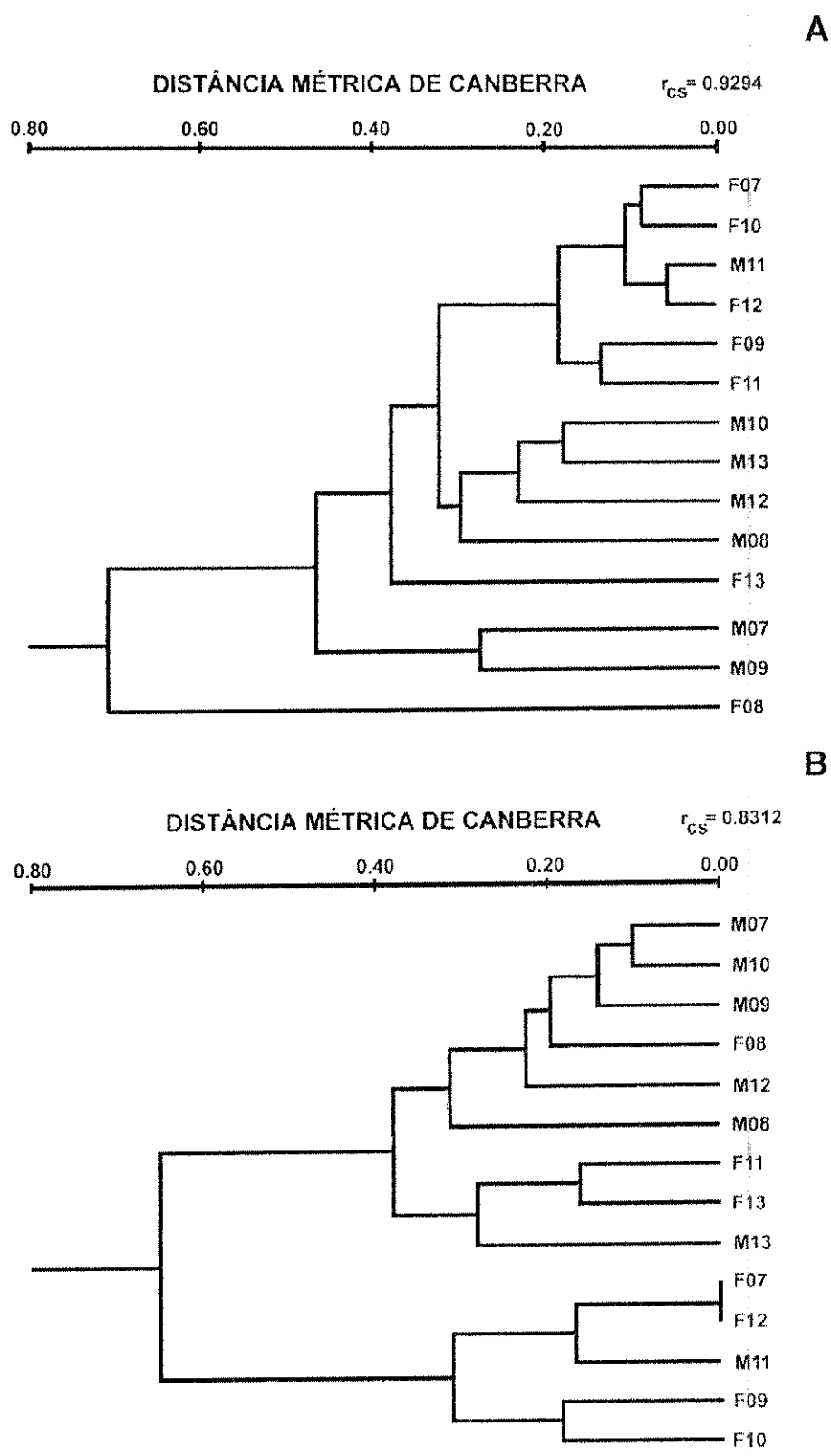


Figura 2.3. *Baccharis dracunculifolia*. Dendrograma de ligação por Média de Grupo (UPGMA) e seu coeficiente de correlação cofenética (r_{CS}) entre as frações voláteis dos horários de coleta. (A): considerando as 75 moléculas de terpenos e (B): considerando os mesmos compostos organizados em 6 grupos, dos capítulos masculinos (M07-M13) e femininos (F07-F13) coletados entre 07:00-13:00h.

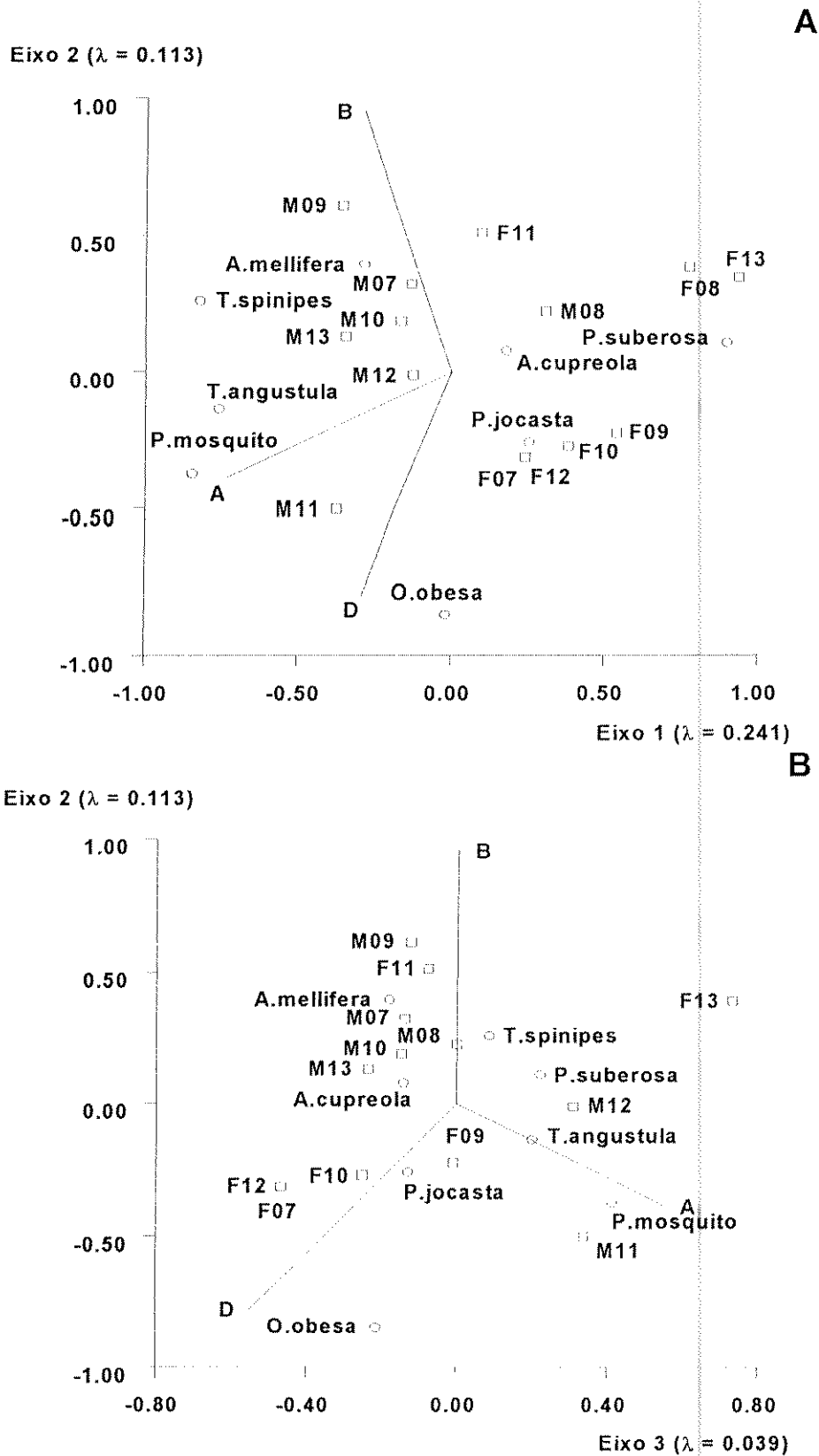


Figura 2.4. *Baccharis dracunculifolia*. Diagramas de ordenação dos visitantes florais (O) baseados na Análise de Correspondência Canônica dos grupos de terpenos (vetores) nas amostras horárias (□) dos capítulos masculinos (M) e femininos (F), coletadas entre 07:00-13:00 h.

CAPÍTULO III

RELAÇÃO ENTRE NÉCTAR, FRAGRÂNCIAS FLORAIS E A VISITAÇÃO ÀS FLORES DE *ERIOTHECA CANDOLLEANA* (BOMBACACEAE)¹

Resumo

Eriotheca candolleana é uma espécie arbórea das florestas tropicais do sudeste do Brasil, com flores protândricas e auto-incompatibilidade pós-zigótica. Indivíduos cultivados numa área urbana, próxima a dois fragmentos de mata semidecídua, foram usados como modelo para verificar a relação dos voláteis florais e da oferta de néctar com os padrões horários de visitação às flores. Ocorreram visitas de abelhas, borboletas e aves. As visitas de insetos às fases masculina e feminina da flor foram associadas aos períodos do dia com temperaturas do ar mais altas. A chegada e continuidade de visitas das aves foram relacionadas com a variação da massa acumulada de néctar. Os voláteis florais e as características do néctar não tiveram relação com a separação temporal das funções masculina e feminina da flor, mas foram importantes para a chegada dos visitantes às flores.

Abstract

Eriotheca candolleana is a tree species of tropical forests from southeastern Brazil, with protandrous flowers and post-zygotic self-incompatibility. Cultivated plants in an urban area, near two semideciduous forest fragments, were taken as a model to test the relation of floral volatiles and nectar availability with the hourly patterns of floral visitation. There were visits of bees, butterflies, and birds. The presence of insects in both male and female floral phases were associated with daily periods of high air temperatures. The arrival and continuous visitation of birds were associated with the variation on the accumulated mass of nectar. Floral volatiles and nectar characteristics were not related to functional separation of male and female floral phases, but they were important for the arrival of floral visitors to the flowers.

¹ Trabalho apresentado segundo as normas da revista Functional Ecology

INTRODUÇÃO

Eriotheca candolleana (Bombacaceae) é uma espécie das florestas tropicais do sudeste do Brasil e sua distribuição se estende até as matas de galeria de Goiás (Robyns, 1963). É encontrada nos domínios da mata pluvial atlântica (Silva *et al.* 1997), em matas semidecíduas (Leitão-Filho, 1992) e em matas semidecíduas de altitude (Oliveira-Filho *et al.* 1994). Esta espécie tem apresentado baixa densidade e os indivíduos são componentes exclusivos do dossel (Oliveira-Filho *et al.* 1994; Silva *et al.*, 1997).

A floração coincide com a perda das folhas, evidenciando o conjunto das numerosas inflorescências ao longo de três meses (Robyns, 1963). Este fato, associado à pequena densidade de indivíduos (Oliveira-Filho *et al.* 1994; Silva *et al.* 1997), faz com que esta espécie ofereça um recurso floral que se distribui espacialmente em manchas nas áreas de ocorrência (Silva *et al.*, 1997). Em tais condições, a tendência dos visitantes permanecerem numa mancha favorece a geitonogamia (Snow *et al.*, 1996).

As flores de *E. candolleana* são protândricas e cerca de dez horas separam a fase masculina da feminina. A abertura das flores ocorre, contudo, em pulsos assíncronicos, ao longo do dia e da noite, o que minimiza a capacidade da dicogamia reduzir o impacto da geitonogamia sobre a produção de sementes em espécies auto-incompatíveis (Klinkhamer & Jong, 1993, Snow *et al.*, 1996). Por outro lado, diversos fatores, tais como o grau de saciedade, restringem a sua atividade dos visitantes quanto ao número de flores visitadas em relação às disponíveis, podendo representar um fator mais relevante que a dicogamia para aumentar a produção de sementes (Snow *et al.*, 1996). Klinkhamer & de Jong (1993) demonstraram, em modelo, que até mesmo uma redução na atratividade floral contornaria a geitonogamia.

Neste trabalho pretende-se verificar como os sinais químicos voláteis e a oferta de néctar afetam os padrões diários de visitação às duas fases florais de *E. candolleana*, em indivíduos cultivados em área próxima a dois fragmentos de mata mesófila semidecídua.

MATERIAIS E MÉTODOS

Padrões de Visitação

O trabalho de campo foi realizado entre julho e outubro de 1993-96, utilizando quatro indivíduos cultivados no Campus da Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas (22°26'S e 47°06'W), SP.

As observações sobre as visitas cobriram as 36 horas de duração da flor, em um grupo de flores que abriram às 07:00h. Para cada duas horas de observação foram contados os turnos de forrageio e as flores visitadas em cada turno, coletados e identificados os visitantes e registrada a temperatura do ar.

O período do dia de chegada dos visitantes e a continuidade de sua atividade nas flores foram tomados como indicadores da resposta dos visitantes aos sinais florais. Os padrões horários de visitação foram definidos para cada espécie de visitante como os períodos de presença consecutivas de indivíduos na flor. A partir dos padrões de visitação, períodos de presenças consecutivas foram subestimados em relação àqueles em que indivíduos de cada espécie estiveram presentes nas flores após, pelo menos, um período de ausência, definindo os padrões de chegada às flores para cada espécie de visitante.

Extração, Análise e Identificação dos Voláteis Florais

A característica organoléptica do aroma floral foi determinada após o teste de concentração de odor. As flores foram colocadas em um frasco de vidro fechado e refrigeradas entre 7° e 10°C por duas horas. Depois deste período, o frasco foi aberto e o aroma foi descrito segundo ALDRICH (1993).

Um grupo de flores que abriu às 07:00h foi protegido por sacos de tule. Em intervalos de duas horas, três flores foram retiradas e colocadas em frascos de vidro com diclorometano bidestilado suficiente para imersão. Um branco de extração foi realizado no campo com um volume igual de solvente e colocado em frasco idêntico ao dos extratos. O branco e os extratos foram refrigerados entre 7° e 10°C para

transporte e depois mantidos a -30°C até a análise (Whitten *et al.*, 1993), quando ambos foram submetidos à secagem em sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente, à temperatura ambiente.

Esta extração foi monitorada pela captação de voláteis no espaço em torno da flor, através da técnica de *headspace*. Foram utilizados como adsorvente 300mg de Porapak Q (80 mesh), lavados por 24 horas com metanol:diclorometano bidestilados (1:1) em extrator de Soxhlet. Antes do uso, o adsorvente da coluna foi condicionado por lavagens seqüenciais com 3mL de metanol, acetato de etila, hexano e diclorometano bidestilados. A ativação foi feita com aquecimento a 150°C , em câmara de vidro sob alto vácuo, durante 30 minutos. A adsorção foi feita sob um fluxo de aspiração de cerca de 560mL/minuto em períodos contínuos de 24 e de 48 horas, usando botões em pré-antese, 24 horas antes da abertura. A eluição dos voláteis foi feita com 5mL de diclorometano bidestilado e a evaporação foi realizada à temperatura ambiente. A aspiração do ar em torno das folhas foi utilizada como branco, nas mesmas condições de adsorção e eluição anteriores.

A cromatografia gasosa (CG) analítica de alta resolução foi realizada em cromatógrafo a gás HP-5970 com detector de ionização de chama (DIC), em coluna capilar DB-5 J&W Scientific de sílica fundida (25m x 0,2mm x 0,3 μm). O hidrogênio foi o gás de arraste, a um fluxo de 30mL/min, em modo *splitless* durante o primeiro minuto e depois em modo *split*. Para integração dos picos, a cromatografia foi isotérmica a 30°C durante um minuto, seguido de um aumento programado de $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$, até 300°C , com a temperatura do injetor em 210°C e do detector em 280°C . O volume de injeção foi de 1 μL , sendo 0,8 μL de uma solução do óleo essencial (30mg/mL) e 0,2 μL de uma solução de α -pineno (0,806mg/mL) como padrão interno, ambas em diclorometano bidestilado. O sinal elétrico obtido pela integração da detecção de cada composto não foi corrigido pelo respectivo fator de resposta do detector para o cálculo das proporções das substâncias na amostra.

Na análise em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foi utilizado o sistema HP-5890/5970, formado por um cromatógrafo a gás acoplado a um detector seletivo de massas. Foi utilizada uma coluna capilar DB-5 J&W Scientific de sílica fundida (30m x 0,25mm x 0,25 μm). O gás de arraste foi o hélio e os programas de temperatura da coluna foram os mesmos utilizados na CG

analítica. Os espectros de massas foram obtidos a 70eV numa velocidade de varredura de 0,84scan/seg, na faixa de m/z 40-500.

Os Índices de Retenção (IR) foram obtidos a partir dos tempos de retenção dos componentes da amostra e de uma mistura de n -alcanos entre C6-C30, co-injetados no sistema de CG-EM sob o mesmo programa de temperaturas de CG e CG-EM e comparados com os disponíveis em Adams (1995). O cálculo dos IR foi feito através da equação de Van der Dool & Kratz (1963):

$$IR = \left(100 \cdot \Delta n \cdot \frac{T_s - T_n}{T_{n+1} - T_n} \right) + 100n \quad \text{onde}$$

Δn = diferença do número de carbonos dos dois n -alcanos que eluem antes e depois da substância analisada

T_s = tempo de retenção da substância analisada

T_n = tempo de retenção do n -alcano que elui antes da substância analisada

T_{n+1} = tempo de retenção do n -alcano que elui depois da substância analisada

n = número de carbonos do n -alcano que elui antes da substância analisada

Para identificação dos componentes da fração volátil foram realizadas comparações dos índices de retenção obtidos aos disponíveis na literatura (Adams, 1995) e dos espectros de massa aos arquivos da biblioteca espectral Wiley/NBS que compõem o sistema CG-EM.

Características do Néctar

O néctar acumulado foi coletado com micropipetas de 5 μ L e 20 μ L, em seis flores protegidas por sacos de tule para cada um dos horários estabelecidos para a extração de voláteis. No campo, a concentração foi medida em refratômetro portátil e as amostras foram guardadas em frascos de vidro previamente pesados, refrigeradas entre 7-10°C para transporte e mantidas a -30°C até a pesagem. A massa de néctar foi determinada em balança analítica com precisão de 0,01mg.

A Análise dos Dados

A distribuição das massas de néctar acumuladas nos intervalos horários, foi normalizada pela transformação logarítmica e as concentrações pela transformação

arco-seno (Zar, 1996). O erro padrão da média (Zar, 1996) foi o indicador da variabilidade para as massas acumuladas e para as concentrações do néctar. As regressões lineares e as polinomiais foram realizadas no programa SYSTAT, versão 5.0.

Dois conjuntos de dados foram submetidos à análise de agrupamento. Um deles foi constituído por todos os compostos isolados e o outro foi formado pela organização deles em 14 grupos, segundo o seu índice de retenção e suas características moleculares. A análise de agrupamento foi realizada no programa FITOPAC, desenvolvido pelo Dr. George J. Shepherd, da Unicamp, sendo baseada numa matriz de distância métrica de Canberra que exclui as duplas ausências e o método de ligação foi o de Média de Grupo (Sneath & Sokal, 1973),

O Índice de Diversificação (ID) Química de compostos voláteis dos horários de coleta foi estimado pelo Índice de Shannon-Wiener (Zar, 1996):

$$H' = - \sum_{i=1}^k p_i \ln p_i \quad \text{onde}$$

k = número de diferentes moléculas em cada amostra

p_i = proporção de sinal elétrico da detecção de cada molécula

As relações entre os ID Química e o tempo de duração da flor foram testadas através de regressões lineares (Zar, 1996). As proporções de voláteis nas amostras foram transformadas em seu arco-seno (Sokal & Rohlf, 1995) para análise de regressão logística (Sokal & Rohlf, 1995) em relação aos turnos de visitas de beija-flores. As regressões lineares foram executadas pelo programa SYSTAT, versão 5.0, e as regressões logísticas pelo programa MINITAB, versão 11.21.

Os compostos voláteis agrupados segundo critérios de similaridade estrutural, as características do néctar e a temperatura do ar foram utilizados como variáveis ambientais em relação a uma matriz de padrões horários de chegada e visitação. Uma avaliação exploratória desta matriz foi realizada pela Análise de Correspondência (CA) e pela Análise de Correspondência Distendida (DCA), para medir o gradiente em torno dos eixos em unidades de desvio padrão (ter Braak, 1987; ter Braak & Wiertz, 1994) realizadas no programa CANOCO, versão 3.10 (ter Braak, 1988; ter Braak, 1990).

A seleção de variáveis ambientais foi feita primeiro, com base em sua importância marginal e, segundo, em sua importância condicional para explicação da inércia total da matriz de visitação (ter Braak & Verdonschot, 1995). A

associação entre as variáveis ambientais selecionadas e os padrões horários de visitação foi testada através da Análise de Correspondência Canônica (CCA). Além da influência das variáveis ambientais sobre o padrão diário de visitas, a hipótese de nulidade de que a chegada dos visitantes às flores era independente das variáveis ambientais foi testada pela CCA, subestimando as presenças consecutivas a outras presenças na flor, em relação às presenças consecutivas a ausências. A seleção das variáveis ambientais e a CCA foram realizadas no programa CANOCO, versão 3.10, sendo que o nível de significância de ambas foi estabelecido pelo teste de permutação de Monte Carlo (ter Braak, 1988; ter Braak, 1990).

RESULTADOS

Padrões de Visitação

As flores de *E. candolleana* foram visitadas por espécies nativas de abelhas, borboletas e pássaros. Entre eles, a abelha *Exomalopsis fulvopilosa* (Hymenoptera: Anthophoridae) e as borboletas, *Polygonus leo leo* (Lepidoptera: Hesperíidae) e *Polythrix octomaculata octomaculata* (Lepidoptera: Hesperíidae) foram excluídas das análises por serem visitantes esporádicos, cuja chegada e a atividade na flor não definiram um padrão horário de visitação. A flor dura 36 horas, das quais oito horas incluem o período noturno em que as espécies de aves, de abelhas e de borboletas observadas não estão ativas.

A chegada dos visitantes às flores (Tab. 3.1) não foi aleatória. As três espécies de aves - *Coereba flaveola* (Passeriformes: Coerebidae), *Amazilia lactea* (Apodiformes: Trochilidae) e *Eupetomena macroura* (Apodiformes: Trochilidae) - apresentaram um padrão de chegada com maior número de retorno às flores que os apresentados pelas abelhas e borboletas. Entre as espécies de abelha, apenas *Xylocopa brasilianorum* (Hymenoptera: Anthophoridae) não voltou às flores com idade superior a oito horas. As demais espécies de abelha - *Centris fuscata* (Hymenoptera: Anthophoridae), *Xylocopa ordinaria* (Hymenoptera: Anthophoridae),

Megachile sp (Hymenoptera: Megachilidae) e *Trigona spinipes* (Hymenoptera: Apidae) - e a borboleta *Pterourus scamander grayi* (Lepidoptera: Papilionidae) apresentaram um padrão com duas chegadas às flores. O intervalo máximo entre as chegadas foi observado em *T. spinipes*, correspondendo a 22 horas que incluíram as oito horas do período noturno.,

O padrão horário de visitação (Tab. 3.2) também não foi aleatório. A atividade diária das aves foi caracterizada por períodos mais curtas de visitação, distribuídos ao longo das 28 horas em que as flores são visitadas. Entre as espécies de abelha, apenas *X. brasilianorum* não retornou às flores com mais de oito horas de duração, ficando restrita à fase masculina da flor. As demais espécies de insetos apresentaram um padrão com dois ciclos de atividade separados, no mínimo, pelo período noturno em que as flores não recebem visitantes.

A interação entre as flores e os visitantes começa nos botões prestes a abrir que são procurados por *X. brasilianorum*, *X. ordinaria*, *Megachile* sp e *T. spinipes*. Os botões podem ter sua abertura forçada pelas espécies de *Xylocopa* ou ser perfurados por *T. spinipes*. *X. brasilianorum* e *X. ordinaria* também localizam o espaço entre as pétalas, no nível do cálice, utilizando este acesso para tomar néctar em botões que ainda não abriram. Depois que as flores se abrem, espontaneamente ou forçada, as abelhas *C. fuscata*, *X. brasilianorum*, *X. ordinaria*, *Megachile* sp e *T. spinipes* coletam pólen. Iniciado o murchamento dos estames, *C. fuscata*, *X. ordinaria*, *Megachile* sp, *P. scamander grayi*, *C. flaveola*, *A. lactea* e *macroura* exploram néctar.

A Composição do Óleo Essencial

Foram detectadas 88 substâncias, das quais 53 (60.2%) foram identificadas (Tab. 3.3). A fração de alcanos e alcenos alifáticos de cadeia longa representou de 88,2 a 96,9% da massa dos extratos em diclorometano (Tab. 3.4). O pentadecano foi o composto majoritário dos extratos em *headspace*, representando 83,4%, no período de 24 horas que antecede a abertura da flor, e 20,9%, continuando a aspiração por mais 24 horas. Nos extratos por maceração em diclorometano, o

pentacosano foi o composto majoritário, representando de 27,1 a 47,4% da massa extraída.

A avaliação da similaridade entre as amostras horárias de voláteis extraídas com diclorometano não definiu um perfil químico de grupos consistentes com a separação das fases masculina e feminina da flor. Os dois extratos em *headspace* foram mais semelhantes entre si, separando-se claramente do conjunto de extratos em diclorometano (Fig. 3.1.1). A reunião dos voláteis em grupos não provocou alteração neste quadro, a não ser pelo fato de que o extrato em *headspace* após 48 horas de aspiração se tornou mais similar aos de diclorometano (Fig. 3.1.2).

A diversificação de compostos voláteis foi independente da idade da flor (Fig. 3.2.1A), da temperatura do ar (Fig. 3.2.1B), das médias e do erro padrão da massa acumulada (Fig. 3.2.2.A-B) e da concentração (Fig. 3.2.3B) do néctar. Uma diminuição dos Índices de Diversificação (ID) Química acompanhou o aumento da concentração do néctar. Entretanto, esta regressão explicou apenas 27% da variância total dos dados (Fig. 3.2.3A).

O número de espécies de visitantes com a temperatura do ar, sendo evidenciados dois conjuntos de dados, correspondendo às amostras noturnas e as diurnas (Fig. 3.3.1A). Os índices de diversificação química mais baixos ocorreram no período noturno (Fig. 3.2.1B) em que as flores não recebem visitas. Entretanto, no período em que os visitantes não estão ativos, a variação no número de espécies de visitantes florais foi independente da diversificação de compostos voláteis (Fig. 3.3.1B).

As Características do Néctar

A massa acumulada de néctar apresentou um certo crescimento com a idade da flor, mas a regressão linear, apesar de significativa, explicou apenas 28% da variação total dos dados (Fig. 3.4.1A-B), mas seus respectivos erros padrões não sofreram influência da temperatura do ar (Fig. 3.4.2A-B). As massas e as concentrações médias do néctar e seus respectivos erros padrões não sofreram influência nem da idade da flor e nem da temperatura do ar (Fig. 3.5) ao longo do período de duração da flor. O número de espécies de visitantes florais não

apresentou relação nem com as médias e nem com o erro padrão da massa acumulada (Fig. 3.3.2.A-B) e da concentração (Fig. 3.3.3B) do néctar.

A Relação entre as Variáveis Ambientais e os Padrões de Visitação

O conjunto de variáveis ambientais foi constituído por 14 grupos de compostos isolados das flores (Tab. 3.3), pela temperatura do ar e pelas características do néctar (Tab. 3.4). Uma relação significativa destas variáveis com o padrão de chegada dos visitantes às flores (Tab. 3.1) só foi alcançada quando foram empregadas duas das 17 variáveis ambientais disponíveis (Tab. 3.4). A chegada dos visitantes à flor teve uma associação significativa com compostos voláteis do grupo de aldeídos e cetonas alifáticos e com a variabilidade das médias de massa acumulada de néctar (Tab. 3.5). Todos os insetos, menos a abelha *T. spinipes*, acompanharam o vetor de voláteis, enquanto a atividade das aves e de *T. spinipes* esteve ligada à variabilidade da massa acumulada de néctar (Fig. 3.6.1).

A chegada às flores de *T. spinipes* e dos beija-flores esteve ligada aos períodos em que o néctar apresentou menor variabilidade da massa acumulada, enquanto que *C. flaveola* explorou flores onde esta variabilidade foi maior (Fig. 3.6.1). Esses dois vetores explicaram, entretanto, apenas 33,8% da inércia total da matriz de chegada de visitantes às flores, apesar da CCA ter sido significativa quanto ao primeiro eixo, e altamente significativa, quanto ao teste sobre o traço da matriz (Tab. 3.5).

Para os padrões horários de visitação (Tab. 3.2), a atividade dos insetos esteve fundamentalmente ligada à temperatura do ar e à concentração do néctar. As aves mantiveram sua relação com a variabilidade da média da massa acumulada de néctar (Fig. 3.6.2-4). Pela contribuição do terceiro eixo canônico, houve também uma associação expressiva dos aldeídos e cetonas alifáticos sobre a atividade de *A. lactea* (Tab. 3.6; Fig. 3.6.2-4). A regressão logística dos aldeídos e cetonas alifáticos e de concentração do néctar também demonstrou uma associação pequena, porém significativa deste grupo de voláteis, mas não da concentração do néctar, sobre a atividade de *A. lactea* (Tab. 3.7).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A chegada das aves e das abelhas sociais às flores de *E. candolleana* foi associada à variabilidade da massa acumulada de néctar. As características do néctar participam, entretanto, de um processo trófico na interação de visitantes e flores (Waser *et al.*, 1996), uma vez que demandam um contato físico prévio com a flor para que sejam associadas a sinais informativos (Dusenbery, 1992), e incorporadas através do aprendizado (Waser *et al.* 1996). Os três meses de floração de *E. candolleana* tendem a facilitar este aprendizado tanto pelas aves (Alcock, 1984) como pelas abelhas sociais, que apresentam sobreposição de gerações, com cuidado parental, e não sofrem flutuações populacionais drásticas ao longo do ano, nos ambientes tropicais (Roubik, 1989; Dukas & Real, 1993; Stephens, 1993).

A chegada dos demais insetos foi associada a aldeídos e cetonas alifáticos (Fig. 3.6.1-2), mas seus padrões horários de visitação não mantiveram relação com as variáveis florais. A atividade diária dos insetos foi melhor associada   temperatura do ar (Fig. 3.6.2-4), estando mais provavelmente ligada ao ritmo circadiano e   termorregulação dos insetos (Roubik, 1989). A sinalização química foi bastante generalista, sendo associada a visitantes de ordens e famílias de insetos bem distintas (Fig. 3.6.2-4). Para um nível de resposta tão geral a sinais voláteis,   possível que a chegada dos insetos seja motivada pelo estímulo a outras atividades vitais além da sexual, como a alimentação e a defesa (Bergstr  m, 1991).

Operárias de *T. spinipes* interagiram com a flor desde antes da abertura dos botões, apresentando padrões etológicos do comportamento de alarme t  pico do gênero *Trigona*, tais como atração acompanhada de recrutamento e ataques de mordeduras (Blum *et al.* 1973; Johnson, 1980) com perfuração dos botões de *E. candolleana*.  steres de ácidos graxos com álcoois de cadeia média, similares aos das flores de *E. candolleana*, estimularam fortes reações de alarme em bioensaios com *T. silvestriana* (Johnson *et al.*, 1985). A mediação química da resposta de alarme varia, contudo, entre as espécies de *Trigona*, pois estes ésteres são ineficientes para *T. fulviventris* (Johnson & Wiemer, 1982).

Aldeídos e cetonas alifáticos foram associados à chegada das espécies de *Xylocopa*  s flores, mas afetaram pouco a atividade destas abelhas ao longo do dia

(Fig. 3.6.2-4). Esses compostos não foram detectados no extrato do botão a 24 horas da abertura, obtido em *headspace* (Tab. 3.3). Neste e nos demais extratos, mais de 80% da massa extraída correspondia a alcanos e alcenos de cadeia longa que, junto com ácidos graxos e seus ésteres, formaram um perfil químico das flores de *E. candolleana*, similar ao da secreção da glândula de Dufour de *Xylocopa virginica* (Vinson *et al.* 1978).

Frankie & Vinson (1977) demonstraram, entretanto, que a secreção da glândula de Dufour é utilizada por fêmeas de *X. virginica* para marcar flores já visitadas e que seriam repelidas até dez minutos depois de marcadas. Dukas & Real (1993) ponderaram que esta secreção seria mais um rastro deixado na visita do que uma marcação química, mas em função da repelência provocada, não seria esperada a atração de *Xylocopa* às flores com este perfil de voláteis. De fato, logo após as fêmeas de *Xylocopa* abrirem os botões de *E. candolleana*, a flor era evitada após o primeiro contato com o feixe de estames. Entretanto, há insuficiência de dados químicos, ecológicos e comportamentais para avaliações mais conclusivas sobre a mediação química de interações que não envolvam abelhas sociais (Duffield *et al.*, 1984; Dukas & Real, 1996).

As visitas do beija-flor *A. lactea* também foram um pouco associadas aos aldeídos e cetonas alifáticos, apesar de sua chegada às flores não ser dependente daqueles compostos (Fig. 3.7). O consenso atual entre ornitólogos, entretanto, é de que os pássaros apresentam percepção olfativa fraca (Harriman & Berger, 1986). Apesar disto, tem sido demonstrado que existe em aves uma percepção de sinais químicos que participam da localização (Harriman & Berger, 1986) e da seleção (Jakubas & Mason, 1991) de alimentos, da habituação à localização de domicílios (Ioale *et al.*, 1990) ou mesmo de interações entre presas e predadores (Mason *et al.*, 1991), sendo a quimiorrecepção dos sinais realizada pelo nervo trigêmeo (Jakubas & Mason, 1991).

Através de alguns experimentos comportamentais, realizados numa população silvestre de beija-flores, Goldsmith & Goldsmith (1982) demonstraram que *Archilochus alexandri* apresenta um sistema olfativo funcional, sendo capaz de habituar-se a sinais voláteis e associá-los, principalmente, a condições insatisfatórias do néctar. Os referidos autores salientaram ainda a necessidade de uma investigação mais extensa, incluindo uma variedade maior de substâncias

químicas, e até mesmo experimentos eletrofisiológicos para estabelecer uma idéia mais conclusiva sobre o assunto. Se for comprovada alguma resposta de troquilídeos a compostos voláteis, é possível que ocorra com um mecanismo de habituação, participando, eventualmente, do refinamento de sua atividade diária de forrageio.

Os sinais voláteis foram importantes, portanto, para a chegada dos visitantes às flores, mas não contribuíram na definição de padrões horários de visitação ou no direcionamento dos visitantes às fases masculina e feminina da flor. Os padrões horários de visitas dos insetos foram determinados, principalmente, pela temperaturas do ar, seguindo os ritmos circadianos de termorregulação destes visitantes. Quanto às aves, sua chegada e continuidade de visitas às flores foram principalmente associadas com variabilidade na oferta de néctar, provavelmente ligadas ao processo de aprendizado e manutenção de memória.

Finalmente, a assincronia dos pulsos de abertura de flores ao longo do dia refletiu-se também sobre os sinais voláteis e as características do néctar dentro de um mesmo pulso. Os visitantes responderam aos sinais florais, mas não sincronizam sua atividade diária com um único pulso de abertura de flores. Em última análise, os sinais florais atraem os visitantes, mas não os direcionam em visitas às fases masculina e feminina da flor. Nestas condições, as características comportamentais dos visitantes assumem maior relevância para a polinização, como possibilidade de contornar a geitonogamia e garantir produção de sementes nesta espécie auto-incompatível, através da fecundação cruzada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, R.P. (1995). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Allured Publishing, Carol Stream.
- Alcock, J. (1984). *Animal behavior: an evolutionary approach*. Sinauer Associates, Sunderland.
- ALDRICH. (1993). *Flavor and fragrances: international edition*. Aldrich Chemical Co, Milwaukee.
- Bergström, G. (1991). Chemical ecology of terpenoid and other fragrances of angiosperm flowers. In: *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids* (eds. J.B. Harborne & F.A. Tommas-Barberan), pp. 287-296. Clarendon, Press Oxford.
- Blum, M.S., Crewe, R.M., Kerr, W.E., Keith, L.H., Garrison, A.W. & Walker, M.M. (1973). Citral in stingless bees, isolation and function in trail-laying and robbing. *Journal of Insect Physiology*, **16**, 1637-1648.
- Duffield, R.N., Wheeler, J.W. & Eickwort, G.C. (1984). Socialchemicals of bees. In: *Chemical ecology of insects* (eds. W.J. Bell & R.T. Cardé), pp. 387-428. Chapman & Hall, London.
- Dukas, R. & Real, L.A. (1993). Cognition in bees: from stimulus reception to behavioral changes. In: *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives* (eds. D.R. Papaj & A.C. Lewis), pp. 343-373. Chapman & Hall, London.
- Dusenbery, D. (1992). *Sensory ecology: how organisms acquire and respond to information*. W.H. Freeman, New York.
- Frankie, G.W. & Vinson, S.B. (1977). Scent marking of passion flowers in Texas by females of *Xylocopa virginica texana* (Hymenoptera:Anthophoridae). *Journal of Kansas Entomological Society*, **50**, 613-625.
- Goldsmith, K.M. & Goldsmith, T.H. (1982). Sense of smell in the black-chinned hummingbird. *Condor*, **84**, 237-238.
- Harriman, A.E. & Berger, R.H. (1986). Olfactory acuity in the common raven (*Corvus corax*). *Physiology & Behavior*, **36**, 257-262.
- Ioale, P., Nozzolini, M. & Papi, F. (1990). Homing pigeons do extract directional information from olfactory stimuli. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **26**, 301-306.
- Jakubas, W.J. & Mason, J.R. (1991). Role of avian trigeminal sensory system in detecting conferyl benzoato, a plant allelochemical. *Journal of Chemical Ecology*, **17**, 2213-2221.
- Johnson, L.K. (1980). Alarm response of foraging *Trigona fulviventrís* (Hymenoptera: Apidae) to mandibular gland components of competing bee species. *Journal of the Kansas Entomological Society*, **53**, 357-362.
- Johnson, L.K. & Wiemer, D.F. (1982). Nerol, an alarm substance of the stingless bee *Trigona fulviventrís* (Hymenoptera:Apidae). *Journal of Chemical Ecology*, **9**, 1167-1181.

- Johnson, L.K., Haynes, L.W., Carlson, M.A., Fortnum, H.A & Gorgas, D.L. (1985). Alarm substances of stingless bee *Trigona silvestriana*. *Journal of Chemical Ecology*, **11**, 409-416.
- Klinkhamer, P.G.L. & Jong, T.J. (1993). Attractiveness to pollinators: a plant's dilemma. *Oikos*, **66**, 180-183.
- Leitão-Filho, H.F. (1992). A flora arbórea da Serra do Japi. In: *História natural da Serra do Japi, ecologia e preservação de uma área florestal do Sudeste do Brasil* (org. L.P.C. Morellato), pp. 40-62. UNICAMP, Campinas.
- Mason, J.R., Clark, L. & Shah, P.S. (1991). O-aminoacetophenone repellency to birds: similarities to methyl anthranilate. *Journal of Wildlife Management*, **55**, 334-340.
- Mulcahy, D.L., Mulcahy, G.B. & Searcy, K.B. (1992). Evolutionary genetics of pollen competition. In: *Ecology and evolution of plant reproduction* (ed. R. Wyatt), pp. 25-36. Chapman & Hall, London.
- Oliveira-Filho, A.T., Vilela, E.A., Carvalho, D.A. & Gavilanes, M.L. (1994). Differentiation of steamside and upland vegetation in an area of montane semideciduous forest in southeastern Brazil. *Flora*, **189**, 287-305.
- Roubik, D.W. (1989). *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press, New York.
- Robyns, A. (1963). Essai de monographie du genre *Bombax s.l.* (Bombacaceae). *Bulletin du Jardin Botanique de l'État*, **33**, 1-316.
- Silva, A.G. da, Guedes-Bruni, R.R. & Lima, M.P.M. de. (1997). Sistemas sexuais e recursos florais do componente arbustivo arbóreo em mata preservada na Reserva Ecológica de Macaé de Cima. In: *Serra de Macaé de Cima, diversidade florística e conservação em mata atlântica* (eds. H.C. Lima & R.R. Guedes-Bruni), pp. 187-211. JBRJ, Rio de Janeiro.
- Sneath, P.H.A. & Sokal, R.R. (1973). *Numerical Taxonomy*. W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- Snow, A.A., Spira, T.P., Simpson, R. & Klips, R.A. (1996). The ecology of geitonogamous pollination. In: *Floral biology, studies on floral evolution in animal-pollinated plants* (eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barret), pp. 191-216. Chapman & Hall, New York.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995). *Biometry*. 3 ed. W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- Stephens, D.W. (1993). Learning and behavioral ecology: incomplete information and environmental predictability. In: *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives* (eds. D.R. Papaj & A.C. Lewis), pp. 195-218. Chapman & Hall, London.
- ter Braak, C.J.F. (1987). Ordination. In: *Data analysis in community and landscape ecology* (eds. R.H.G. Jongman, C.J.F. ter Braak & O.F.R. van Tongeren), pp. 91-173. Wageningen, Pudoc.

- ter Braak, C.J.F. (1988). *CANOCO* - a FORTRAN program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis, principal component analysis and redundancy analysis (version 2.1). Technical report. Microcomputer Power, Ithaca.
- ter Braak, C.J.F. (1990). *Update notes, CANOCO version 3.10*. Microcomputer Power, Ithaca.
- ter Braak, C.J.F. & Verdonschot, P.F.M. (1995). Canonical correspondence analysis and related methods in aquatic ecology. *Aquatic Sciences*, **57**, 153-187.
- ter Braak, C.J.F. & Wiertz, J. (1994). On the statistical analysis of vegetation change: a wetland affected by water extraction and soil acidification. *Journal of Vegetation Science*, **5**, 361-372.
- Van der Dool, H. & Kratz, P.D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, **11**, 463-471.
- Vinson, S.B., Frankie, G.W., Blum, M.S., Wheeler, J.W. (1978). Isolation, identification, and function of the Dufour gland secretion of *Xylocopa virginica texana* (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Chemical Ecology*, **4**, 315-323.
- Waser, N.M., Chittka, L., Price, M.V., Williams, N.M. & Ollerton, J. (1996). Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, **77**, 1043-1060.
- Whitten, W.M., Young, A.M. & Stern, D.L. (1993). Nonfloral sources of chemicals that attract male euglossine bees (Apidae:Euglossini). *Journal of Chemical Ecology*, **19**, 3017-3027.
- Zar, J.H. (1996). *Biostatistical analysis*. 3.ed. Prentice Hall, New Jersey.

Tabela 3.1. Padrões horários de chegada de visitantes às flores de *Eriotheca candolleana*.

AMOSTRA	Xybr	Xyor	Cefu	Mega	Trsp	Ptsc	Amla	Cefl	Euma
I07	0	0	0	0	1	0	0	0	0
I09	1	1	0	1	0.001	0	1	1	1
I11	0.001	0.001	1	0.001	0.001	1	0.001	0.001	0
I13	0.001	0.001	0.001	0.001	0	0.001	0	0	1
I15	0.001	0.001	0.001	0.001	1	0.001	1	1	0.001
I17	0	0.001	0	0	0	0	0.001	0.001	0.001
I19	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0
II05	0	0	0	0	0	0	0	1	1
II07	0	0	0	0	0	0	1	0.001	0.001
II09	0	1	0	1	0	1	0.001	0.001	0.001
II11	0	0.001	1	0.001	0	0.001	0.001	0.001	0.001
II13	0	0.001	0.001	0.001	0	0.001	0	0	0
II15	0	0	0	0	1	0	0	1	1
II17	0	0	0	0	0.001	0	0	0	0

Legenda: I-II: dias de duração da flor; 05-19: hora de coleta; I07-I15: fase masculina da flor; I17-II17: fase feminina da flor; Xybr: *Xylocopa brasilianorum*; Xyor: *X. ordinaria*; Cefu: *Centris fuscata*; Mega: *Megachile* sp; Trsp: *Trigona spinipes*; Ptsc: *Pterourus scamander*; Amla: *Amazilia lactea*; Cefl: *Coereba flaveola*; Euma: *Eupetomena macroura*; 0: ausência; 0.001: presença consecutiva a presença; 1: presença consecutiva a ausência. Amostras I21-23 e II01-03 não são apresentadas por corresponderem ao período noturno em que não houve visitas.

Tabela 3.2. Padrões horários de visitação às flores de *Eriotheca candolleana*.

AMOSTRA	Xybr	Xyor	Cefu	Mega	Trsp	Ptsc	Amla	Cefl	Euma
I07	0	0	0	0	1	0	0	0	0
I09	1	1	0	1	1	0	1	1	1
I11	1	1	1	1	1	1	1	1	0
I13	1	1	1	1	0	1	0	0	1
I15	1	1	1	1	1	1	1	1	1
I17	0	1	0	0	0	0	1	1	1
I19	0	0	0	0	0	0	0	1	0
II05	0	0	0	0	0	0	0	1	1
II07	0	0	0	0	0	0	1	1	1
II09	0	1	0	1	0	1	1	1	1
II11	0	1	1	1	0	1	1	1	1
II13	0	1	1	1	0	1	0	0	0
II15	0	0	0	0	1	0	0	1	1
II17	0	0	0	0	1	0	0	0	0

Legenda: I-II: dias de duração da flor; 05-19: hora de coleta; I07-I15: fase masculina da flor; I17-II17: fase feminina da flor; Xybr: *Xylocopa brasilianorum*; Xyhi: *X. ordinaria*; Cefu: *Centris fuscata*; Mega: *Megachile* sp; Trsp: *Trigona spinipes*; Ptsc: *Pterourus scamander*; Amla: *Amazilia lactea*; Cefl: *Coereba flaveola*; Euma: *Eupetomena macroura*; 0: ausente; 1: visita. Amostras I21-23 e II01-03 não são apresentadas por corresponderem ao período noturno em que não houve visitas.

Tabela 3.3. Substâncias isoladas das flores de *Eriotheca candolleana*, através de *headspace*, com 24 horas (HS24) e com 48 horas (HS48) de aspiração, e através de maceração a frio com diclorometano (MFD).

SUBSTÂNCIA	ÍNDICE DE RETENÇÃO	PROCESSO DE IDENTIFICAÇÃO	PROCESSO DE EXTRAÇÃO
Alcanos e Alcenos Alifáticos de Cadeia Média			
hexano	600	EM, IR	MFD
octano	800	EM, IR	MFD
tetradecano	1400	EM, IR	HS24,HS48, MFD
SNI	1455		MFD
3-propil-tridecano	1460	EM	HS48, MFD
SNI	1539		HS24,HS48, MFD
Alcanos e Alcenos Alifáticos de Cadeia Longa			
pentadecano	1500	EM, IR	HS24,HS48, MFD
hexadecano	1600	EM, IR	HS24,HS48, MFD
heptadecano	1700	EM, IR	HS24,HS48, MFD
SNI	1754		HS48, MFD
octadeceno	1793	EM, IR	HS48, MFD
nonadecano	1900	EM, IR	HS48, MFD
SNI	1924		HS24, MFD
icosano	2000	EM, IR	HS48, MFD
eneicosano	2100	EM, IR	MFD
SNI	2113		HS48, MFD
duocosano	2200	EM, IR	HS48, MFD
9-tricoseno	2270	EM	MFD
tricosano	2300	EM, IR	HS48, MFD
tetracosano	2400	EM, IR	HS48, MFD
SNI	2435		HS48, MFD
pentacoseno	2469	EM	HS48, MFD
SNI	2492		HS48, MFD
pentacosano	2500	EM, IR	HS24,HS48, MFD
SNI	2537		HS24,HS48, MFD
hexacosano	2600	EM, IR	HS24,HS48, MFD
SNI	2691		HS48, MFD
heptacosano	2700	EM, IR	HS24,HS48, MFD
SNI	2722		MFD
SNI	2736		HS24, MFD
octacosano	2800	EM, IR	HS24,HS48, MFD
SNI	2827		HS24,HS48, MFD
SNI	2835		HS48, MFD
SNI	2869		MFD
SNI	2883		MFD
nonacosano	2900	EM, IR	HS24,HS48, MFD
SNI	2937		HS48, MFD
SNI	2963		HS48, MFD
triacontano	3000	EM	HS24,HS48, MFD
Ácidos Graxos de Cadeia Média			
ácido hexanóico	981	EM	MFD
ácido 2-etil-hexanóico	1138	EM, IR	MFD
ácido octanóico	1180	EM	HS24,HS48, MFD
ácido nonanóico	1276	EM	HS24,HS48, MFD
ácido decanóico	1372	EM	MFD
ácido duodecanóico	1564	EM	HS48, MFD
ácido tetradecanóico	1769	EM	HS24,HS48, MFD

Legenda: EM: Espectro de massas comparado à biblioteca espectral Wiley & Sons, IR: Índice de retenção comparado à bibliografia (Adams, 1995).

Tabela 3.3. Substâncias isoladas das flores de *Eriotheca candolleana*, através de *headspace*, com 24 horas (HS24) e com 48 horas (HS48) de aspiração, e através de maceração a frio com diclorometano (MFD). cont.

SUBSTÂNCIA	ÍNDICE DE RETENÇÃO	PROCESSO DE IDENTIFICAÇÃO	PROCESSO DE EXTRAÇÃO
Ácidos Graxos de Cadeia Longa			
ácido 9-hexadecenóico	1941	EM	HS24,HS48, MFD
ácido hexadecanóico	1966	EM	HS24,HS48, MFD
ácido 9,12-octadecadienóico	2136	EM	HS24,HS48, MFD
ácido octadecanóico	2164	EM	HS24,HS48, MFD
Álcoois Alifáticos			
SNI	976		MFD
hexadecanol	1880	EM, IR	HS24,HS48, MFD
octadecanol	2078	EM	HS24,HS48, MFD
Aldeídos e Cetonas Alifáticos			
SNI	928		MFD
octan-2-nona	989	EM, IR	MFD
nonanal	1101	EM, IR	MFD
Monoterpenos Oxigenados			
nerilacetona	1430	EM, IR	MFD
linalool	1097	EM, IR	HS24,HS48, MFD
cis-jasmolactona	1483	EM, IR	MFD
Sesquiterpenos Oxigenados			
SNI	1831		HS48, MFD
SNI	1917		HS24,HS48, MFD
Diterpenos Oxigenados			
SNI	2108		MFD
SNI	2236		MFD
SNI	2292		HS48, MFD
SNI	2314		HS48, MFD
SNI	2341		MFD
SNI	2348		HS48, MFD
SNI	2392		MFD
Benzenóides			
álcool benzílico	1023	EM, IR	HS24,HS48, MFD
álcool coniferílico	1733	EM, IR	HS48, MFD
benzoato de benzila	1761	EM, IR	MFD
Ésteres com Álcoois Alifáticos			
acetato de hexenoila	1010	EM, IR	MFD
acetato de duodecila	1609	EM	MFD
SNI	2020		HS48, MFD
Ésteres com Álcoois Terpênicos			
n-butanoato de geranila	1561	EM, IR	MFD
acetato de nerolidol	1715	EM, IR	HS48, MFD
acetato de (E,E) farnesila	1840	EM, IR	HS48, MFD
SNI	1859		HS24,HS48, MFD
acetato de fitol	2223	EM, IR	MFD
Ésteres de Ácidos Graxos			
miristato de isopropila	1821	EM, IR	HS48, MFD
duodecanoato de isoamila	1845	EM, IR	MFD
hexadecanoato de etila	1994	EM, IR	HS48, MFD
octadecanoato de etila	2194	EM, IR	HS48, MFD
SNI	2742		HS48, MFD
Hidrocarbonetos Terpênicos			
SNI	1511		HS48, MFD
SNI	1908		HS24,HS48, MFD
SNI	1989		HS48, MFD
SNI	2039		HS48, MFD

Legenda: EM: Espectro de massas comparado à biblioteca espectral Wiley & Sons, IR: Índice de retenção comparado à bibliografia (Adams, 1995).

Tabela 3.4. Percentagens (%) dos grupos de compostos voláteis do extrato em diclorometano, características do néctar e da temperatura do ar (°C) como variáveis ambientais para os visitantes das flores de *Eriotheca candolleana*.

AMOSTRA	A(%)	B(%)	C(%)	D(%)	E(%)	F(%)	G(%)	H(%)	I(%)	J(%)	K(%)	L(%)	M(%)	N(%)	TEMP	MEP	CON
I07	0.27	88.25	0.44	1.62	0.05	0.03	0.01	0.05	7.75	0.23	0.02	0.21	0.94	0.13	14.7	0.11	0.39
I09	0.25	90.78	0.20	3.17	0.10	0.06	0.03	0.04	3.77	0.34	0.12	0.28	0.51	0.29	20.1	0.16	0.52
I11	0.24	96.55	0.16	1.37	0.05	0.01	0.02	0.03	0.37	0.21	0.03	0.17	0.70	0.03	27.2	0.13	0.64
I13	0.30	94.74	0.13	1.36	0.05	0.02	0.00	0.02	1.57	0.24	0.05	0.15	0.64	0.72	28.8	0.10	0.60
I15	0.33	95.49	0.01	1.36	0.04	0.01	0.03	0.04	0.74	0.29	0.05	0.09	1.34	0.12	26.5	0.20	0.58
I17	0.28	88.76	0.12	1.77	0.07	0.12	0.03	0.03	7.37	0.33	0.11	0.09	0.71	0.21	24.5	0.19	0.53
I19	0.33	96.78	0.02	0.86	0.04	0.00	0.00	0.00	0.66	0.34	0.03	0.16	0.59	0.14	19.8	0.28	0.66
II05	0.33	96.90	0.03	1.49	0.03	0.00	0.02	0.00	0.07	0.35	0.02	0.07	0.69	0.00	8.6	0.21	0.63
II07	0.24	89.82	0.06	1.90	0.05	0.02	0.02	0.02	6.85	0.19	0.06	0.14	0.51	0.12	16.9	0.21	0.70
II09	0.33	88.70	0.04	1.64	0.06	0.05	0.01	0.02	7.46	0.36	0.07	0.09	0.95	0.21	21.3	0.15	0.64
II11	0.22	93.48	0.00	2.79	0.00	0.00	0.00	0.00	1.84	0.26	0.09	0.06	1.28	0.00	27.0	0.09	0.63
II13	0.28	93.66	0.00	2.92	0.13	0.00	0.00	0.00	1.14	0.27	0.00	0.07	1.41	0.12	29.2	0.15	0.56
II15	0.27	95.14	0.00	2.35	0.11	0.00	0.00	0.00	0.82	0.29	0.00	0.11	0.67	0.24	27.6	0.24	0.58
II17	0.25	95.47	0.02	1.24	0.20	0.02	0.00	0.00	0.42	0.13	0.06	0.47	1.65	0.03	17.3	0.20	0.42

Legenda: AMOSTRA: (I-II): primeiro e segundo dias de duração da flor; 07-17: horário de coleta; I07-I15: fase masculina da flor; I17-II17: fase feminina da flor; A: alcanos e alcenos alifáticos de cadeia média; B: alcanos e alcenos alifáticos de cadeia longa; C: ácidos graxos de cadeia média; D: ácidos graxos de cadeia longa; E: álcoois alifáticos; F: aldeídos e cetonas alifáticos; G: monoterpênicos oxigenados; H: sesquiterpênicos oxigenados; I: diterpenos oxigenados; J: benzenóides; K: ésteres com álcoois alifáticos; L: ésteres com álcoois terpênicos; M: ésteres de ácidos graxos; N: hidrocarbonetos terpênicos; TEMP: temperatura média do ar (°C); MEP: log(erro padrão da massa acumulada de néctar); CON: arco-seno médio da concentração do néctar.

Tabela 3.5. Análise de Correspondência Canônica (CCA) das variáveis que tiveram contribuição suficiente para explicar significativamente os padrões horários de chegada dos visitantes às flores de *Eriothea candolleana*.

Variáveis Ambientais	p	F	Inércia
Aldeídos e Cetonas Alifáticos	0.03	2.22	0.43
Erro Padrão da Massa Acumulada de Néctar	0.01	3.03	0.49
Inércia			
Total			2.71
Σ Autovalores Canônicos			0.92
Teste de Monte Carlo (399 permutações)			
Traço da Matriz	p < 0.01	2.81	
1º Eixo Canônico	0.01 < p < 0.05	3.05	
Parâmetros da Correspondência Canônica	Eixos Canônicos		
	1º	2º	
Autovalor	0.589		0.328
Correlação entre espécies/variáveis ambientais	0.912		0.707
Variância (%) acumulada para:			
matriz de espécies	21.7		33.8
relação espécies/variáveis ambientais	64.2		76.8

Tabela 3.6. Análise de Correspondência Canônica (CCA) das variáveis ambientais que tiveram contribuição suficiente para explicar significativamente os padrões horários de visitação às flores de *Eriothea candolleana*.

Variáveis Ambientais	p	F	Inércia
Arco-Seno da Concentração do Néctar	0.03	2.85	0.19
Temperatura do Ar	0.04	3.13	0.17
Benzenóides	0.05	2.24	0.11
Erro Padrão da Massa Acumulada de Néctar	0.10	1.63	0.08
Aldeídos e Cetonas Alifáticos	0.21	1.39	0.06
Inércia			
Total			0.97
Σ Autovalores Canônicos			0.61
Teste de Monte Carlo			
Traço da Matriz	p < 0.01	2.72	
1º Eixo Canônico	p < 0.01	3.49	
Parâmetros da Correspondência Canônica	Eixos Canônicos		
	1º	2º	3º
Autovalor	0.293	0.233	0.061
Correlação entre espécies/variáveis ambientais	0.857	0.856	0.889
Variância (%) acumulada para:			
matriz de espécies	30.4	54.4	60.7
relação espécies/variáveis ambientais	48.2	86.5	96.5

Tabela 3.7. Regressão logística do efeito de aldeídos e cetonas alifáticos sobre os turnos de visitas de *Amazonia lactea* às flores de *Eriotheca candolleana*.

MODELOS	COEFICIENTE	DESVIO PADRÃO	Z	p	TAXA DE RISCO E LIMITES (95%)		
					TAXA	INFERIOR	SUPERIOR
Constante	-18.22	11.73	-1.55	0.12			
Aldeídos e Cetonas Alifáticos	4.37	2.28	1.92	0.05	78.99	0.91	6824.79
Concentração do Néctar	26.87	18.37	1.46	0.14	4.67 E+11	0.00	1.98 E+27
Verossimilhança = -4.64 G = 10.12, p < 0.01, gl = 2 Hosmer-Lemeshow χ^2 = 4.75, p = 0.78, gl = 8							
Constante	-20.18	20.08	-1.01	0.31			
Aldeídos e Cetonas Alifáticos	7.00	21.96	0.32	0.75	1095.05	0.00	5.41 E+21
Concentração do Néctar	30.01	31.90	0.94	0.35	1.08 E+13	0.00	
Aldeídos*Concentração	-4.39	36.31	-0.12	0.90	0.01	0.00	9.95 E+28
Verossimilhança = -4.64 G = 10.138, p = 0.02, gl = 3 Hosmer-Lemeshow χ^2 = 4.53, p = 0.81, gl = 8							

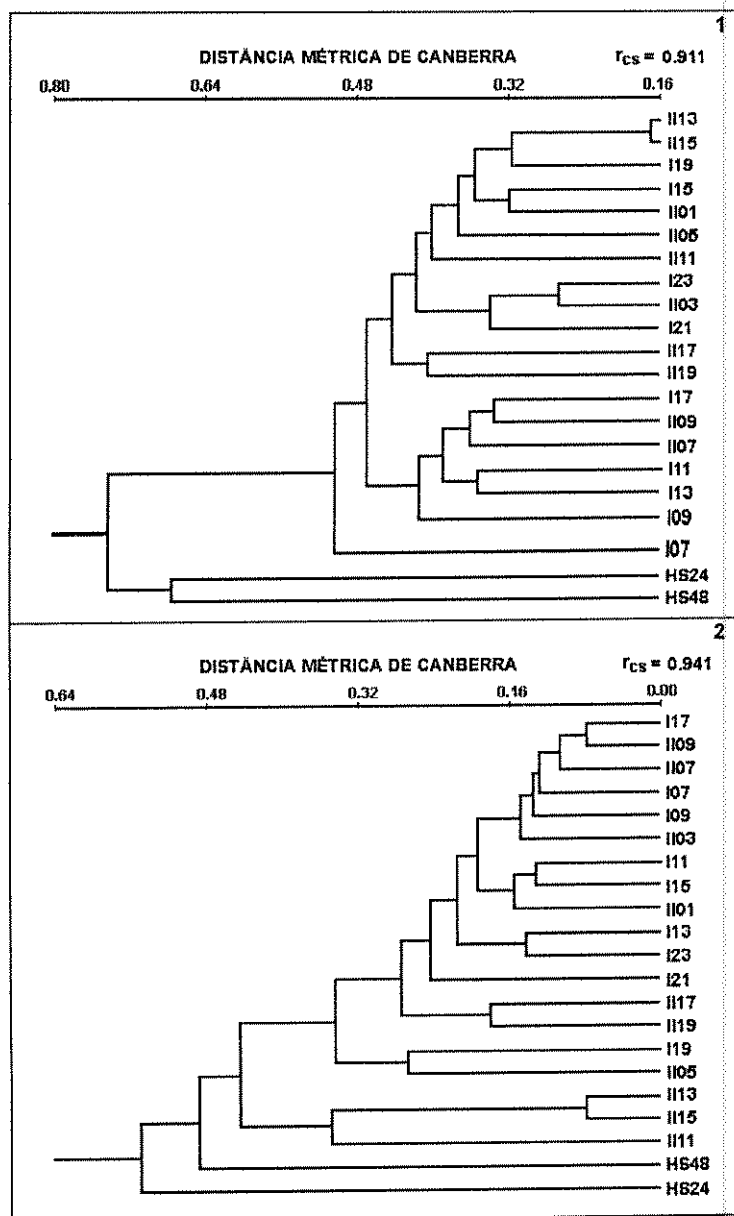


Figura 3.1. *Eriothea candolleana*. Dendrogramas de similaridade e seus coeficientes de correlação cofenética (r_{cs}), baseados na ligação por Média de Grupo (UPGMA), entre os extratos em diclorometano dos horários de coleta (01-23), relativos ao primeiro (I) e ao segundo (II) dias de duração da flor, e entre os extratos em *headspace* obtidos através de aspiração durante 24 (HS24) e 48 (HS48) horas. (1): considerando os 88 compostos voláteis detectados e (2): considerando os mesmos compostos organizados em 14 grupos. (I07-II15): fase masculina da flor; (II17-II17): fase feminina da flor.

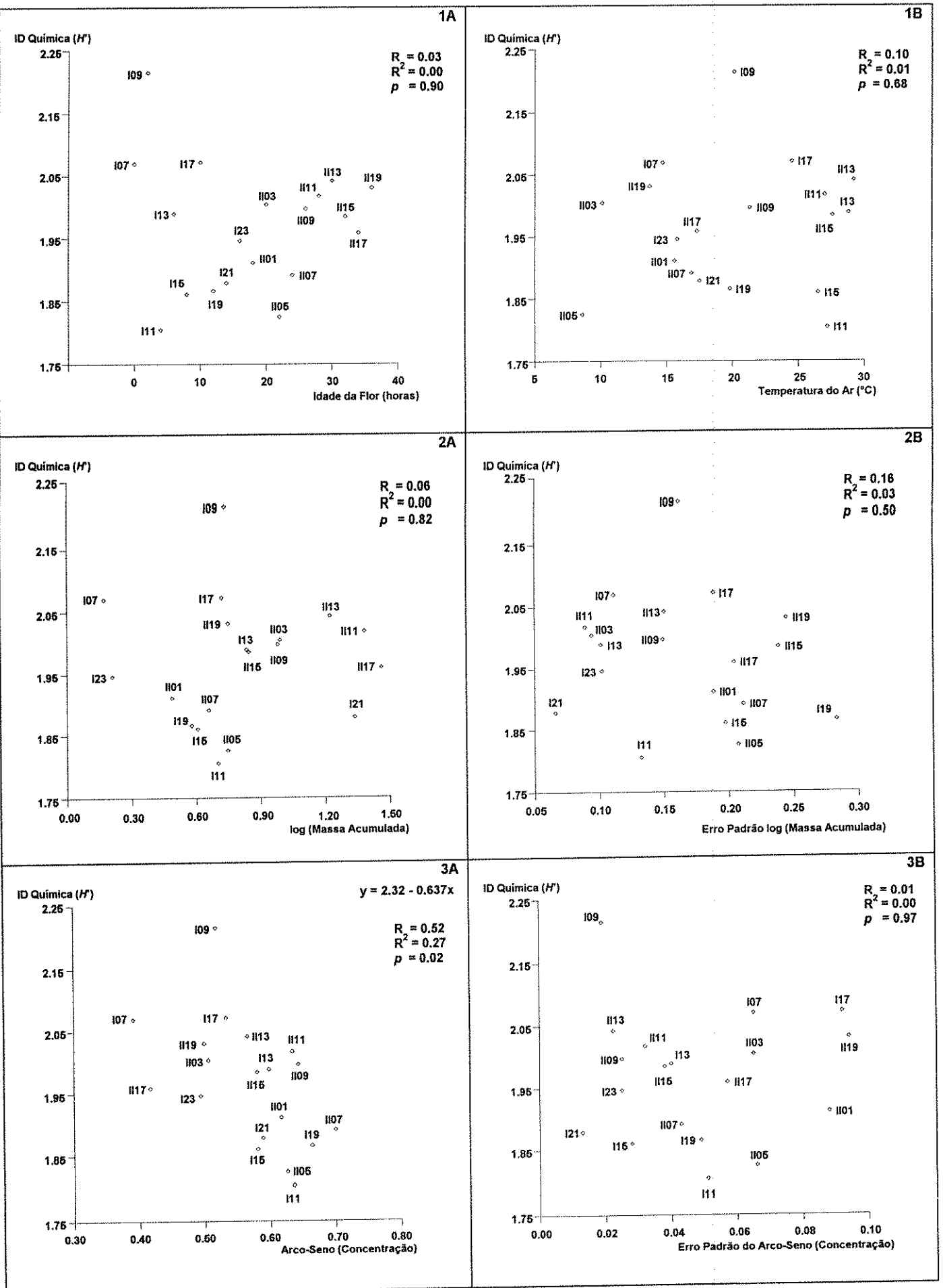


Figura 3.2. *Eriotheca candolleana*. Diagramas de dispersão com alguns parâmetros da regressão linear entre os Índices de Diversificação (ID) Química em relação à idade da flor (1A), à temperatura do ar (1B), à massa média acumulada (2A-B) e à concentração (3A-B) do néctar: (I) primeiro e (II) segundo dias de duração da flor; (05-19): hora de coleta; (I07-I15): fase masculina da flor; (I17-II17): fase feminina da flor.

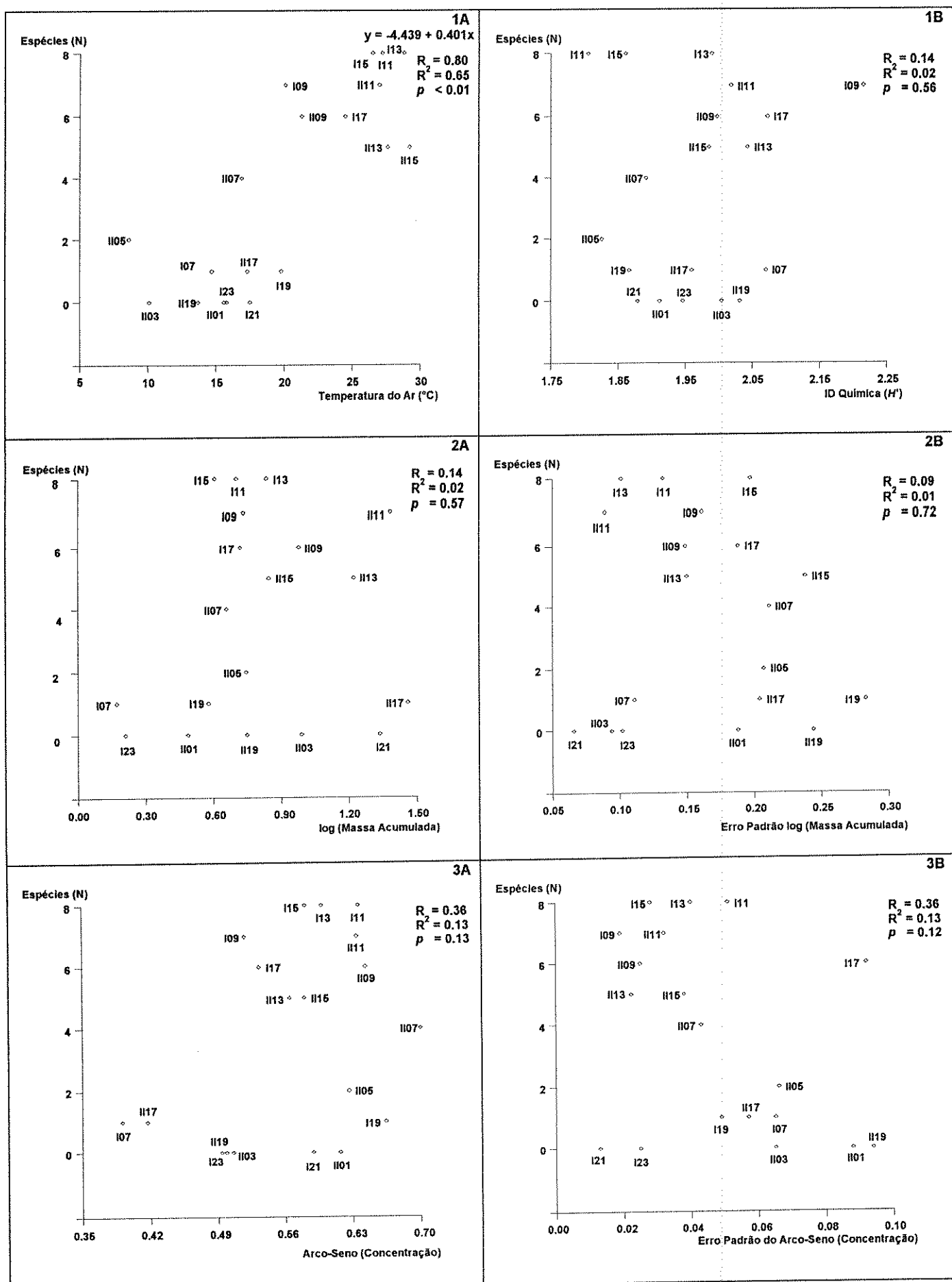


Figura 3.3. *Eriothea candolleana*. Diagramas de dispersão com alguns parâmetros da regressão linear entre o número (N) de diferentes espécies de visitantes florais em relação à temperatura do ar (1A), aos Índices de Diversificação (ID) Química (1B), à massa média acumulada (2A-B) e à concentração (3A-B) do néctar. (I) primeiro e (II) segundo dias de duração da flor; (05-19): hora de coleta; (I07-I15): fase masculina da flor; (I17-II17): fase feminina da flor.

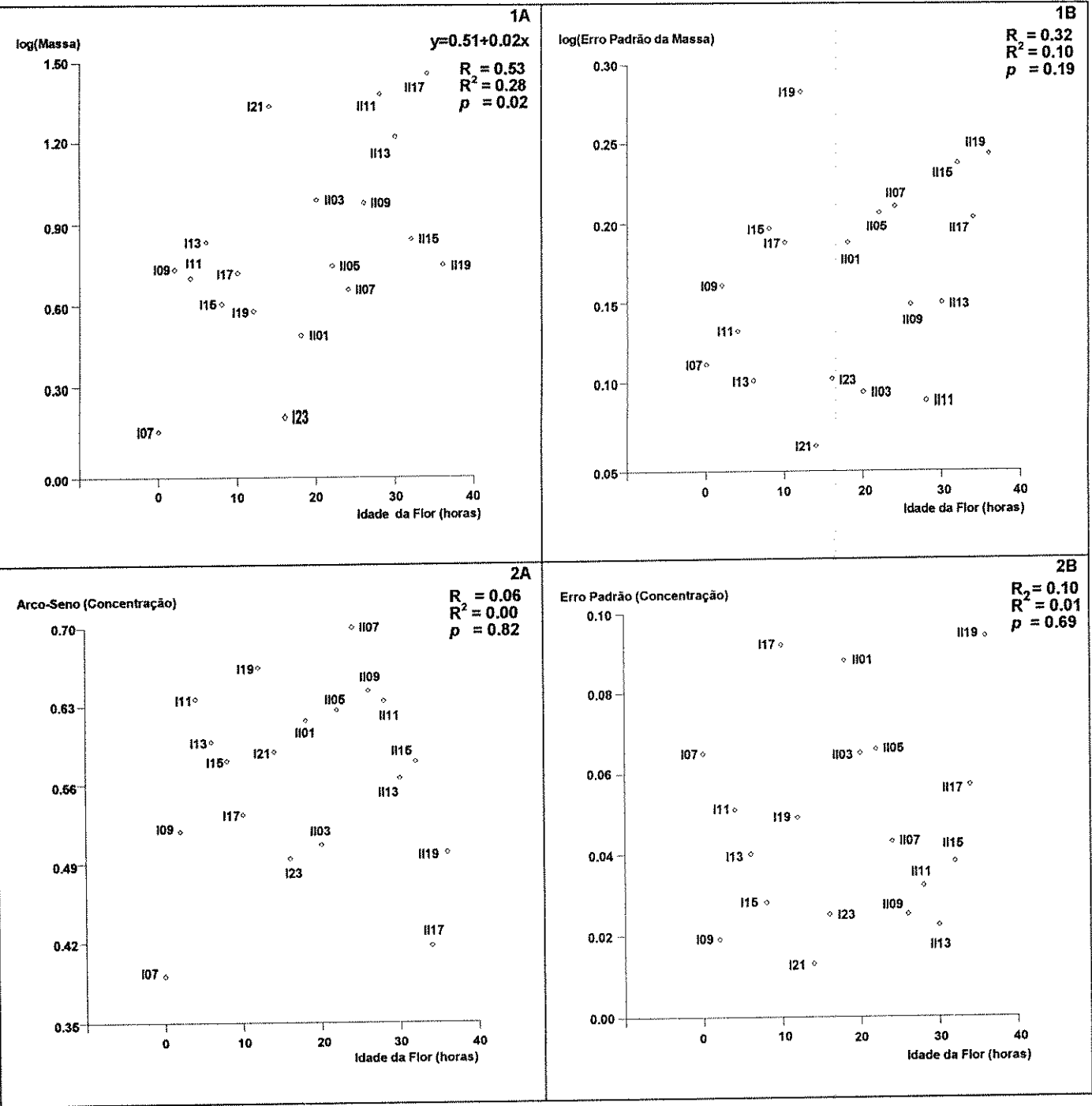


Figura 3.4. *Eriotheca candolleana*. Diagramas de dispersão com alguns parâmetros da regressão linear entre a média e o respectivo erro padrão da massa acumulada (1A-B) e da concentração (2A-B) do néctar em relação à idade da flor. (I) primeiro e (II) segundo dias de duração da flor; (05-19): hora de coleta; (I07-I15): fase masculina da flor; (I17-II17): fase feminina da flor.

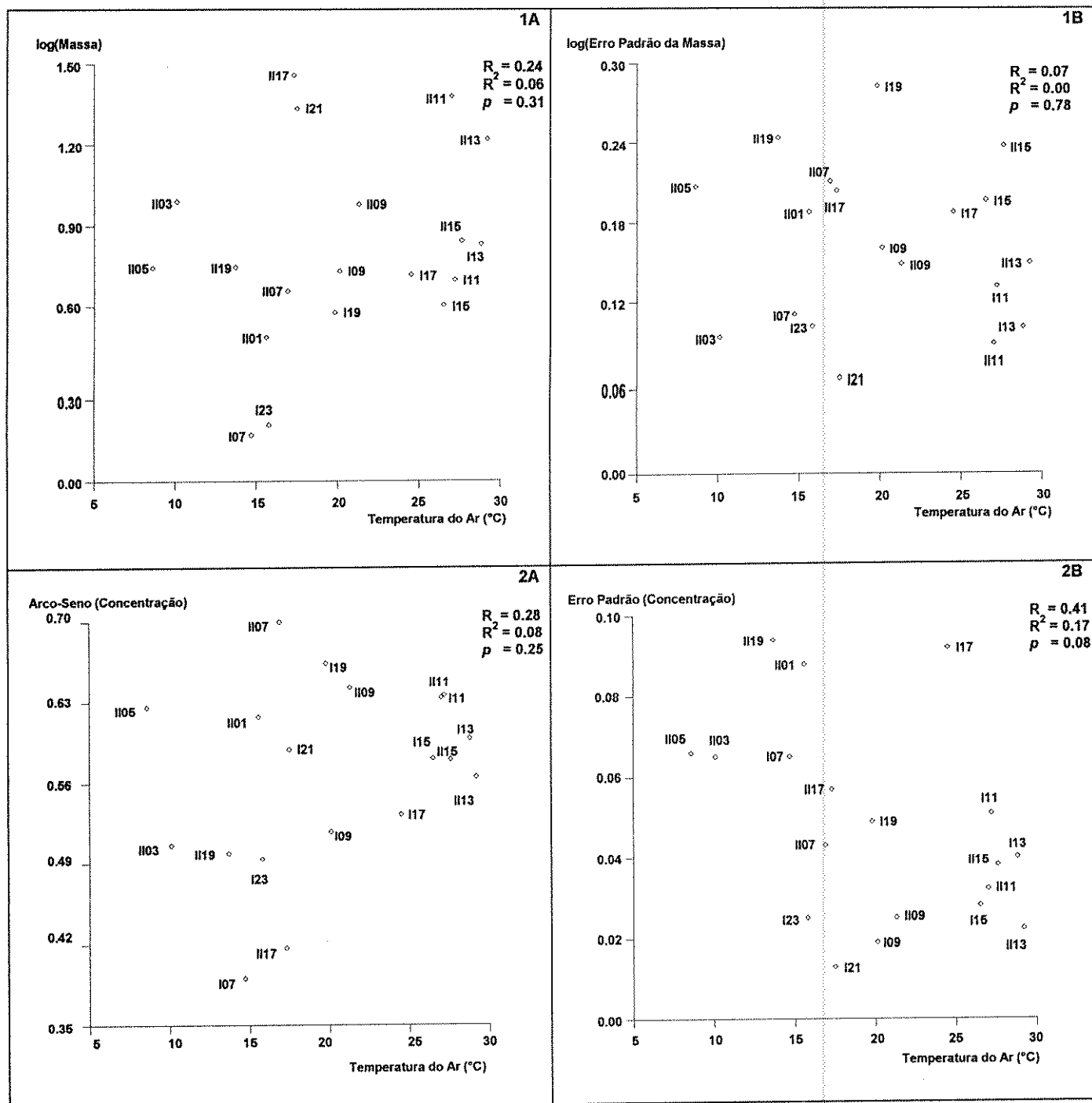
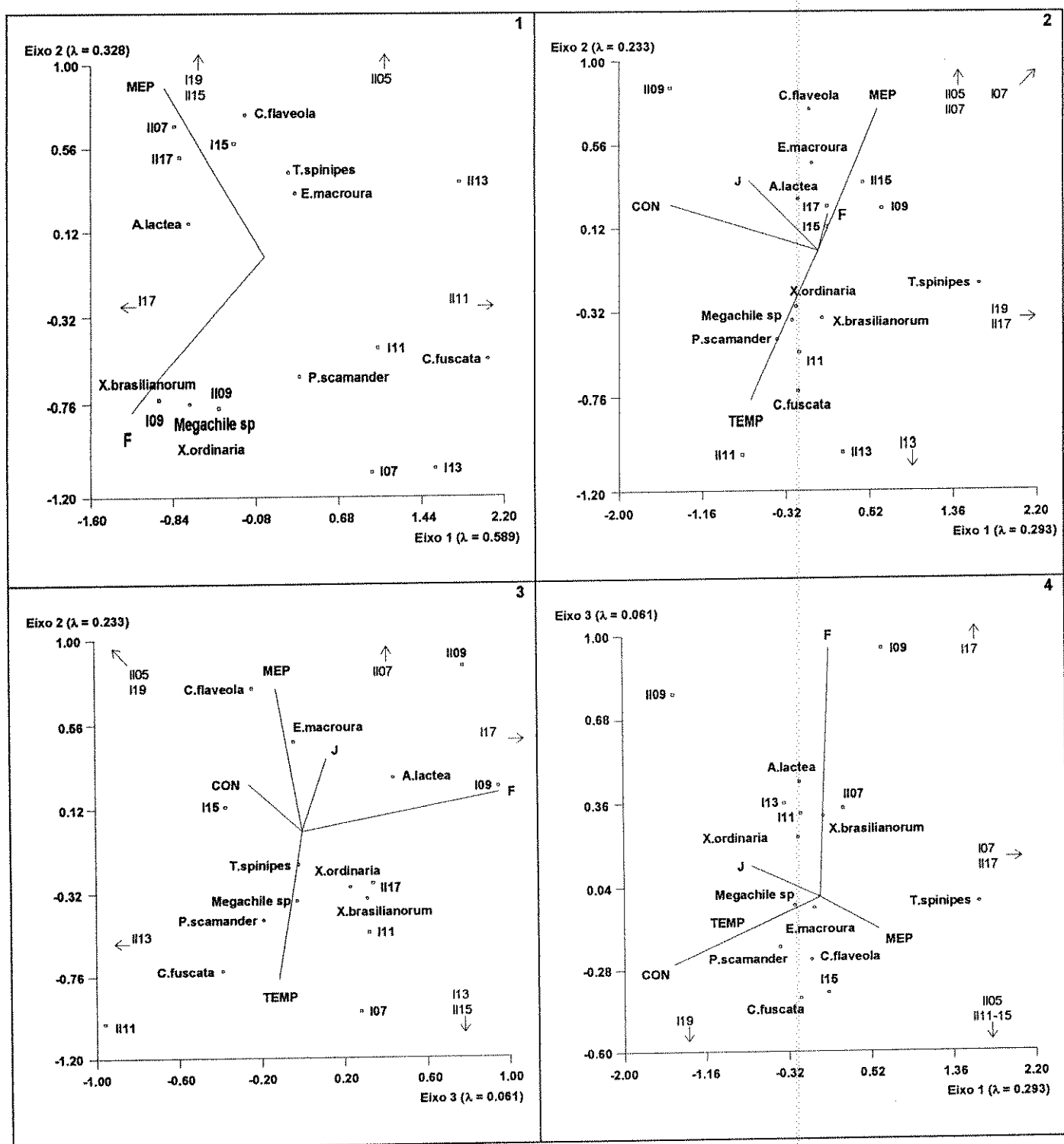


Figura 3.5. *Eriotheca candolleana*. Diagramas de dispersão com alguns parâmetros da regressão linear entre a média e o respectivo erro padrão da massa acumulada (1A-B) e da concentração (2A-B) do néctar em relação à temperatura do ar. (I) primeiro e (II) segundo dias de duração da flor; (05-19): hora de coleta; (I07-I15): fase masculina da flor; (I17-II17): fase feminina da flor.



CAPÍTULO IV

NÉCTAR E VOLÁTEIS COMO SINAIS FLORAIS DE TRÊS ESPÉCIES SINTÓPICAS E SUA RELAÇÃO COM BEIJA-FLORES E ABELHAS¹

Resumo

Populações sintópicas de *Vriesea neoglutinosa* (Bromeliaceae), *Passiflora pentagona* (Passifloraceae) e *Melocactus violaceus* (Cactaceae) foram usadas como modelo de campo para avaliar como os voláteis florais e as características do néctar, tais como a massa acumulada, a concentração e a taxa instantânea de produção, se relacionam aos padrões horários de visitas a estas espécies vegetais. Os sinais voláteis foram associados à localização das flores de *P. pentagona* pelos visitantes e na definição de padrões horários de visitação. Houve indícios de que distribuição de visitantes entre as espécies vegetais possa ser determinada também por um fator comportamental das abelhas, ligado ao aprendizado associativo dos sinais químicos à oferta de néctar. As características do néctar não foram associadas a localização das flores pelos visitantes, mas contribuíram para estabelecer o período em que eles permanecem forrageando nas três espécies.

Abstract

Syntopical populations of *Vriesea neoglutinosa* (Bromeliaceae), *Passiflora pentagona* (Passifloraceae) and *Melocactus violaceus* (Cactaceae) were chosen as a field model to verify how floral volatiles and some nectar characteristics, such as accumulated mass, concentration and instantaneous production rate, are related to visitation patterns in these plant species. Volatile signs were associated to flower-finding by visitors of *P. pentagona* and to their hourly patterns of floral visiting. Some cues suggest that visitor distribution among these plant species may also be affected by a behavioral response of bees, involving the daytime that they detect the chemical signs and association of these signs with nectar availability. Nectar characteristics were not associated with flower-finding by visitors, but in determining how long they keep on foraging on these three species.

¹ Trabalho apresentado segundo as normas da revista Functional Ecology

INTRODUÇÃO

A natureza dos sinais ligados à visitação de flores é bastante diversificada. Sinais florais podem ser desde atributos morfológicos, perceptíveis visual ou ecograficamente (Dusenbery, 1992), até substâncias químicas voláteis, detectáveis pelos sistemas de olfação e gustação (Harborne, 1993). O néctar e o pólen também foram considerados como atrativos para os visitantes (Vogel, 1983), embora participem de uma relação trófica (Waser, 1983) e não informativa (Dusenbery, 1992).

Os animais, por sua vez, respondem a sinais químicos, térmicos, visuais e sonoros (Dusenbery, 1992; Harborne, 1993), podendo diversificar bastante sua capacidade de interagir com estes estímulos. As respostas dos animais se apresentam em diversos graus de especialização, podendo ser bastante específicas, como no caso de feromônios sexuais (Alcock, 1984; Abrahamson, 1989).

Alguns padrões organolépticos humanos de aromas, assim como dados de volume e de concentração de néctar, têm sido usados na caracterização de síndromes de polinização (Faegri & van der Pijl, 1979). Considerando que a especialização entre flores e seus polinizadores é uma idéia implícita à definição das síndromes (Waser *et al.*, 1996), questões importantes podem ser levantadas sobre a relação do aroma e do néctar florais com os grupos de visitantes em suas respectivas síndromes de polinização.

O conjunto formado por *Vriesea neoglutinosa* (Bromeliaceae), *Passiflora pentagona* (Passifloraceae) e *Melocactus violaceus* (Cactaceae) foi utilizado como um modelo natural para a investigação destes aspectos. Populações sintópicas destas espécies no Parque Estadual Paulo César Vinha, Guarapari, ES, são visitadas por uma guilda comum de beija-flores. Além dos beija-flores, *P. pentagona* também é visitada por 13 espécies nativas de abelhas.

O objetivo deste trabalho é avaliar como os voláteis florais e as características do néctar, tais como a massa acumulada, sua concentração e taxa instantânea de produção, estão relacionadas à chegada de visitantes e aos padrões horários de visitação às flores destas três espécies.

MATERIAIS E MÉTODOS

Padrões de Visitação

O trabalho de campo foi realizado no período de sobreposição das floradas das três espécies, entre julho e setembro de 1993-96. As populações estudadas ocorrem em moitas da vegetação de restinga, numa área de cerca de 5 ha do Parque Estadual Paulo Cesar Vinha (1.500 ha, 17°35' S e 40°23' W), Guarapari, ES.

As observações sobre as visitas foram realizadas entre 06:00 h e 18:00 h, cobrindo o período de duração da flor de cada espécie. A cada hora de observação registraram-se os turnos de forrageio, o número de flores visitadas em cada turno, bem como foram coletados e identificados os visitantes e medida a temperatura do ar. Estes dados foram tomados em parcelas de 5x5m que contivessem de cinco a seis flores para cada espécie.

O período do dia de chegada dos visitantes e a continuidade de sua atividade nas flores foram tomados como indicadores da resposta dos animais aos sinais florais. Os padrões horários de visitação foram definidos para cada espécie de visitante como os períodos de presença consecutivas de indivíduos na flor. A partir dos padrões de visitação, períodos de presenças consecutivas foram subestimados em relação àqueles em que indivíduos de cada espécie estiveram presentes nas flores após, pelo menos, um período de ausência, definindo os padrões de chegada às flores para cada espécie de visitante.

Extração, Análise e Identificação dos Voláteis Florais

A característica organoléptica do aroma floral foi determinada após o teste de concentração de odor. As flores foram colocadas em um frasco de vidro fechado, refrigeradas entre 7-10°C por duas horas. Depois deste período, o frasco foi aberto e cheirado e o descrito segundo ALDRICH (1993).

As flores utilizadas na extração foram previamente protegidas por sacos de tule. Duas flores de *V. neoglutinosa* e seis das demais espécies foram retiradas, em

intervalos de uma hora, e colocadas em frascos de vidro com diclorometano bidestilado suficiente para imersão. Um branco de extração foi realizado no campo, com um volume igual de solvente, colocado em frasco idêntico ao dos extratos. O branco e os extratos foram refrigerados entre 7° e 10°C para transporte, e armazenados a -30°C até a análise (Whitten *et al.*, 1993), quando ambos foram submetidos à secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente, à temperatura ambiente.

A cromatografia gasosa (CG) analítica de alta resolução foi realizada em cromatógrafo a gás HP-5970 com detector de ionização de chama (DIC), em coluna capilar de sílica fundida DB-5 J&W Scientific (25m x 0,2mm x 0,3µm). O hidrogênio foi o gás de arraste, a um fluxo de 30mL/min, em modo *splitless* durante o primeiro minuto, e depois em modo *split*. Para integração dos picos, a cromatografia foi isotérmica a 30°C, durante um minuto, seguido de um aumento programado de 3°C/min, até 300°C, com a temperatura do injetor em 210°C e do detector em 280°C. O volume de injeção foi de 1µL, sendo 0,8µL de uma solução de óleo essencial (30mg/mL) e 0,2µL de uma solução de α -pineno (0,806mg/mL) como padrão interno, ambas em diclorometano bidestilado. O sinal elétrico obtido pela integração da detecção de cada composto não foi corrigido pelo respectivo fator de resposta do detector para o cálculo das proporções das substâncias na amostra.

Na análise em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) foi utilizado o sistema HP-5890/5970, formado por um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas. A coluna capilar de sílica fundida utilizada foi uma DB-5 J&W Scientific (30m x 0,25mm x 0,25µm). O gás de arraste foi o hélio e os programas de temperatura da coluna foram os mesmos utilizados na CG analítica. Os espectros de massas foram obtidos a 70eV, a uma velocidade de varredura de 0,84scan/seg, na faixa de m/z 40-500.

Os Índices de Retenção (IR) foram obtidos a partir dos tempos de retenção dos componentes da amostra e de uma mistura de *n*-alcanos entre C6-C30, co-injetados no sistema de CG-EM sob o mesmo programa de temperaturas de CG e CG-EM.

O cálculo dos IR foi feito através da equação de Van der Dool & Kratz (1963):

$$IR = \left(100 \cdot \Delta n \cdot \frac{T_s - T_n}{T_{n+1} - T_n} \right) + 100n \quad \text{onde}$$

Δn = diferença do número de carbonos dos dois *n*-alcanos que eluem antes e depois da substância analisada

T_s = tempo de retenção da substância analisada

T_n = tempo de retenção do *n*-alcano que elui antes da substância analisada

T_{n+1} = tempo de retenção do *n*-alcano que elui depois da substância analisada

n = número de carbonos do *n*-alcano que elui antes da substância analisada

Para a identificação dos componentes da fração volátil foram realizadas comparações dos índices de retenção obtidos com os disponíveis na literatura (Adams, 1995) e dos espectros de massa aos arquivos da biblioteca espectral Wiley/NBS que compõem o sistema CG-EM.

As Características do Néctar

O néctar acumulado foi coletado com micropipetas de 5µL e 20µL em seis flores protegidas por sacos de tule, para cada um dos horários estabelecidos no padrão de visitação. No campo, a concentração foi medida em refratômetro portátil e as amostras foram guardadas em frascos de vidro previamente pesados, refrigeradas entre 7-10°C para transporte e armazenadas a -30°C até a pesagem. A massa de néctar foi determinada em balança analítica com precisão de 0,01mg.

A Análise dos Dados

A distribuição das massas de néctar, acumuladas nos intervalos horários, foi normalizada pela transformação logarítmica e as concentrações pela transformação arco-seno (Zar, 1996). A taxa instantânea de produção de néctar foi estimada pela derivada primeira (Swokowski, 1983) da função de regressão do acúmulo de néctar em função da duração da flor. O erro padrão da média (Zar, 1996) foi o indicador da variabilidade para as massas acumuladas e para as concentrações do néctar.

O Índice de Diversificação (ID) Química dos compostos voláteis nos horários de coleta foi estimado pelo Índice de Shannon-Wiener (Zar, 1996):

$$H' = - \sum_{i=1}^k p_i \ln p_i \quad \text{onde}$$

k = número de diferentes moléculas em cada amostra

p_i = proporção de sinal elétrico da detecção de cada molécula

Diferenças entre ID das três espécies foram avaliadas pela Análise de Variância (ANOVA), com teste de Scheffè para comparação múltipla *a posteriori*. As relações entre os ID e o tempo de duração da flor foram testadas através de regressões lineares e polinomiais (Zar, 1996). As proporções de voláteis nas amostras foram transformadas em unidades logísticas (Sokal & Rohlf, 1995) para análise de regressão linear (Zar, 1996) em relação ao número de turnos de forrageio dos beija-flores, e na regressão logística (Hosmer & Lemeshow, 1989; Sokal & Rohlf, 1995), em relação à proporção de flores visitadas pelos beija-flores em seus turnos nas três espécies. A ANOVA e as regressões lineares e polinomiais foram executadas pelo programa SYSTAT, versão 5.0, e as regressões logísticas pelo programa MINITAB, versão 11.21.

A seleção de variáveis ambientais foi feita primeiro, com base em sua importância marginal e, segundo, em sua importância condicional para explicação da inércia total da matriz de visitação (ter Braak & Verdonschot, 1995). A associação entre as variáveis ambientais selecionadas e os padrões horários de visitação foi testada através da Análise de Correspondência Canônica (CCA). Além da relação das variáveis ambientais com o padrão diário de visitas, a hipótese de nulidade de que a chegada dos visitantes às flores era independente das variáveis ambientais foi testada pela CCA, subestimando as presenças consecutivas a outras presenças na flor, em relação às presenças consecutivas a ausências. A seleção das variáveis ambientais e a CCA foram realizadas no programa CANOCO, versão 3.10, sendo que o nível de significância de ambas foi estabelecido pelo teste de permutação de Monte Carlo (ter Braak, 1988; ter Braak, 1990).

RESULTADOS

Padrões de Visitação

Entre as três espécies, *V. neoglutinosa* e *M. violaceus* foram exclusivamente visitadas pelos beija-flores *Amazilia fimbriata* e *Polytmus guainumbi* num padrão quase contínuo, ao longo da duração da flor. *P. pentagona* foi visitada por 13 espécies de abelha, além dos mesmos beija-flores. As visitas de beija-flores a *P. pentagona* concentraram-se nas três primeiras e três últimas horas do período de duração da flor. Nos demais horários os beija-flores apenas inspecionavam as flores.

As espécies de abelhas diferenciaram-se pelo padrão de chegada às flores de *P. pentagona* (Tab. 4.1). *Xylocopa frontalis*, *X. ordinaria*, *Epicharis flava*, *E. rustica* (Anthophoridae) e *Eulaema nigrita* (Apidae:Euglossini) chegaram às flores tanto pela manhã, como após as 14:00h. *X. brasilianorum*, *Centris analis*, *C. longimana*, *C. lutea* (Anthophoridae), *Eulaema cingulata*, *E. seabrae*, *Euplusia surinamensis* e *Euglossa cordata* (Apidae:Euglossini) chegaram às flores pela manhã e não retornaram após as 14:00h.

Também houve diferenças nos padrões horários de visitação das abelhas às flores de *P. pentagona* (Tab. 4.2). Fêmeas de *Xylocopa brasilianorum*, *X. frontalis* e *X. ordinaria* estiveram presentes durante oito das 11 horas de duração da flor. As fêmeas de outras espécies de Anthophoridae - *Centris analis*, *C. longimana*, *C. lutea*, *Epicharis flava* e *E. rustica*, bem como as espécies de Euglossini (Apidae:Bombinae) - machos e fêmeas de *Eulaema cingulata* e *E. nigrita* e machos *E. seabrae*, *Euplusia surinamensis* e *Euglossa cordata* (Tab. 4.2) apresentaram ciclos de visitas menores, com duração entre duas e cinco horas.

A temperatura do ar e a idade da flor apresentaram uma relação quadrática em *V. neoglutinosa* (Fig. 4.1.1A) e em *P. pentagona* (Fig. 4.2A), refletindo o ciclo diário de variação de temperatura do dia, mas foram independentes em *M. violaceus* (Fig. 4.1.2A). O número de espécies de visitantes florais de *P. pentagona* repetiu a relação quadrática com a idade da flor (Fig. 4.2E), mas em *V. neoglutinosa* o número de visitantes e a idade da flor foram independentes. Embora a variação no número

de visitantes de *P. pentagona* fosse devida às espécies de abelha, ela foi independente da temperatura do ar (Fig. 4.2F).

A Composição do Óleo Essencial

Detectou-se 93 substâncias, das quais 58 (62,2%) foram identificadas, sendo que 69 compostos ocorrem em *V. neoglutinosa*, 31 em *P. pentagona* e 12 em *M. violaceus*. Apenas quatro moléculas de alcanos de cadeia longa foram comuns às três espécies. *M. violaceus* apresentou ainda uma substância em comum com *V. neoglutinosa* que teve outras sete em comum com *P. pentagona* (Tab. 4.3).

Nas três espécies, a fração de alcanos e alcenos alifáticos de cadeia longa representou de 43 a 89,9% da massa extraída e, em *P. pentagona*, a fração dos benzenóides, constituída por álcoois aromáticos e fenilpropanóides, atingiu 30,7% (Tab. 4.4). As flores de *V. neoglutinosa* e de *M. violaceus* possuem um odor ceroso, próprio dos hidrocarbonetos, e as de *P. pentagona* têm um odor floral adocicado, característico dos benzenóides encontrados.

A diversificação química das espécies estudadas foi bastantes distinta ($F_{ANOVA} = 29.6$, $p < 0.01$, $gl = 25$, $R = 0.84$, $R^2 = 0.70$), sendo que *V. neoglutinosa* apresentou ID Química maiores do que as outras duas ($p < 0.01$), enquanto os ID de *P. pentagona* e *M. violaceus* não foram diferentes ($p = 0.09$). A diversificação de compostos voláteis foi independente da idade da flor e da temperatura do ar em *M. violaceus* (Fig. 4.1.2B-C) e em *P. pentagona* (Fig. 4.2C-D), mas em *V. neoglutinosa* foi diretamente relacionada tanto com a idade da flor (Fig. 4.1.1B) quanto com a temperatura do ar (Fig. 4.1.1C). A variação no número de espécies de visitantes florais também foi independente da diversificação de compostos voláteis, mesmo em *P. pentagona* (Fig. 4.2B), a única que recebeu visitas de abelhas.

As Características do Néctar

O número de espécies de visitantes de *V. neoglutinosa* e de *M. violaceus* foi constante e, portanto, não apresentou relação com a massa acumulada ou com a

concentração do néctar. A variação do número de espécies que visitam as flores de *P. pentagona* apresentou uma relação com a massa acumulada de néctar (Fig. 4.3C), num padrão similar à relação observada entre a temperatura do ar e a idade da flor (Fig. 4.2A). O acúmulo de massa de néctar foi, entretanto independente da temperatura do ar, apresentando uma relação linear com a idade da flor (Fig. 4.3A).

Assim como nas demais espécies, em *P. pentagona* a variação do número de espécies de visitantes foi independente da concentração do néctar (Fig. 4.3D) e da variabilidade das médias das massas acumuladas de néctar (Fig. 4.3E) e de suas concentrações (Fig. 4.3F).

A Relação entre Voláteis, Néctar e Temperatura do Ar com a Visitação

Dos 23 grupos de compostos isolados das flores (Tab. 4.3), 11 foram selecionados por sua importância marginal para a CCA e, juntos com a temperatura do ar e as características do néctar, constituíram uma matriz de variáveis ambientais (Tab. 4.4) em relação às matrizes de chegada (Tab. 4.1) e de visitação (Tab. 4.2).

Os padrões de chegada dos visitantes às flores não foram aleatórios e também não foram associados às características do néctar, mas apresentaram uma relação significativa com quatro grupos de voláteis, entre as 17 variáveis ambientais testadas. Houve uma polarização entre beija-flores, que chegaram às flores independentemente dos sinais químicos, e abelhas cuja chegada foi associada a compostos voláteis, tais como os ésteres de ácidos alifáticos de cadeia longa, os álcoois e os aldeídos alifáticos de cadeia longa e os benzenóides, um grupo formado por álcoois aromáticos e fenilpropanóides (Fig. 4.4.1A-B, 4.4.2A-B). Esses quatro grupos explicaram 60,7% da inércia total daquela matriz (Tab. 4.5).

Pela contribuição do primeiro eixo canônico, os álcoois alifáticos foram associados, principalmente, à chegada de *C. analis* e *C. lutea*. Os euglossíneos e os demais antoforídeos - *C. longimana*, *E. flava* e *X. frontalis* - relacionaram-se menos com estes álcoois e apresentaram uma pequena associação com outros três grupos de compostos. Os beija-flores foram ordenados em oposição aos voláteis. Pela contribuição do terceiro eixo, os benzenóides se relacionaram fortemente com a chegada de *E. flava*, de maneira mais forte até do que com as espécies de

Euglossini. *X. brasilianorum* e *X. ordinaria* apresentaram uma pequena relação com os voláteis, com leve afinidade pelos benzenóides (Fig. 4.4.1A-B, 4.4.2A-B).

Quanto ao padrão diário de visitas às flores, sete grupos de compostos voláteis, três características do néctar e a temperatura do ar explicaram 70,2% da inércia total da matriz (Tab. 4.6). Todos os grupos de compostos voláteis relacionados com a chegada dos visitantes também contribuíram para os padrões horários de visitação às flores. Dos quatro grupos de voláteis que associados à chegada das abelhas, apenas os benzenóides e os ésteres de ácidos alifáticos contribuíram para os padrões diários de suas visitas. Além deles, uma ligação mais forte com a temperatura do ar e a concentração do néctar levaram à polarização entre beija-flores e abelhas (Fig. 4.5.1A-B, 4.5.2A-B).

Pela contribuição do primeiro eixo canônico, os benzenóides e os ésteres de ácidos alifáticos foram associados com *C. analis*, *C. longimana*, *E. flava*, *X. frontalis* e todos os euglossíneos, menos *E. cordata*. Esta abelha foi ordenada entre os benzenóides e os ácidos alifáticos de cadeia longa, numa relação fortemente relacionada à temperatura do ar. A atividade de *C. lutea*, *X. brasilianorum* e *X. ordinaria* esteve mais ligada aos aumentos da concentração média do néctar e de seu erro padrão e aos ésteres de ácidos alifáticos, álcoois sesquiterpênicos e alcanos e alcenos de cadeia longa (Fig. 4.5.1A-B, 4.5.2A-B).

Pela contribuição do terceiro eixo, *C. analis*, *C. lutea* e *E. seabrae* toleraram melhor os aumentos na variabilidade da concentração do néctar expressa pelo erro padrão que os demais visitantes. A atividade de *E. flava*, *E. rustica* e *E. nigrita* foi afetada pelos benzenóides e pelos ácidos alifáticos de cadeia longa, num setor marcado por aumentos da concentração média do néctar e da temperatura do ar. As outras abelhas apresentaram uma relação com os benzenóides e com os ésteres de ácidos alifáticos (Fig. 4.5.1A-B, 4.5.2A-B).

Os beija-flores *A. fimbriata* e *P. guainumbi* foram ordenados em oposição às abelhas, associados com dois grupos de voláteis, representados pelos álcoois e pelos aldeídos alifáticos de cadeia longa, e com uma variação da massa média acumulada de néctar (Fig. 4.5.1A-B, 4.5.2A-B). Em relação à proporção de flores visitadas por turno de visita dos beija-flores (Tab. 4.7), o modelo contendo estes dois vetores de voláteis foi altamente significativo quando testado através de regressão logística, apresentando, entretanto, um ajuste desprezível em relação aos dados

originais (Tab. 4.8). Um ajuste mais expressivo que o anterior foi obtido pelo modelo altamente significativo que relacionou apenas os álcoois alifáticos com os padrões diários das visitas em que os beija-flores tomam néctar. Neste caso, a contribuição dos aldeídos não foi significativa. O modelo que continha estes dois grupos de voláteis também foi altamente significativo e com ajuste satisfatório aos dados, mas os coeficientes ligados a eles não foram significativos (Tab. 4.9).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os sinais químicos estiveram ligados à chegada de abelhas às flores estudadas; no entanto, os beija-flores localizaram o recurso independentemente dos voláteis florais. Esta diferença na relação entre abelhas e beija-flores era esperada, pois os insetos, de um modo geral, vivem num mundo de sinais químicos, às vezes de especificidade elevada como a dos feromônios (Harborne, 1993). As características do néctar não se relacionaram nem os beija-flores nem as abelhas quanto à localização das flores, deixando claros os limites entre o processo informativo (Dusenberry, 1992) envolvendo os sinais voláteis, e o processo trófico (Waser *et al.*, 1996) ligado ao néctar.

Entre abelhas solitárias, como as que visitam *P. pentagona*, é esperada uma linguagem química mais simples quanto às respostas etológicas envolvidas, do que a existente entre as de hábito social (Eickwort & Ginsberg, 1980; Gerling *et al.* 1989; Dukas & Real, 1993). Segundo Dukas & Real (1993), as respostas que os sinais químicos florais provocariam em abelhas solitárias estariam limitadas à atividade sexual. Não parece ser este o caso em *P. pentagona*, pois machos e fêmeas de algumas das espécies de abelhas visitaram as flores. Na verdade, os serviços de polinização nos quais a motivação das visitas é dada por compostos voláteis semelhantes aos feromônios sexuais de abelhas, estão restritos, até agora, aos casos de pseudocópula em Orchidaceae, envolvendo apenas machos de himenópteros (Silva, 1996).

Entre os ésteres de ácidos alifáticos, os formados com álcoois alifáticos de cadeia longa tiveram forte relação com a localização das flores de *P. pentagona* por *C. analis* e *C. lutea* (Fig. 4.4.1A-B). Este grupo de compostos de odor ceroso

(ALDRICH, 1993) está presente na secreção dos elaióforos, coletada pelas fêmeas de Centridini, e ficam em contato com os indivíduos desde a fase inicial do desenvolvimento larval (Vogel, 1983; Buchmman, 1987; Vinson *et al.*, 1997). Este fato seria suficiente para desenvolver, inclusive, uma preferência inata pela habituação (Roubik, 1989) e, possivelmente, explicaria uma resposta tão expressiva dessas duas espécies de abelhas.

Os ésteres de ácidos alifáticos de cadeia longa encontrados entre os voláteis das flores de *P. pentagona* e *V. neoglutinosa* também ocorrem nos feromônios utilizados na marcação de territórios onde machos de *Centris adani* (Vinson *et al.*, 1982) e de *Centris heitausi* (Coville *et al.*, 1986) patrulham em busca de fêmeas. Frankie *et al.* (1980) especularam que estes feromônios atrairiam fêmeas para o território de acasalamento; entretanto, este efeito tem sido raramente demonstrado (Duffield *et al.*, 1984) e, em princípio, não justificaria a atração para as flores estudadas. A atividade de *X. frontalis*, que não coleta óleo em flores, também foi diferenciada em relação aos ésteres de ácidos alifáticos das flores estudadas, sugerindo que as respostas dos antoforídeos a este grupo de compostos sejam mais generalistas.

A relação dos benzenóides, álcoois aromáticos e fenilpropanóides, com a chegada de antoforídeos à flor, em particular *E. flava*, foi maior que na chegada das abelhas da tribo Euglossini (Fig. 4.4), apesar dos benzenóides serem considerados bastante atrativos em iscas para machos de abelhas desta tribo (Williams & Whitten, 1983). Não apenas machos, mas também fêmeas de Euglossini visitaram as flores de *P. pentagona*. Como visitas de fêmeas não têm sido relatadas às flores de perfume (Dressler, 1982) que muitas vezes possuem os benzenóides entre seus voláteis (Williams & Whitten, 1983), é possível que apesar dos efeitos deste grupo de compostos serem mais expressivos para os machos de euglossíneos, eles também estimulem a atração em diferentes grupos taxonômicos de abelhas. Os benzenóides relacionaram-se à chegada de 11 espécies de abelhas, entre antoforídeos e euglossíneos. Isto indica pouca restrição de especificidade por parte da planta, ao selecionar visitantes, refletindo também na flexibilidade das abelhas em responder a estímulos voláteis (Bergström, 1991).

Se as visitas de abelhas a *P. pentagona* estivessem ligadas apenas aos benzenóides, seria mais fácil entender porque não visitam as outras duas espécies,

nas quais eles não ocorrem. Proporções de ácidos graxos de cadeia longa, equivalentes as que ocorrem nos primeiros horários da antese de *P. pentagona*, só vão ocorrer duas a três horas mais cedo em relação às amostras de *V. neoglutinosa* (Tab. 4.4, Fig. 4.4.1B). Assim, é possível que as abelhas detectem e se mantenham nas flores de *P. pentagona*, antes que os ácidos graxos de cadeia longa atinjam proporções expressivas em *V. neoglutinosa*. De fato, foi demonstrado que operárias de *Apis mellifera*, depois de treinadas com duas substâncias voláteis para pousar em flores artificiais em períodos diferentes do dia, repetem o padrão de pouso quando ambas as flores aromatizadas são oferecidas simultaneamente (Koltermann, 1974).

Caso este comportamento, ligado à memória de aprendizado, ocorra também entre as abelhas envolvidas no sistema estudado, a restrição das abelhas às flores de *P. pentagona* seria uma consequência do fato de detectarem a flor desta espécie antes de receberem o mesmo estímulo proveniente de *V. neoglutinosa*. Como os quatro grupos de voláteis que participaram da chegada de abelhas ocorrem ao longo de toda a duração das flores de *V. neoglutinosa*, não haveria outro motivo para que abelhas não as localizassem (Fig. 4.4.1A-B).

Além dos voláteis, as temperaturas do ar e as concentrações do néctar mais altas contribuíram para a polarização entre a atividade diária de beija-flores e abelhas (Fig. 4.5.1A, 4.5.2A). A relação da temperatura do ar foi maior com *E. cordata* que nas demais abelhas, todas de grande porte, e pode ser reflexo de uma necessidade energética, intrínseca à termorregulação das abelhas (Roubik, 1989).

O padrão diário de visitas das abelhas de grande porte às flores de *P. pentagona* esteve ligado a concentrações de néctar mais altas. Esta resposta reflete uma limitação metabólica deste grupo de abelhas para lidar com a água exógena (Bertsch, 1984; Roubik, 1989). Em *Xylocopa capitata*, por exemplo, ocorre intensa produção de água metabólica devido às altas taxas respiratórias durante o voo. O equilíbrio hidro-eletrolítico nesta espécie depende não só da excreção da água endógena, mas também de uma reabsorção de íons, paralela à eliminação de água (Nicolson, 1990). Este balanço entre a água endógena e a exógena é muito importante para abelhas, pois *Xylocopa mordax* utiliza movimentos bruscos da língua para concentrar gotas de néctar de 49% para 62% antes de tomá-las como alimento (Corbet & Willmer, 1980).

A atividade diária dos beija-flores foi associada aos aldeídos e aos álcoois alifáticos de cadeia longa (Fig. 4.5.1A, 3.5.2A), apesar de sua chegada às flores não ser dependente destas substâncias. Os álcoois alifáticos apresentaram, contudo, uma relação significativa com as presenças consecutivas dos beija-flores (Tab. 4.7, 4.9). O consenso atual entre ornitólogos, entretanto, é de que os pássaros apresentam uma percepção olfativa fraca (Harriman & Berger, 1986). Apesar disto, tem sido demonstrado que existe em aves uma percepção de sinais químicos que participam da localização (Harriman & Berger, 1986) e da seleção (Jakubas & Mason, 1991) de alimentos, da habituação à localização de domicílios (Ioale *et al.*, 1990) ou mesmo de interações entre presas e predadores (Mason *et al.*, 1991), sendo a quimiorrecepção dos sinais realizada pelo nervo trigêmeo (Jakubas & Mason, 1991).

Através de alguns experimentos comportamentais, realizados numa população silvestre de beija-flores, Goldsmith & Goldsmith (1982) demonstraram que *Archilochus alexandri* apresenta um sistema olfativo funcional, sendo capaz de habituar-se a sinais voláteis e associá-los, principalmente, a condições insatisfatórias do néctar. Os referidos autores salientaram ainda a necessidade de uma investigação mais extensa, incluindo uma variedade maior de substâncias químicas, e até mesmo experimentos eletrofisiológicos para estabelecer uma idéia mais conclusiva sobre o assunto. Se for comprovada alguma resposta de troquilídeos a compostos voláteis, é possível que ocorra com um mecanismo de habituação, participando, eventualmente, do refinamento de sua atividade diária de forrageio.

Finalmente, nestas três espécies estudadas, os sinais voláteis foram importantes na chegada dos visitantes e na definição de padrões diários de visitação. A segregação dos visitantes entre as plantas, entretanto, levou em conta também, um fator comportamental relativo ao período do dia de detecção dos sinais químicos e o aprendizado associativo deste sinal ao néctar como recurso. As características do néctar não levaram à localização das flores pelos animais, mas contribuíram para estabelecer a duração do período em que permaneceram forrageando.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrahamson, W.G (ed). (1989). *Plant-animal interactions*. MacGraw-Hill, New York.
- Adams, R.P. (1995). *Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy*. Allured Publishing, Carol Stream.
- Alcock, J. (1984). *Animal behavior: an evolutionary approach*. Sinauer Associates, Sunderland.
- ALDRICH. (1993). *Flavors and fragrances: international edition*. Aldrich Chemical Co., Wisconsin.
- Bergström, G. (1991). Chemical ecology of terpenoid and other fragrances of angiosperm flowers. In: *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids* (eds. J.B. Harborne & F.A. Tommas-Barberan), pp. 287-296. Clarendon Press, Oxford.
- Bertsch, A. (1984). Foraging in male bumblebees (*Bombus lucorum* L.): maximizing energy or minimizing water load? *Oecologia*, **62**, 325-336.
- Buchmman, S.L. (1987). The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 342-370.
- Corbet, S.A. & Willmer, P.G. (1980). Pollination of the yellow passion-fruit: pollen and carpenter bees. *Journal of Agricultural Science*, **95**, 655-656
- Coville, R.E., Frankie, G.W., Buchmman, S.L., Vinson, S.B. & Williams, H.J. (1986). Nesting and male behavior of *Centris heithausi* in Costa Rica with chemical analysis of the hindleg gland of males. *Journal of Kansas Entomological Society*, **59**, 325-336.
- Dressler, R.L. (1982). Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annual Review of Ecology and Systematics*, **13**, 373-394.
- Dukas, R. & Real, L.A. (1993). Cognition in bees: from stimulus reception to behavioral changes. In: *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives* (eds. D.R. Papaj & A.C. Lewis), pp. 343-373. Chapman & Hall, London.
- Duffield, R.N., Wheeler, J.W. & Eickwort, G.C. (1984). Sociochemicals of bees. In: *Chemical ecology of insects* (eds. W.J. Bell & R.T. Cardé), pp.387-428. Chapman & Hall, London.
- Dusenbery, D. (1992). *Sensory ecology: how organisms acquire and respond to information*. W.H.Freeman, New York.
- Eickwort, G.C. & Ginsberg, H.S. (1980). Foraging and mating behaviour in Apoidea. *Annual Review of Entomology*, **25**, 421-446.
- Faegri, K & van der Pijl, L. (1979). *Principles of pollination ecology*. 3 ed. Pergamon Press, Oxford.
- Frankie, G.W., Vinson, S.B. & Coville, R.E. (1980). Territorial behavior of *Centris adani* and its reproductive function in the Costa rican dry forest (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Kansas Entomological Society*, **53**, 837-857.
- Gerling, D., Velthius, H.H.W. & Hefetz, A. (1989). Bionomics of the large carpenter bees of the genus *Xylocopa*. *Annual Review of Entomology*, **34**, 163-190.

- Goldsmith, K.M. & Goldsmith, T.H. (1982). Sense of smell in the black-chinned hummingbird. *Condor*, **84**, 237-238.
- Harborne, J.B. (1993). *Introduction to ecological biochemistry*. 4.ed. Academic Press, London.
- Harriman, A.E. & Berger, R.H. (1986). Olfactory acuity in the common raven (*Corvus corax*). *Physiology & Behavior*, **36**, 257-262.
- Hosmer, D.W. & Lemeshow, S. (1989). *Applied logistic regression*. John Wiley, New York.
- Ioale, P., Nozzolini, M. & Papi, F. (1990). Homing pigeons do extract directional information from olfactory stimuli. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **26**, 301-306.
- Jakubas, W.J. & Mason, J.R. (1991). Role of avian trigeminal sensory system in detecting conferyl benzoate, a plant allelochemical. *Journal of Chemical Ecology*, **17**, 2213-2221.
- Koltermann, R. (1974). Periodicity in the activity and learning performance of the honey bee. In: *Experimental analysis of insect behavior* (ed. L. B. Browne). pp. 218-227. Springer-Verlag, Berlin.
- Mason, J.R., Clark, L. & Shah, P.S. (1991). O-aminoacetophenone repellency to birds: similarities to methyl anthranilate. *Journal of Wildlife Management*, **55**, 334-340.
- 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.
- Roubik, D.W. (1989). *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge University Press, New York.
- Silva, A. G. da. (1996). Osmóforos: uma retrospectiva dos últimos 20 anos de pesquisa. *Rodriguesia*, **42/44**, 7-20.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995). *Biometry*. 3 ed. W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- Swokowski, E.W. (1983). Aplicações da derivada. In: *Cálculo, com geometria analítica*. 2 ed. v. 1, po. 135-218. McGraw-Hill, Rio de Janeiro.
- ter Braak, C.J.F. (1987). Ordination. In: *Data analysis in community and landscape ecology* (eds. R.H.G. Jongman, C.J.F. ter Braak and O.F.R. van Tongeren), pp. 91-173. Pudoc, Wageningen.
- ter Braak, C.J.F. (1988). CANOCO - a FORTRAN program for canonical community ordination by [partial] [detrended] [canonical] correspondence analysis, principal component analysis and redundancy analysis (version 2.1). Technical report. Microcomputer Power, Ithaca.
- ter Braak, C.J.F. (1990). *Update notes, CANOCO version 3.10*. Microcomputer Power, Ithaca.
- ter Braak, C.J.F. & Verdonschot, P.F.M. (1995). Canonical correspondence analysis and related methods in aquatic ecology. *Aquatic Sciences*, **57**, 153-187.

- ter Braak, C.J.F. & Wiertz, J. (1994). On the statistical analysis of vegetation change: a wetland affected by water extraction and soil acidification. *Journal of Vegetation Science*, **5**, 361-372.
- Van der Dool, H. & Kratz, P.D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, **11**, 463-471.
- Vinson, S.B., Williams, H.J., Frankie, G.W., Wheeler, J.W., Blum, M.S. & Coville, R.E. (1982). Mandibular glands of male *Centris adani* (Hymenoptera: Anthophoridae): their morphology, chemical constituents, and function in scent marking and territorial behavior. *Journal of Chemical Ecology*, **8**, 319-327.
- Vinson, S.B., Williams, H.J., Frankie, G.W. & Shrum, G. (1997). Floral lipid chemistry of *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) and a use of floral lipids by *Centris* bees (Hymenoptera:Apoidea). *Biotropica*, **29**, 76-83.
- Vogel, S. (1983). Ecophysiology of zoophilic pollination. In: *Encyclopedia of plant physiology*, New Series, V.12c, Physiological plant ecology III (eds. O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler), pp. 559-624. Springer-Verlag, Berlin.
- Waser, N.M. (1983). The adaptive nature of floral traits: ideas and evidence. In: *Pollination biology* (ed. L. Real), pp. 242-285. Academic Press, Orlando.
- Waser, N.M., Chittka, L., Price, M.V., Williams, N.M. & Ollerton, J. (1996). Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, **77**, 1043-1060.
- Whitten, W.M., Young, A.M. & Stern, D.L. (1993). Nonfloral sources of chemicals that attract male euglossine bees (Apidae:Euglossini). *Journal of Chemical Ecology*, **19**, 3017-3027.
- Williams, N.H. & Whitten, W.M. (1983). Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. *Biological Bulletin*, **164**, 355-395.
- Zar, J.H. (1996). *Biostatistical analysis*. 3 ed. Prentice Hall, New Jersey.

Tabela 4.1. Padrões horários de chegada de visitantes às flores de *Vriesea neoglutinosa* (V), *Passiflora pentagona* (P) e *Melocactus violaceus* (M).

AMOSTRA	Xybr	Xyfr	Xyor	Cean	Celo	Celu	Epfl	Epru	Eini	Euci	Euse	Eusu	Euco	Amfi	Pogu
V06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
V07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	1
V08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
V09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
V10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
V11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
V12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
V13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
V14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
V15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
V16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0
V17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P08	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
P09	0.001	1	0.001	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
P10	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0	1	1	1	1	1	1	0.001	0.001
P11	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	1	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0	0
P12	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0	0.001	0.001	1	1
P13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0	0
P14	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0
P15	0	0.001	0.001	0	0	0	0.001	0.001	0.001	0	0	0	0	1	1
P16	0	0.001	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
P17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
P18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
M15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
M16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.001
M17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0.001
M18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.001	0

Legenda: AMOSTRA 06-18: hora do dia; Xybr: *Xylocopa brasilianorum*; Xyfr: *X. frontalis*; Xyor: *X. ordinalis*; Cean: *Centris analis*; Celo: *C. longimana*; Celu: *C. lutea*; Epfl: *Epicharis flava*; Epru: *E. rustica*; Eini: *Eulaema nigrita*; Euci: *E. cingulata*; Euse: *E. seabrae*; Eusu: *Euplusia surinamensis*; Euco: *Euglossa cordata*; Amfi: *Amazilia fimbriata*; Pog: *Polytmus guainumbi*; 0: sem aproximação; 0,001: presença consecutiva a visita; 1: presença após pelo menos uma ausência.

Tabela 4.2. Padrões horários de visitação às flores de *Vriesea neoglutinosa* (V), *Passiflora pentagona* (P) e *Melocactus violaceus* (M).

AMOSTRA	Xybr	Xyfr	Xyor	Cean	Celo	Epfl	Epru	Eini	Euci	Euse	Eusu	Euco	Amfi	Pogu
V06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0
V07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V09	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
V16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
V17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P08	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
P09	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1
P10	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.5	0.5
P11	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
P12	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0.5	0.5
P13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
P14	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0
P15	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1
P16	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
P17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
P18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
M15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
M16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
M17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
M18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Legenda: AMOSTRA 06-18: hora do dia; Xybr: *Xylocopa brasiliannorum*; Xyfr: *X. frontalis*; Xyor: *X. ordinaria*; Cean: *Centris analis*; Celo: *C. longimana*; Celu: *C. lutea*; Epfl: *Epicharis flava*; Epru: *E. rustica*; Eini: *Eulaema nigrita*; Euci: *E. cingulate*; Euse: *E. seabrae*; Eusu: *Euplusia surinamensis*; Euco: *Euglossa cordata*; Amfi: *Amazilia fimbriata*; Pog: *Polytmus guainumbi*; 0: ausente; 0,5: inspeção sem visita; 1: visita.

Tabela 4.3. Substâncias isoladas do extrato em diclorometano das flores de *Vriesea neoglutinosa*, *Passiflora pentagona* e *Melocactus violaceus*.

SUBSTÂNCIA	ÍNDICE DE RETENÇÃO	PROCESSO DE IDENTIFICAÇÃO	<i>Vriesea neoglutinosa</i>	<i>Passiflora pentagona</i>	<i>Melocactus violaceus</i>
Álcoois Aromáticos e Fenilpropanóides					
álcool benzílico	1031	EM, IR	0	1	0
álcool feniletílico	1112	EM, IR	0	1	0
eugenol	1356	EM, IR	0	1	0
Fenóis					
m-cresol	1078	EM, IR	1	0	0
Ácidos Alifáticos de Cadeia Média					
ácido hexanóico	923	EM	1	0	0
ácido heptanóico	1086	EM	1	0	0
ácido decanóico	1380	EM	1	0	0
ácido duodecanóico	1571	EM	1	0	0
Ácidos Alifáticos de Cadeia Longa					
ácido hexadecanóico	1942	EM	1	1	0
ácido 8-heptadecenóico	2139	EM	0	1	0
ácido octadecanóico	2167	EM	1	1	0
Aldeídos Alifáticos de Cadeia Média					
nonanal	1103	EM, IR	1	0	0
decanal	1204	EM, IR	1	0	0
2,4-decadienal	1314	EM, IR	1	0	0
Aldeídos Alifáticos de Cadeia Longa					
9,17-octadecadienal	2148	EM	1	1	0
Aldeídos e Cetonas Aromáticos					
benzenacetaldéido	1039	EM, IR	0	1	0
acetofenona	1065	EM, IR	0	1	0
4-hidroxibenzaldéido	1370	EM	1	0	0
seringaldéido	1657	EM, IR	1	0	0

Legenda: EM: Espectro de massas comparado ao da biblioteca espectral Wiley & Sons, IR: Índice de retenção comparado à bibliografia (Adams, 1995).

Tabela 4.3. Substâncias isoladas do extrato em diclorometano das flores de *Vriesea neoglutinosa*, *Passiflora pentagona* e *Melocactus violaceus*. cont.

SUBSTÂNCIA	ÍNDICE DE RETENÇÃO	PROCESSO DE IDENTIFICAÇÃO	<i>Vriesea neoglutinosa</i>	<i>Passiflora pentagona</i>	<i>Melocactus violaceus</i>
Aldeídos e Cetonas Monoterpênicos					
SNI	1347		1	0	0
Aldeídos e Cetonas Sesquiterpênicos					
SNI	1836		1	0	0
Ésteres de Ácidos Alifáticos					
isobutirato de pentila	1058	EM, IR	0	1	0
decanoato de metila	1327	EM, IR	1	0	1
hexanodiato de bis(2-metil-propila)	1684	EM	0	1	0
9-hexadecenoato de etila	1973	EM	0	1	0
hexadecanoato de etila	1994	EM, IR	0	1	0
9,12-octadecadienoato de metila	2094	EM, IR	0	1	0
octadecanoato de etila	2194	EM, IR	0	1	0
Ésteres de Ácidos Aromáticos					
SNI	1177		1	0	0
SNI	1826		1	0	0
SNI	2035		1	0	0
SNI	2164		1	0	0
Ésteres com Alcoóis Monoterpênicos					
acetato de mentila	1295	EM, IR	0	0	1
butirato de geranila	1563	EM, IR	1	0	0
Ésteres com Alcoóis Sesquiterpênicos					
SNI	1840		0	0	1
Lactonas de Cadeia Longa					
SNI	1928		1	0	0
SNI	1938		1	0	0
SNI	1946		1	0	0

Legenda: EM: Espectro de massas comparado aos da biblioteca espectral Wiley & Sons, IR: Índice de retenção comparado à bibliografia (Adams, 1995).

Tabela 4.3. Substâncias isoladas do extrato em diclorometano das flores de *Vriesea neoglutinosa*, *Passiflora pentagona* e *Melocactus violaceus*. cont.

SUBSTÂNCIA	ÍNDICE DE RETENÇÃO	PROCESSO DE IDENTIFICAÇÃO	<i>Vriesea neoglutinosa</i>	<i>Passiflora pentagona</i>	<i>Melocactus violaceus</i>
Álcoois Alifáticos de Cadeia Média					
ciclohexanol	966	EM	1	0	0
SNI	1306		1	0	0
Álcoois Alifáticos de Cadeia Longa					
hexadecanol	1879	EM, IR	1	1	0
heptadecanol	1995	EM	1	0	0
octadecanol	2084	EM, IR	1	0	0
Álcoois Sesquiterpênicos					
Trans-nerolidol	1564	EM, IR	0	1	0
Álcool cariofileno	1572	EM, IR	0	1	0
SNI	1647		1	0	0
SNI	1754		1	0	0
SNI	1787		1	0	0
Álcoois Diterpênicos					
SNI	2108		1	0	0
SNI	2115		0	1	0
SNI	2294		0	1	0
SNI	2322		0	1	0
SNI	2463		0	0	1
SNI	2482		0	1	0
Hidrocarbonetos Sesquiterpênicos					
SNI	1497		0	0	1
SNI	1529		0	0	1
SNI	1553		1	0	0
Epóxidos Sesquiterpênicos					
SNI	2286		1	0	0

Legenda: EM: Espectro de massas comparado aos da biblioteca espectral Wiley & Sons, IR: Índice de retenção de comparado com bibliografia (Adams, 1995).

Tabela 4.3. Substâncias isoladas do extrato em diclorometano das flores de *Vriesea neoglutinosa*, *Passiflora pentagona* e *Melocactus violaceus*. cont.

SUBSTÂNCIA	ÍNDICE DE RETENÇÃO	PROCESSO DE IDENTIFICAÇÃO	<i>Vriesea neoglutinosa</i>	<i>Passiflora pentagona</i>	<i>Melocactus violaceus</i>
Hidrocarbonetos Diterpênicos					
sandaropimaradieno	1962	EM, IR	1	0	0
SNI	1986		1	0	0
SNI	2064		1	0	0
SNI	2075		1	0	0
Alcanos e Alcenos Alifáticos de Cadeia Média					
2-metildecano	1290	EM	0	0	1
trideceno	1292	EM	1	0	0
tridecano	1300	EM, IR	1	0	0
1-undeceno	1466	EM	1	0	0
Alcanos e Alcenos Alifáticos de Cadeia Longa					
SNI	1665		1	0	0
heptadeceno	1678	EM	1	0	0
SNI	1710		1	0	0
SNI	1809		1	0	0
SNI	1855		1	0	0
1-octadeceno	1860	EM	1	0	0
nonadecano	1900	EM, IR	1	0	0
icosano	2000	EM, IR	1	0	0
SNI	2009		1	0	0
hentecosano	2100	EM, IR	1	1	0
doicosano	2200	EM, IR	1	0	0
2-metil-nonadecano	2262	EM	1	0	0
tricoseno	2270	EM	1	0	0
tricosano	2300	EM, IR	1	1	1
tetracosano	2400	EM, IR	1	1	1
SNI	2470		1	0	0

Legenda: EM: Espectro de massas comparado aos biblioteca espectral Wiley & Sons, IR: Índice de retenção comparado à bibliografia (Adams, 1995).

Tabela 4.3. Substâncias isoladas do extrato em diclorometano das flores de *Vriesea neoglutinosa*, *Passiflora pentagona* e *Melocactus violaceus*. cont.

SUBSTÂNCIA	ÍNDICE DE RETENÇÃO	PROCESSO DE IDENTIFICAÇÃO	<i>Vriesea neoglutinosa</i>	<i>Passiflora pentagona</i>	<i>Melocactus violaceus</i>
Alcanos e Alcenos Alifáticos de Cadeia Longa cont.					
pentacoseno	2487	EM	1	0	0
pentacosano	2500	EM, IR	1	1	1
hexacosano	2600	EM, IR	1	1	0
SNI	2635		1	0	0
hexacoseno	2675	EM	1	1	0
heptacoseno	2687	EM	1	0	0
heptacosano	2700	EM, IR	1	1	1
octacosano	2800	EM, IR	1	1	0
SNI	2887		1	0	0
nonacosano	2900	EM, IR	1	1	1
triacontano	3000	EM, IR	1	0	0

Legenda: EM: Espectro de massas comparado aos da biblioteca espectral Wiley & Sons, IR: Índice de retenção comparado à bibliografia (Adams, 1995).

Tabela 4.4. Percentagens (%) dos grupos de compostos voláteis, das características do néctar e da temperatura do ar (°C) como variáveis ambientais para os visitantes de *Vriesea neoglutinosa* (V), *Passiflora pentagona* (P) e *Melocactus violaceus* (M).

AMOSTRA	A(%)	B(%)	C(%)	D(%)	E(%)	F(%)	G(%)	H(%)	I(%)	J(%)	K(%)	TEM	MAS	MEP	CON	CEP	TAX
V06	0.00	0.23	2.10	0.08	0.10	0.00	0.34	0.46	0.00	0.06	89.87	16.1	1.09	0.06	0.44	0.02	0.30
V07	0.00	0.00	4.58	0.15	0.08	0.00	1.51	0.39	0.00	0.00	84.02	19.3	1.22	0.10	0.46	0.02	0.28
V08	0.00	5.98	12.36	0.15	0.07	0.00	2.15	0.39	0.08	0.00	70.05	24.2	1.22	0.04	0.44	0.02	0.26
V09	0.00	0.26	3.92	0.09	0.00	0.00	1.96	0.79	0.09	0.04	81.70	21.6	1.42	0.17	0.35	0.04	0.24
V10	0.00	14.01	13.92	0.19	0.00	0.00	3.13	0.70	0.34	0.07	63.70	22.9	1.52	0.15	0.36	0.03	0.22
V11	0.00	4.30	8.19	0.14	0.00	0.00	1.30	0.47	0.19	0.03	48.21	26.8	1.57	0.13	0.40	0.03	0.20
V12	0.00	6.87	10.33	0.17	0.00	0.00	0.08	0.81	0.11	0.03	59.03	30.1	1.31	0.09	0.40	0.03	0.18
V13	0.00	9.74	13.83	0.00	0.00	0.00	2.60	0.48	0.25	0.20	49.52	26.8	1.46	0.11	0.46	0.02	0.16
V14	0.00	15.90	20.35	0.06	0.00	0.00	0.86	1.13	0.22	0.00	51.34	26.4	1.59	0.10	0.50	0.04	0.14
V15	0.00	9.04	19.27	0.13	0.16	0.00	2.88	0.95	0.00	0.00	52.05	27.4	1.07	0.25	0.44	0.02	0.13
V16	0.00	0.51	10.05	1.20	0.00	0.00	1.71	2.01	0.00	0.00	53.19	23.1	1.50	0.10	0.35	0.04	0.11
V17	0.00	12.08	6.19	0.24	0.00	0.00	3.02	1.39	0.13	0.00	52.70	23.5	1.46	0.10	0.36	0.03	0.09
P07	2.34	1.03	0.00	0.41	33.78	0.00	0.00	1.18	0.57	0.00	60.94	23.2	1.44	0.10	0.57	0.05	0.06
P08	1.79	0.79	0.00	0.21	6.82	0.00	0.00	0.56	8.78	0.00	81.25	23.7	1.52	0.13	0.54	0.06	0.06
P09	2.75	1.64	2.03	0.14	9.87	0.00	1.14	0.70	9.75	0.00	72.74	25.7	1.52	0.07	0.60	0.07	0.06
P10	3.29	2.20	2.06	0.24	13.61	0.00	0.00	0.47	7.26	0.00	73.41	28.2	1.66	0.07	0.52	0.08	0.06
P11	26.35	6.17	0.00	0.22	11.66	0.00	0.00	0.35	1.03	0.00	52.55	29.7	1.80	0.06	0.62	0.03	0.06
P12	30.70	9.00	0.15	0.25	13.26	0.00	0.00	0.53	1.27	0.00	43.04	30.2	1.66	0.15	0.59	0.02	0.06
P13	12.64	5.82	2.97	0.00	4.94	0.00	0.00	0.00	0.90	0.00	75.42	29.4	1.98	0.07	0.57	0.05	0.06
P14	8.44	4.86	2.59	0.00	7.02	0.00	0.00	0.54	0.80	0.00	80.00	27.7	1.92	0.11	0.60	0.05	0.06
P15	7.28	4.27	0.00	0.00	3.12	0.00	0.00	0.00	3.53	0.00	80.97	29.8	2.01	0.05	0.64	0.04	0.06
P16	14.92	6.85	0.00	0.00	4.33	0.00	0.00	0.00	0.73	0.00	70.18	28.5	1.90	0.08	0.67	0.03	0.06
P17	12.25	7.92	0.00	0.00	4.14	0.00	0.00	0.00	0.88	0.00	73.65	26.7	2.13	0.06	0.64	0.04	0.06
P18	18.08	12.07	0.00	0.00	5.16	0.00	0.00	0.00	0.66	0.00	64.04	24.0	2.06	0.09	0.55	0.02	0.06
M15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.49	0.00	0.00	13.61	3.55	77.34	27.4	0.45	0.08	0.62	0.06	0.45
M16	0.00	0.00	0.00	0.00	4.12	2.05	0.00	0.00	13.21	4.67	75.14	23.2	0.75	0.07	0.62	0.03	0.38
M17	0.00	0.00	0.00	0.00	6.16	2.76	0.00	0.00	12.82	11.00	65.99	23.4	1.11	0.04	0.60	0.02	0.32
M18	0.00	0.00	0.00	0.00	7.08	1.60	0.00	0.00	12.10	6.03	71.76	22.5	1.03	0.04	0.60	0.01	0.26

Legenda: AMOSTRA 06-18: hora do dia; A: álcoois aromáticos e fenilpropanóides; B: ácidos alifáticos de cadeia longa; C: álcoois alifáticos de cadeia longa; D: aldeídos e cetonas aromáticos; E: ésteres de ácidos alifáticos; F: ésteres com álcoois sesquiterpênicos; G: álcoois alifáticos de cadeia longa; H: álcoois sesquiterpênicos; I: álcoois diterpênicos; J: hidrocarbonetos sesquiterpênicos; K: alcanos e alcenos de cadeia longa; TEM: temperatura média (°C); MAS: log(massa média acumulada de néctar); MEP: log(erro padrão da massa acumulada de néctar); CON: arco-seno médio da concentração do néctar; CEP: erro padrão do arco-seno médio da concentração; TAX: log(taxa instantânea de produção de massa de néctar).

Tabela 4.5. Análise de Correspondência Canônica (CCA) das variáveis ambientais relativas aos grupos de compostos do extrato em diclorometano, às características do néctar e à temperatura do ar que apresentaram importância condicional para uma relação significativa entre os padrões horários de chegada dos visitantes às flores de *Vriesea neoglutinosa*, *Passiflora pentagona* e *Melocactus violaceus*.

Variáveis Ambientais	p	F	Inércia
Ésteres de Ácidos Alifáticos	0.01	6.42	0.64
Álcoois Alifáticos de Cadeia Longa	0.01	6.42	0.52
Álcoois Aromáticos e Fenilpropanóides	0.01	5.39	0.37
Aldeídos Alifáticos de Cadeia Longa	0.01	5.46	0.31
Inércia			
Total			3.03
Σ Autovalores Canônicos			1.84
Teste de Monte Carlo (399 permutações)			
Traço da Matriz	$p < 0.01$	8.10	
1° Eixo Canônico	$p < 0.01$	7.94	
Parâmetros da Correspondência Canônica	Eixos Canônicos		
	1°	2°	3°
Autovalor	0.830	0.581	0.348
Correlação entre espécies/variáveis ambientais	0.973	0.908	0.810
Variância (%) acumulada para:			
matriz de espécies	27.4	46.6	60.7
relação espécies/variáveis ambientais	45.2	76.8	98.8

Tabela 4.6. Análise de Correspondência Canônica (CCA) das variáveis ambientais relativas aos grupos de compostos do extrato em diclorometano, às características do néctar e à temperatura que tiveram contribuição suficiente para explicar significativamente os padrões horários de visitação às flores de *Vriesea neoglutinosa*, *Passiflora pentagona* e *Melocactus violaceus*.

Variáveis Ambientais	p	F	Inércia
Ésteres de Ácidos Alifáticos	0.01	13.97	0.53
Temperatura do Ar	0.01	3.20	0.11
Álcoois Sesquiterpênicos	0.10	1.81	0.06
Alcanos e Alcenos de Cadeia Longa	0.08	2.13	0.07
Erro Padrão da Média da Concentração do Néctar	0.05	2.75	0.08
Média da Concentração do Néctar	0.13	1.57	0.05
Erro Padrão da Média da Massa Acumulada de Néctar	0.21	1.15	0.03
Álcoois Alifáticos de Cadeia Longa	0.45	0.92	0.03
Aldeídos Alifáticos de Cadeia Longa	0.43	0.91	0.05
Álcoois Aromáticos e Fenilpropanóides	0.34	1.13	0.03
Ácidos Alifáticos de Cadeia Longa	0.06	2.19	0.06
Inércia			
Total			1.43
Σ Autovalores Canônicos			1.07
Teste de Monte Carlo			
Traço da Matriz	$p < 0.01$	3.69	
1° Eixo Canônico	$p < 0.01$	13.05	
Parâmetros da Correspondência Canônica	Eixos Canônicos		
	1°	2°	3°
Autovalor	0.696	0.149	0.115
Correlação entre espécies/variáveis ambientais	0.970	0.823	0.886
Variância (%) acumulada para:			
matriz de espécies	48.2	58.5	66.5
relação espécies/variáveis ambientais	64.9	78.8	89.5

Tabela 4.7. Turnos e número de flores visitadas por beija-flores e as proporções de aldeídos e de álcoois alifáticos de cadeia longa em *Vriesea neoglutinosa* (V), *Passiflora pentagona* (P) e *Melocactus violaceus* (M).

AMOSTRA	PRESENÇA	TURNO (N)	VISITAS (N)		FLORES (N)	ALDEÍDO logit(%)	ÁLCOOL logit(%)
			SIM	NÃO			
V06	1	2	11	1	6	-3.84	-5.67
V07	1	4	23	1	6	-3.04	-4.18
V08	1	4	23	1	6	-1.96	-3.82
V09	1	5	21	9	6	-3.20	-3.91
V10	1	3	14	4	6	-2.16	-7.09
V11	1	3	13	5	6	-1.82	-3.43
V12	1	1	6	0	6	-2.42	-4.33
V13	1	3	16	2	6	-1.83	-3.62
V14	1	4	21	3	6	-1.36	-4.75
V15	1	4	17	7	6	-1.43	-3.52
V16	1	1	2	4	6	-2.19	-4.05
V17	0	0	0	5	5	-2.72	-3.47
P07	0	0	0	5	5	-19.11	-19.11
P08	1	3	13	2	5	-19.11	-19.11
P09	1	3	11	4	5	-3.88	-4.46
P10	0	0	0	5	5	-3.86	-19.11
P11	0	0	0	5	5	-19.11	-19.11
P12	0	0	0	5	5	-6.49	-19.11
P13	0	0	0	5	5	-3.49	-19.11
P14	0	0	0	5	5	-3.63	-19.11
P15	1	3	10	5	5	-19.11	-19.11
P16	1	3	11	4	5	-19.11	-19.11
P17	1	3	13	2	5	-19.11	-19.11
P18	1	1	1	4	5	-19.11	-19.11
M15	1	9	19	35	6	-19.11	-19.11
M16	1	6	26	10	6	-19.11	-19.11
M17	1	4	9	15	6	-19.11	-19.11
M18	0	0	0	6	6	-19.11	-19.11

Tabela 4.8. Regressão logística do efeito de álcoois e de aldeídos alifáticos de cadeia longa sobre as proporções de flores visitadas pelos beija-flores a *Vriesea neoglutinosa*, *Passiflora pentagona* e *Melocactus violaceus*.

MODELOS	COEFICIENTE	DESVIO PADRÃO	Z	p	TAXA DE RISCO E LIMITES (95%)		
					TAXA	INFERIOR	SUPERIOR
Constante Álcoois G = 45.36, $p < 0.01$, gl = 1 Hosmer-Lemeshow $\chi^2 = 10.79$, $p = 0.03$, gl = 4	1.66	0.21	7.93	<0.01	1.10	1.07	1.13
	0.09	0.01	6.51	<0.01			
Constante Aldeídos G = 22.16, $p < 0.01$, gl = 1 Hosmer-Lemeshow $\chi^2 = 16.84$, $p < 0.01$, gl = 4	1.12	0.16	6.80	<0.01	1.06	1.03	1.08
	0.06	0.01	4.65	<0.01			
Constante Álcoois Aldeídos G = 42.82, $p < 0.01$, gl = 2 Hosmer-Lemeshow $\chi^2 = 42.83$, $p < 0.01$, gl = 4	2.01	0.24	8.32	<0.01	1.30 0.85	1.17 0.77	1.45 0.94
	0.26	0.06	4.71	<0.01			
	-0.16	0.05	-3.28	<0.01			

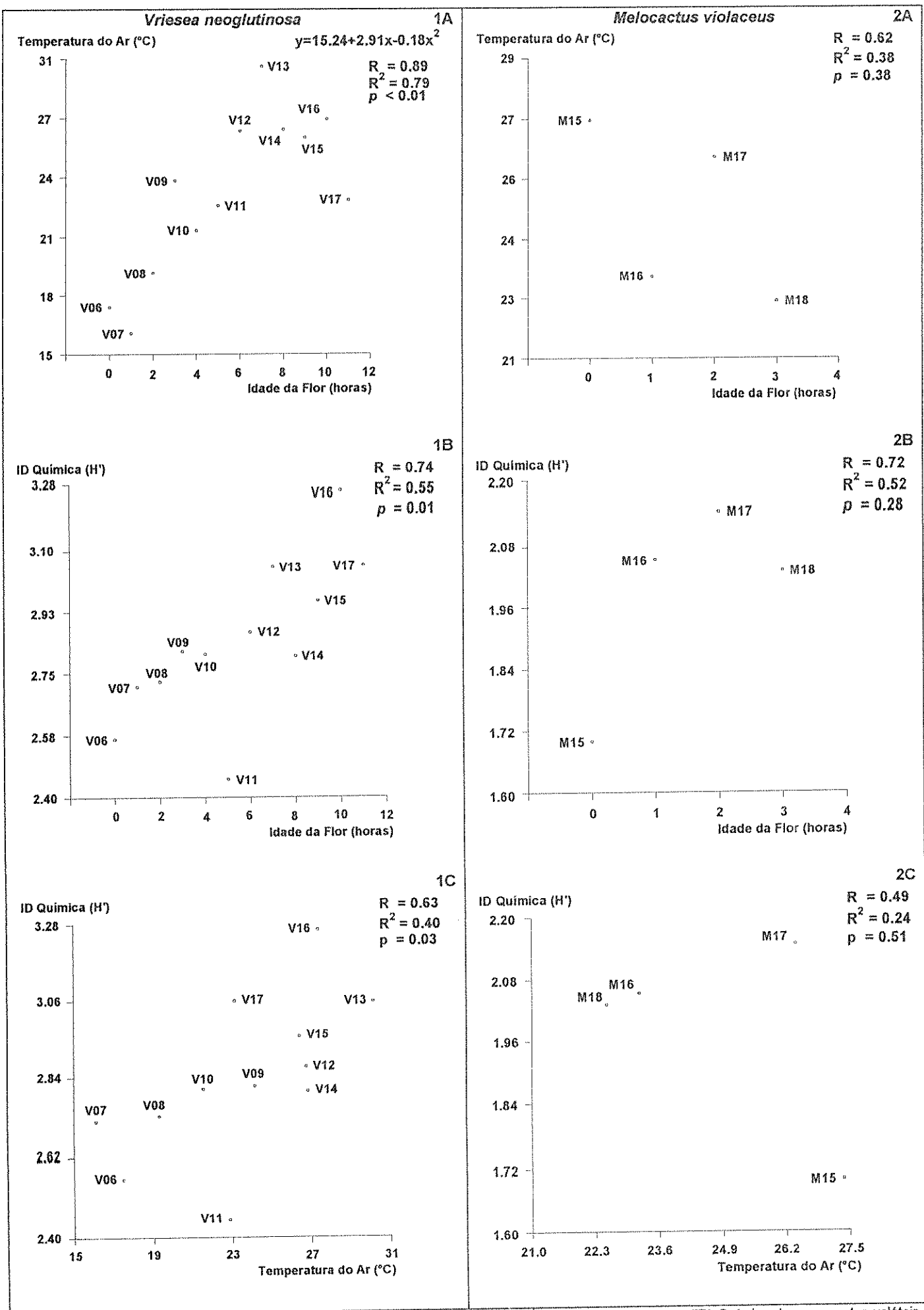


Figura 4.1. Diagramas de correlação e alguns parâmetros da regressão linear dos Índices de Diversificação (ID) Química dos compostos voláteis das amostras horárias (06-18) em relação à temperatura do ar e à idade da flor de *Vriesea neoglutinosa* (1A-C) e *Melocactus violaceus* (2A-C).

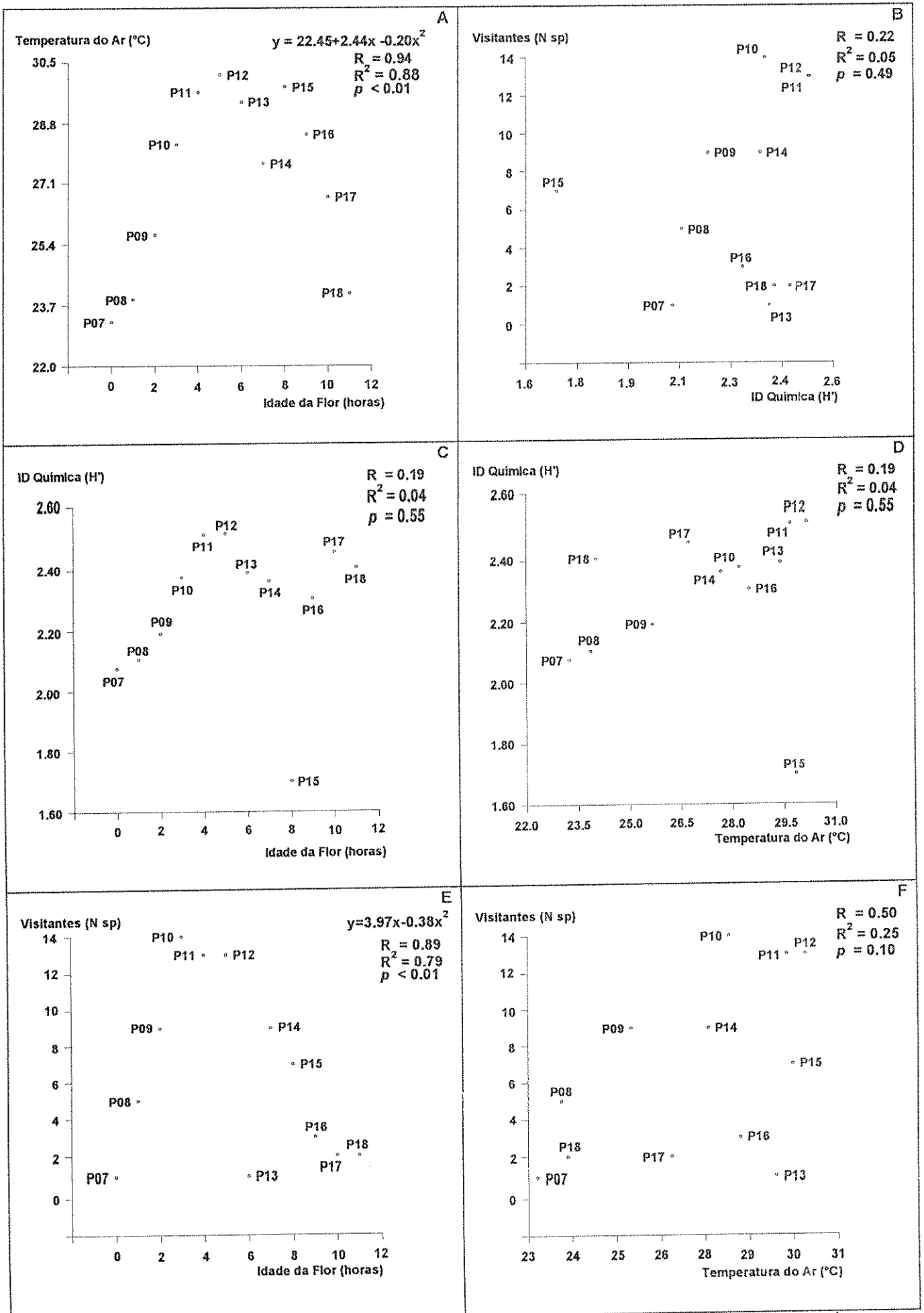


Figura 4.2. *Passiflora pentagona* (P). Diagramas de correlação e alguns parâmetros da regressão linear dos Índices de Diversificação (ID) Química dos voláteis florais e do número de diferentes espécies de visitantes florais (N sp) nos horários amostrados (06-17) em relação à temperatura do ar e à idade da flor.

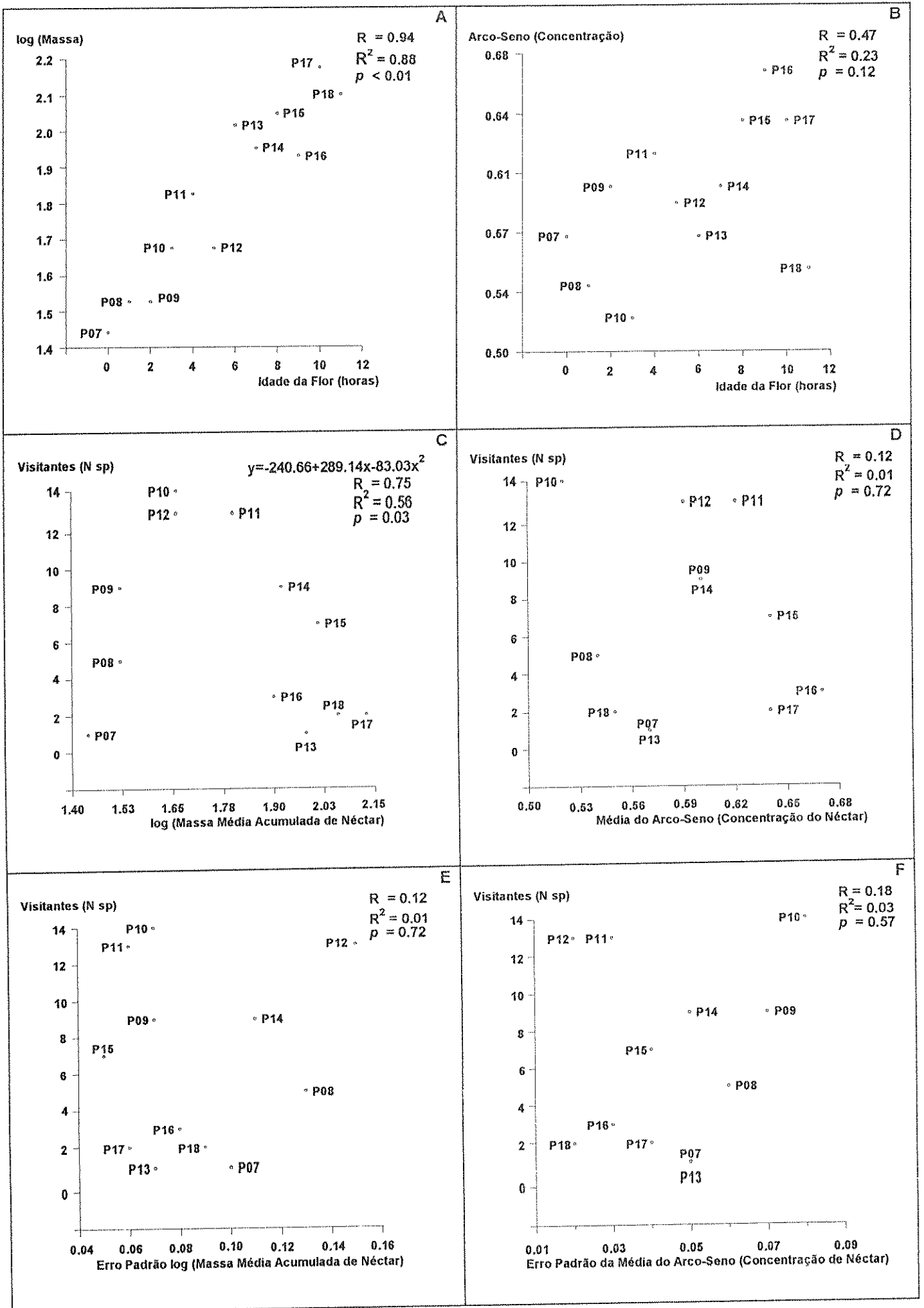


Figura 4.3. *Passiflora pentagona* (P). Diagramas de correlação e alguns parâmetros da regressão linear da massa média acumulada e da concentração de néctar em relação à idade da flor (A-B) e do número de diferentes espécies de visitantes florais (N sp) em relação à massa média acumulada e da concentração de néctar nos horários amostrados (06-17).

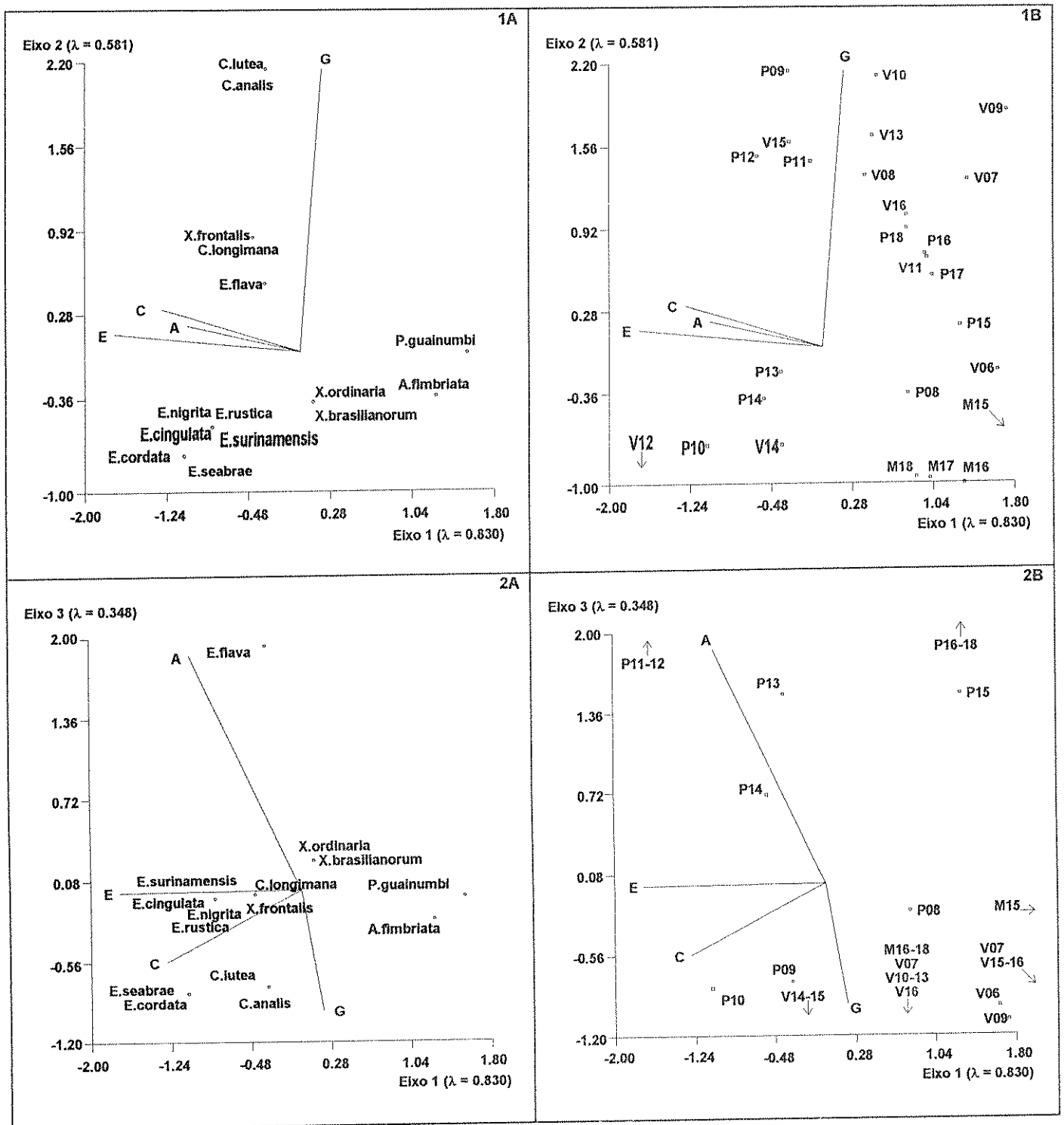


Figura 4.4. Diagramas de ordenação baseados na Análise de Correspondência Canônica (CCA) do efeito de variáveis ambientais sobre os padrões de chegada dos visitantes às flores de um sistema formado por *Vriesea neoglucanosa* (V), *Passiflora pentagona* (P) e *Melocactus violaceus* (M), evidenciando o papel de álcoois aromáticos e fenilpropanóides (A), aldeídos alifáticos de cadeia longa (C), ésteres de ácidos alifáticos (E) e álcoois alifáticos de cadeia longa (G) em relação os visitantes (1-2A) e em relação às amostras horárias (06-18) de coleta (1-2B) como combinações lineares dos vetores.

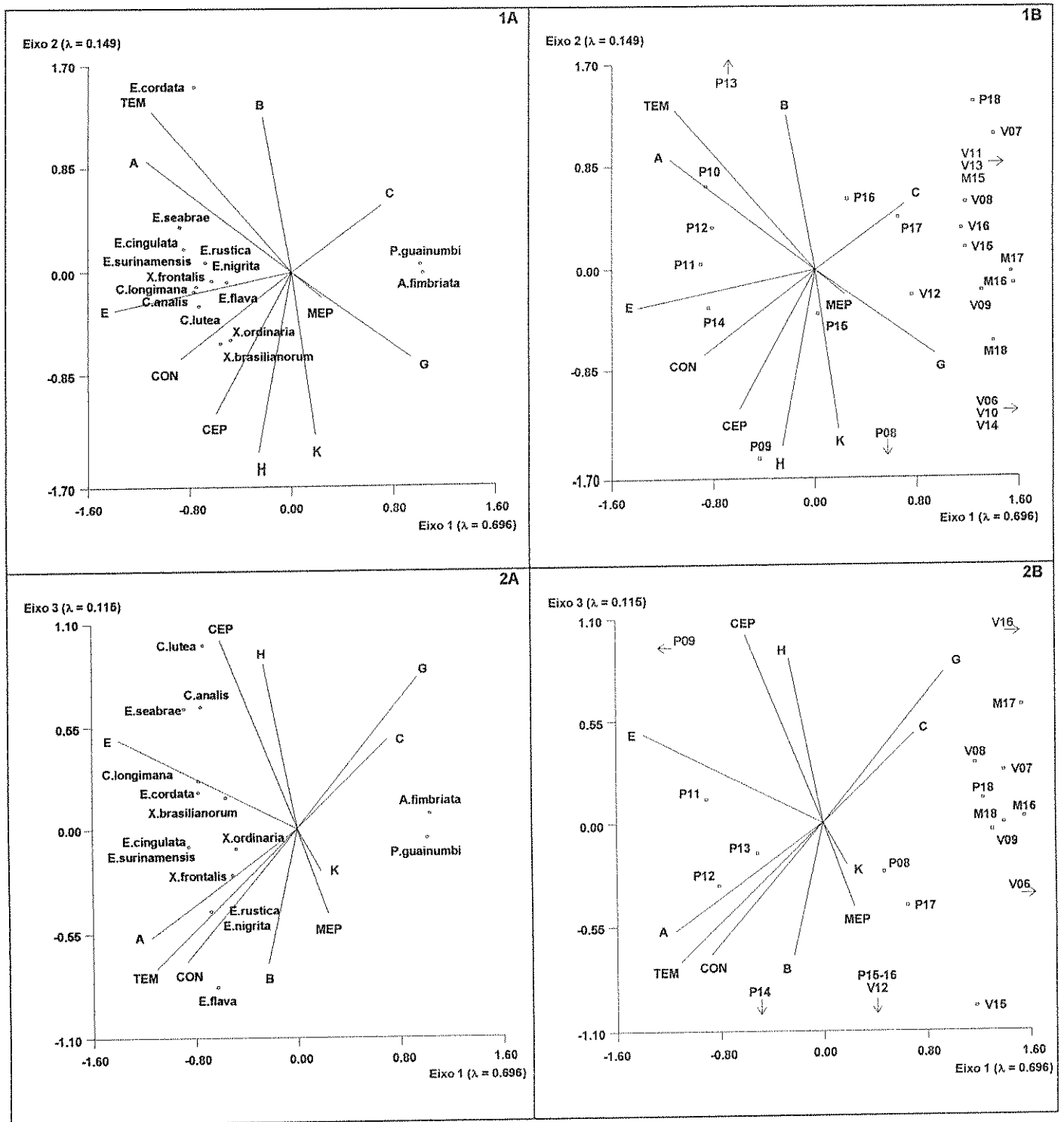


Figura 4.5. Diagramas de ordenação baseados na Análise de Correspondência Canônica (CCA) do efeito de variáveis ambientais sobre os padrões horários de visitação às flores do sistema formado por *Vriesea neoglutinosa* (V), *Passiflora pentagona* (P) e *Melocactus violaceus* (M) evidenciando o papel de álcoois aromáticos e fenilpropanóides (A), ácidos alifáticos de cadeia longa (B); aldeídos alifáticos de cadeia longa (C); ésteres de ácidos alifáticos (E); álcoois alifáticos de cadeia longa (G); álcoois sesquiterpênicos (H); alcanos e alcenos de cadeia longa (K); temperatura do ar (TEM); erro padrão da média da massa acumulada de néctar (MEP); média da concentração do néctar (CON) e erro padrão da média da concentração do néctar (CEP); em relação aos visitantes (1-2A) e em relação às amostras horárias (06-18) de coleta (1-2B) como combinações lineares dos vetores.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As cinco espécies vegetais estudadas não possuem uma relação taxonômica estreita e, além disto, a história natural e a biologia reprodutiva de cada uma delas apresenta particularidades bem distintas. Considerando, contudo, a questão central deste trabalho, qual seja, o papel que as fragrâncias e o néctar desempenham na definição de padrões horários de visitação às flores, os resultados obtidos ressaltam alguns aspectos importantes.

O néctar e as fragrâncias foram as variáveis florais observadas nas cinco espécies vegetais. Em todas as espécies estudadas a secreção de néctar e a de voláteis apresentaram uma dinâmica própria e variável com a idade da flor e, nestas condições, o poder de informação de uma única amostragem pontual teria sido bastante limitado. A distribuição dos vários pontos amostrais ao longo do tempo de duração da flor foi fundamental para uma abordagem mais adequada ao processo real de secreção e suas conseqüências para a biologia reprodutiva das plantas.

Partindo dos aspectos mais gerais, a ausência de relação entre a secreção de com a temperatura ambiente nas espécies estudadas reforça a idéia de que os respectivos processos secretores ocorrem sob refinado controle celular (Lüttge & Schnepf, 1976) intrínseco à flor (Vogel, 1983). Em conseqüência, a secreção de néctar e fragrâncias florais também não foi correlacionados aos ritmos meramente circadianos dos visitantes florais, ligados a variações da temperatura do ar.

Como este trabalho teve um delineamento observacional, ele foi limitado quanto ao estabelecimento de dependência dos padrões horários de visitação em relação ao néctar e/ou aos voláteis florais. Respostas mais conclusivas demandariam um delineamento essencialmente experimental, com controle rigoroso sobre as variáveis em teste. A aplicação da Análise de Correspondência Canônica (CCA) permitiu, contudo, ir além das avaliações meramente exploratórias (Palmer, 1993). Desta forma, foi possível não só o dimensionamento dos gradientes existentes num conjunto de dados obtidos em condições naturais que, via de regra, são bastante ruidosos, mas também explicitar o teor de variância que não foi explicadas pelas variáveis ambientais amostradas (ter Braak, 1990, Palmer, 1993).

Diante expectativa de que um incremento na atração de polinizadores favorecesse um aumento de óvulos fecundados nas flores zoófilas (Harder & Barrett, 1996), a relação entre diversificação química do número de diferentes compostos voláteis e a demanda de vetores de pólen não foi expressiva para as espécies estudadas. Houve até uma baixa similaridade do perfil de voláteis entre morfos masculinos e femininos de *B. dracunculifolia*, uma espécie que só produz sementes pela atuação dos polinizadores que são atraídos a suas flores. Nos casos estudados, o papel da sinalização floral esteve ligada mais a aspectos qualitativos, envolvendo provavelmente respostas com seletividade variável a determinados grupos voláteis.

A seleção sobre o investimento na atratividade da flor e sobre a produção de recurso floral também parece convergir para um aumento na reprodução sexuada em plantas (Cohen & Shmida, 1993). Comparando *Eriotheca candolleana* e *Passiflora pentagona*, duas espécies auto-incompatíveis, o aumento da atratividade da flor tende a trazer conseqüências bem distintas. Tanto em *E. candolleana* com em *P. pentagona*, a atratividade floral resulta da interação dos sinais florais propriamente ditos, incluindo os voláteis e os visuais, e da produção numerosa de flores. Estas duas espécies vegetais sofrem, contudo, as limitações à produção de sementes conseqüentes da geitonogamia (Mulcahy *et al.*, 1992; Klinkhamer & de Jong, 1993; Harder & Barret, 1996; Snow *et al.*, 1996). Com em *E. candolleana* a incompatibilidade é pós-zigótica, sem as barreiras gametofíticas anteriores à fecundação que favoreça o pólen exógeno, como ocorre em *P. pentagona*, o impacto da competição entre o pólen endógeno e o exógeno sobre a produção de sementes em *E. candolleana* tende a ser mais expressivo.

Klinkhamer & de Jong (1993) propuseram que a redução na atratividade floral poderia reduzir o impacto da geitonogamia sobre a produção de sementes em sistemas auto-incompátíveis, mas, efetivamente, se a atratividade floral for inferida pelo número de diferentes espécies que visitam as flores, *E. candolleana* e *P. pentagona* ainda continuam muito próximas. Características intrínsecas ao comportamento dos visitantes, tais como o grau de constância floral e erraticidade nos trajetos de rotas de forrageio (Snow *et al.*, 1996), também podem contribuir para contornar a geitonogamia e parece que *E. candolleana* se beneficia delas para garantir uma certa produção de sementes. Na verdade, a atratividade floral e a

reprodução em *E. candolleana* estão sujeitas a uma dinâmica que pode ser adequada aos processos de dinâmica de módulos em populações vegetais.

Este trabalho acompanhou a química floral e a visitação de um único pulso de abertura de flores que, por sua vez, apresentou assincronia em relação aos eventos florais intrínsecos, como a separação das pétalas, produção de néctar e diversificação de voláteis florais. Efetivamente as flores se abrem em diversos outros pulsos ao longo do dia, como se fossem coortes, cada um com dinâmica própria e, provavelmente, assincronia dos eventos florais internos. É possível que o estímulo dos visitantes a continuar buscando flores diferentes, em meio a uma disponibilidade floral tão elevada, seja uma consequência da imprevisibilidade gerada pela assincronia de eventos florais, dificultando a associação, esperada para os visitantes, entre a atratividade floral e a oferta de recurso (Cohen & Shmida, 1993; Dukas & Real, 1993). Novos estudos, centrados nos diversos pulsos diários de abertura de flores em *E. candolleana*, poderiam trazer outras informações muito importantes.

A seletividade entre flores e seus visitantes foi outra questão abordada, a distribuição de abelhas e beija-flores na visitação a três espécies vegetais sintópicas. Em princípio, a restrição de abelhas às flores de *P. pentagona*, mesmo quando ramos desta espécie praticamente encostam em *Melocactus violaceus* e em *Vriesea neoglutinosa*, não pôde ser correlacionada a uma diferenciação química. Isto não significa, entretanto, que exista efetivamente uma relação entre sinais voláteis e a seleção de visitantes. Se *Trigona spinipes*, uma abelha social nativa de ampla distribuição geográfica, for tomada como um indicador, delimita-se uma questão importante sobre os motivos pelos quais esta abelha não foi observada em *P. pentagona*. Isto porque ela está presente na mesma área que *P. pentagona*, visitando outras flores, e que, em outras regiões chega a acarretar problemas de produtividade para o cultivo de *Passiflora edulis* (Sazima & Sazima, 1989).

A busca de perfis químicos de aromas florais característicos para as síndromes de polinização continua, contudo, motivando pesquisadores (Knudsen & Tollsten, 1993; Knudsen & Tollsten, 1995). Os diferentes estudos apresentam como característica comum: uma investigação um tanto tendenciosa entre flores típicas e exclusivas da própria síndrome. Abordagens com este tipo de tendência têm produzido conclusões ecológicas interessantes mas imbutidas de um certo

equivoco, como a de deslocamento de fenologia em guilda de flores ornitófilas para evitar competição entre polinizadores (Stiles, 1977; Stiles, 1978; Murray *et al.*, 1987) quando o estudo não inclui as espécies não ornitófilas que compõem a comunidade (Murray *et al.*, 1987, Pleasants, 1990).

Cuidados no estabelecimento destes perfis químicos têm sido fortemente recomendados, principalmente quando são feitas inferências de respostas dos visitantes florais a aromas percebidos pelo homem. O olfato humano é sensorialmente muito limitado (Vogel, 1963), em relação a outros grupos de animais (Dusenbery, 1992) entre os quais estão os que visitam flores, e é mais comumente sensibilizado pelo conjunto de componentes majoritários das fragrâncias (Kaiser, 1993) que, por sua vez, estão sujeitos a convergências ecológicas (Knudsen & Tollsten, 1995).

Nem mesmo listagens químicas de compostos majoritários permitem tal inferência, a não ser que os efeitos dos voláteis sobre o visitante em questão já estejam disponíveis na literatura. De fato, nas cinco espécies estudadas, os compostos majoritários não foram os que deram maior contribuição para a definição dos padrões horários de visitação. Este fato não se altera, mesmo se forem retirados os compostos de cadeia carbonada longa, comumente originários das ceras epicuticulares, e que podem aparecer como artefatos comuns dos processo de extração de voláteis em solvente apolar (Bergström *et al.*, 1980; Ylipahkala & Jalonen, 1992).

Waser *et al.* (1996) ponderam que estudos objetivando conclusões deste tipo devam incluir um número bem mais amplo de espécies, com a devida representatividade da diversificação nas comunidades estudadas. Em princípio, esta idéia também pode ser aplicada às buscas de relações filéticas entre os grupos taxonômicos de plantas e de polinizadores, buscando padrões que não são aleatórios, em meio a tantos outros estocásticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bergström, G., Appelgren, M., Borg-Karlson, A.K., Groth, I., Strömberg, S. & Strömberg, S. (1980) Studies on natural odoriferous compounds. XXII. Techniques for the isolation/enrichment of plant volatiles in the analysis of *Ophrys* orchids. *Chemica Scripta*, **16**, 173-180.
- Cohen, D. & Shmida, A. (1993). The evolution of flower display and reward. *Evolutionary Biology*, **27**, 197-243.
- Dukas, R. & Real, L.A. (1993). Cognition in bees: from stimulus reception to behavioral changes. In: *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives* (eds. D.R. Papaj & A.C. Lewis), pp. 343-373. Chapman & Hall, London.
- Dusenbery, D. (1992). *Sensory ecology: how organisms acquire and respond to information*. W.H. Freeman, New York.
- Harder, L.D. & Barrett, S.C.H. (1996). Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. In: *Floral biology, studies on floral evolution in animal-pollinated plants* (eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barrett), pp. 140-190. Chapman & Hall, New York.
- Kaiser, R. (1993) Verbal description of scents. In: *The scent of orchids: olfactory and chemical investigations*. pp. 40-45. Elsevier, Amsterdam.
- Klinkhamer, P.G.L. & de Jong, T.J. (1993). Attractiveness to pollinators: a plant's dilemma. *Oikos*, **66**, 180-184.
- Knudsen, J.T. & Tollsten, L. (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. & Tollsten, L. (1995). Floral scent in bat-pollinated plants: a case of convergent evolution. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **119**, 45-57
- Lüttge, U. & Schnepf, E. (1976). Elimination process by glands: organic substances. In: *Encyclopedia of plant physiology* (eds. U. Lüttge & M.G. Pitman). N.S., v. 2. Transport in plants IIb, pp. 244-277. Springer-Verlag, Berlin.
- Mulcahy, D.L., Mulcahy, G.B. & Searcy, K.B. (1992). Evolutionary genetics of pollen competition. In: *Ecology and evolution of plant reproduction* (ed. R. Wyatt), pp. 25-36. Chapman & Hall, London.
- Murray, K.G., Feinsinger, P., Busby, W.H., Linhart, Y.B., Beach, J.H. & Kinsman, S. (1987). Evaluation of character displacement among plants in two tropical pollination guilds. *Ecology*, **68**, 1283-1293.
- Palmer, M.W. (1993). Putting things in even better order: the advantages of canonical correspondence analysis. *Ecology*, **74**, 2215-2230.
- Pleasants, J.M. (1990). Null-model tests for competitive displacement: the fallacy of not focusing on the whole community. *Ecology*, **71**, 1078-1084.
- Sazima, I. & Sazima, M. (1989). Mamangavas e irapuás (Hymenoptera:Apoidea): visitas, interações e consequências para a polinização do maracujá. *Revista Brasileira de Entomologia*, **33**, 109-118.

- Snow, A.A., Spira, T.P., Simpson, R. & Klips, R.A. (1996). The ecology of geitonogamous pollination. In: *Floral biology, studies on floral evolution in animal-pollinated plants* (eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barrett), pp. 191-216. Chapman & Hall, New York.
- Stiles, F.G. (1977). Coadapted competitors: the flowering seasons of hummingbird-pollinated plants in a tropical forest. *Science*, **10**, 194-210.
- Stiles, F.G. (1978). Temporal organization of flowering among the hummingbird foodplants of a tropical wet forest. *Biotropica*, **198**, 1177-1178.
- ter Braak, C.J.F. (1990). *Update notes, CANOCO version 3.10*. Microcomputer Power, Ithaca.
- Vogel, S. (1963). Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung; über Bau und Funktion der Osmophoren. *Abhandlungen der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Klasse: Akademie der Wissenschaften und der Literatur, Mainz*, **10**: 1-165.
- Vogel, S. (1983). Ecophysiology of zoophilic pollination. In: *Encyclopedia of plant physiology*, New Series, V.12c, Physiological plant ecology III (eds. O.L. Lange, P.S. Nobel, C.B. Osmond & H. Ziegler), pp. 559-624. Springer-Verlag, Berlin.
- Waser, N.M., Chittka, L., Price, M.V., Williams, N.M. & Ollerton, J. (1996). Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*, **77**, 1043-1060.
- Ylipahkala, T.M. & Jalonen, J.E. (1992). Isolation of very volatile compounds from the leaves of *Ledum palustre* using the purge & trap technique. *Chromatographia*, **34**, 159-162.