



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

JULIANE DA SILVA PORTELA

**OSMÓFOROS DE *Guazuma ulmifolia* Lam. (MALVACEAE): ESTRUTURA,
FUNCIONALIDADE E INTERAÇÕES COM VISITANTES FLORAIS**

FORTALEZA

2022

JULIANE DA SILVA PORTELA

OSMÓFOROS DE *Guazuma ulmifolia* Lam. (MALVACEAE): ESTRUTURA,
FUNCIONALIDADE E INTERAÇÕES COM VISITANTES FLORAIS

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e Recursos
Naturais da Universidade Federal do Ceará
como requisito para obtenção do grau de
Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.
Linha de pesquisa: Ecologia Terrestre.

Orientadora: Prof^a. Dra. Arlete Aparecida
Soares

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- P877o Portela, Juliane da Silva.
Osmóforos de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae): estrutura, funcionalidade e interações com visitantes florais / Juliane da Silva Portela. – 2022.
47 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Fortaleza, 2022.
Orientação: Profa. Dra. Arlete Aparecida Soares.
1. Atratividade. 2. Insetos. 3. Polinização. 4. Odores florais. I. Título.

CDD 577

JULIANE DA SILVA PORTELA

OSMÓFOROS DE *Guazuma ulmifolia* (MALVACEAE): ESTRUTURA,
FUNCIONALIDADE E INTERAÇÕES COM VISITANTES FLORAIS

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e Recursos
Naturais da Universidade Federal do Ceará
como requisito para obtenção do grau de
Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.
Linha de pesquisa: Ecologia Terrestre.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Arlete Aparecida
Soares

Aprovada em: 23/02/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Arlete Aparecida Soares (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira (Titular 1)
Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Prof. Dr. Jober Fernando Sobczak (Titular 2)
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Dra. Julia Caram Sfair (Suplente)
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – DS (Processo nº 88887.494791/2020-00).

À professora Arlete, pela orientação, suporte, companheirismo e muitos ensinamentos.

Ao prof. Ronaldo Nascimento e ao Hélio Oliveira, do Departamento de Química Analítica e Físico-Química e ao Laboratório de Análises de Traços (LAT - UFC) pela parceria e todo o aparato oferecido para a realização das análises em Cromatografia Gasosa.

Ao prof. Lorenzo, pelo suporte e pela disponibilidade em me ajudar e me ensinar as análises estatísticas. À Dra. Celli, por sua boa vontade e contribuição nas análises de microscopia eletrônica de varredura. Ao Dr. Fermín, por toda paciência e tempo dedicado em me auxiliar das mais diversas formas à distância neste trabalho e por tudo que me ensinou.

Ao Laboratório de Morfologia e Anatomia Vegetal, pelo acolhimento e suporte durante minha formação acadêmica. Aos integrantes: Raul, Sérgio, Paloma, Andrielli, Gino, Matheus e Prof^a. Arlete por todo amparo, ajuda e companheirismo.

À minha família, por todo o suporte e amor que me oferecem até hoje. Suas orações me sustentam. Ao meu pai, por ter sido o melhor ajudante de campo. À minha mãe, por todo o cuidado que teve comigo. À minha irmã, pela amizade e todos os conselhos. Pelo meu cunhado, que considero como irmão. Vocês foram essenciais nessa jornada.

A Deus, razão da minha existência. Pela Sua presença em todos os momentos da minha vida. Por ter me sustentado até aqui e me ajudado a vencer todas as dificuldades.

A todos os amigos, familiares, colegas da universidade que me auxiliaram direta ou indiretamente durante esse período. A todos, muito obrigada!

RESUMO

Muitas interações entre plantas e polinizadores são mediadas por compostos orgânicos voláteis (VOCs) florais. Estes podem ser produzidos em glândulas especializadas denominadas osmóforos, que desempenham uma importante função na atração de polinizadores. Entretanto, pouca atenção tem sido dada à funcionalidade dos osmóforos e sua relação com a variação temporal dos VOCs florais secretados por eles. Para entender como a variação da morfologia floral e da liberação de odores pelos osmóforos afeta a abundância, a composição e o comportamento de insetos visitantes florais, utilizamos como modelo as flores de *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae). Para avaliar as variações morfológicas e de liberação de odores florais foram feitas observações das mudanças morfológicas florais, análises anatômicas e histoquímicas e cromatografia gasosa. Para coletar dados de abundância, composição e comportamento dos visitantes florais, foram realizadas observações, capturas, medidas e identificações dos insetos. Os resultados mostraram que a maior liberação de compostos relacionados à atração de insetos ocorre no segundo dia de vida floral, que corresponde também ao dia de maior frequência e riqueza de visitantes. As câmaras masculina e feminina apresentam uma composição de visitantes distinta em relação ao tamanho corporal. Nossos resultados indicaram que o odor atua como um importante atrativo floral e que o tamanho do acesso à câmara atua como um fator limitante à visita. Os resultados de comportamento, frequência e acessibilidade às câmaras florais mostraram que os pequenos dípteros, coleópteros e vespas da superfamília Chalcidoidea constituem o grupo de polinizadores de *G. ulmifolia*, portanto, pode ser incluso no sistema de polinização SDI.

Palavras-chave: atratividade; insetos; polinização; odores florais.

ABSTRACT

Many interactions between plants and pollinators are mediated by floral Volatile Organic Compounds (VOCs). Those compounds may be produced by specialized glands called osmophores, they play an important role in the attraction of pollinators. However, little attention has been paid to the functionality of the osmophores and its relation to the temporal variation of the floral VOCs secreted by them. To understand how the variation of the floral morphology and the release of scents by the osmophores affect the abundance, composition and behavior of floral visitor insects, this study used the flowers of *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) as a model. To evaluate the variation of morphology and release of floral scents, observations of changes in floral morphology, anatomic and histochemical analysis and gas chromatography were made. Data of abundance, composition and floral visitors' behavior were collected, and insects were captured, measured and identified. The results show that the biggest release of compounds related to the attractions of insects happens on the second day of anthesis, which also corresponds to the day with the highest frequency and species richness. The male and female chambers show a distinct composition of visitors in relation to the body size. The results indicate that the scent acts as an important floral trait and the size of the access to the chamber acts as a limiting factor to the visitation. The results of behavior, abundance and accessibility of floral chambers has shown that small insects (Diptera, Coleoptera and Chalcidoidea wasps) are the pollinators of *G. ulmifolia*, therefore, it can be included in the SDI pollination system.

Keywords: attractiveness; insects; pollination; floral odors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Morfologia floral de <i>Guazuma ulmifolia</i>	19
Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura de flores de <i>Guazuma ulmifolia</i> em diferentes períodos de antese.....	21
Figura 3 – Botão floral e flor de <i>Guazuma ulmifolia</i> sob microscopia óptica.....	22
Figura 4 – Emissão de voláteis ao longo da antese floral.....	25
Figura 5 – Dinâmica dos visitantes florais.....	28
Figura 6 – Visitantes florais de <i>Guazuma ulmifolia</i>	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Critérios utilizados na observação dos visitantes florais.....	16
Tabela 2 – Compostos voláteis presentes nas flores de <i>Guazuma ulmifolia</i>	24
Tabela 3 – Morfoespécies de visitantes florais.....	27
Tabela 4 – Tamanho corporal dos visitantes e acessibilidade às câmaras florais.....	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	13
2.1	Área de estudo.....	13
2.2	Espécie.....	13
2.3	Morfologia e longevidade floral.....	14
2.4	Osmóforos.....	14
2.5	VOCs florais.....	15
2.6	Visitantes florais.....	15
2.7	Polinizadores.....	16
3	RESULTADOS.....	18
3.1	Morfologia e longevidade floral.....	18
3.2	Osmóforos.....	20
3.3	VOCs florais.....	22
3.4	Visitantes florais.....	26
3.4.1	<i>Abundância e composição.....</i>	26
3.4.2	<i>Comportamento.....</i>	28
3.5	Polinizadores.....	30
3.5.1	<i>Tamanho corporal e acessibilidade às câmaras florais.....</i>	30
3.5.2	<i>Contato com estruturas reprodutivas e transporte de pólen.....</i>	31
4	DISCUSSÃO.....	33
4.1	Variações e restrições morfológicas.....	33
4.2	VOCs florais.....	34
4.3	Polinizadores e sistema de polinização de <i>Guazuma ulmifolia</i>.....	37
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	38
	REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

Os voláteis produzidos pelas plantas funcionam como pistas que mediam diversos tipos de interações com animais (Yang *et al.*, 2019; Kantsa *et al.*, 2018; Junker & Blüthgen, 2010). Entre o conjunto de características florais – cor, posição, forma tamanho, recursos (nectar, pólen, resina, óleos etc.), o odor é um dos componentes mais relevantes na atração de polinizadores, funcionando como atrativos à longa distância (Vogel, 1990; Whitehead & Peakall, 2009; Burkle & Runyon, 2017; Krug *et al.*, 2018; Conchou *et al.*, 2019; Lahondère *et al.*, 2020). Embora seja de amplo conhecimento a importância dos odores florais na atração de polinizadores (Knudsen & Gershenzon, 2006; Raguso & Gottsberger, 2017; Vasconcelos *et al.*, 2022), a incorporação das características químicas florais na estrutura conceitual da ecologia da polinização ainda não está bem estabelecida (Raguso e Gottsberger, 2017).

Em algumas plantas, os compostos orgânicos voláteis (VOCs, do inglês *volatile organic compounds*) que compõem os odores florais podem ser produzidos por células epidérmicas distribuídas por todo o perianto e brácteas adjacentes à flor, sendo liberados de forma difusa (Vogel, 1990). Em outras, no entanto, essa produção ocorre de forma localizada em regiões secretoras estruturadas como os osmóforos, que são glândulas secretoras especializadas na produção de substâncias lipofílicas voláteis, como monoterpenos e sesquiterpenos, localizadas em diferentes estruturas florais, como pétalas (Plachno *et al.*, 2016; Reposi *et al.*, 2021), sépalas (Pansarin *et al.*, 2016; Arevalo-Rodriguez *et al.*, 2021), filetes dos estames (Paiva *et al.* 2019), conectivos das anteras (Coelho *et al.*, 2017) e brácteas (Souza *et al.*, 2015). Embora se saiba que a evolução dos traços florais foi influenciada pelos seus polinizadores e que a composição química dos odores seja relacionada aos seus visitantes (Chittka & Menzel, 1992; Raguso, 2008), a variação temporal no funcionamento dos osmóforos e como ela afeta a dinâmica dos visitantes florais é pouco compreendida.

Até o momento, a maior parte dos estudos com osmóforos concentraram-se principalmente nas espécies de Orchidaceae (Pridgeon & Stern, 1983; Stern *et al.*, 1987; Kettler *et al.*, 2018; Kowalkowska & Krawczynska, 2019; Pansarin, 2022). No entanto, eles

são conhecidos em flores de diversas famílias como Solanaceae (Soares *et al.*, 1989; Sazima *et al.*, 1993; Paucar *et al.*, 2020), Araceae (Weryszko-Chmielewska & Stpiczynska, 1995; Gonçalves-Souza *et al.*, 2017), Fabaceae (Marinho *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2021), Lentibulariaceae (Plachno *et al.*, 2016), Apocynaceae (Auttama *et al.*, 2018; Nakahama *et al.*, 2013; Ollerton *et al.*, 2009) e Malvaceae (Souza & Venturieri, 2010; Razanamamaro *et al.*, 2015). Todavia, os estudos focaram principalmente na interação entre osmóforos e Orchidaceae e abelhas Euglossini. Assim, a variação na liberação dos odores e seus efeitos nas visitas às flores continua como uma lacuna no conhecimento (Casique *et al.*, 2018; Martini *et al.*, 2008; Singer & Koehler, 2003).

Atualmente, os trabalhos relacionados à variação temporal de VOCs florais abordam mudanças interanuais (Burkle *et al.*, 2020; Szenteczkiet *al.*, 2021), sazonais (Paul *et al.*, 2020), pré e pós-polinização (Dötterl *et al.*, 2012; Proffit *et al.*, 2018) e, sobretudo, mudanças entre dia e noite (Schiestl *et al.*, 1997; Dötterl *et al.*, 2012; Jurgens *et al.*, 2014; Barman & Mitra, 2019; Paul *et al.*, 2020). Poucos trabalhos enfocam nas mudanças dos VOCs ao longo do tempo de vida da flor, como Quintana-Rodrigues *et al.*, 2018, que avaliaram as mudanças dos traços florais ao longo de toda a antese floral de *Psittacanthus calyculatus*, e Silva *et al.*, 2019, que quantificaram e identificaram os VOCs produzidos durante o período de antese da flor de *Temnadenia odorifera* (Apocynaceae). Porém, nenhum desses estudos integra as mudanças nos VOCs florais à funcionalidade dos osmóforos produtores desses odores. As variações espaço-temporal na produção de odor podem fornecer pistas adicionais aos visitantes florais (Burdon *etal.*, 2017). Nesse contexto, compreender a variação química temporal das fragrâncias florais produzidas pelos osmóforos e como isso afeta a dinâmica de visitas às flores pode contribuir para o entendimento da importância dos odores na interação entre flores e seus visitantes.

Embora a família Malvaceae inclua espécies com flores perfumadas (Souza & Venturieri, 2010; Razanamamaro *et al.*, 2015; Pale-Ezquivel *et al.*, 2018), os odores florais e a sua relação com seus visitantes foram pouco estudados nessa família (Pale-Ezquivel *et al.*, 2018). *Guazuma ulmifolia* Lam. é uma representante arbórea da família Malvaceae que possui uma complexa morfologia floral com estruturas reprodutivas separadas em câmaras formadas pelas pétalas. Suas pétalas possuem apêndices filiformes onde se localizam seus osmóforos (Westerkamp *et al.*, 2005). Esses autores relataram que a forte fragrância floral

proveniente desses apêndices petalares, varia de intensidade ao longo do tempo, mas não investigaram o efeito dessa variação na dinâmica dos visitantes florais. Em observações preliminares, encontramos uma vasta gama de insetos de pequeno tamanho visitando as flores de *G. ulmifolia*, o que sugere que essa espécie pode se encaixar no sistema de polinização por pequenos insetos diversos – SDI, do inglês *small diverse insects* (Bawa *et al.*, 1985). Embora essa síndrome já tenha sido relatada para diversas regiões do mundo (Moreira & Freitas, 2020), a ocorrência de osmóforos em plantas com sistema SDI permanece pouco conhecida, embora Sharma & Armstrong (2013), tenham relatado flores noturnas muito aromáticas com polinização SDI. Assim, estudar a presença de osmóforos em plantas de sistemas SDI ajudará a compreender o papel dessas estruturas secretoras em sistemas de polinização generalistas.

A morfologia floral de *G. ulmifolia* foi descrita (Westerkamp *et al.*, 2005), mas a sua biologia reprodutiva ainda não é bem compreendida. Assim, buscamos entender o sistema de polinização de *G. ulmifolia* e as interações com seus visitantes florais. *G. ulmifolia* constitui um bom modelo para esse estudo, pois além da complexidade da sua morfologia floral ter sido bem detalhada, a espécie tem ampla distribuição na América Latina, incluindo o semiárido brasileiro (Colli-Silva, 2019). Além disso, avaliamos como a variação temporal na liberação de odores pelos osmóforos afeta a frequência de visitas e a composição de visitantes florais. Como hipótese, *propomos que a variação morfológica dos osmóforos e a variação temporal na liberação de seus odores modulam a dinâmica de visitantes florais*. Dessa forma, prevemos que: 1- quanto maior a intensidade do odor, maior serão a riqueza e a abundância de visitantes florais; 2- a variação nas substâncias odoríferas dos osmóforos ao longo do tempo de vida da flor se relacionará com a variação nos grupos de visitantes florais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

A coleta de dados foi realizada no Campus do Pici da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, e na Fazenda Experimental Vale do Curu – UFC, localizada no município de Pentecoste, a 120 km da capital do Ceará, Fortaleza. A fazenda possui uma área de 823 hectares com 142 ha de mata de Caatinga Arbustiva Densa conservada e com clima tropical quente semiárido (IPECE, 2012). A temperatura média anual é de 26,6°C e 770,5 mm de precipitação média, com chuvas concentradas nos meses de janeiro a junho (Aguiar *et al.*, 2002). O Campus do Pici, embora localizado em uma região urbanizada e com muitas interferências antrópicas, possui 212 hectares e abriga a Área de Relevante Interesse Ecológico (ARIE) da Matinha do Pici, composta por uma vegetação de mata de tabuleiro (Neto *et al.*, 2018). A temperatura média anual é de 26,9°C, com 1523mm de precipitação média anual (Rodrigues *et al.*, 2008).

2.2 Espécie

Guazuma ulmifolia Lam., popularmente conhecida como mutamba, é uma espécie arbórea comum em toda a América Latina, pertencente à família Malvaceae, subfamília Sterculioideae (Sobrinho & Siqueira, 2008). Sua ocorrência natural abrange quase todo o território brasileiro e está distribuída por quatro domínios fitogeográficos: Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Colli-Silva, 2019). Presente também em áreas antrópicas, a mutamba é considerada uma espécie pioneira na recuperação de áreas degradadas (Sobrinho & Siqueira, 2008). As plantas podem atingir cerca de 30 m de altura em sua fase adulta. Possui folhas simples de filotaxia alterna, medindo de 5 a 18 cm, membranáceas e pilosas em face dorsal, com tricomas estrelados. Seus frutos são secos e verrucosos, de verdes a negros e carregam cerca de 50 sementes (Carvalho, 2007). Suas flores agrupam-se em inflorescências do tipo panícula e medem de 3 a 5 mm². Maiores detalhes sobre a morfologia floral de *G. ulmifolia* podem ser consultados no trabalho de Westerkamp *et al.*, 2005.

2.3 Morfologia e longevidade floral

Acompanhamos 45 flores em três indivíduos para identificar e descrever as variações da morfologia floral desde a antese até a senescência. Para isto, no dia anterior, marcamos 45 botões em pré-antese. A partir da abertura dos botões florais, observamos as mudanças morfológicas das 6 às 18 horas até a senescência e morte floral. Os registros das observações foram feitos através de anotações e fotografias a cada hora.

2.4 Osmóforos

Para averiguar a localização dos osmóforos, flores recém-abertas intactas foram coletadas e imediatamente imersas em corante vermelho neutro (Vogel, 1963). Após a imersão de 40 minutos, as flores foram lavadas em água destilada e fotografadas em estereomicroscópio Nikon SMZ 1500. As áreas coradas em vermelho foram consideradas indicativas dos osmóforos.

Para entender a variação morfológica dos osmóforos ao longo do tempo de vida floral, foram coletadas três flores de cada estágio para análise em microscopia de varredura eletrônica (MEV). As flores foram fixadas em solução Karnosvisky (1965), com pós-fixação em tetróxido de ósmio 1% e, após três lavagens, procedeu-se a desidratação em série etílica, segundo Johansen, 1940. Posteriormente, o material foi desidratado no ponto crítico de CO₂ (Emitech K850), coberto com ouro (Emitech K550) e analisado ao microscópio de varredura eletrônica modelo VEGA3 TESCAN (*Czech Republic*).

Para análise anatômica dos osmóforos, coletamos cinco exemplares de flores de *G. ulmifolia*. As flores foram fixadas em solução Karnovsky (Karnovsky, 1965) por 48 horas e, após esse período, lavadas em tampão fosfato, desidratadas em série etílica crescente e incluídas em historresina Leica por infiltração lenta. As secções foram realizadas em micrótomo Leica 2065, distendidas em lâminas histológicas e coradas com azul de astra e safranina – Safrablau (Bukatsch, 1972) e Azul de Toluidina (O'Brien *et al.*, 1965).

Para os testes histoquímicos, utilizamos botões florais em pré-antese e flores no primeiro dia de abertura incluídos em historresina. O material foi submetido aos seguintes

reagentes: Vermelho de Rutênio, para detecção de mucilagens (Chamberlain, 1932); Lugol, para amido (Johansen, 1941); e Sudan III, para detectar lipídios (Sass, 1951). Os resultados foram registrados em microscópio Leica DM40000 com sistema de captura acoplado.

2.5 VOCs florais

Para entender a variação da intensidade do odor floral ao longo do dia e durante os dias de vida da flor, realizamos um teste olfativo segundo a metodologia de Vogel, 1990. Coletamos flores no período de maior percepção de odor (9h da manhã). Sessenta flores foram dissecadas e separadas em suas estruturas: osmóforos, pétalas, androceu e gineceu. As estruturas foram depositadas em frascos hermeticamente fechados (três repetições por estrutura). Após 40 minutos, os frascos foram abertos e o teste olfativo foi feito, classificando o odor em presença e ausência e intensidade: muito fraco; fraco; moderado; forte; muito forte.

Para a avaliação da emissão de odores pelos osmóforos ao longo do tempo de vida floral, marcamos botões florais em pré-antese durante três dias. Os botões não foram ensacados, sendo deixados em exposição aos visitantes florais. No terceiro dia, as flores foram coletadas, separadas em diferentes idades (primeiro, segundo e terceiro dia de abertura) e armazenadas em frascos herméticos. Para a detecção dos voláteis liberados pelos osmóforos, foi feita a extração dos compostos por HS-SPME (Microextração em fase sólida via *headspace*) (Rout *et al.*, 2012). Para a leitura, foi utilizado cromatógrafo gasoso acoplado a detector de espectrometria de massas GC/MS Shimadzu QP-2010 plus. A identificação dos compostos foi feita através da similaridade com os espectros de massas da biblioteca NIST (Linstrom & Mallard, 2018). Os compostos foram divididos em classes de VOCs florais de acordo com Knudsen & Gershenzon, 2006.

2.6 Visitantes florais

Para a coleta de dados de frequência e composição dos visitantes, realizamos capturas em três indivíduos de *G. ulmifolia* no campus do Pici, Universidade Federal do Ceará. As capturas foram realizadas por busca ativa com puçá (para insetos maiores) e

potes (para insetos menores), durante três dias, com tempo efetivo de 30 minutos em cada árvore em intervalos de duas horas, no período de 7 h às 17 h, totalizando 18 horas de captura efetiva. Os insetos capturados foram transferidos para uma câmara mortífera contendo acetato de etila e, posteriormente, armazenados em álcool 70% e identificados em nível de morfoespécie. Para dados de acessibilidade às câmaras florais, os insetos coletados foram medidos no comprimento e na largura do tórax e classificados quanto ao tamanho em relação ao diâmetro da abertura das câmaras florais: pequenos (0 a 3mm), médios (3,1mm a 7mm) e grandes (a partir de 7,1mm).

Para verificar o comportamento dos insetos durante as visitas, fizemos observações do tipo *scan sampling* (Altmann, 1974) nos mesmos indivíduos de *G. ulmifolia* e com o mesmo intervalo de tempo, totalizando 18 horas de observação de visitas. Para visitantes voadores, a observação foi feita a partir do momento do pouso na flor, até o seu voo. Para visitantes não-voadores que forrageiam durante todo o período de observação, como formigas e pulgões, padronizamos três minutos de observação para cada horário. Os critérios de observação estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Critérios utilizados na observação dos visitantes florais.

Critérios de observação	Categorias		
	Curto (> 5 s)	Médio (5 s a 1 min)	Longo (< 3 min)
Idade da flor visitada (com base no dia de abertura)	Recém-aberta (1º dia)	Aberta (2º dia)	Senescente (3º dia)
Visitou mais de uma flor	Sim		Não
Visitou botão	Sim		Não
Contato com a câmara feminina	Sim		Não
Contato com a câmara masculina	Sim		Não
Carregou pólen	Sim		Não

Fonte: Elaborada pela autora.

2.7 Polinizadores

Para averiguar os possíveis polinizadores, realizamos observações das visitas florais em 10 indivíduos de *G. ulmifolia* na Fazenda Experimental do Vale do Curu e três

indivíduos no Campus do Pici. Para isso utilizamos os seguintes critérios: acessibilidade às câmaras florais, transporte de pólen e comportamento durante as visitas. Para dados de acessibilidade dos visitantes às câmaras, realizamos medidas morfométricas das flores (comprimento e profundidade da câmara masculina e comprimento e largura das entradas das câmaras florais) e dos visitantes florais coletados (comprimento e largura do tórax). O transporte de pólen foi verificado através das observações em campo e em indivíduos coletados. O comportamento foi avaliado com base no contato com as estruturas reprodutivas.

3 RESULTADOS

3.1 Morfologia e longevidade floral

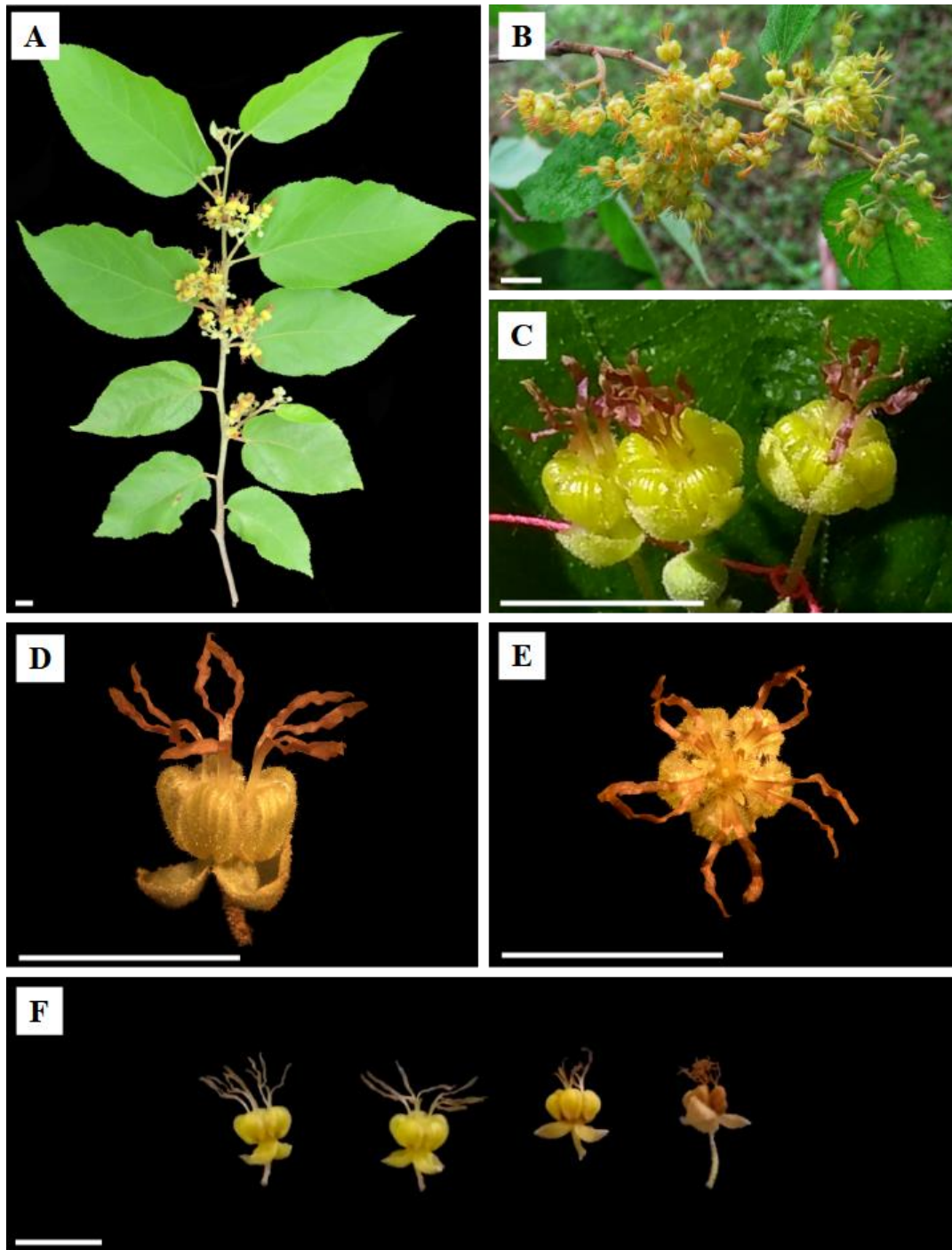
O tempo de vida das flores de *G. ulmifolia* é de, aproximadamente, três dias. A antese inicia-se por volta de cinco horas da manhã com a abertura dos botões florais. As cinco sépalas se separam em agrupamentos de duas e três sépalas e, durante uma a três horas, permanecem para cima, cobrindo as entradas da câmara masculina (Figura 1C). Após esse período, as sépalas descem expondo as entradas (Figura 1D) e permanecem assim até a senescência floral (Figura 1F). As pétalas apresentam uma mudança de coloração ao longo do tempo de vida da flor: possuem um tom amarelo-esverdeado durante a antese, modificando-se para um amarelo vivo durante o primeiro e o segundo dia de abertura (Figura 1C e 1D). Por volta do terceiro dia, começam a escurecer e terminam em um tom amarronzado no fim da vida floral (Figura 1F).

Na fase de botão, os apêndices petalares (osmóforos) se encontram totalmente enrolados, preenchendo a câmara feminina. Logo após a abertura do botão, inicia-se o desenrolamento, começando na base dos apêndices e terminando nas duas extremidades. Por volta das oito horas da manhã, a base dos apêndices está desenrolada paralelamente ao eixo floral, de forma que a câmara feminina se encontra parcialmente obstruída por eles (Figura 1C). Nas horas seguintes, as pontas se desenrolam e os apêndices gradualmente curvam-se para fora, expondo completamente a câmara feminina (Figura 1E). No segundo dia de vida da flor, os apêndices se encontram em seu maior grau de abertura (Figura 1F). No terceiro dia, os apêndices gradualmente escurecem, murcham, se tocam pela base e fecham novamente a câmara feminina, iniciando a senescência floral (Figura 1F).

As médias das medidas morfométricas obtidas foram: 1- câmara masculina: 3mm de comprimento e 1,5mm de profundidade; 2- entrada da câmara masculina: 1,3mm de comprimento e 1mm de largura; 3- entrada da câmara feminina: 2-3mm de profundidade e largura.

Figura 1 – Morfologia floral de *Guazuma ulmifolia*. A) Ramo contendo inflorescências com flores e botões. B) Inflorescência. C) Flores no início da antese. D) Vista lateral da flor. E) Vista vertical da flor, evidenciando a câmara

feminina com o estigma no centro e os apêndices florais dispostos radialmente. F) Flores de *G. ulmifolia* em diferentes dias após a abertura floral; da esquerda para a direita: primeiro dia, segundo dia, terceiro dia e quarto dia. A coloração e o formato dos apêndices petalares podem variar entre os indivíduos da espécie, sobretudo para espécimes não aparentados. Barra = 1cm.



Fonte: Elaborada pela autora.

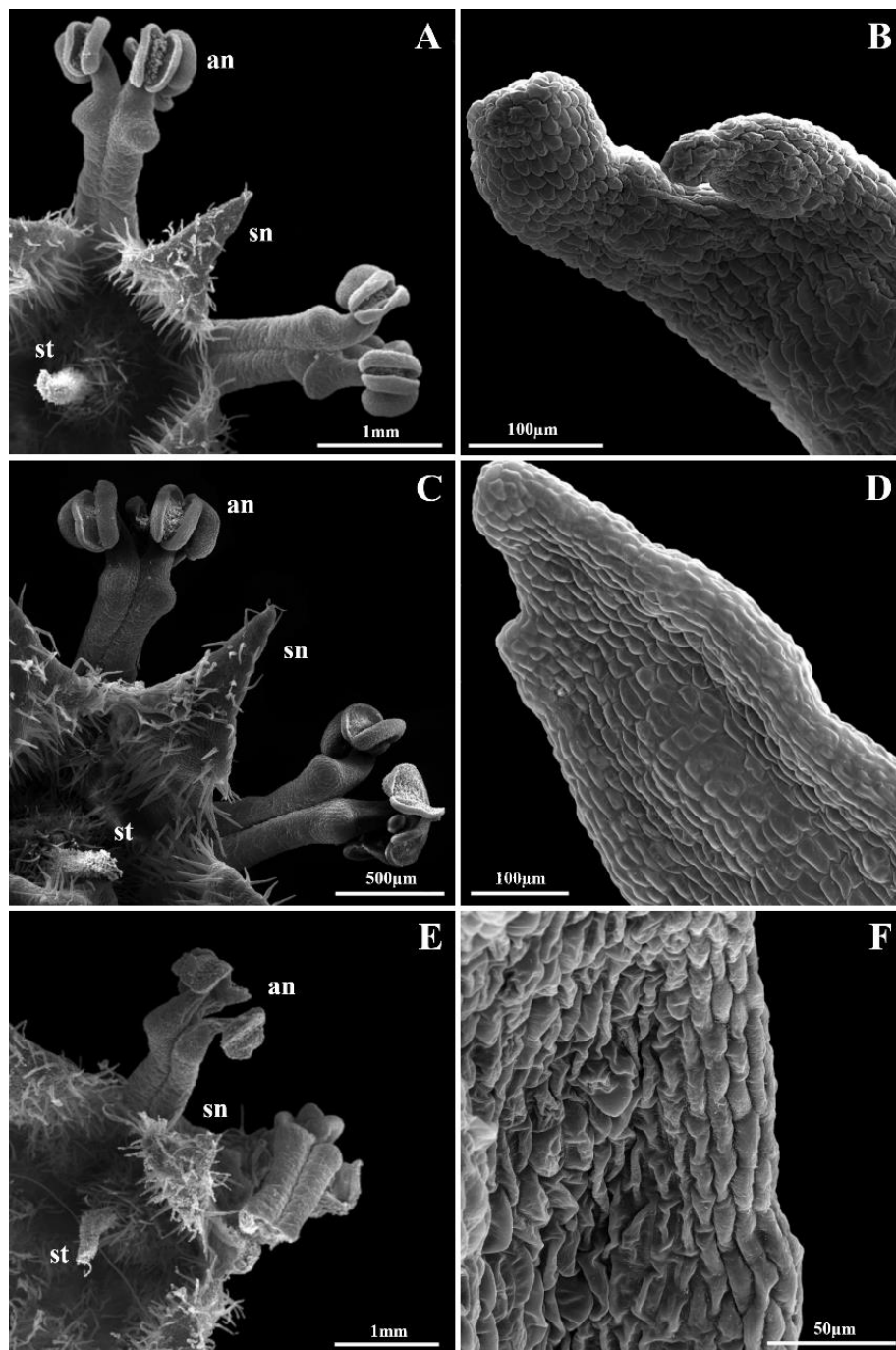
3.2 Osmóforos

O teste com vermelho neutro indicou a presença de osmóforos nos ápices dos apêndices petalares (Figura 3D). No teste olfativo encontramos que o forte e característico da flor ocorre nos apêndices petalares. Entretanto, as outras estruturas florais também apresentam odor, porém mais suaves em relação àquele dos osmóforos.

A flor de *Guazuma ulmifolia* possui grandes cavidades secretoras de mucilagem em todos os verticilos florais (Figura 3A), incluindo os apêndices petalares (Figura 3B e 3C). Estes possuem regiões de dobras que permitem o enrolamento e a sua expansão ao longo do tempo de vida da flor (Figura 3B). A epiderme dos osmóforos é composta por células isodiamétricas e papilosas (Figuras 2B,D,F e 3E). A morfologia das células epidérmicas dos osmóforos se modifica ao longo do tempo de vida floral: nos primeiros dois dias de abertura da flor as células são túrgidas, enquanto no terceiro dia a maioria das células perdeu a turgidez (Figura 2B,D,F). As células dos osmóforos possuem paredes delgadas, citoplasma denso, cutícula fina e a terminação vascular dos apêndices petalares onde situam os osmóforos é floemática (Figura 3C,E,F).

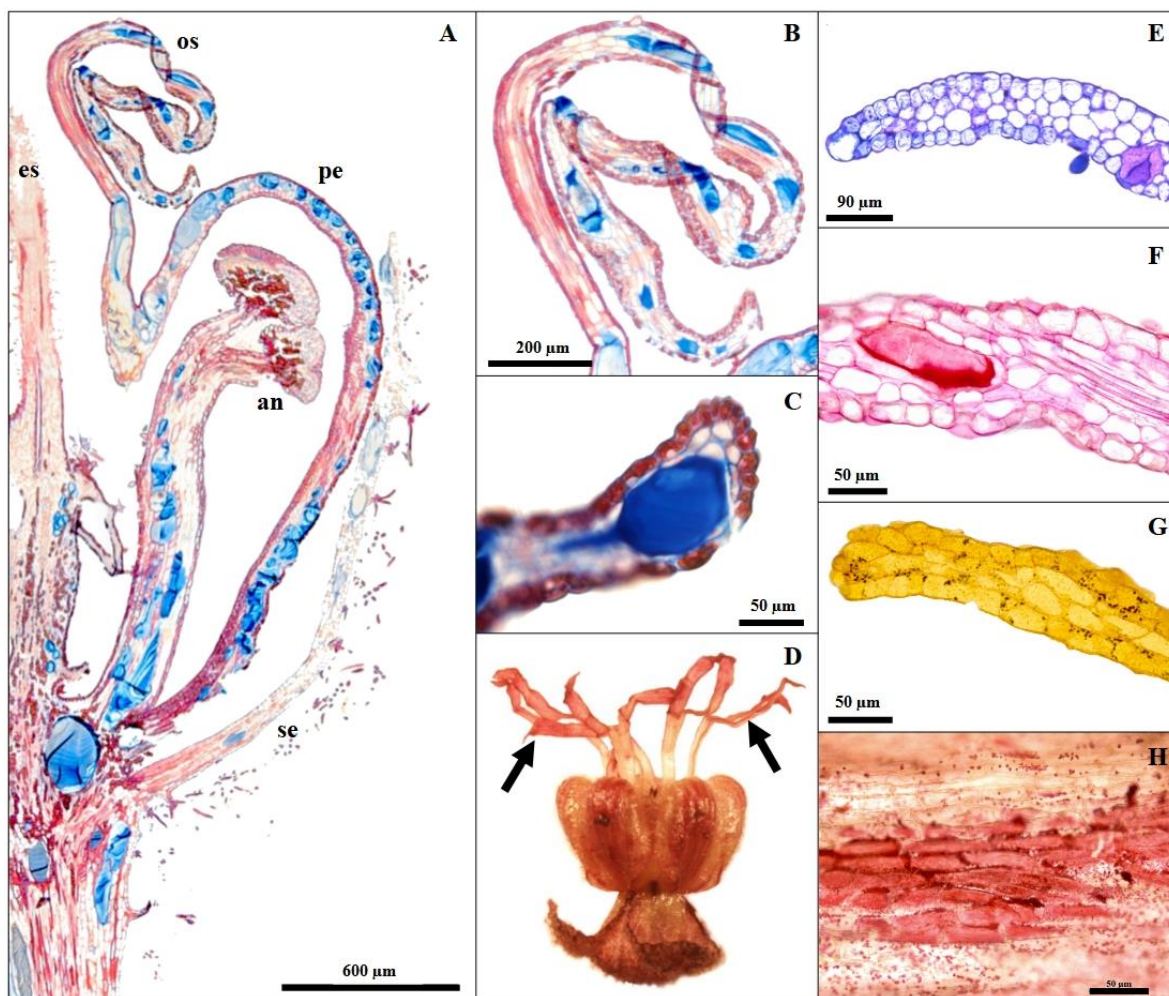
O teste com vermelho de rutênio evidenciou mucilagens nas cavidades dos apêndices petalares e as delgadas paredes celulares dos osmóforos são ricas em pectinas (Figura 3F). O lugol mostrou reação positiva nas células epidérmicas, indicando a presença de amido, sobretudo próximo às paredes periclinais internas (Figura 3G). O teste com Sudan III evidenciou gotículas de lipídios nas células epidérmicas (Figura 3H).

Figura 2 – Microscopia Eletrônica de Varredura das flores de *Guazuma ulmifolia*. A e B) Anteras abertas e osmóforos funcionais no primeiro dia de antese; C e D) Anteras completamente abertas e osmóforos funcionais no segundo dia; E e F) Anteras senescentes e células do osmóforo colapsadas no terceiro dia. A,C,E) an = anteras; sn = estaminódios; st = estigma. B,D,F) Porção final da lígula, onde se encontram os osmóforos.



Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 3 - Botão floral e flor de *G. ulmifolia* sob microscopia óptica. A) Corte longitudinal do botão em pré-antese evidenciando as estruturas florais: sépala (se), pétala (pe), osmóforo (os), estigma (es) e antera (an). B) Detalhe do osmóforo. C) Ponta do osmóforo corada com safrablau evidenciando cavidade contendo mucilagem. D) Flor após imersão em vermelho neutro; setas apontando para reação positiva nos apêndices petalares. E) Ponta do osmóforo corada com azul de toluidina. F, G, H) Testes histoquímicos com reação positiva na ponta do osmóforo: Vermelho de Rutênio (F), Lugol (G) e Sudan III (H).



Fonte: Elaborada pela autora.

3.3 VOCs florais

Foram considerados os 21 compostos com maior porcentagem de área ocupada no cromatograma em relação à quantidade total de voláteis. Os resultados da cromatografia gasosa mostraram diferenças na quantidade total de voláteis emitida entre os dias de funcionalidade floral. A quantidade total de COVs florais apresentou diferença significativa

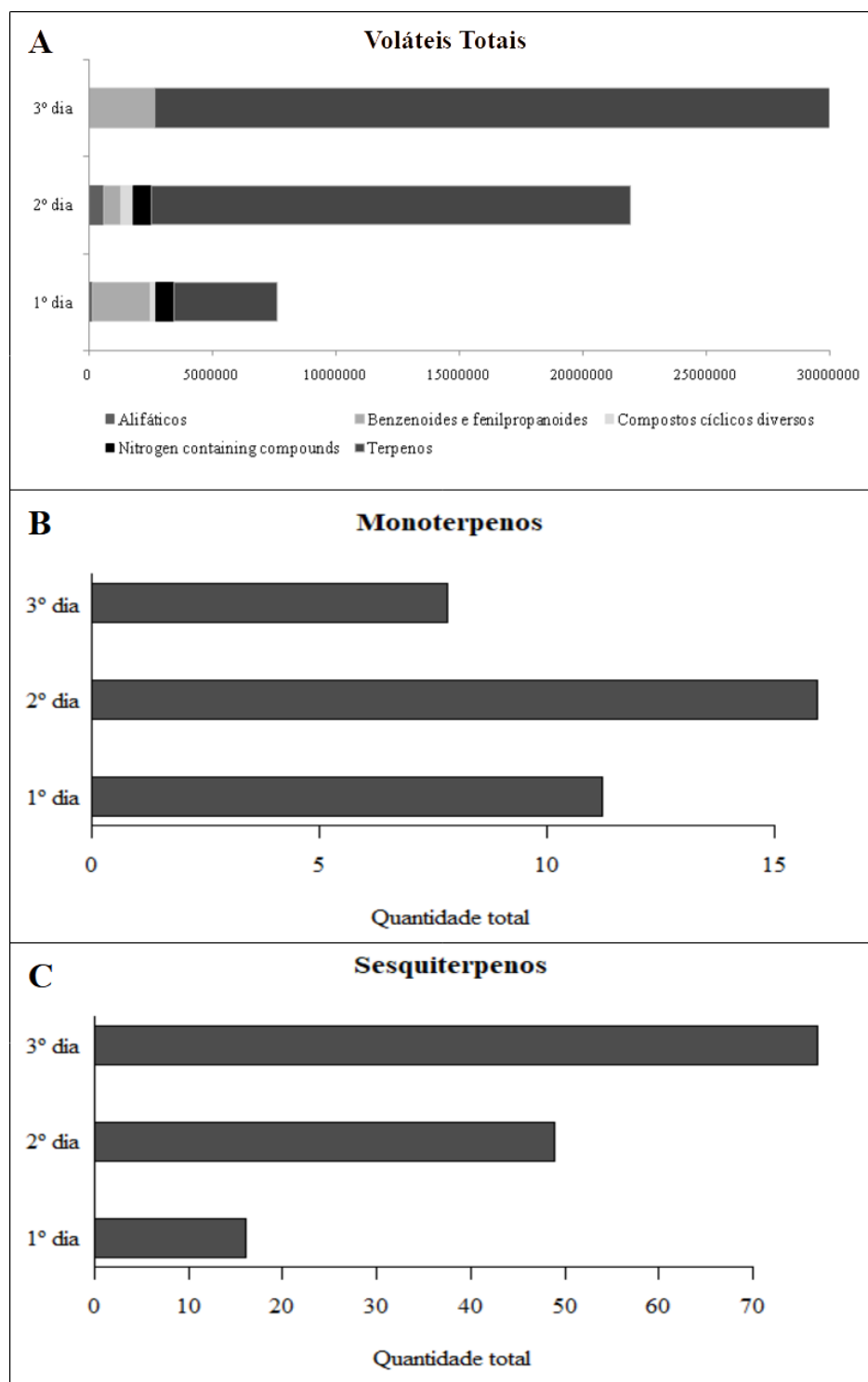
no primeiro dia em relação aos demais (Teste de Wilcoxon pareado para 1º dia e 2º dia: $V = 47$, $p\text{-value} = 0.05594$; para 1º e 3º dia: $V = 63$, $p\text{-value} = 0.02346$); o segundo e o terceiro dia, no entanto, não diferiram significativamente (Teste de Wilcoxon pareado para 1º dia e 2º dia: $V = 58$, $p\text{-value} = 0.08257$). A composição do buquê floral não diferiu significativamente entre os dias de abertura floral (Teste t pareado para 1º e 2º dia: $t = -1$, $df = 5$, $p\text{-value} = 0.3632$; para 2º e 3º dia: $t = -0.41523$, $df = 5$, $p\text{-value} = 0.6952$; para 1º e 3º dia: $t = -0.69561$, $df = 5$, $p\text{-value} = 0.5177$). Os sesquiterpenos apresentaram um crescimento ao longo do tempo (Figura 4C), sobretudo devido às quantidades de Copaeno, que chegou a ocupar 39,54% de área no cromatograma durante o terceiro dia (Tabela 2). Os monoterpenos e os ácidos carboxílicos apresentam picos de liberação no primeiro e no segundo dia após a abertura floral, decaindo no terceiro dia (Figura 4A,B). Os ácidos carboxílicos foram representados principalmente por ácidos benzoicos, como o *benzoicacid*, *2-methoxy-*, *methylester*, que teve um pico no segundo dia de 6,97% de área ocupada. O monoterpeno mais abundante foi o linalol, cujo pico se deu no segundo dia, com 11,1% de área ocupada no cromatograma (Tabela 2).

Tabela 2 - Compostos voláteis presentes nas flores de *Guazuma ulmifolia*. AL: compostos alifáticos. BF: benzenoides e fenilpropenoides. CD: compostos diversos. NC: *nitrogen compounds*. TE: terpenos.

Composto	Classe	Quantidade relativa (%)		
		1º dia	2º dia	3º dia
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) Ester	BF	0,82	-	-
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	TE	2,8	-	-
1,7-Octadiene-3,6-diol, 2,6-dimethyl-	TE	1,24	-	-
1-Hexadecanol	AL	0,87	1,94	-
2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-	TE	1,04	-	-
2H-Pyran-3(4H)-one, 6-ethenyldihydro-2,2,6-trimethyl-	CD	0,99	1,55	-
alpha-Cubebene	TE	-	1,16	2,05
Aromadendrene	TE	-	1,74	-
Benzenamine, N,N,4-trimethyl-	BF	-	-	1,58
Benzene, 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl)-	BF	3,46	-	1,07
Benzoic acid, 2-methoxy-, methyl ester	BF	-	-	2,4
Benzoic acid, methyl Ester	BF	3,09	-	-
beta-Cubebene	TE	1,53	5,28	8,65
beta-Myrcene	TE	-	1,18	1,2
beta-Ocimene	TE	-	1,24	1,45
Caryophyllene	TE	-	-	2,41
Copaene	TE	8,26	29,47	39,54
Diethyl Phthalate	BF	4,57	2,29	2,11
Germacrene D	TE	1,51	4,93	10,97
Germacrene D-4-ol	TE	-	-	1,14
Indole	NC	3,71	2,42	-
Linalol	TE	-	11,1	4,1
Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	TE	1,38	4,94	7,79
Nerolidol	TE	3,44	1,44	1,22
Spathulenol	TE	-	-	3,11

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 4 - Emissão de voláteis ao longo da antese floral. A) Emissão de voláteis totais. B) Emissão de sesquiterpenos. C) Emissão de monoterpenos.



Fonte: Elaborada pela autora.

3.4 Visitantes florais

3.4.1 Abundância e composição

O número total de insetos capturados foi 161. As ordens de visitantes mais abundantes foram Hymenoptera (sobretudo vespas), com 83 indivíduos capturados e Diptera, com 63. Foram registrados alguns visitantes esporádicos, como representantes de Hemiptera, com quatro indivíduos capturados e Lepidoptera, com apenas uma captura. Representantes da ordem Coleoptera, embora tenham sido observados e capturados em todos os horários, tiveram uma baixa abundância, com apenas dez indivíduos coletados (Figura 5B). Os insetos iniciam as visitas por volta das 7h da manhã e encerram ao pôr-do-sol, por volta das 17h30min. O horário de maior abundância de visitantes foi às 9h da manhã, seguido de um decréscimo nas horas seguintes até as 18h (Figura 5A). As morfoespécies encontradas de cada ordem foram dispostas na Tabela 3, com suas respectivas identificações.

Em relação à abundância de visitantes por período de abertura floral, as flores em segundo dia de abertura foram as mais visitadas, representando 49,35% do total de visitas (Wilcoxon pareado, $V = 6$, $p\text{-value} = 0.01013$ para 1º dia e 2º dia; $V = 75.5$, $p\text{-value} = 0.004457$ para 2º dia e 3º dia). As diferenças entre o primeiro e o terceiro dia de abertura floral não foram significativas (Wilcoxon pareado, $V = 18$, $p\text{-value} = 0,5461$), embora as flores tenham sido mais visitadas no primeiro dia (Figura 5C). A riqueza de visitantes teve um aumento significativo do primeiro para o segundo dia de abertura floral (Teste-t pareado para 1º e 2º dia, $t = -6.4254$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.02338$), com um decréscimo no terceiro dia (Figura 5D), embora a diferença do segundo para o terceiro dia não tenha sido significativa (Teste-t pareado para 2º e 3º dia, $t = 3.8829$, $df = 2$, $p\text{-value} = 0.06038$).

Quanto as visitas às câmaras florais, a morfoespécie Diptera 6 e os lepidópteros foram encontrados visitando somente a câmara feminina, enquanto todas as outras visitaram as duas câmaras (Tabela 3). O número de visitas por câmara floral não diferiu entre as ordens de insetos (Teste t pareado para microinsetos, $t = -0.69561$, $df = 5$, $p\text{-value} = 0.5177$. Wilcoxon pareado: Hymenoptera, $V = 13$, $p\text{-value} = 0.1696$; Diptera: $V = 9$, $p\text{-value} = 0.2012$; Coleoptera: $V = 10.5$, $p\text{-value} = 1$), embora a quantidade de dípteros na

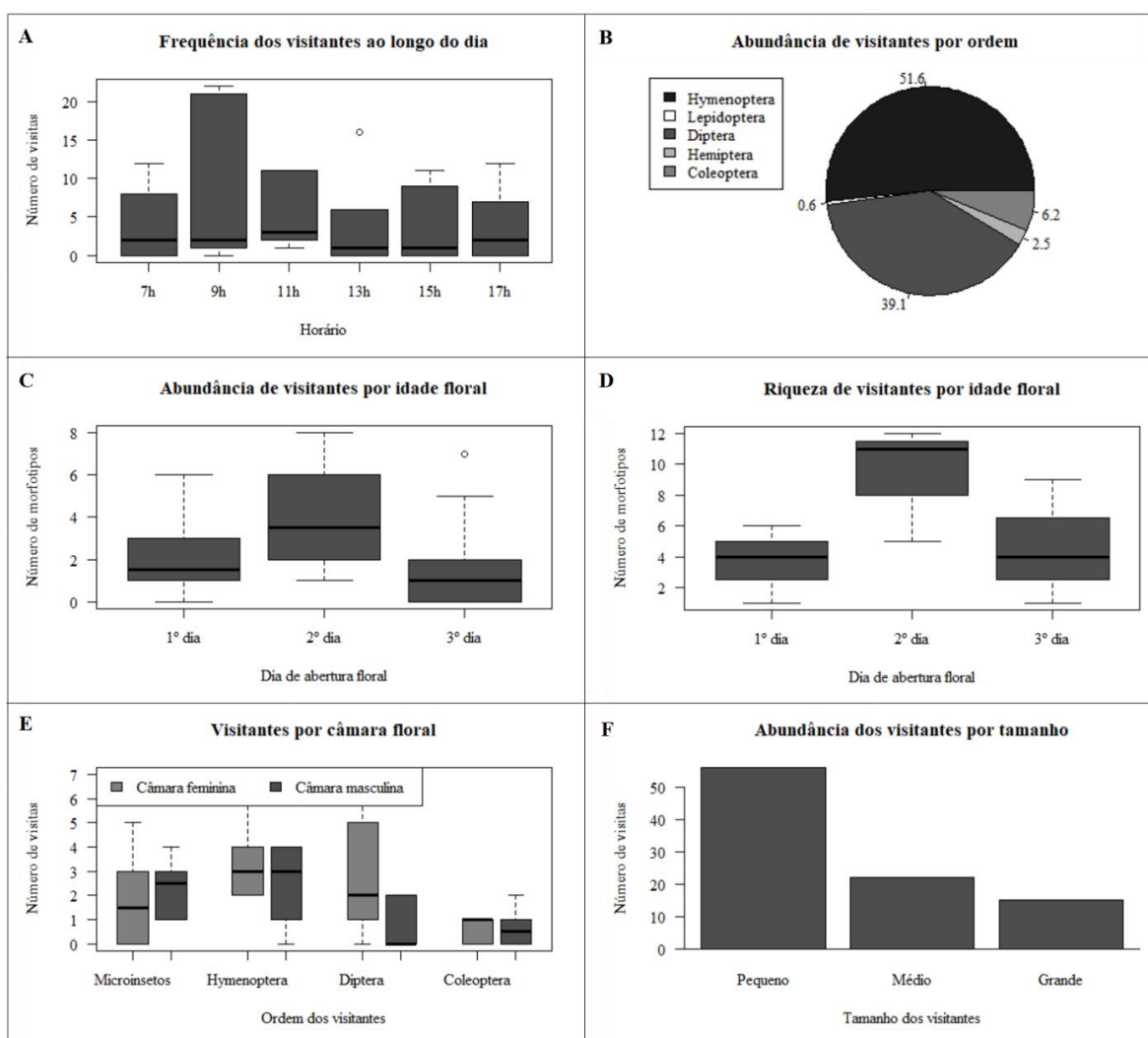
câmara masculina tenha sido menor (Figura 5E). Os insetos pequenos foram maioria nas visitas a ambas as câmaras (50% na câmara feminina e 72,5% na câmara masculina), totalizando 60,21% das visitas (Figura 5F), seguido de visitantes médios (23,65%) e grandes (16,13%). Apenas um inseto grande (vespa *Polystes* sp.) visitou a câmara masculina, utilizando seu aparelho bucal.

Tabela 3 - Morfoespécies de visitantes florais. Algumas morfoespécies foram incluídas em morfotipos maiores, como Coleoptera 2. Morfoespécies cuja identificação não foi possível foram agrupados por tamanho corporal.

Ordem	Morfoespécie	Superfamília	Família	Subfamília	Gênero
Hymenoptera	Hymenoptera 1	Vespoidea	Formicidae	Formicinae,	<i>Camponotus</i> sp.
	Hymenoptera 2			Myrmicinae	<i>Crematogaster</i> sp.
	Hymenoptera 3				<i>Solenopsis</i> sp.
	Hymenoptera 4	Chalcidoidea	Vespidae	Polistinae	<i>Polybia</i> sp.
	Hymenoptera 5				
	Hymenoptera 6				
	Hymenoptera 7				
Diptera	Diptera 1	Pequenos dípteros de até 3mm			
	Diptera 3	Empidoidea	Dolichopodidae	-	-
	Diptera 4	Ephydroidea	Drosophilidae	-	-
	Diptera 5	Sciomyzoidea	Sepsidae	-	-
	Diptera 6	Oestroidea	Calliphoridae	-	-
	Diptera 7	Syrphoidea	Syrphidae	-	-
	Diptera 2			-	-
	Diptera 8	Muscoidea	Muscidae	-	-
	Diptera 9		-	-	-
Coleoptera	Coleoptera 1	Scarabaeoidea	Melolonthidae	Rutelinae	<i>Macraspis</i> sp.,
	Coleoptera 2.1				
	Coleoptera 2.2				
	Coleoptera 2.3				
	Coleoptera 2.4				
Pequenos coleópteros de até 3mm					
Hemiptera	Hemiptera 1	Aphidoidea	Aphididae	-	-
Lepidoptera	Lepidoptera1	Papilionoidea	-	-	-

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 5 - Dinâmica dos visitantes florais. A - Frequência dos visitantes florais ao longo do dia. B - Abundância total dos visitantes por grupo taxonômico. C - Abundância de visitantes por idade floral. D - Riqueza de visitantes por idade floral, baseada nas morfoespécies identificadas. E - Abundância de grupos taxonômicos por câmara floral. F - Abundância de visitantes totais por tamanho.



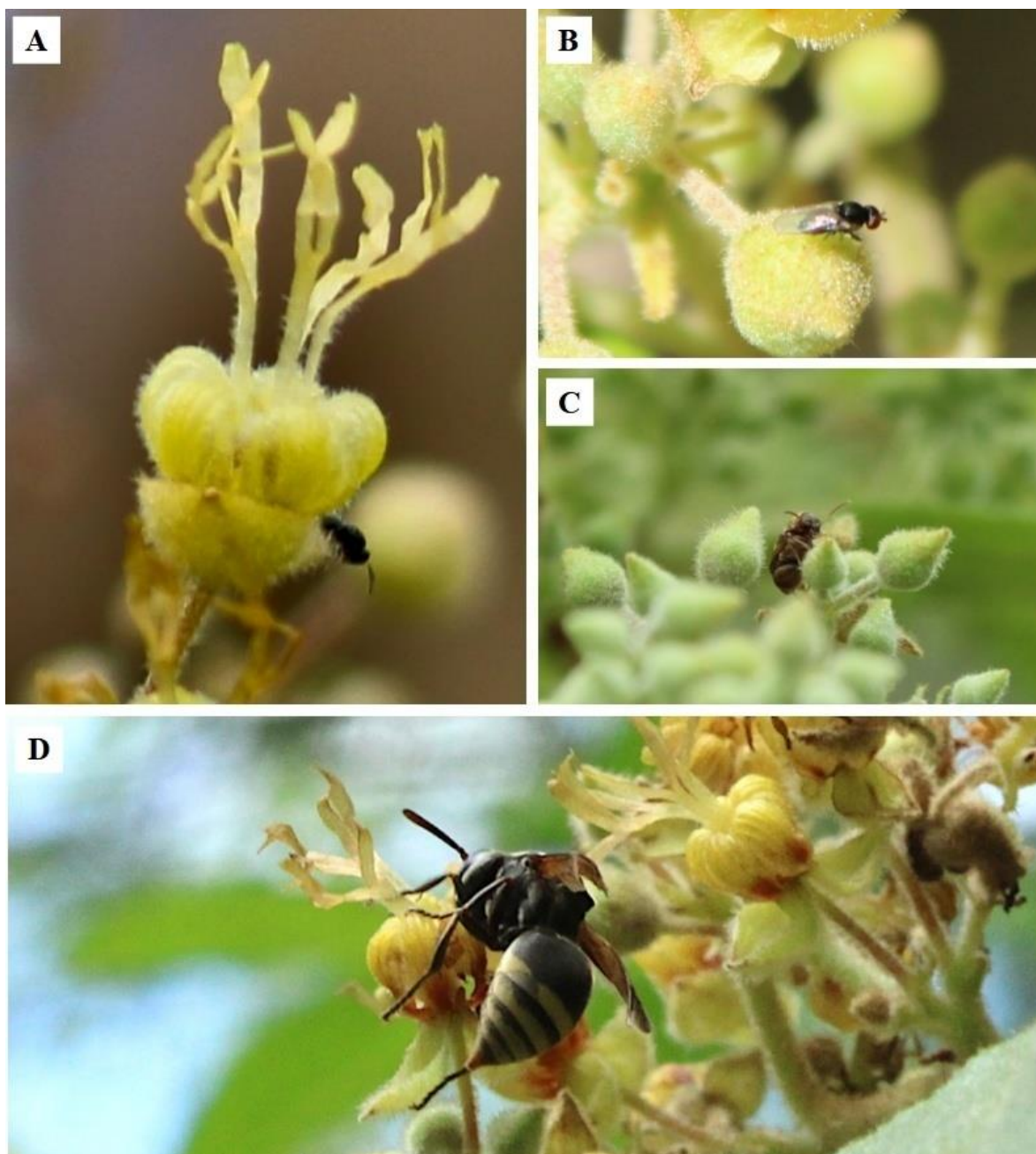
Fonte: Elaborada pela autora.

3.4.2 Comportamento

Foram incluídas nas tabelas apenas morfoespécies que obtiveram três ou mais observações. Morfoespécies com duas ou menos observações foram consideradas visitantes esporádicos. Nas observações de campo vespas, dípteros e coleópteros muito pequenos foram agrupados na categoria “Microinsetos”. Algumas vespas Chalcidoidea,

embora possuíssem dimensões de microinsetos, puderam ser diferenciadas em campo e, por apresentarem comportamento diferente dos demais microinsetos (como mostrar sinais de oviposição nos botões florais), foram agrupadas em uma morfoespécie separada, Hymenoptera 7 (Tabela 3). Os visitantes médios e grandes pousaram diretamente nas flores, enquanto os insetos pequenos utilizaram as folhas adjacentes às inflorescências como plataforma de pouso e andaram até as flores. Alguns microinsetos repousaram nos botões florais após as visitas para se limparem (Figura 6B e C). Os himenópteros apresentaram maior porcentagem de tempo de visita longo, enquanto os dípteros, os coleópteros e os microinsetos apresentaram majoritariamente tempo de visita médio. Coleoptera 2, Diptera 8, Hymenoptera 2 e 7 e microinsetos apresentaram menor porcentagem de visitas a várias flores, ao contrário de Diptera 6, Hemiptera 1 e Hymenoptera 1 e 3. Apenas Hymenoptera 1 apresentou uma alta porcentagem de visitação em flores no terceiro dia de abertura floral (85,7%). Coleoptera 2, microinsetos, e himenópteros da família Formicidae e da superfamília Chalcidoidea foram observados visitando botões florais, sendo que os últimos mostraram sinais de oviposição.

Figura 6 - Visitantes florais de *Guazuma ulmifolia*. A) Vespa Chalcidoidea saindo da câmara masculina. B) Pequeno díptero sobre o botão floral. C) Pequeno coleóptero sobre o botão floral. D) Vespa da família Vespidae visitando câmara feminina.



Fonte: Elaborada pela autora.

3.5 Visitantes polinizadores

3.5.1 Tamanho corporal e acessibilidade às câmaras florais

Hymenoptera e Diptera possuem morfoespécies de todos os tamanhos categorizados, enquanto Coleoptera apresentou morfoespécies pequenas e grandes. Todos os Hemiptera encontrados foram pequenos, enquanto Lepidoptera possui dimensões grandes (Tabela 4).

Tabela 4 - Tamanho corporal dos visitantes e acessibilidade às câmaras florais.

Morfoespécie	Aparelho bucal	Tamanho corporal	Acesso à câmara masculina	Acesso à câmara feminina
Coleoptera 2	Mastigador	Pequeno (0-3mm)	Corpo inteiro	Corpo inteiro
Diptera 1	Sugador-labial		Corpo inteiro	Corpo inteiro
Diptera 4	Sugador-labial		Corpo inteiro	Corpo inteiro
Hemiptera 1	Picador-sugador		Corpo inteiro	Corpo inteiro
Hymenoptera 2	Mastigador		Corpo inteiro	Corpo inteiro
Hymenoptera 3	Mastigador		Corpo inteiro	Corpo inteiro
Hymenoptera 6	Mastigador		Corpo inteiro	Corpo inteiro
Hymenoptera 7	Mastigador		Corpo inteiro	Corpo inteiro
Diptera 3	Sugador-labial	Médio (3,1-7mm)	Cabeça	Cabeça
Diptera 5	Sugador-labial		Cabeça	Cabeça
Diptera 8	Sugador-labial		Aparelho bucal	Aparelho bucal
Diptera 9	Sugador-labial		Aparelho bucal	Aparelho bucal
Hymenoptera 1	Mastigador		Cabeça	Aparelho bucal
Coleoptera 1	Mastigador	Grande (<7mm)	Inacessível	Aparelho bucal
Diptera 2	Sugador-labial		Aparelho bucal	Aparelho bucal
Diptera 6	Sugador-labial		Aparelho bucal	Aparelho bucal
Diptera 7	Sugador-labial		Aparelho bucal	Aparelho bucal
Hymenoptera 4	Mastigador		Inacessível	Aparelho bucal
Hymenoptera 5	Mastigador		Inacessível	Aparelho bucal
Lepidoptera 1	Sugador-maxilar		Aparelho bucal	Aparelho bucal

Fonte: Elaborada pela autora.

3.5.2 Contato com estruturas reprodutivas e transporte de pólen

Os visitantes florais fizeram contato com, pelo menos, uma das câmaras florais, seja entrando totalmente nas câmaras ou inserindo o aparelho bucal. Na área 1 doze espécimes de himenópteros, dois dípteros, dois microinsetos e um hemíptero fizeram contato com

ambas as câmaras, totalizando 17 indivíduos (81,72% das visitas). Na área 2, sete espécimes de coleópteros, cinco microdípteros, duas vespas Chalcidoidea e um Muscidae, totalizando 15 indivíduos, entraram nas câmaras masculina e feminina (72,41% das visitas).

Para as flores das plantas localizadas no Campus do Pici, apenas dois microinsetos foram registrados carregando pólen. Na FEVC, no entanto, o evento ocorreu com maior frequência: 20 coleópteros (7,9%), quatro microdípteros (36,4%) e quatro vespas Chalcidoidea (19%). Nas vespas e dípteros a deposição de pólen ocorreu no dorso do tórax; nos coleópteros, o pólen se encontrava espalhado por todo o corpo. Por vezes, o animal realizava a limpeza da cabeça e do aparelho bucal.

4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostram que a dinâmica de emissão de odores pelos osmóforos se relaciona com a dinâmica de visitantes florais. A maior quantidade total e riqueza de voláteis e compostos relacionados à atração de insetos no segundo dia coincidem com a maior abundância e riqueza de visitantes florais. Esses picos ocorrem no momento da plena expansão dos osmóforos, que permite o acesso dos insetos ao estigma das flores. Os principais VOCS são envolvidos na atração dos visitantes foram os monoterpenos. A diferença no tamanho corporal dos visitantes entre as câmaras mostrou que o tamanho da abertura delas funciona como um filtro de visitantes. Os microinsetos apresentaram dimensões e comportamento compatíveis com o de polinizadores. Um cenário dos possíveis microdípteros polinizadores de *Guazuma ulmifolia* foi postulado por Westerkamp *et al.* (2005) e aqui, experimentalmente, demonstramos que os microinsetos – besouros, vespas e moscas – são os responsáveis pela polinização. Esses resultados indicam que *G. ulmifolia* se encaixa no sistema de polinização SDI e que os osmóforos modulam a dinâmica de visitas florais através das mudanças na sua morfologia e no buquê floral.

4.1 Variações e restrições morfológicas

Nossos resultados mostraram que a variação morfológica da flor ao longo da antese regula o acesso dos visitantes de *G. ulmifolia*. O tamanho da entrada da câmara masculina permite o acesso às anteras apenas aos insetos de pequeno tamanho. Essa regulação é comum em diversos grupos de angiospermas. Em espécies psicófilas, o comprimento do tubo da corola limita o acesso dos visitantes florais ao recurso, que só é disponível para borboletas com probóscides longas (Shankar & Hossain, 2021); o mesmo ocorre para espécies do gênero *Erica*, polinizada por moscas também de probóscide longa (Reich *et al.*, 2020). Espécies do gênero *Burmeistera* apresentam morfologia floral correspondente com seus polinizadores e restringem a guilda de visitantes pela largura de abertura da corola, de forma que há uma clara separação de polinizadores entre as espécies (Muchhala, 2006). Essas restrições podem estar associadas à economia de recursos, evitando que visitantes pilhadores consumam o recurso destinado a polinizadores ou danifique as estruturas

reprodutivas (Alves-dos-Santos *et al.*, 2016; Pinheiro *et al.*, 2014). Assim, a restrição do tamanho da entrada da câmara masculina nas flores de *G. ulmifolia* constitui um mecanismo que limita o acesso às anteras, evitando que o pólen seja coletado por insetos não polinizadores.

Além da restrição na câmara masculina devido ao tamanho da abertura formada pela base das pétalas (Westerkamp *et al.*, 2005), os apêndices petalares filiformes, onde se localizam os osmóforos, fecham a câmara feminina ao sofrer alterações na morfologia durante a antese. Quando os osmóforos estão em plena expansão, o acesso é livre para todos os visitantes. Por outro lado, quando os apêndices aos poucos perdem a turgidez na sua base, ocorre o fechamento parcial – de forma que o acesso é restrito a pequenos visitantes – ou total, quando nenhum inseto consegue acessar. Osmóforos já foram relatados em apêndices filiformes e em lobos da corola em flores de *Ceropegia* (Vogel, 1990; Masinde, 2004; Auttama *et al.*, 2018); no entanto, eles não modulam a funcionalidade da floral e nem a restrição dos polinizadores. Aqui relatamos uma forma peculiar de participação de apêndices petalares portadores de osmóforos na regulação de visitas florais. Assim, esses apêndices não só auxiliam na atração dos visitantes, mas participam diretamente na regulação da funcionalidade floral e na restrição do grupo de visitantes.

4.2 VOCs florais

Nossos resultados mostraram que a maior parte dos VOCs florais de *G. ulmifolia* são terpenos. Além destes, outros grupos foram encontrados, como ácidos carboxílicos, benzenoides e fenilpropenoides, porém em quantidade e diversidade menores. Os terpenos, sobretudo monoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos, desempenham um papel importante em espécies polinizadas por insetos (Dudareva & Pichresky, 2006). Além disso, Majetic *et al.*, 2009, demonstraram, devido a importância na atração de polinizadores, que eles se relacionam com a maior produção de sementes.

A maior quantidade de monoterpenos no segundo dia de abertura floral coincide com a maior abundância de visitantes florais e com o período de maior acessibilidade da câmara feminina. Esses resultados estão de acordo com a função dos monoterpenos na

atração dos visitantes florais (Knudsen & Tollsten, 1993; Pichersky *et al.*, 1994; Raguso & Pichersky, 1999). O linalol, que apresentou um pico de liberação no segundo dia de antese, ocorre em plantas polinizadas por uma diversidade de insetos (Jhumur *et al.*, 2007). No trabalho de Song *et al.*, 2001, o linalol foi encontrado em abundância em flores de figo receptivas, enquanto em flores polinizadas houve decréscimo do composto. Por isso, os autores sugerem que o linalol tenha ação na atração de vespas Chalcidoidea. Os estudos de Aldrich *et al.*, 1986, mostram o linalol como um componente importante no feromônio de *Podisus maculiventris* (Say), um hemíptero predador, que atrai vespas da espécie *Vespula maculifrons* (Buysson). Dessa forma, a presença do linalol nas flores de *G. ulmifolia* pode estar associada à atração dos microinsetos, como as vespas Chalcidoidea.

O cis-ocimeno surgiu no buquê floral no segundo dia de antese. O ocimeno é largamente encontrado em buquês florais, embora o trans-ocimeno seja mais comum do que sua forma cis. Knudsen *et al.*, (2006) encontraram o composto em 71% das 90 famílias estudadas, enquanto na metanálise de Farré-Armengol (2017) 75% das 63 famílias apresentaram o volátil. O ocimeno, seja em sua forma trans ou cis, é emitido por uma ampla gama de espécies polinizadas por diversos insetos (Farré-Armengol *et al.*, 2017). Falella *et al.*, (2013) consideram o ocimeno como um VOC típico de espécies generalistas. Assim, sua presença nas flores de *G. ulmifolia* pode contribuir para atrair a ampla gama de visitantes florais encontrados nas nossas observações.

Quanto aos compostos não-terpenoides, encontramos a presença de benzenoides, fenilpropenoides e ácidos carboxílicos. Os benzenoides não apresentaram um padrão crescente ou decrescente durante a antese, mas estiveram presentes em todos os dias. Apesar de não serem compostos majoritários, a presença de benzenoides foi associada à atração de moscas (Larcenaire *et al.*, 2021) e à polinização por *Xylocopa* (Nunes *et al.*, 2017). Nossos resultados mostraram que os ácidos carboxílicos tiveram seu pico de liberação no segundo dia de abertura floral. Kolosova *et al.* (2001) encontraram uma alta concentração de enzimas BAMT, que produzem benzoato de metila, em partes das pétalas de *Clarkia berweri* próximas as vias que as abelhas utilizam para acessar o néctar, o que indica, segundo os autores, que o odor composto por benzoato de metila atua como um guia para as abelhas.

O crescente aumento dos sesquiterpenos ao longo do tempo nas flores de *G. ulmifolia* coincidiu com a diminuição da abundância de insetos. Muitos sesquiterpenos estão relacionados com a defesa e aparecem principalmente em flores pós-polinização e senescentes (Deveci *et al.*, 2010; Klauck *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2013). O copaeno foi o sesquiterpeno mais abundante nas flores de *G. ulmifolia*, tornando-se o composto mais abundante do buquê floral no terceiro dia. Por ser encontrado principalmente em partes verdes das plantas, como as folhas (Knudsen, 1996), este composto pode estar relacionado à defesa contra herbivoria, como demonstrado por Ardanuy *et al.* (2017).

Outra função para esse aumento do copaeno foi proposta por Theis & Raguso (2005) que demonstraram o crescente desse composto em flores não polinizadas ao longo do tempo. Por outro lado, Proffitt *et al.* (2008), encontraram um aumento na quantidade de copaeno em flores após a polinização, o que indica que esse volátil pode estar relacionado com a senescência floral. Nossos dados corroboram a hipótese que esse aumento do copaeno pode se relacionar com a senescência, pois a grande quantidade de copaeno ocorreu principalmente nas flores senescentes do terceiro dia.

O segundo sesquiterpeno mais abundante foi o germacreno-D, que também teve um aumento ao longo do tempo. A biossíntese desse volátil pode ser induzida por herbivoria e, por isso, também pode estar associado à defesa (Giuliani *et al.*, 2020). Embora a produção de VOCs de defesa seja mais comum e mais acentuada em folhas (Köllner *et al.*, 2013), a liberação conjunta desses voláteis em folhas e flores pode garantir a proteção de órgãos vegetativos e reprodutivos (Giuliani *et al.*, 2020).

Desta forma, a relação entre a maior presença de monoterpenos e ácidos carboxílicos, a maior frequência de visitas e a maior riqueza de visitantes no segundo dia de vida floral indica que o odor desempenha um papel importante nesse sistema de interação. A mudança na composição dos odores com o aumento de sesquiterpenos e outros compostos relacionados à defesa pode ser um mecanismo de proteção para o desenvolvimento de frutos e sementes em flores já polinizadas, bem como uma forma de direcionar os visitantes para flores ainda receptivas, conforme citam Pickersky e Gershenzon, 2002.

O odor floral não é definido apenas pela riqueza e pela quantidade total de VOCs emitidos, mas também – e principalmente – pelas proporções dos compostos (Negre-

Zakharov & Dudareva, 2009). Assim, as plantas possuem um aroma floral formado por uma maioria de compostos comuns em diferentes proporções e alguns compostos específicos (Farré-Armengol *et al.*, 2017). Diante disso, concluímos que, apesar da quantidade total de VOCs ser maior no final da antese floral, o odor atrativo característico das flores de *G. ulmifolia* é emitido no segundo dia após a abertura das flores, o que explica a maior procura pelos insetos nesse período.

4.3 Polinizadores e sistema de polinização de *Guazuma ulmifolia*

Para ser um polinizador, é necessário que o visitante se enquadre em alguns requisitos, como realizar visitas legítimas, carregar pólen e possuir dimensões corporais compatíveis com a flor (Alves-dos-Santos *et al.*, 2016). A guilda de visitantes das flores de *G. ulmifolia*, embora possua uma diversidade de tamanhos, é restringida ao acesso às estruturas reprodutivas pelo tamanho da entrada das câmaras florais. Assim, muitos dos visitantes encontrados, tais como vespas *Polystes*, moscas Calliphoridae e besouros *Macraspis*, não se enquadram como polinizadores.

Em *G. ulmifolia* a relação entre o tamanho corporal do visitante e o tamanho floral é mais importante do que o próprio comportamento do inseto, pois define se o visitante constitui um polinizador ou um pilhador, o que está de acordo com o reportado por Pinheiro e Sazima (2007). Assim, para que haja a transferência do pólen, é necessário que o polinizador entre em contato com o pólen e o estigma na mesma região do corpo (Alves-dos-Santos *et al.*, 2016). Os visitantes maiores do que a entrada das câmaras florais de *G. ulmifolia* não conseguiram acessar as estruturas reprodutivas, logo, não transferem o pólen para o estigma. Mesmo os visitantes que acessam a câmara masculina com o aparelho bucal ou a cabeça não conseguem contatar a antera e consequentemente não transportam pólen.

Nesse contexto, os visitantes de *G. ulmifolia* que mais se enquadraram nessas características comportamentais e morfológicas foram os microinsetos, que incluem pequenos dípteros, coleópteros e vespas da superfamília Chalcidoidea. Esses insetos, além de possuírem dimensões adequadas, apresentaram alta frequência de visitação e realizaram visitas legítimas nas duas câmaras, entrando em contato com as estruturas reprodutivas. Além disso, foram as morfoespécies vistas transportando pólen, que era depositado na parte

dorsal do tórax, região que também entrava em contato com o estigma, ou por todo o corpo do animal.

Com base na biologia floral e nas dimensões de seus visitantes, *G. ulmifolia* apresenta o sistema de polinização por SDI. Em sistemas SDI as flores são inconspícuas e pequenas e os polinizadores são de diversos grupos e de pequenas dimensões (Moreira *et al.*, 2020). No entanto, Bawa (1985) descreve as flores como ausentes de especializações e com recursos acessíveis a todos os visitantes, o que contrasta com a complexa morfologia encontrada em *G. ulmifolia*. Embora a flor atraia visitantes de todos os tamanhos, a coleta do pólen é restrita aos visitantes de tamanho pequeno e que conseguem acessar as duas câmaras florais, o que indica polinização SDI, modulada por restrições morfológicas da flor e dos osmóforos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos resultados demonstraram a importância dos osmóforos na modulação da atividade de visitantes florais e da morfologia floral na regulação dos insetos visitantes. Além disso, evidenciamos uma nova perspectiva acerca de sistemas de polinização SDI ao relatar a ocorrência de uma estrutura secretora complexa em um sistema de polinização generalizado, abrindo caminhos para novas discussões acerca de generalizações e especializações em sistemas reprodutivos de plantas com flores.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, M. J. N.; AGUIAR, J. V.; BEZERRA, F. M. L.; LIMA, J. B.; JÚNIOR, R. R. C.; AQUINO, F. C.; FILHO, O. A. P.; CARNEIRO, F. A. **Dados climatológicos: estação Pentecoste**. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2002.
- ALDRICH, J. R.; LUSBY, W. R.; KOCHANSKY, J. P. Identification of a new predaceous stink bug pheromone and its attractiveness to the eastern yellowjacket. **Experientia**, v. 42, p. 583-585, 1986.
- ALTMANN, J. Observational study of behavior: sampling methods. **Behaviour**, v. 49, n. 3/4, p. 227-267, 1974.
- ALVES-DOS-SANTOS, I.; DA SILVA, C. I.; PINHEIRO, M.; KLEINERT, A. M. P. Quando um visitante floral é um polinizador? **Rodriguésia**, v. 67, n. 2, p. 295-307, 2016.
- ARDANUY, A.; PASTOR, V.; GLAUSER, G.; CHRISTOU, P.; TURLINGS, T. C. J.; ALBAJES, R. Genotype, nitrogen and herbivory shape plant defense: the case of a vitamin-enriched maize. **bioRxiv**, jul., 2017.
- ARÉVALO-RODRIGUES, G.; BARROS, F.; DAVIS, A. F.; CARDOSO-GUSTAVSON, P. Floral glands in myophilous and sapromyophilous species of Pleurothallidinae (Epidendroideae, Orchidaceae) — osmophores, nectaries, and a unique sticky gland. **Protoplasma**, v. 258, n. 5, p. 1061-1076, 2021.
- AUTTAMA, P.; MCKEY, D.; KIDYOO, A. Flowering phenology and trap pollination of the rare endemic plant *Ceropegia thaithongiae* in montane forest of northern Thailand. **Botany**, v. 96, n. 9, p. 601-620, 2018.
- BARMAN, M.; MITRA, A. Temporal relationship between emitted and endogenous floral scent volatiles in summer- and winter-blooming *Jasminum* species. **Physiologia Plantarum**, v. 166, p. 946-959, 2019.
- BAWA, K. S.; BULLOCK, S. H.; PERRY, D. R.; COVILLE, R. E.; GRAYUM, M. H. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. **Polination systems**. **American Journal of Botany**, v. 72, n. 3, p. 346-356, 1985.
- BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Austrablau Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 255, 1972.
- BURDON, R. C. F.; RAGUSO, R. A.; KESSLER, A.; PARACHNOWITSCH, A. L. Spatiotemporal Floral Scent Variation of *Penstemon digitalis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 41, p. 641–650, 2015.
- BURKLE, L. A.; RUNYON, J. B. The smell of environmental change: using floral scent to explain shifts in pollinator attraction. **Applications in Plant Science**, v. 5, n. 6, 2017.

BURKLE, L. A.; GLENNY, W. R.; RUNYON, J. B. Intraspecific and interspecific variation in floral volatiles over time. **Plant Ecology**, v. 221, p. 529-544, 2020.

CARVALHO, P. E. R. **Mutamba** - *Guazuma ulmifolia*. Colombo: Circular Técnica 141, 2007. 13p.

CASIQUE, J. V.; DA SILVA, E. F.; ANDRADE, E. H. A.; MASTROBERTI, A. A.; AGUIAR-DIAS, A. C. A. Anatomical analyses of floral and extrafloral secreting structures indicate the presence of nectarines and colleters in *Stanhopea grandiflora* Lindl. **Brazilian Journal of Botany**, v. 41, n. 3, p. 725-738, 2018.

CHAMBERLAIN, C. J. **Methods in Plant Histology**. Chicago: The University of Chicago Press, 1932.

CHITTKA, L.; MENZEL, R. The evolutionary adaptation of flower colours and the insect pollinators' colour vision. **Journal of Comparative Physiology**, v. 171, n. 2, p. 171-181, 1992.

COELHO, C. P.; GOMES, D. C.; GUILHERME, F. A. G.; SOUZA, L. F. Reproductive biology of endemic *Solanum melissarum* Boiss (Solanaceae) and updating of its current geographic distribution as the basis for its conservation in the Brazilian Cerrado. **Braz. J. Biol.**, v. 77, n. 4, p. 809-819, 2017.

COLLI-SILVA, M. **Guazuma in Flora do Brasil 2020 em construção**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB9065>. Acesso em: 06 nov. 2019

CONCHOU, L.; LUCAS, P.; MESLIN C.; PROFFIT, M.; STAUDT, M.; RENOU, M. Insect Odorscapes: From Plant Volatiles to Natural Olfactory Scenes. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. 972, 2019.

DEVECI, O.; SUKAN, A.; TUZUN, N.; KOCABAS, E. E. H. Chemical composition repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 21, p. 2211-2216, 2010.

DÖTTERL, S.; JAHREIB, K.; JHUMUR, U. S.; JÜRGENS, A. Temporal variation of floral scent in *Silene otites* (Caryophyllaceae): a species with a mixed pollination system. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, p. 447-460, 2012.

DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E. **Biology of floral scent**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. 346p.

FARRÉ-ARMENGOL, G.; FILELLA, I.; LLUSIÀ, J.; PEÑUELAS, J. β -Ocimene, a key floral and foliar volatile involved in multiple interactions between plants and other organisms. **Molecules**, v. 22, n. 1148, 2017.

FILELLA, I.; PRIMANTE, C.; LLUSIÀ, J.; GONZÁLEZ, A. M.; SECO, R.; FARRÉ-ARMENGOL, G.; RODRIGO, A.; BOSCH, J.; PEÑUELAS, J. Floral advertisement scent in a changing plant-pollinators market. **Scientific Reports**, v. 3, n. 3434, 2013.

GONÇALVES-SOUZA, P.; SCHLINDWEIN, C.; DÖTTERL, S.; PAIVA, E. A. S. Unveiling the osmophores of *Philodendron adamantinum* (Araceae) as a means to understanding interactions with pollinators. **Annals of Botany**, v. 119, n.4, p. 533-543, 2017.

GIULIANI, C.; GIOVANETTI, M. LUPI, D.; MESIANO, M. P.; BARILLI, R.; ASCRIZZI, R.; FLAMINI, G.; FICO, G. Tools to Tie: Flower Characteristics, VOC Emission Profile, and Glandular Trichomes of Two Mexican *Salvia* Species to Attract Bees. **Plants**, v. 9, n. 1645, 2020.

IPECE. **Perfil básico Municipal**. Fortaleza: Governo do Estado do Ceará, 2012.

Disponível em:

<https://www.ipece.ce.gov.br/wpcontent/uploads/sites/45/2013/01/Pentecoste.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2020.

JHUMUR, U. S.; DÖTTERL, S.; JÜRGENS, A. Floral odors of *Silene otites*: their variability and attractiveness to mosquitoes. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, n. 14, p. 14-24, 2008.

JOHANSEN, D. A. Plant Microtechnique. **Nature**, v. 147, n. 222, 1941.

JUNKER, R. R.; HÖCHERL, N.; BLÜTHGEN, N. Responses to olfactory signals reflect network structure of flower-visitor interactions. **Journal of Animal Ecology**, v. 79, p. 818-823, 2010.

JÜRGENS, A.; GLÜCK, U.; GREGOR, A. A. S.; DÖTTERL, S. Diel fragrance pattern correlates with olfactory preferences of diurnal and nocturnal flower visitors in *Salix caprea* (Salicaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 175, n. 4, p. 624-640, 2014.

KANTSA, A.; RAGUSO, R. A.; DYER, A. G.; OLESEN, J. M.; TSCHULIN, T.; PETANIDOU, T. Disentangling the role of floral sensory stimuli in pollination networks. **Nature Communications**, v. 9, n. 1041, 2018.

KARNOVSKY, M. J. A Formaldehyde-Glutaraldehyde Fixative of High Osmolality for Use in Electron Microscopy. **The Journal of Cell Biology**, v. 27, n. 2, p. 1A-149A, 1965.

KETTLER, B. A.; SOLÍS, S. M.; FERRUCHI, M. S. Comparative survey of secretory structures and floral anatomy of *Cohniella cepula* and *Cohniella jonesiana* (Orchidaceae: Oncidiinae). New evidences of nectaries and osmophores in the genus. **Protoplasma**, Austria, v. 253, n. 3, p. 703-720, 2018.

KLAUCK, V.; PAZINATO, R.; STEFANI, L. M.; SANTOS, R. C.; VAUCHER, R. A.; BALDISSERA, M. D.; RAFFIN, R.; BOLIGON, A.; ATHAYDE, M. BARETTA, D.;

MACHADO, G.; DA SILVA, S. Insecticidal and repellent effects of tea tree and andiroba oils on flies associated with livestock. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, p. 33-39, 2014.

KNUDSEN, J. T. Floral scents and pollination in neotropical Lecythidaceae. **Biotropica**, v. 28, n. 1, p. 42-60, 1996.

KNUDSEN, J. T.; ERIKSSON, R.; GERSHENZON, J.; STÅHL, B. Diversity and Distribution of Floral Scent. **Bot. Rev.**, v. 72, p. 1-120, 2006.

KNUDSEN, J. T.; TOLLSTEN, L. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 113, p. 263-284, 1993.

KÖLLNER, T. G.; LENK, C.; SCHNEE, C.; KÖPKE, S.; LINDERMAN, P.; GERHSENZON, J.; DEGENHARDT, J. Localization of sesquiterpene formation and emission in maize leaves after herbivore damage. **BMC Plant Biol.**, v. 13, n. 15, 2013.

KOLOSOVA, N.; GORENSTEIN, N.; KISH, C. M.; DUDAREVA, N. Regulation of circadian methyl benzoate emission in diurnally and nocturnally emitting plants. **The Plant Cell**, v. 13, p. 2333-2347, 2001.

KOWALKOWSKA, A. K.; KRAWCZYNSKA, A. T. Anatomical features related with pollination of *Neottia ovata* (L.) Bluff & Fingerh. (Orchidaceae). **Flora**, v. 255, n. 1, p. 24-33, 2019.

KRUG, C.; CORDEIRO, G. D.; SCHÄFFLER, I.; SILVA, C. I.; OLIVEIRA, R.; SCHLINDWEIN, C.; DÖTTERL, S.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Nocturnal bee pollinators are attracted to Guarana flowers by their scents. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 1072, 2018.

LAHONDÈRE, C.; VINAUGER, C.; OKUBO, R. P.; WOLFF, G. H.; CHAN, J. K.; AKBARI, O. S.; RIFFELL, J. A. The olfactory basis of orchid pollination by mosquitoes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 1, p. 708-710, 2020.

LARCENAIRE, C.; WANG, F. M.; HOLÁSKOVÁ, I.; TURCOTTE, R.; GUTENSOHN, M.; PARK, Y. L. Characterization of the Insect Assemblage and Associated Floral Volatiles of Black Cherry (*Prunus serotina*). **Plants Basel**, v. 10, n. 10, 2021.

LINSTROM, P. J.; MALLARD, W. G. **NIST Chemistry WebBook**: NIST Standard Reference Database Number 69, Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology, 2019. Disponível em: <http://webbook.nist.gov>. Acesso em: 09 nov. 2019.

MAJETIC, C. J.; RAGUSO, R. A.; ASHMAN, T. The sweet smell of success: floral scent affects pollinator attraction and seed fitness in *Hesperis matronalis*. **Functional Ecology**, v. 23, p. 480-487, 2009.

- MARINHO, C. R.; MARTUCCI, M. E. P.; GOBBO-NETO, L.; TEIXEIRA, S. P. Chemical composition and secretion biology of the floral bouquet in legume trees (Fabaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. XX, n. 1, p. 1-21, 2018.
- MARTINI, P.; SCHLINDWEIN, C.; MONTENEGRO, A. Pollination, flower longevity, and reproductive biology of *Gongora quinquenervis* Ruíz and Pavón (Orchidaceae) in an Atlantic Forest fragment of Pernambuco, Brazil. **Plant Biology**, v. 5, n. 5, p. 495-503, 2003.
- MASINDE, S. P. Trap-flower fly pollination in East African *Ceropegia* L. (Apocynaceae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 24, n. 1, 2004.
- MOREIRA, M. M.; FREITAS, L. Review of the pollination system by small diverse insects. **Neotropical Entomology**, v. 49, n. 4, p. 472-481, 2020.
- MUCHHALA, N. The pollination biology of *Burmeistera* (Campanulaceae): specialization and syndromes. **American Journal of Botany**, v. 93, n. 8, p. 1081-1089, 2006.
- MUKHERJEE, S. S.; HOSSAIN, A. Morphological variables restrict flower choice of Lycaenid butterfly species: implication for pollination and conservation. **Journal of Ecology and Environment**, v. 45, n. 32, 2021.
- NAKAHAMA, N.; MIURA, R.; TOMINAGA, T. Preliminary Observations of Insect Visitation to Flowers of *Vincetoxicum pycnostelma* (Apocynaceae: Asclepiadoideae), an Endangered Species in Japan. **Journal of Entomological Science**, v. 48, n. 2, p. 151-160, 2013.
- NEGRE-ZAKHAROV, F.; LONG, M. C.; DUDAREVA, N. Floral scents and fruit aromas inspired by nature. **Plant-Derived Natural Products**, p. 405-431, 2009.
- NETO, C. M.; MEIRELES, A. J.; GORAYEH, A. Parecer técnico-científico para a criação de uma Área de Relevante Interesse Ecológico (ARIE) no Campus do Pici, da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2018. Disponível em: <https://pt.calameo.com/read/00249400747b292308d45>. Acesso em: 06 de outubro de 2019.
- NUNES, C. E. P.; WOLOWSKI, M.; PANSARIN, E. R.; GERLACH, G.; AXIMOFF, I.; VERECKEN, N. J.; SALVADOR, M. J.; SAZIMA, M. More than Euglossines: the diverse pollinators and floral scents of *Zygopetalinae* orchids. **The Science of Nature**, v. 104, n. 92, 2017.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1965.

- OLLERTON, J.; MASINDE, S.; MEVE, U.; PICKER, M.; WHITTINGTON, A. Flypollination in *Ceropegia* (Apocynaceae: Asclepiadoideae): biogeographic and phylogenetic perspectives. **Annals of Botany**, v. 103, n. 9, p. 1501-1514, 2009.
- PAIVA, E. A. S.; DÖTTERL, S.; DE-PAULA, C. O.; SCHLINDWEIN, C.; SOUTO, L. S.; VITARELLI, N. C.; SILVA, C. I.; MATEUS, S.; ALVES-DOS-SANTOS, I.; OLIVEIRA, D. M. T. Osmophores of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae): a particular structure of the androecium that releases an unusual scent. **Protoplasma**, v. 256, n. 4, p. 971-981, 2019.
- PALE-EZQUIVEL, I.; AGUIRRE-JAIMES, A.; HERNÁNZES, J.; COATES, R.; DOMÍNGUEZ, Z. Floral scents in *Pachira aquatic* (Malvaceae): a species with diverse floral visitors in a Mexican lowland forest. **Natural Product Communication**, v. 13, n. 10, p. 1371-1373, 2018.
- PANSARIN, E. R.; PANSARIN, L. M.; MARTUCCI, M. E. P.; GOBBO-NETO, L. Self-compatibility and specialisation in a fly-pollinated *Acianthera* (Orchidaceae: Pleurothallidiinae). **Australian Journal of Botany**, v. 64, p. 359-367, 2016.
- PANSARIN, L. M.; PANSARIN, E. R.; ALVES-DOS-SANTOS, I.; TEIXEIRA, S. P. So small and so rich: diversity of floral resources in miniature Oncidiinae (Orchidaceae) and their relation to pollinators. **Plant Biology**, v. 23, n. 2, p. 259-266, 2021.
- PAUCAR, J. O. A.; ISAIAS, R. M. S.; STEHMANN, J. R. Unravelling the structure and function of the petal appendages in the tribe Schwenckieae (Solanaceae). **Plant Biology**, v. 22, n. 2, p. 146-156, 2020.
- PAUL, I.; BHADORIA, P. B. S.; MITRA, A. Seasonal and diel variations in scent composition of ephemeral *Murraya paniculata* (Linn.) Jack flowers are contributed by separate volatile components. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 89, 2020.
- PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Plant Biology**, v. 5, p. 237-243, 2002.
- PICHERSKY, E.; RAGUSO, R. A.; LEWISOHN, E.; CROTEAU, R. Floral scent production in *Clarkia* (Onagraceae) I. Localization and developmental modulation of monoterpene emission and linalool synthase activity. **Plant Physiology**, v. 106, p. 1533-1540, 1994.
- PINHEIRO, M.; GAGLIANONE, M. C.; NUNES, C. E. P.; SIGRIST, M. R.; ALVES-DOS-SANTOS, I. Polinização por abelhas. In: RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. O.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização**. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014. 524p.
- PINHEIRO, M.; SAZIMA, M. Visitantes florais e polinizadores de seis species arbóreas de Leguminosae melitófilas na Mata Atlântica no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 447-449, jul. 2007.

PLACHNO, B. J.; STPICZYNSKA, M.; DAVIES, K. L.; SWIATEK, P.; MIRANDA, V. F. O. Floral ultrastructure of two Brazilian aquatic-epiphytic bladderworts: *Utricularia cornigera* Studnička and *U. nelumbifolia* Gardner (Lentibulariaceae). **Protoplasma**, v. 254, n. 1, p. 353-366, 2016.

PRIDGEON, A. M.; STERN, W. L. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). **American Journal of Botany**, Florida, v. 70, n.8, p. 1233-1243, 1983.

PROFFIT, M.; SCHATZ, B.; BESSIÈRE, J.; CHEN, C.; SOLER, C. HOSSAERT-MCKEY, M. Signalling receptivity: comparison of the emission of volatile compounds by figs of *Ficus hispida* before, during and after the phase of receptivity to pollinators. **Symbiosis**, v. 45, p. 15-24, 2008.

QUINTANA-RODRIGUEZ, E.; RAMIREZ-RODRIGUEZ, A. G.; RAMÍREZ-CHAVES, E.; MOLINA-TORRES, J.; CAMACHO-CORONEL, X.; ESPARZA, CLAUDIO, J.; HEIL, M.; ORONA-TAMAYO, D. Biochemical Traits in the Flower Lifetime of a Mexican Mistletoe Parasitizing Mesquite Biomass. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.

RAGUSO, R. A.; GOTTSBERGER, G. An ode to osmophores: Stefan Vogel's seminal contributions to the study of scent. **Flora**, v. 232, p. 150-152, 2017

RAGUSO, R. A.; PICHERSKY, E. A day in the life of a linalool molecule: Chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: Linalool biosynthesis in flowering plants. **Plant Species Biology**, v. 14, p. 95-120, 1999.

RAGUSO, R. A. Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, v. 39, p. 549-569, 2008.

RAZANAMARO, O.; RASOAMANANA, E.; RAKOUTH, B.; RANDRIAMALALA, J. R.; RABAKONADRIANINA, E.; CLÉMENT-VIDAL, A.; TSY, J. L. P.; MENUT, C.; DANTHU, P. Chemical characterization of floral scents in six endemic baobab species (*Adansonia* sp.) of Madagascar. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 60, p. 238-248, 2015.

REICH, D.; BERGER, A.; BALTHAZAR M.; CHARTIER, M.; SHERAFATI, M.; SCHÖNENBERGER, J.; MANAFZADEH, S.; STAEDLER, Y. M. Modularity and evolution of flower shape: the role of function, development, and spandrels in *Erica*. **New Phytologist**, v. 226, p. 267-280, 2020.

REPOSI, S. D.; GOTELLI, M. M.; TORRETTA, J. P. Anatomy and ultrastructure floral osmophores of *Catasetum fimbriatum* (Orchidaceae). **Protoplasma**, v. 258, n. 5, p. 1091-1102, 2021.

RODRIGUES, J. O.; ANDRADE, E. M.; OLIVEIRA, T. S.; LOBATO, F. A. O. Equações de intensidade-duração-frequência de chuvas para as localidades de Fortaleza e Pentecoste, Ceará. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 4, p. 511-519, 2008.

- ROUT, P. K.; RAO, Y. R.; NAIK, S. Analysis of Floral Volatiles by Using Headspace-Solid Phase Microextraction: A Review. **Asian Journal of Chemistry**, v. 24, n. 3, p. 945-956, 2012.
- SANTOS, M. R. A.; LIMA, R. A.; SILVA, A. G.; LIMA, D. K. S.; SALLET, L. A. P., TEIXEIRA, C. A. D.; FACUNDO, V. A. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 15, n. 14, p. 757-762, 2013.
- SASS, J. E. **Botanical Microtechnique**. 2. ed. Ames: Iowa State College Press, 1951.
- SAZIMA, M.; VOGEL, S.; COCUCCI, A. HAUSNER, G. The perfume flowers of *Cyphomandra* (Solanaceae): pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores and volatiles. **Plant Systematics and Evolution**, Austria, v. 187, n. 1, p. 51-88, 1993.
- SCHIESTL, F. P.; AYASSE, M.; PAULUS, H. F.; ERDMANN, D.; FRANCKE, W. Variation in floral scent emission and postpollination changes in individual flowers of *Ophrys sphegodes* subsp. *sphegodes*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 23, n. 12, 1997.
- SHARMA, M. V.; ARMSTRONG, J. E. Pollination of *Myristica* and other nutmegs in natural populations. **Tropical Conservation Science – Special Issue**, v. 6, n. 5, p. 595-607, 2013.
- SILVA, R. F.; TINOCO, N. A. B.; TSUKUI, A.; KOSCHNITZKE, C.; SILVA-BATISTA, I.; REZENDE, C. M.; BIZZO, H. R. Floral Scent and Nectar Sugar Composition of *Temnadenia odorifera* (Apocynoideae, Apocynaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30 n. 2, p. 388-397, 2019.
- SINGER, R. B.; KOEHLER, S. Notes on the pollination biology of *Notylia nemorosa* (Orchidaceae): do pollinators necessarily promote cross pollination? **Journal of Plant Research**, v. 116, n. 1, p. 19-25, 2003.
- SOARES A. A.; CAMPOS, L. A. O.; VIEIRA, M. F.; MELO, G. A. R. Relações entre *Euglossa* (Euglossella) *mandibularis* Friese, 1988 (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) e *Cyphomandra calycina* (Solanaceae). **Ciência e Cultura**, v. 41, p. 903-905, 1989.
- SOBRINHO, S. P.; SIQUEIRA, A. G. Caracterização morfológica de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de Mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam. - Sterculiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 114-120, 2008.
- SONG, Q.; YANG, D.; ZHANG, G.; YANG, C. Volatiles from *Ficus hispida* and their attractiveness to fig wasps. **Journal of Chemical Ecology**, v. 27, n. 10, p. 1929-1942, 2001.

SOUZA, C. D.; PEREIRA, R. A. S.; MARINHO, C. R.; KJELLBERG, F.; TEIXEIRA, S. P. Diversity of fig glands is associated with nursery mutualism in fig trees. **American Journal of Botany**, v. 102, n. 10, p. 1-14, 2015.

SOUZA, I. M.; HUGHES, F. M.; FUNCH, L. S.; DE QUEIROZ, L. P. Nocturnal and diurnal pollination in *Copaifera coriacea*, a dominant species in sand dunes of the Middle Sao Francisco River Basin, Northeastern Brazil. **Plant Ecology and Evolution**, v. 154, n. 2, p. 207-216, 2021.

SOUZA, M. S.; VENTURIERI, G. A. Floral Biology of Cacauhy (*Theobroma speciosum* - Malvaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Brasil, v. 53, n. 4, p. 861-872, jul./ago., 2010.

STERN, W. L.; CURRY, K. J.; PRIDGEON, A. M. Osmophores of *Stanhopea* (Orchidaceae). **American Journal of Botany**, v. 74, n. 9, p. 1323-1331, 1987.

SZENTECZKI, M. A.; GODSCHALX, A. L.; GALMÁN, A.; ESPÍNDOLA, A.; GIBERNAU, M.; ALVAREZ, N.; RASMANN, S. Spatial and temporal heterogeneity in pollinator communities maintains within-species floral odour variation. **Oikos**, v. 130, n. 9, p.1487-1499, 2021.

THEIS, N.; RAGUSO, R. A. The effect of pollination on floral fragrance in thistles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, n. 11, p. 2581-2600, 2005.

VASCONCELOS, F. M.; ANDRADE, E. H. A.; TEIXEIRA, L. O. A.; MAIA, J. G. S. Volatile Constituents of Floral Scents from *Encyclia cordigera* (Kunth) Dressler and *E. randii* (Barb. Rodr.) Porto & Brade (Orchidaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 33, n. 1, p. 96-101, 2022.

VOGEL, S. **Duft drüse nim Dienste der Bestäubung**; über Bau und Funktion der Osmophoren. Abh. Akad. Wiss. Lit. Mainz, Math.-Naturwiss., v. 10, p. 1-165, 1963.

VOGEL, S. **The role of scent glands in pollination**: on the structure and function of osmophores. Washington Smithsonian Institution: New Deli Amerind. Publ. Comp., 1990.

WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E.; STPICZYNSKA, M. Osmophores of *Amorphophallus rivieri* Durieu (Araceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, Lublin, v. 64, n. 2, p. 121-129, 1995.

WESTERKAMP, C.; SOARES, A. A.; NETO, L. P. A. Male and female booths with separate entrances in the tiny flowers of *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae – Byttnerioideae) I. structural integration. **Flora**, v. 201, n. 5, p. 389-395, 2005.

WHITEHEAD, M. R.; PEAKALL, R. Integrating floral scent, pollination ecology and population genetics. **Functional Ecology**, v. 23, p. 863-874, 2009.

YANG, F.; DONG, W.; ZHANG, X.; LI, Y.; ZHOU, S.; ZHU, G.; XIAO, C. Volatile-organic compound changes in rose twigs consequent to infection with rose powdery mildew. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 79, n. 4, 2019.