

ADRIANA COUTO PEREIRA-ROCHA

VARIAÇÕES DE CORES E PERFUMES ALTERAM A VISITAÇÃO  
POR HIMENÓPTEROS NAS QUARESMEIRAS?

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

CURITIBA  
2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

Variações de cores e perfumes alteram a visitação por himenópteros nas  
quaresmeiras?

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Acadêmica: Adriana Couto Pereira-Rocha

Orientadora: Isabela Galarda Varassin

CURITIBA  
2008

Ao professor e mestre  
Dr. Fernando Fernandez – UFRJ  
Que fez o imenso favor de espanar as  
teias de aranha da minha mente. Obrigada!

## AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, à minha amada família (marido, filhas e sogros) que me deu o apoio incondicional nessa empreitada louca que é fazer mestrado com crianças pequenas em casa e sem nenhum tipo de auxílio financeiro oficial. Vocês ficaram com as crianças enquanto eu ia para o mato, vocês agüentaram as minhas crises e sofreram com a minha ausência, vocês me ajudaram sempre que podiam e são vocês que me dão uma razão para continuar.

À minha mãe (meu CNPq pessoal), por todas as idéias e pelo auxílio enorme com o português, aquele que ela adora e eu detesto. Ah, também pelo auxílio financeiro, eu jamais poderia me esquecer disso. Todos aqueles litros e litros de combustível utilizados no trajeto Mafra-Curitiba não foram em vão. E por ter me criado, me inculcido cultura, ter valorizado a educação formal acadêmica... Nossa, eu nunca poderei agradecer o suficiente à minha mãe.

À minha orientadora, Dra. Isabela, mais conhecida como Isa. Simplesmente a mentora responsável por toda a idealização da pesquisa. Sem sua paciência e tolerância para com meus atrasos e problemas pessoais, esta dissertação certamente não teria saído.

A Deus, por me dar paciência e saúde para concluir esta empreitada .

Ao Davison e à Alyson, pela hospedagem calorosa e sempre amigável.

Ao Dr. Gabriel, à Aline e à equipe do Taxonline e do Herbário (UFPR), meus sinceros agradecimentos pela ajuda com as identificações dos insetos e plantas observados neste estudo, e ao Dr. Trigo (UNICAMP) pela ajuda com as cromatografias.

À Marli, a querida e eficiente secretária do PPGECO, o melhor Lembrol que alguém pode ter nesta vida! E à Célia, outra funcionária exemplar, por sua ajuda imprescindível com as crianças.

Aos meus amigos e amigas que passaram os últimos 3 anos vendo eu me descabelar cada vez que um prazo final de alguma coisa se aproximava. Inclusive o pessoal da family...

Ao Steve Jobs, da Apple, pelo iPod.

Aos moradores da beira da Estrada Dona Francisca, que abriram suas portas para mim, permitindo que eu passasse horas a fio parada em seus jardins observando abelhas.

A todos os artrópodes que tombaram no cumprimento do dever. Vocês não serão esquecidos!

**ÍNDICE**

LISTA DE TABELAS .....	vi
LISTA DE FIGURAS .....	vii
RESUMO .....	01
ABSTRACT .....	02
INTRODUÇÃO .....	03
MATERIAL E MÉTODOS .....	07
RESULTADOS .....	12
DISCUSSÃO .....	15
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA .....	20

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1:</b> Viabilidade polínica de <i>T. pulchra</i> durante os três primeiros dias da antese.....	26
<b>TABELA 2:</b> Eficiência dos polinizadores de <i>T. sellowiana</i> .....	26
<b>TABELA 3:</b> Compostos voláteis observados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM) em filetes de <i>T. pulchra</i> .....	27
<b>TABELA 4:</b> Número de visitas às flores de <i>T. pulchra</i> e <i>T. sellowiana</i> no ensaio de cores .....	29
<b>TABELA 5:</b> Número de visitas às flores de <i>T. pulchra</i> e <i>T. sellowiana</i> no ensaio de perfumes .....	29

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1:</b> 1 – Tratamento a, flor nova. 2 - Tratamento b, flor nova modificada com pétalas de flor velha (mimética de cor). 3 - Tratamento c, flor velha. 4 - Tratamento d, flor velha modificada com pétalas novas (mimética de cor). 5 - Flor de <i>T. sellowiana</i> no primeiro dia após a antese, apresentando pétalas com coloração branca e bordas roxas, e peças reprodutivas brancas. 6 - Flor de <i>T. sellowiana</i> no segundo dia após a antese, apresentando coloração arroxeadada pálida e filetes rosados .....	30
<b>FIGURA 2:</b> Cromatogramas dos compostos voláteis de filetes de <i>T. pulchra</i> .....	31
<b>FIGURA 3:</b> Combinações encontradas de <i>display</i> floral durante o experimento de cores.....	32

## RESUMO

Perfumes são uma das causas primárias de atração de abelhas por flores, entretanto, elas podem também ser atraídas pela percepção da cor da flor. Várias espécies de Melastomataceae apresentam mudanças de cor em suas flores, especialmente entre espécies do gênero *Tibouchina*, onde as flores mudam de branco para lilás durante a antese. Esta mudança de cor é interpretada como um aviso às abelhas para não visitarem flores velhas, sendo a persistência das pétalas nas flores velhas uma sinalização aos polinizadores à longa distância. O principal objetivo deste trabalho é relacionar a mudança de cor e de perfume floral das flores de *T. pulchra* e *T. sellowiana* com a visitação dos polinizadores. Para tal, foram elaborados ensaios onde flores novas e velhas tiveram suas cores e seu perfume trocados, separadamente, e a taxa de visitação das abelhas nas flores controle e flores modificadas foi analisada. As flores apresentaram o estigma receptivo durante todo o tempo de antese para as duas espécies, sem diferença de viabilidade polínica entre as anteras maiores e as anteras menores. A análise cromatográfica das fragrâncias florais de *T. pulchra* revelou que os filetes foram os principais produtores de perfumes, apresentando nonanal, decanal, 4-(2-propenil)-fenol e indol (1-benzanol), sendo este último o composto encontrado em maior quantidade. Os resultados obtidos com o ensaio de cores indicaram que as abelhas que visitaram *T. pulchra* preferiram as flores brancas não alteradas, enquanto as visitantes de *T. sellowiana* pareceram igualmente atraídas pelas flores brancas naturais e pelas flores brancas miméticas de rosas, o que parece indicar que a cor tem importância secundária na atratividade das flores para essa espécie. No ensaio de perfumes realizado em *T. sellowiana*, as abelhas tenderam a visitar tanto as flores novas normais quanto as novas miméticas. Para *T. sellowiana* o tanto a cor e como o perfume pareceram atuam sinalizando flores novas. Os resultados parecem indicar a ocorrência de um efeito sinérgico entre a cor e o perfume, na busca por recursos, e a manutenção de flores velhas em *T. pulchra* e *T. sellowiana* estaria relacionada com a tentativa de atrair polinizadores oferecendo maior visibilidade, por meio de um *display* que possa ser notado a longas distâncias.

**Palavras-chave:** polinização, perfume floral, *Tibouchina*, *T. pulchra*, *T. sellowiana*  
Melastomataceae

## ABSTRACT

Floral scents are one of primary causes of flower attraction for bees. However, bees can also be attracted by the perception of the flower's color. Many species of Melastomataceae reveal color changes in their flowers, specially among the genus of *Tibouchina*, where flowers change from white to pink during anthesis. This color change is interpreted as a cue to bees to not visit old flowers, and the persistence of petals in old flowers works as a long distance signalization. The main objective of this paper is to relate floral color and scent changes in flowers of *T. pulchra* and *T. sellowiana* with pollinators visitation. For that, we elaborated treatments where new and old flowers had their colors and scent changed, separately, and the rate of bees visitation on control and modified flowers was analyzed. Stigmatic receptivity exam indicated that the flowers had the stigma receptive during the whole anthesis for both species, without difference in viability between larger or smaller anthers. Scent chromatografic analysis of *T. pulchra* revealed that filaments were the main perfume producers, presenting nonanal, decanal, 4-(2-propenil)-phenol and indol (1-benzanol), the last one found in larger amount. Treatments with altered colors indicated that bees who visit *T. pulchra* preferred white non-altered flowers, while *T. sellowiana* visitors seemed to be equally attracted by natural white flowers and white flowers mimetic as pinks. In *T. sellowiana*, both color and perfume seems to act signalizing new flowers. The results indicate the occurrence of a synergic effect between color and scent, and the maintenance of old flowers for *T. pulchra* and *T. sellowiana* would be related with an effort to attract pollinators offering more visibility throughout a floral *display* that can be noted at long distances.

**Keywords:** pollination, floral scent, *Tibouchina*, *T. pulchra*, *T. sellowiana*  
Melastomataceae

## INTRODUÇÃO

A mudança de cores nas flores é um fenômeno já observado em diversas espécies. Weiss (1991) estima que tal fenômeno ocorra em 74 famílias de angiospermas, o que representa 21% do total de famílias polinizadas por insetos.<sup>1</sup>

As flores polinizadas por insetos sofreram evolutivamente alguns tipos de modificações para promover a constância de um tipo específico de visitante para um particular tipo de flor (Schermske & Bradshaw, 1999). A polinização efetiva depende, entre outros fatores, da adequação do formato do corpo ou de determinados órgãos do visitante à morfologia floral, de como ele aborda a flor e de seu comportamento durante a visita (Proctor et al., 1996). O pólen pode ser o único recurso disponível coletado pelas abelhas em muitas flores, sendo extensivamente colhido de flores que não produzem nenhum outro recurso (Roubik, 1992).

As abelhas podem ser atraídas pelas flores por sua percepção de cor, tamanho, perfume, formato e textura (Gumbert, 2000) e seus critérios de seleção podem ser modificados pelo aprendizado (Giurfa et al, 1995; Kudo et al, 2007). A visão de cores das abelhas é tricromática, e é influenciada pelos comprimentos de onda curtos de luz. Assim, abelhas percebem a radiação ultravioleta como uma cor distinta, enquanto os comprimentos de ondas maiores, laranja-avermelhadas, não são percebidos. As cores mais atraentes às abelhas são aquelas percebidas por humanos como branco, amarelo e violeta azulado (Roubik, 1992).

Abelhas aparentam ter uma grande flexibilidade em seu comportamento orientado pela visão. Elas conseguem aprender a utilizar habilidades específicas, especialmente olfativas, que podem ajudá-las a alcançar suas metas (Lehrer, 1994). As abelhas demonstram preferências inatas por certas cores, não apenas em relação a cores aprendidas, mas também após treinamento intensivo quando escolhem entre novas cores de tonalidades diferentes. Entretanto, entre duas cores similares, a escolha é orientada pela semelhança que essas cores apresentam com as cores aprendidas (Gumbert, 2000).

Além das cores, os perfumes são uma das causas primárias de atração de abelhas (Vainstein et al., 2001). O perfume floral é uma característica determinada por uma complexa mistura de moléculas voláteis de baixo peso molecular (Vainstein et al., 2001). A composição dos perfumes florais tem sido freqüentemente estudada

---

<sup>1</sup> Artigo formatado segundo as instruções do Journal of Chemical Ecology.

(Bestmann et al., 1997; Grison-Pigé, 2002), embora o papel de seus odores na atração dos polinizadores raramente foi testado (Grison-Pigé, 2002). Uma fração dos compostos voláteis que constituem o odor floral pode ser suficiente para permitir às abelhas aprender e discriminar entre os diferentes morfotipos de flores de uma mesma espécie (Masson, 1982; Pham-Delègue et al., 1986). Os perfumes são produzidos por tecidos secretores especializados, os osmóforos, localizados nas superfícies das flores (Fahn, 1979).

As fragrâncias florais podem conter algumas centenas de compostos, incluindo compostos aromáticos, aminóides ou hidrocarbonetos, incluindo terpenóides, freqüentemente monoterpênicos (Williams & Whitten, 1983; Pham-Delègue et al., 1986). Em associações mutualísticas menos específicas, os compostos encontrados são geralmente terpenóides ou aromáticos, embora tais compostos também estejam presentes em associações ligeiramente específicas (Grison et al., 1999). Quando a planta interage com certos grupos de polinizadores, como morcegos, podem aparecer compostos mais específicos como, por exemplo, compostos com enxofre, ou compostos alifáticos (Bestmann et al., 1997).

Segundo Knudsen et al. (2001), a composição química do perfume floral reflete o modo de polinização; compostos específicos, presentes em poucas plantas, teriam surgido como uma resposta às preferências do polinizador. Além disso, a importância do olfato em relação à visão é maior em espécies polinizadas por besouros do que naquelas polinizadas por moscas e abelhas.

Muitas fragrâncias florais se assemelham aos feromônios de abelhas e isso ocorre provavelmente para que as flores atraiam as abelhas por meio do mimetismo de alguns de seus odores (Roubik, 1992). Estudos indicam que machos de algumas espécies de abelhas aprendem os odores de flores individuais durante tentativas de acasalamento, e os reconhecem mais tarde, em outros encontros. Assim, as abelhas evitam tentar se encontrar com flores que já visitaram previamente, mas não evitam outras flores da mesma espécie seja em planta diferente ou na mesma planta (Ayasse et al., 2000).

A família Melastomataceae constitui-se numa das mais importantes da flora neotropical, com cerca de 4200 a 5000 espécies pertencentes a 11 tribos e 185 gêneros (Renner, 1993). No Brasil, representa a sexta maior família de angiospermas, com 68 gêneros e mais de 1500 espécies, que se distribuem desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul (Romero & Martins, 2002).

Várias espécies de Melastomataceae apresentam mudanças de cor em suas flores, porém as mais notáveis estão entre espécies do gênero *Tibouchina*, onde as flores mudam de branco para lilás durante o período de antese. Esta mudança de cor tem sido interpretada como um aviso às abelhas para não visitarem flores já velhas (Endress, 1994). Mudança de coloração floral aparenta ser um fenômeno que aumenta a eficiência de forrageamento do polinizador e da transferência de pólen (Niesenbaum et al., 1998; Larson & Barrett, 1999). Por outro lado, a persistência das pétalas nas flores não mais receptivas confere um colorido intenso às plantas, atuando na sinalização aos polinizadores à longa distância por meio de um *display* floral maior, o que aumentaria a taxa de visitação (Weiss, 1991; Larson & Barrett, 1999) e, conseqüentemente o sucesso reprodutivo da planta (Niesenbaum et al., 1998).

A mudança de perfumes florais também é um fenômeno já observado em diversas espécies de Angiospermas. A mudança pode ser comprovada ao se comparar flores polinizadas com não-polinizadas, como em orquídeas do gênero *Cryptostylis* e seus polinizadores, cuja comunicação química foi analisada por cromatografia gasosa com detecção eletroantegráfica (GC-EAD), onde aparentemente um único composto atua como atrativo para polinizadores (Schiestl et al., 2004), ou ocorrer naturalmente ao longo do ciclo diário da planta (Huber et al., 2004).

Em uma espécie de quaresmeira, *Tibouchina pulchra*, ocorre uma mudança das taxas de visitação das flores por abelhas associada com a mudança de cores (Silva, 2006). Além disto, após o evento de polinização, a mudança de cor branca para roxa ocorre mais rapidamente, quando comparadas a flores não polinizadas (Silva, 2006).

Em melastomatáceas, a maioria das plantas apresenta anteras com deiscência poricida, o que exige que muitas abelhas retirem pólen por polinização vibrátil (“buzz pollination”; Buchmann, 1983). Neste tipo de polinização a retirada de pólen é executada por abelhas que pousam nas flores, abraçam os estames e vibram sua musculatura de vôo indireta em alta frequência, fazendo com que o pólen se solte da antera e ocasionando assim a polinização (Larson & Barret, 1999). Nesta interação, o recurso alimentar para as abelhas vem em pacotes que são exauridos após algumas visitas.

O comportamento de polinização vibrátil já foi descrito em diversas espécies de melastomatáceas, como *Cambessedesia hilariana* (Fracasso & Sazima, 2004) e em *Rhexia virginica* (Larson & Barrett, 1999), além de espécies do gênero *Tibouchina* (Renner, 1989). *Tibouchina sellowiana*, espécie bastante semelhante à *T. pulchra*, teve

o sistema reprodutivo investigado na Serra do Japi, SP, mostrando a ausência de apomixia e de auto-incompatibilidade (Goldenberg & Varassin, 2001).

A linha de pesquisa que relaciona o *display* floral apresentado pela planta com a visitação por polinizadores e com seu sucesso reprodutivo tem sido mais investigada nos últimos anos. Segundo esse ponto de vista, os padrões de visitação de polinizadores em relação à variação do tamanho do *display* floral poderiam ser alterados de forma quantitativa (número de visitas) bem como qualitativa (número de espécies visitantes) pela densidade local da planta (Grindeland et al., 2005).

Entretanto, evidências empíricas apontam que as taxas de visitação da planta como um todo aumentam com o tamanho da planta, mas esse efeito é frequentemente acompanhado por um decréscimo na proporção de flores abertas visitadas (Mitchell et al., 2004). Dessa forma, uma planta com mais flores poderia apresentar a mesma taxa de visitação em números absolutos, representando, portanto, uma proporção menor de flores visitadas. Como resultado, a taxa de visitação por flor poderia aumentar (Andersson, 1991), diminuir (Anderson, 1988; Klinkhamer & deJong, 1990) ou mostrar uma relação constante com o tamanho do *display* floral (Ohashi & Yahara, 2002).

Em virtude das hipóteses existentes sobre o papel da mudança de cores e perfumes na reprodução de plantas, este trabalho investigou o papel da mudança de cor e de perfume floral das flores de *Tibouchina sellowiana* e de *Tibouchina pulchra* na visitação dos polinizadores.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de estudos

*Tibouchina pulchra* foi estudada em área próxima ao litoral do Paraná, na Reserva Natural de Salto Morato, município de Guaraqueçaba, com localização em 25° 10' S e 48° 15' W. A reserva é propriedade da Fundação O Boticário de Proteção à Natureza e está localizada em ambiente de Floresta Ombrófila Densa (Veloso et al., 1991). Os ensaios de cores e de perfumes foram desenvolvidos em exemplares existentes na Serra Dona Francisca, distrito de Pirabeiraba, com localização em 26° 18' S e 48° 50' W. Os indivíduos encontram-se às margens da estrada SC-401, entre os quilômetros 97 e 99, em Santa Catarina

*T. pulchra* é uma árvore média, de 8 a 15 m de altura, comum em áreas alteradas, crescendo bem em capoeiras e capoeirões sendo incomuns nas matas mais desenvolvidas, por ser uma espécie pioneira (Leitão-Filho et al., 1993). Floresce entre novembro e fevereiro; suas flores e folhas são maiores que aquelas encontradas em *T. sellowiana* e é característica da encosta úmida da Serra do Mar que ocorre do Rio de Janeiro até Santa Catarina na floresta pluvial da encosta Atlântica (Lorenzi, 1992; Simão, 2005).

O estudo de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. foi realizado com indivíduos existentes no município de Mafra, SC, BR 116 km 07. O município está situado em 26° 06' 41" S e 49° 48' 19" W. O clima da região, segundo Köeppen, é classificado como temperado mesotérmico úmido e verão ameno (Cfb). A temperatura média anual é em torno de 16 a 25°C, e a precipitação média anual está entre 1300 e 1500 mm (Secretaria de Estado de Desenvolvimento Regional, 2003).

A região é habitada, com casas e chácaras entremeadas por fragmentos de Floresta Ombrófila Mista (Veloso et al., 1991), onde *T. sellowiana* ocorre freqüentemente. As plantas estudadas são cinco indivíduos com altura entre 2 m e 3 m, que ocorrem naturalmente em um terreno arborizado.

*T. sellowiana* ocorre no alto das encostas das serras e capoeiras, situados em solos rasos e enxutos, onde pode formar agrupamentos (Reitz et al., 1988). Os indivíduos desta espécie são relativamente pequenos, com alturas variando entre 2 e 6m. Apresentam flores solitárias, presas a ramos curtos (1-3 cm). A floração acontece nos meses de fevereiro a abril (Wurdack, 1962). Ocorre na Floresta Ombrófila Densa

atlântica em vários Estados e, no Paraná, adentra na borda da Floresta Ombrófila Mista (Goldenberg & Varassin, 2001).

O material testemunho das plantas estudadas foi coletado e depositado no Herbário da UFPR sob o número de tombo UPCB 58359 (*T. pulchra*) e UPCB 58360 (*T. sellowiana*). As descrições das plantas e das flores foram feitas através de observações no campo. Foram empregadas flores conservadas em álcool etílico 70% (Johansen, 1940) e fotografias para a descrição mais detalhada das flores.

### **Biologia floral**

Em um único dia, foi determinada a taxa de visitação das espécies *Bombus morio* e *B. atratus* em *T. sellowiana*, por meio da contagem total de visitas observadas ao longo de quatro horas em um mesmo dia, sendo considerado cada pouso como uma visitação.

A receptividade do estigma foi indicada pela presença da catalase por peróxido de hidrogênio (Fleet, 1952). O teste foi feito ao longo da antese, em flores previamente ensacadas.

A viabilidade polínica foi acompanhada por três dias após a antese, a partir de material fixado (FAA ou álcool), colorido com Carmim-Acético e observado em microscópio óptico. Nas lâminas, foram contados os grãos de pólen viáveis e inviáveis até que o resultado alcançasse a contagem de 100 grãos, e os valores encontrados em cada lâmina foram comparados por meio de ANOVA (Zar, 1999).

Os insetos que visitam as flores foram observados ao longo de todo o dia, a partir das 8 hr da manhã. Foram realizadas 20 hr de observação para cada espécie, ao longo de cinco dias. Para cada espécie de planta foram feitas anotações a respeito das espécies de insetos visitantes, visando diferenciá-las quanto à morfologia e comportamento. Espécimes de cada espécie de inseto foram coletados para identificação por especialistas.

A taxa de visitação dos polinizadores (número de avistamentos/número de flores/minuto) foi registrada tanto em flores novas, como em flores velhas de *T. sellowiana*. As flores consideradas novas foram aquelas que tiveram a antese no dia da observação, com pétalas brancas e borda violeta, e todas apresentavam as peças reprodutivas completas (estigmas e estilete), de cor também branca. As flores

consideradas velhas foram todas aquelas que apresentaram a antese havia um ou mais dias, e as cores de suas pétalas variavam ligeiramente entre rosa pálido, rosa intenso e violeta. Seus verticilos reprodutivos apresentavam coloração rósea. A taxa de visitação foi observada ao longo de 4 horas em um único dia, e cada pouso da abelha em uma flor foi contabilizado como uma visita.

### **Ensaio experimental**

Cada ensaio experimental foi realizado ao longo de 4 dias não consecutivos, com um dia de intervalo entre cada um deles, totalizando 64 hr de observação (16 hr para cada um dos ensaios) ao longo de 16 dias.

Nos ensaios experimentais, flores tiveram seus perfumes e suas cores alteradas para verificar a influência da coloração sobre a taxa de visitação. Em um primeiro momento, flores novas (brancas) foram mascaradas com pétalas roxas coladas sobre as brancas, assim como flores roxas foram mascaradas com pétalas brancas. A cola utilizada é feita à base de cianoacrilato, que não deixa odor perceptível na flor, uma vez que seu solvente se volatiliza rapidamente. Cada ensaio apresentou quatro tratamentos, sendo eles: **a)** flores novas (brancas, Figura 1.1), **b)** flores brancas miméticas com pétalas roxas (Figura 1.2), **c)** flores velhas (roxas, Figura 1.3), e **d)** flores roxas miméticas com pétalas brancas (Figura 1.4), em igual quantidade para cada tratamento, e um ensaio contendo flores-controle que apresentavam apenas cola. A visitação foi monitorada, considerando cada pouso na flor como um registro. A cada hora, as flores foram acompanhadas em intervalos de 30 min contínuos. No ensaio de cores em *T. pulchra* foram empregadas 20 flores para cada tratamento, enquanto em *T. sellowiana* foram utilizadas 30 flores. No ensaio de perfumes, foram empregadas ao todo 36 flores por tratamento de *T. sellowiana* e o mesmo número de flores por tratamento de *T. pulchra*.

Nesses ensaios, foram feitas observações apenas durante o período matutino, das 8 hr às 12 hr. Para *T. pulchra*, esse intervalo de tempo era o suficiente para evitar a degradação das flores alteradas, que acontecia após quatro horas, quando elas começavam a apresentar manchas marrons e bordas descoladas nas pétalas. Para o ensaio de perfume em *T. sellowiana*, as observações foram feitas em intervalos de apenas duas horas, pois suas flores menores e mais frágeis se degradam rapidamente, ficando então descaracterizadas.

Para realizar a análise da influência do perfume floral, foi feita a extração de perfume por imersão em diclorometano grau pesticida durante cinco minutos, coletado aproximadamente entre 10 hr e 11 hr da manhã. O extrato obtido foi concentrado em evaporador rotatório até atingir um volume aproximado de 36 gotas, que permitisse o uso de uma gota em cada flor, e posteriormente aplicado sobre as flores-teste. Flores novas receberam uma gota de perfume de flor velha, e flores velhas receberam o perfume da flor nova. A visitação foi monitorada considerando cada pouso na flor como um registro. A cada hora, as flores foram acompanhadas em intervalos de 30 minutos contínuos. Foram utilizadas 36 flores em cada tratamento, tanto em *T. pulchra* quanto em *T. sellowiana*. A duração do teste foi de duas horas, uma vez que após a aplicação do extrato, as flores feneciam mais rapidamente.

Visando determinar qual dos verticilos florais emite odor em *T. sellowiana* e em *T. pulchra*, foram efetuados dois tipos de procedimentos: primeiro, testes de saturação em recipientes fechados – os verticilos florais foram manualmente separados em pétalas, filetes e anteras, e colocados em recipientes fechados por 15 minutos, logo após o recipiente foi aberto para verificar qual dos verticilos emite o odor. Apesar de a impressão olfativa ser subjetiva, Dyer (2004) sugere que a capacidade olfativa das abelhas apresenta similaridade com a dos primatas, de modo que a modificação do perfume floral, que pode ser facilmente percebida por seres humanos, também influenciaria os hábitos de visitação das abelhas.

Para analisar o perfume floral, foram coletadas separadamente pétalas, anteras e filetes de flores velhas, ou seja, no segundo dia de antese. O mesmo procedimento foi realizado com flores novas, ou seja, no primeiro dia de antese. Os compostos voláteis das partes separadas de flores de *T. pulchra* foram extraídos em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (Whitten et al., 1993), e os extratos foram reduzidos a vácuo para cerca de 0.5 mL em temperatura ambiente. Os extratos resultantes de *T. pulchra* foram analisados por CG-EM em cromatógrafo a gás Hewlett Packard-6890 com uma coluna capilar de 5% fenil 95% dimetil polisiloxano fundida (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ , HP-5MS), diretamente acoplada ao detector seletivo de massa Hewlett Packard 5973. As condições de injeção foram modificadas de Adams (1995): Temperatura do injetor = 240 °C; temperatura programada do forno = 60 - 300 °C, 3 °C/min; injeção splitless durante 1,50 min, gás de arraste Hélio (1 ml/min), fluxo constante; volume da amostra 0,2 ou 1  $\mu\text{l}$ .

A importância das diversas espécies de polinizadores e de sua abundância em *T. sellowiana* foi estimada por meio de testes em flores ensacadas na pré-antese com sacos

de tela de malha de nylon. Foram expostas 35 flores, de maneira controlada, às abelhas e registrou-se o efeito de uma visita distintamente no processo de polinização, assim como em flores-controle, isto é, flores submetidas às condições naturais de polinização. Este efeito foi determinado pelas razões fruto/flor provenientes da visita de cada espécie de polinizador por flor (Fracasso & Sazima, 2004). Os frutos foram considerados como efetivamente formados quando permaneceram pelo menos por um mês presos ao ramo. O sucesso reprodutivo foi avaliado através do número de frutos formados em cada tratamento.

De maneira qualitativa, foi observado durante o ensaio de cores em *T. sellowiana* se o *display* floral, a maneira e densidade como as flores estão dispostas nos ramos da planta (Wilson & Rathcke, 1974), poderia influenciar na escolha do polinizador por determinada flor.

## RESULTADOS

### Biologia floral

O período da fenofase de floração é diferente para ambas as espécies estudadas. Em *T. pulchra*, a antese ocorre no início do verão, entre os meses de dezembro e fevereiro, enquanto em *T. sellowiana* ocorre no início do outono, entre os meses de abril e maio.

A mudança de cores ocorre de forma gradual tanto em *T. pulchra* quanto em *T. sellowiana*, ao longo da antese. Na manhã do primeiro dia, as pétalas apresentam coloração branca com apenas as bordas arroxeadas ou rosadas (Figura 1.5). Ao longo de todo o dia, a coloração arroxeadada se estende pelas pétalas, acabando por tornar toda a pétala roxo-pálida (Figura 1.6). Do terceiro dia em diante, a flor de *T. sellowiana* passa a exibir uma tonalidade roxa mais viva, com nuance mais próxima de um rosa intenso, tonalidade que permanece até a senescência, enquanto a flor de *T. pulchra* mantém uma tonalidade roxa apenas um pouco mais escura do que aquela apresentada no dia anterior (Figura 1.3). As mudanças de coloração também se refletem nos verticilos reprodutivos, que são completamente brancos no primeiro dia, depois apresentam as anteras brancas e os filetes rosados no segundo dia e, por fim, tornam-se completamente rosados do terceiro dia em diante, até caírem da flor.

Do ponto de vista da viabilidade reprodutiva, o exame de receptividade do estigma indicou que as flores se mantêm receptivas durante todo o tempo de antese para as duas espécies. A análise de viabilidade polínica indicou que o pólen continua viável ao longo dos três dias para a *T. pulchra*, sem apresentar diferenças significativas entre as proporções dos valores de grãos viáveis e inviáveis ao longo do tempo ( $n=12$ ;  $F=0,03$ ;  $gl=2$ ;  $P>0,05$ ; Tabela 1). Não houve diferença de viabilidade entre as anteras maiores e as anteras menores ( $n=12$ ;  $F= 1,67$ ;  $gl=1$ ;  $P>0,05$ ).

Foram observadas cinco espécies de abelhas visitando as flores de *T. pulchra*: *Bombus atratus*, *Melipona bicolor*, *Paratrigona subnuda*, *Trigona spinipes* e outra espécie não identificada no ensaio de perfumes. Dessas, apenas *M. bicolor* e *B. atratus* apresentaram comportamento que possibilita a polinização vibrátil, abraçando diversas anteras ao mesmo tempo e fazendo-as vibrar e espalhando o pólen. As demais atuaram apenas como pilhadoras, removendo o pólen diretamente das anteras com seus apêndices anteriores. Dessa forma, elas não são capazes de realizar a polinização, pois

seu tamanho corpóreo reduzido permite a retirada de pólen de uma única antera por vez, sem contato com o estigma.

Os visitantes florais observados em *T. sellowiana* foram *B. atratus*, *B. morio*, *Plebeia saiqui* e *Augochloropsis* sp (não capturada). As duas espécies do gênero *Bombus* apresentaram nítido comportamento de polinização vibrátil, abraçando todas as anteras ao mesmo tempo e vibrando até provocar pequenas nuvens de pólen ao seu redor. Ambas gastavam cerca de cinco segundos em cada flor que visitavam, e na maioria das vezes pousavam apenas uma vez em cada flor, embora fosse observado esporadicamente pousos repetidos em uma mesma flor. Tanto *P. saiqui* quanto *Augochloropsis* sp apareceram em uma única ocasião, onde apenas pilharam o pólen de uma antera por vez, removendo-o com suas pernas anteriores, sem encostar no estigma da flor. O tempo de visitação foi mais extenso em relação ao das espécies de *Bombus*, pois se ocupavam de uma antera por vez.

Para *B. morio*, a taxa de visitação observada foi de 86 visitas por hora, sendo todas as visitas observadas em flores brancas. Para *B. atratus*, a taxa foi de 64 visitas por hora, também observadas apenas em flores brancas.

O ensaio de eficiência dos polinizadores foi realizado apenas em *T. sellowiana*. As 35 flores do ensaio foram visitadas por *B. morio* ou *B. atratus*. Dessas, 32 originaram frutos, sendo 18 dos 18 frutos formados por meio de polinização por *B. morio* e 14 frutos dos 17 formados através da polinização por *B. atratus* (Tabela 2).

A análise cromatográfica das fragrâncias florais de *T. pulchra* revelou que os filetes são os principais produtores de perfumes, apresentando principalmente, nos filetes novos, nonanal, 1-octeno-3-ol e heptanal. Os filetes velhos apresentam, majoritariamente, indol, 4-(2-propenil)-fenol, 1-octeno-3-ol e limoneno (Figura 2; Tabela 3). Nas pétalas, foi encontrado heptanal, tanto em flores novas quanto flores velhas, em pequenas quantidades. As anteras de flores novas e velhas apresentaram apenas traços de compostos voláteis.

### **Ensaio experimental**

Os resultados obtidos no ensaio de cores indicam que as abelhas que visitam *T. pulchra* preferem as flores brancas não alteradas ( $n=20$ ;  $\chi^2=12,85$ ;  $gl=1$ ;  $P < 0,05$ ), enquanto as visitantes de *T. sellowiana* pareceram igualmente atraídas pelas flores brancas naturais e pelas flores brancas miméticas de rosa ( $n=30$ ;  $\chi^2=2,19$ ;  $gl=1$ ;  $P >$

0,05; Tabela 4), apesar de terem sido avistadas subtribos diferentes de abelhas nas plantas.

No ensaio de perfumes realizado em *T. pulchra*, foram observadas poucas visitas, talvez devido ao clima chuvoso durante os dias do ensaio. As abelhas encontradas tenderam a visitar igualmente flores novas normais quanto as novas miméticas (n=36;  $\chi^2 = 0,21$ ; gl = 1, p>0,05; Tabela 5), entretanto não ocorreram visitas nos tratamentos envolvendo flores velhas normais ou flores velhas modificadas.

No ensaio de perfumes realizado em *T. sellowiana*, as abelhas tenderam a visitar tanto as flores novas normais quanto as novas miméticas (n=36;  $\chi^2=0,74$ ; gl=1; P > 0,05; Tabela 3). Durante este ensaio, também foram observadas visitas das abelhas às flores velhas miméticas.

## DISCUSSÃO

Em *T. pulchra*, do ponto de vista da flor, a polinização pode ocorrer no primeiro ou segundo dia de antese, pois a viabilidade polínica e a receptividade estigmática não se modificam de maneira significativa ao longo de toda a antese. Além disto, ensaios conduzidos com flores de idades distintas indicam que o sucesso reprodutivo é semelhante em flores no primeiro e segundo dia de antese (Silva, 2006). Entretanto, a disponibilidade de pólen deve cair com a antese, de modo que sejam oferecidos menos grãos com o passar do tempo, e conseqüentemente deixando de atrair os polinizadores. É possível que em condições naturais, com visitação por diversos polinizadores ao longo do dia, o pólen ofertado rapidamente se acabe, de modo que um ou dois dias após a antese já não seja mais interessante para o inseto realizar a visitação. Em outras espécies de *Tibouchina* cujas pétalas não mudam de cor, o tempo de permanência das abelhas nas flores cai ao longo da antese (Ana Franco, com. pess.), provavelmente por exigir maior tempo de manipulação das anteras para a retirada de pólen cada vez em menor quantidade (Buchmann 1983).

Apesar da possibilidade de ocorrer polinização e manutenção do sucesso reprodutivo, as abelhas distinguem as flores novas, e as visitam com maior freqüência. O reconhecimento das flores novas parece ser mediado pela sinalização visual e olfativa, uma vez que os ensaios experimentais indicam que a cor não é o único fator que tenha importância na atratividade das flores, assim como o perfume. A emissão de perfumes pode variar ao longo da antese (Effmert et al 2005). Vários estudos recentes têm mostrado que sinais visuais e olfativos atuam de forma sinérgica (Raguso e Willis 2002, 2005, Kunze e Gumbert 2001), influenciando o comportamento dos polinizadores, como o número de visitas e a constância floral (Raguso e Willis 2002, 2005, Gegear 2005). Para abelhas isto pode ser especialmente relevante, pois a presença de vários estímulos (visual e olfativo) aumenta a capacidade de discriminação e aprendizado em *Bombus* (Kunze e Gumbert, 2001).

Essa manutenção de flores velhas em *T. pulchra* e *T. sellowiana* estaria relacionada com a tentativa de atrair polinizadores oferecendo maior visibilidade, por meio de um *display* que possa ser notado a longas distâncias (Niesenbaum et al., 1999; Grindeland et al., 2005; Kudo et al., 2007, ver porém Galizia et al 2005) e que ofereça informações sobre a disponibilidade de pólen através das diferentes cores apresentadas. Dessa forma, a abundância de flores roxas, sem pólen, serviria para sinalizar com mais

eficiência às abelhas a presença de flores brancas novas, onde o recurso por elas procurado está temporariamente disponível. A manutenção das flores velhas aumentaria o *display* floral e, portanto, afetaria a taxa de visitação (Weiss, 1991), uma vez que a densidade é menos importante para a atração dos polinizadores do que o *display* floral exibido por cada planta (Grindeland et al., 2005).

É interessante ressaltar que, em *T. pulchra*, as abelhas nunca visitaram flores velhas (alteradas ou não), distintamente do que ocorreu com *T. sellowiana*. Dessa forma, pode-se dizer que, nessa espécie, as abelhas foram aparentemente enganadas, pois eventualmente visitaram as flores velhas miméticas, tendo reconhecido algo na flor velha semelhante a uma flor nova, apesar das abelhas pertencerem a subtribos diferentes. Essa observação serve como indicativo de novos estudos, que foquem exclusivamente o comportamento de Bombinae. Além disto, Silva (2006) observou que, com poucas flores novas, abelhas *B. morio* e *B. atratus* também poderiam visitar as velhas. Como o presente ensaio com *T. pulchra* foi realizado no período final da florada da espécie, entre janeiro e fevereiro, é possível que as flores velhas tenham sido visitadas por falta de opção.

É possível que esta diferença entre as espécies ocorra em virtude de características de sinalização distintas, como observado em diferentes morfos de uma mesma espécie (Majetic et al 2007; Salzmann e Schiestl 2007). As flores de *T. sellowiana* são menores que as de *T. pulchra* e apresentam um perfume mais suave, conforme observado no teste de saturação. Esse fator poderia explicar as visitas observadas nas flores do tratamento de flores velhas miméticas (tratamento **d**) durante o ensaio de perfumes, onde *T. sellowiana* obteve 12 visitas, enquanto *T. pulchra* não obteve visita alguma. Considerando-se o tamanho menor da pétala e o odor mais discreto emitido pela flor, a união de ambos os fatores seria menos intensa em *T. sellowiana* do que em *T. pulchra*, de modo que tanto as flores miméticas de cor (que mantêm o perfume original) quanto aquelas miméticas de perfume (que mantêm a cor original) continuam exercendo certa atração para o agente polinizador, e os fatores cor e perfume agiriam de forma ligeiramente mais independente um do outro. Uma limitação deste ensaio pode ser decorrente da possível alteração da concentração e composição do perfil de fragrâncias durante a preparação dos extratos, como a presença de traços de solvente, mudando a resposta das abelhas aos sinais olfativos (Galizia et al 2005).

Um aspecto que merece atenção é o fato do pequeno número de registros de visitas, chegando a zero em algumas ocasiões. Provavelmente, esse fato se deva ao

alto grau de degradação da paisagem, pois em condições naturais pretéritas, as árvores pioneiras deveriam aparecer em densidades mais baixas, como, por exemplo, em bordas de clareiras (Tabarelli e Mantovani, 1999). Uma vez que, nas condições obtidas durante este estudo, a abundância de árvores foi muito elevada, provavelmente as taxas de visitação se encontram diluídas e, portanto, baixíssimas. É possível que este mecanismo de mudança de cor tenha evoluído em condições onde a densidade de pioneiras, como *T. pulchra* e *T. sellowiana* fosse tão baixa que valeria a pena sinalizar, no meio da mata, que a planta está florescendo.

Entre os compostos identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, em filetes de plantas novas, pode-se ressaltar o decanal e o indol, que também foram observados em espécies do gênero *Ficus* polinizadas por vespas (Grison-Pigé et al., 2002), e o indol em flores polizadas por mariposas (Knudsen & Tollsten, 1993) bem como em flores de jasmim e de laranja, visitadas por *Apis* sp. (Laatsch & Matthies, 1992). O heptanal, encontrado em pétalas, também já foi identificado em flores polinizadas por morcegos (Varassin et al., 2001), apesar de nem sempre os compostos majoritariamente encontrados serem os responsáveis pela atração do polinizador.

A porcentagem de alguns compostos foi consideravelmente modificada ao se comparar o resultado obtido em filetes novos e velhos (Figura 2). Pode-se citar como exemplos o heptanal, que compunha apenas 12% do perfume do filete novo e passou a representar 1,2% do perfume floral existente nos filetes velhos, e o 4-(2-propenil) fenol, que passou de 21,4% existente nos filetes novos para 4% nos filetes velhos. Outros compostos, como o nonanal, tiveram sua porcentagem relativa reduzida de 40% a 5,4%, enquanto outros ainda passaram de traço a alguma quantidade significativa, ou o contrário. Essas modificações indicam claramente a existência de diferenças entre o perfume floral encontrado nas flores novas e nas velhas. Entretanto, um exame quantitativo se mostra necessário para que se possa avaliar com mais propriedade as dimensões dessas diferenças.

Sobre o *display* floral, foi notado, durante os ensaios, que quando havia flores novas não miméticas (tratamento **a**) próximas a flores novas miméticas (tratamento **b**), podia-se observar um aumento de visitas nestas flores, e os polinizadores também se aproximavam e pousavam em flores velhas miméticas (tratamento **d**), mesmo sendo uma flor velha. Entretanto, no caso de flores do tratamento **b** (flores novas miméticas) próximas do tratamento **c** (flores velhas não miméticas), as abelhas sequer se

aproximavam para averiguar, apesar de se tratar de uma flor nova, com pólen disponível, apenas apresentando suas pétalas alteradas. Nesse caso, o excesso de flores roxas sem nenhuma flor com pétalas brancas nas proximidades não funcionava como um atrativo para a abelha (Figura 3).

Dentre as quatro situações expostas pela Figura 3, a (c) foi a que mais proporcionou atração uma vez que a flor modificada tinha aspecto de velha, mas perfume de nova. As flores brancas ao redor induziam a abelha a se aproximar e, uma vez perto da flor modificada, elas realizavam a visita atraídas possivelmente pelo perfume. Essa observação qualitativa indica que a disposição das flores novas, velhas e miméticas influenciavam as visitas das abelhas.

Kudo et al. (2007) analisaram a importância do *display* floral para o comportamento dos polinizadores, utilizando flores artificiais em diversas composições de cores e de tamanho das inflorescências. Eles concluem que a eficiência da mudança de cor sobre a atração, o número de flores visitadas e a eficiência dos polinizadores são afetados pelo tamanho do *display* da planta como um todo e pelo padrão de floração das plantas.

Makino et al. (2007) observaram que as densidades de visitantes aumentaram com o tamanho do *display* floral, tanto para visitantes ocasionais quanto para visitantes regulares em *Cirsium purpuratum*. Além disso, plantas com *displays* maiores provavelmente experimentam maior diversidade de parceiros por atrair mais visitantes ocasionais, mas elas também garantem encontros com outras plantas aumentando o retorno dos visitantes regulares. Conforme indicado na Figura 3, as situações (a) e (c) recebiam mais visitas nas flores alteradas do que as que se encontravam nas situações (b) e (d), que apresentavam um *display* composto principalmente por flores velhas e que eram evitadas pelas abelhas possivelmente por não apresentarem indícios visuais de oferta de pólen.

Pode-se também considerar que, uma vez que a retenção das flores velhas nessas espécies de *Tibouchina* efetivamente ocorre, pode ser importante distinguir a presença de flores velhas das jovens, evitando que a flor velha seja mimética da nova. Novos estudos devem ser conduzidos, visando a comparação entre flores cuja antese é estendida, para verificar se e como ocorre a mudança de cores nessas espécies.

Dessa maneira, o presente estudo, tendo estabelecido relações entre a mudança de coloração e de perfume das flores de *T. pulchra* e *T. sellowiana*, e as taxas de visitas de polinizadores, conclui sugerindo que tanto a coloração quanto o perfume

das flores de *T. pulchra* e *T. sellowiana* não podem ser indicados como fatores únicos para a atratividade de seus polinizadores, mas que atuam de forma sinérgica (Lehrer, 1997; Majestic et al., 2007). Análises das respostas das abelhas aos perfumes por detector eletroantegráfico seriam interessantes para avaliar o grau de influência das mudanças de composição floral sobre as abelhas.

O presente estudo também sugere que haja prosseguimento nas investigações sobre os fatores que influenciam a atratividade dos polinizadores de *T. pulchra* e *T. sellowiana* (isoladamente ou correlacionados, uma vez que cada fator parece exercer influência na taxa de visitação dos polinizadores sobre os demais fatores), levando-se em conta as possíveis variações no *display* floral apresentado pela planta, analisando-se as diferentes proporções entre flores novas e velhas próximas umas das outras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSSON, S. 1988. Size-dependent pollination efficiency in *Anchusa officinalis* (Boraginaceae): causes and consequences. *Oecologia* 76, 125–130.
- ANDERSSON, S. 1991. Floral *display* and pollination success in *Achillea ptarmica* (Asteraceae). *Holarctic Biology* 14, 186–191.
- AYASSE, M., SCHIESTL, F. P., PAULUS, H. F., LÖFSTEDT, C., HANSSON, B., IBARRA, F., e FRANCKE, W. 2000. Evolution of reproductive strategies in the sexually deceptive orchid *Ophrys sphegodes*: how does flower-specific variation of odor signals influence reproductive success? *Evolution* 54(6):1995Y2006.
- BESTMANN, H. J., WINKLER, L., e VON HELVERSEN, O. 1997. Headspace analysis of volatile flower scent constituents of bat-pollinated plants. *Phytochemistry* 46:1169Y1172.
- BESTMANN, H. J., WINKLER, L., e VON HELVERSEN, O. 2004. Sulphur-containing "perfumes" attract flower-visiting bats. *J. Comp. Physiol.* 186(2):143Y153.
- BUCHMANN, S. L. 1983. Buzz pollination in Angiosperms. In Handbook of experimental pollination biology (C. E. Jones e R. J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York. P. 73Y113.
- BUCHMANN, S. L. e HURLEY, J. P. 1978. A biophysical model for buzz pollination in Angiosperms. *J. Theoretical Biol.* 72:639Y657.
- DYER, A. G. 2004. The evolution of flower signals to attract pollinators. *Chemistry in Australia* 1:4Y6.
- ENDRESS, P. K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge. 511p.
- EFFMERT, U., GROSSE, J., ROSE, U. S. R., EHRIG, F., KAGI, R., e PIECHULLA, B. 2005. Volatile composition, emission pattern, and localization of floral scent emission in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *Am. J. Bot.* 92(1):2Y12.
- FLEET D. S. 1952. Histochemical location of enzymes in vascular plants. *Botanical Review* 18: 354Y398.
- FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. Academic Press, New York.
- FRACASSO C. M. e SAZIMA, M. 2004. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade,

- comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Revista Brasileira de Botânica* 27:797Y804.
- GALIZIA, C. G., KUNZE, J., GUMBERT, A., BORG-KALSON, A., SACHSE, S., MARKL, C., e MENZE, R. 2004. Relationship of visual and olfactory signal parameters in a food-deceptive flower mimicry system. *Behav. Ecol.* 16(1):159Y168.
- GIURFA, M., NUÑEZ, J., CHITTKA, L., e MENZEL, R. 1995. Colour preferences of flower-naive honeybees. *Journal of Comparative Physiology* 117(3):247Y259.
- GOLDENBERG, R. e VARASSIN, I. G. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 24 (3): 283Y288.
- GRESSLER, E., PIZO, M. A., e MORELLATO, P. C. 2006. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 29(4):509Y530.
- GRINDELAND, J. M., SLETVOLD, N., e IMS, R. A. 2005. Effects of floral *display* size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology* 19:383Y390.
- GRISON, L., EDWARDS, A. A., e HOSSAERT-MCKEY, M. 1999. Interspecific variation in floral fragrances emitted by tropical *Ficus* species. *Phytochemistry* 52:1293Y1299.
- GRISON-PIGÉ, L., HOSSAERT-MCKEY, M., GREEFF, J. M., e BESSIÈRE, J. M. 2002. Fig volatile compounds – a first comparative study. *Phytochemistry* 61:61Y71.
- GRISON-PIGÉ, L., BESSIÈRE, J. M., e HOSSAERT-MCKEY, M. 2002. Specific attraction of fig-pollinating wasps: role of volatile compounds released by tropical figs. *J. Chem. Ecol.* 28(2):283Y295.
- GUMBERT, A. 2000. Color choices by bumble bees (*Bombus terrestris*): innate preferences and generalization after learning. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48(1):36Y43.
- JOHANSEN D. A. 1940. Plant microtechnique. Mc GrawHill, New York.
- KLINKHAMER, P.G.L. e DE JONG, T.J. 1990. Effects of plant size, plant density and sex differential nectar reward on pollinator visitation in the protandrous *Echium vulgare* (Boraginaceae). *Oikos* 57, 399–405.

- KNUDSEN, J. T. e TOLLSTEN, L. 1993. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. *Bot. J. Linn. Soc.* 113:263Y284.
- KNUDSEN, J. T., TOLLSTEN, L., e ERVIK, F. 2001. Flower scent and pollination in selected neotropical palms. *Plant biol (Stuttg)*. 3:642Y653.
- KUDO, G., HIROSHI, S. I., HIRABAYASHI, Y., e IDA, T. Y. 2007. A test of the effect of floral color change on pollination effectiveness using artificial inflorescences visited by bumblebees. *Oecologia* 154:119Y128.
- LAATSCH, H. e MATTHIES, L. 1992. The characteristic odor of *Coprinus picaceus*: a rapid enrichment procedure for apolar, volatile indoles. *Mycologia* 84(2):264Y266.
- LARSON, B. M. H e BARRETT, S. C. H. 1999. The pollination ecology of buzz-pollinated *Rhexia virginica* (Melastomataceae). *American Journal of Botany* 86(4): 502Y511.
- LEHRER, M. 1994. Spatial vision in the honeybee: the use of different cues in different tasks. *Vision research* 34(18):2363Y2385.
- LEHRER, M. 1997. Honeybees' visual spatial orientation at the feeding site. In: *Orientation and communication in Arthropods*. Birkhäuser, Zúrique.
- LEITÃO-FILHO, H.F., PAGANO, S.N., CESAR, O., TIMONI, J.L., e RUEDA, J.J. 1993. Ecologia da Mata Atlântica em Cubatão. Editora da Universidade Estadual Paulista/Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- LORENZI, H. 1992. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Plantarum, São Paulo.
- MAJESTIC, C. J., RAGUSO, R. A., TONSOR, S. J., e ASHMAN, T. L. 2007. Flower color – flower scent associations in polymorphic *Hesperis matronalis* (Brassicaceae). *Phytochem.* 68:865Y874.
- MAKINO, T. T., OHASHI, K., e SAKAI, S. 2007. How do floral *display* size and the density of surrounding flowers influence the likelihood of bumble bee revisitation to a plant? *Functional Ecology* 21:7Y95.
- MASSON, C. 1982. Physiologie sensorielle et comportement de l'abeille. *C. R. Acad. Agric.* 1982:1350Y1361.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). 1999. Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Mata Atlântica e Campos Sulinos. Brasília, Ministério do Meio Ambiente, Brasília, Brasil.

- MITCHELL, R. J., KARRON, J. D., HOLMQUIST, K. G., e BELL, J. M. 2004. The influence of *Mimulus ringens* floral display size on pollinator visitation patterns. *Functional Ecology* 18:116Y124.
- NIESENBAUM, R. A., PATSELAS, M. G., e WEINER, S. D. 1998. Does flower color change in *Aster vimineus* cue pollinators? *Am. Midl. Nat.* 141:59Y68.
- OHASHI, K. e YAHARA, T. 2002. Visit larger displays but probe proportionally fewer flowers: counterintuitive behaviour of nectar-collecting bumble bees achieves an ideal free distribution. *Functional Ecology* 16, 492–503.
- PHAM-DELÈGUE, M. H.; MASSON, C.; ETIEVANT, P., e AZAR, M. 1986. Selective olfactory choices of the honeybee among sunflower aromas: a study by combined olfactory conditioning and chemical analysis. *J. Chem. Ecol.* 12:781Y793.
- PROCTOR, M.; YEO, P., e LACK, A. 1996. The pollination of the flowers. Taplinger Publ. Company, New York.
- PROENÇA, C. E. B. 1992. Buzz pollination – older and more widespread than we think? *Journal of Tropical Ecology* 8:115Y120.
- RAGUSO, R. A., e WILLIS, M. A. 2002. Synergy between visual and olfactory cues in nectar feeding by naïve hawkmoths, *Manduca sexta*. *Animal Behaviour* 64:685Y695.
- RAGUSO, R. A., e WILLIS, M. A. 2005. Synergy between visual and olfactory cues in nectar feeding by wild hawkmoths, *Manduca sexta*. *Animal Behaviour* 69:407Y418.
- REITZ, R., KLEIN, R.M., e REIS, A. 1988. Projeto madeira do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.
- RENNER, S. S. 1989. A survey of reproductive biology in neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 76(2):496Y120.
- RENNER, S. S. 1993. Phylogeny and classification of the Melastomataceae. *Nord. J. Bot.* 13: 519Y540.
- ROMERO, R. e MARTINS, A. B. 2002. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 25 (1): 19Y24.
- ROUBIK, D. W. 1992. Ecology and natural history of tropical bees. (Cambridge Tropical Biology Series) Cambridge University Press. NY.

- SALZMANN, C. C., e SCHIESTL, F. P. 2006. Odour and color polymorphism in the food-deceptive orchid *Dactylorhiza romana*. *Plant Systematics and Evolution* 267:37Y45.
- SCHERNSKE, D. W. e BRADSHAW Jr., H. D. 1999. Pollinator preference and the evolution of floral traits in monkeyflowers (*Mimulus*). *PNAS* 96 (21):11910Y11915.
- SCHIESTL, F. P., PEAKALL, R., e MANT, J. 2004. Chemical communication in the sexually deceptive orchid genus *Cryptostylis*. *Botanical Journal of the Linnean Society* 144(2):199Y207.
- SECRETARIA DE ESTADO DE DESENVOLVIMENTO REGIONAL. 2003. Cartas climáticas de Santa Catarina. Governo de Santa Catarina.
- SILVA, J. B. 2006. Biologia das interações entre os visitantes florais (Hymenoptera, Apidae) em *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- SILVA, F. J. T., SCHWADE, M. R. M., e WEBBER, A. C. 2007. Fenologia, biologia floral e polinização de *Erythroxylum cf macrophyllum* (Erythroxylaceae), na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Biociências* 5 (1):186Y188.
- SILVEIRA, F.A., NEGREIROS, D., e FERNANDES, G.W. 2004. Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Marcetia taxifolia* (A. St.-Hil.) DC. (Melastomataceae) *Acta Botanica Brasilica* 18: 847Y851.
- SIMÃO, E. 2005. Estudo da germinação de sementes de *Tibouchina mutabilis* (Vell.) Cogn. (Melastomataceae). PhD dissertation – Universidade Estadual Paulista, São Paulo.
- TABARELLI, M. e MANTOVANI, W. 1999. Clareiras naturais e a riqueza de espécies pioneiras em uma floresta atlântica montana. *Rev. Brasil. Biol.*, 59(2):251Y261.
- TORENZAN-SEILINGARDI, H. M. e DEL-CLARO, K. 1998. Behavior of visitors and reproductive biology of *Campomanesia pubescens* (Myrtaceae) in cerrado vegetation. *Ciência e Cultura* 50:281Y284.
- VAINSTEIN, A., LEWINSOHN, E., PICHERSKY, E., e WEISS, D. 2001. Floral fragrance. New inroads into an old commodity. *Plant Physiology*. 127:1383Y1389.
- VARASSIN, I. G.; SAZIMA, M. e TRIGO, J. R. 2001. The role of néctar production, flower pigments and odour in the pollination of four species of *Passiflora* (Passifloraceae) in south-eastern Brazil. *Bot. J. Linn. Soc.* 136:139-152.

- VELOSO, H. P.; RANGEL-FILHO, A. L. R. R., e LIMA, J. C. A. 1991. Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística/IBGE, Rio de Janeiro.
- VELTEN, S.B. and GARCIA Q.S. 2005. Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Eremanthus* (Asteraceae), ocorrentes na Serra do Cipó, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasílica* 19:753Y761.
- WEISS, M. R. 1991. Floral color changes as cues for pollinator. *Nature* 354:227Y229.
- WHITTEN, W.M., YOUNG, A.M., e STERN, D.L. 1993. Nonfloral sources of chemicals that attract male euglossine bees (Apidae:Euglossini). *J. Chem. Ecol.* 19: 3017Y3027.
- WILLIAMS, N. H. 1982. *The biology of orchids and euglossine bees*. Pp. 119Y171 in J. Arditti, ed. *Orchid Biology: Reviews and perspectives*. II. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.
- WILLIAMS, N. H. e WHITTEN, W. M. 1983. Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. *Biol. Bull.* 164:355Y395.
- WILSON, M. F. e RATHCKE, B. J. 1974. Adaptive design of the floral *display* in *Asclepias syriaca* L. *American Midland Naturalist*, 92(1): 47Y57
- WURDACK, J. J. 1962. Melastomataceae de Santa Catarina. *Sellowia* 14: 109Y217.
- ZAR, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis* (4a. ed). New Jersey: Prentice-Hall International Inc.

TABELA 1: Viabilidade polínica de *T. pulchra* durante os três primeiros dias da antese.

	Tamanho da antera	Grãos viáveis	Grãos inviáveis
<b>1º dia</b>	P	1062	138
	G	1070	130
<b>2º dia</b>	P	1026	174
	G	1091	109
<b>3º dia</b>	P	1053	147
	G	1078	122

TABELA 2: Eficiência dos polinizadores de *T. sellowiana*.

Polinizadores	Polinizações	Frutos formados
<i>B. morio</i>	18	18
<i>B. atratus</i>	17	14

TABELA 3: Compostos voláteis observados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG-EM) em filetes de *T. pulchra*.

Tempo de Retenção (min)	Abundância relativa (%)		Compostos
	filete novo	filete velho	
7.43	0.00	0.67	desconhecido
9.23	12.00	1.22	Heptanal
9.81	1.00	0.00	desconhecido
12.51	19.00	15.17	1-Octen-3-ol
12.84	1.00	0.00	desconhecido

---

13.24	1.00	0.00	desconhecido
13.6	1.00	0.88	Octanal
14.69	0.00	14.01	Limoneno
14.99	1.00	1.04	desconhecido
15.45	1.00	0.77	Aldeído fenil acético
15.64	2.00	0.00	Monoterpeno não identificado
17.01	1.00	0.00	desconhecido
18.09	1.00	1.28	Linalol
18.29	40.00	5.49	Nonanal
18.68	1.00	2.05	Benezeno etanol
19.26	3.00	0.00	1-Octenotiol
19.89	1.00	1.94	Fenil acetonitrila
21.54	0.00	0.64	desconhecido
21.86	0.00	0.69	desconhecido
22.27	1.00	0.00	desconhecido
23.01	1.00	2.54	Decanal
24.12	2.00	1.01	desconhecido
25.21	4.00	21.47	4-(2-propenil) fenol
25.55	0.00	1.17	Decenal
25.95	2.00	0.66	Ácido nonanóico
26.96	5.00	27.30	Indol

---

TABELA 4: Número de visitas às flores de *T. pulchra* e *T. sellowiana* no ensaio de cores.

<b>Polinizador</b>	<b>Tratamento a</b> (flores novas)	<b>Tratamento b</b> (flores novas miméticas)	<b>Tratamento c</b> (flores velhas)	<b>Tratamento d</b> (flores velhas miméticas)
<b><i>T. pulchra</i></b>				
<i>T. spinipes</i>	24	11	0	0
<i>P. subnuda</i>	29	4	0	0
<i>M. bicolor</i>	14	4	0	0
<b><i>T. sellowiana</i></b>				
<i>B. morio</i>	46	36	0	7
<i>B. atratus</i>	19	13	0	0
<i>Augochloropsis</i> sp	2	1	0	1

TABELA 5: Número de visitas às flores de *T. pulchra* e *T. sellowiana* no ensaio de perfumes.

<b>Polinizador</b>	<b>Tratamento a</b> (flores novas)	<b>Tratamento b</b> (flores novas miméticas)	<b>Tratamento c</b> (flores velhas)	<b>Tratamento d</b> (flores velhas miméticas)
<b><i>T. pulchra</i></b>				
<i>B. atratus</i>	8	4	0	0
Não identificada	1	1	0	0
<b><i>T. sellowiana</i></b>				
<i>B. morio</i>	35	25	3	8
<i>B. atratus</i>	10	11	0	2
<i>P. saiqui</i>	3	3	0	2

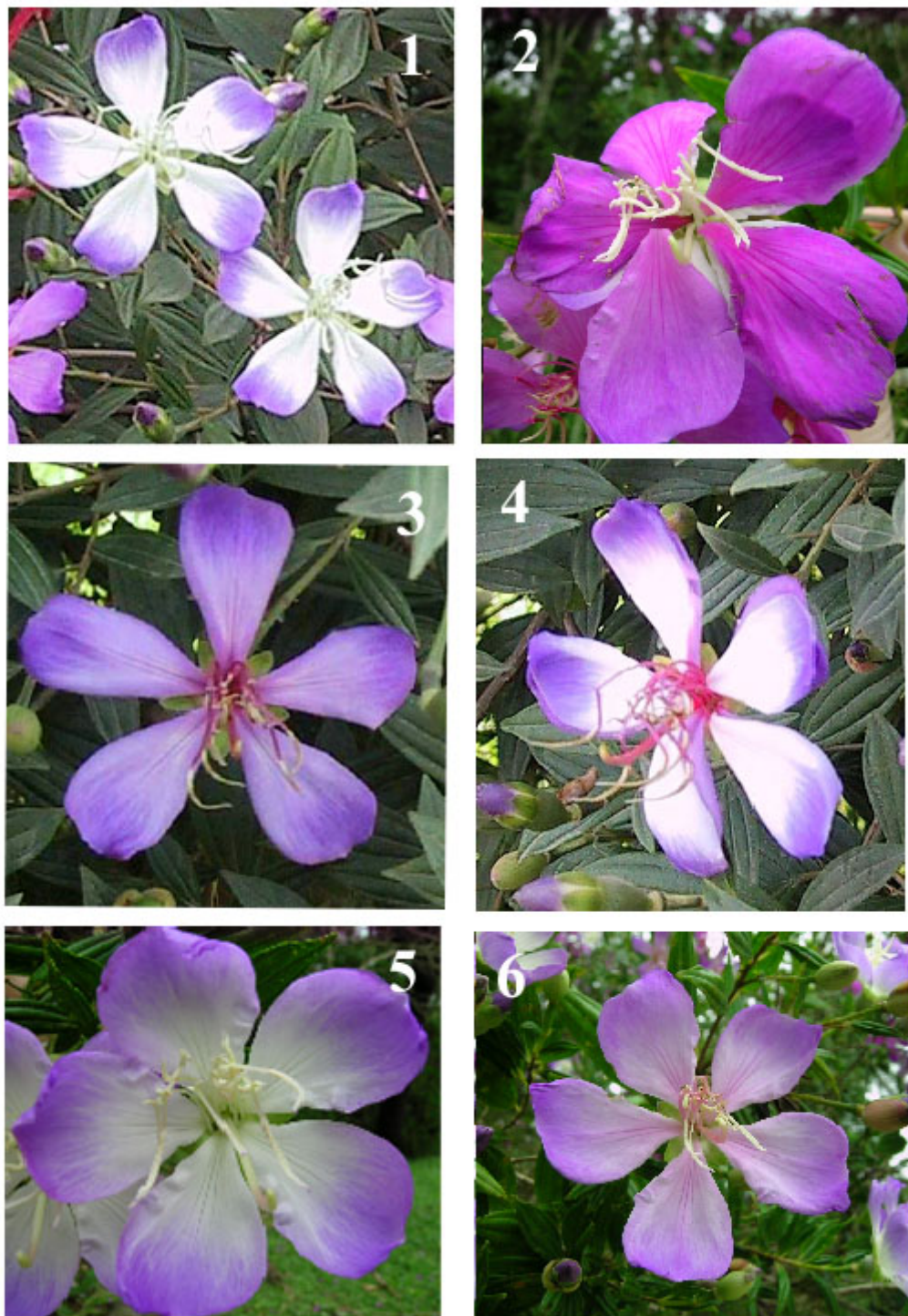


FIG. 1:1 – Tratamento **a**, flor nova. 2 - Tratamento **b**, flor nova mimética com pétalas de flor velha (mimética de cor). 3 - Tratamento **c**, flor velha. 4 - Tratamento **d**, flor velha mimética com pétalas novas (mimética de cor). 5 - Flor de *T. sellowiana* no primeiro dia após a antese, apresentando pétalas com coloração branca e bordas roxas, e peças reprodutivas brancas. 6 - Flor de *T. sellowiana* no segundo dia após a antese, apresentando coloração arroxeada pálida e filetes rosados.

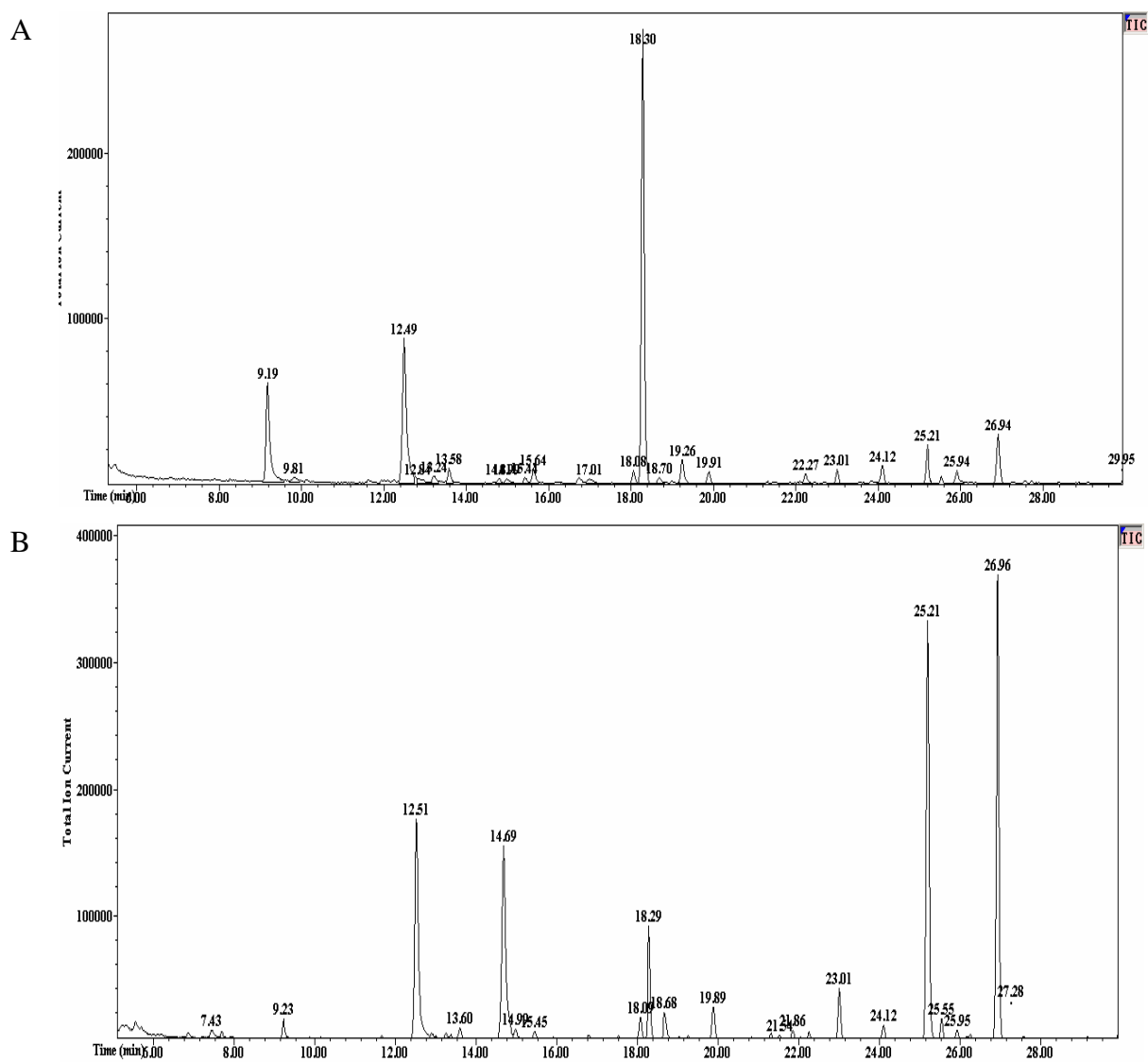


FIG. 2: Cromatogramas dos compostos voláteis de filetes de *T. pulchra*. A) Filete de flores de primeiro dia de antese; B) filete de flores de segundo dia de antese.

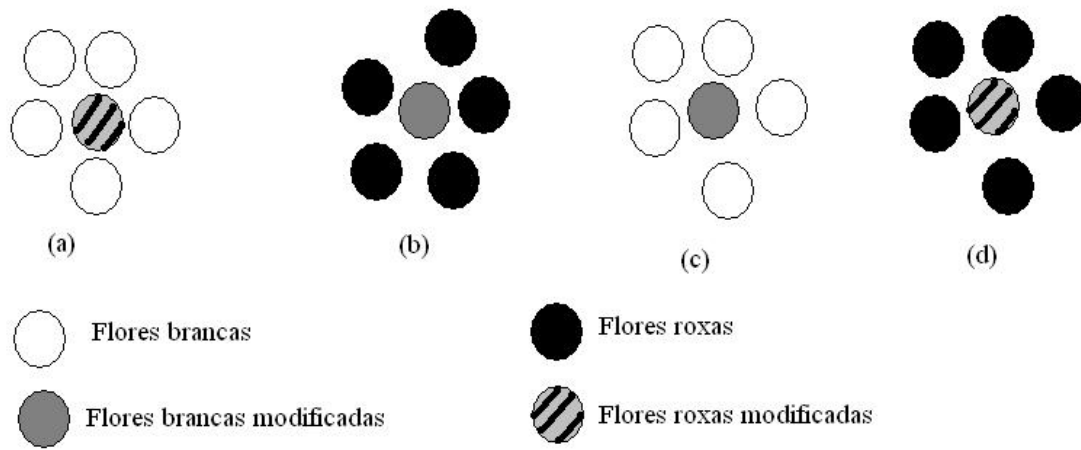


FIG. 3: Combinações encontradas de *display* floral durante o experimento de cores. Em (a) e (c), as abelhas pousavam na flor roxa modificada, enquanto em (b) e em (d) elas raramente se aproximavam para averiguar.