

ANDERSON LOPES FONTES

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Ditassa burchellii* HOOK. & ARN.  
(ASCLEPIADOIDEAE, APOCYNACEAE): FENOLOGIA,  
MORFOLOGIA FUNCIONAL, POLINIZADORES E ANÁLISE  
QUÍMICA DE VOLÁTEIS FLORAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

F682b  
2015  
Fontes, Anderson Lopes, 1989-  
Biologia reprodutiva de *Ditassa burchellii* Hook. & Arn.  
(Asclepiadoideae, Apocynaceae) : fenologia, morfologia  
funcional, polinizadores e análise química de voláteis florais /  
Anderson Lopes Fontes. – Viçosa, MG, 2015.  
viii, 54f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Inclui apêndice.

Orientador: Milene Faria Vieira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.35-44.

1. Plantas - Reprodução. 2. *Ditassa burchellii*. 3. Fenologia  
vegetal. 4. Polinização por inseto. 5. *Milichiidae*.  
6. Saprômiofilia. 7. Ocimeno. I. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de  
Pós-graduação em Botânica. II. Título.

CDD 22. ed. 583.93

ANDERSON LOPES FONTES

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Ditassa burchellii* HOOK. & ARN.  
(ASCLEPIADOIDEAE, APOCYNACEAE): FENOLOGIA,  
MORFOLOGIA FUNCIONAL, POLINIZADORES E ANÁLISE  
QUÍMICA DE VOLÁTEIS FLORAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**APROVADA:** 29 de janeiro de 2015.

---

Antonio Jacinto Demuner

---

Ana Paula Santos Gonçalves

---

Milene Faria Vieira  
(Orientadora)

## AGRADECIMENTOS

À professora Milene Faria Vieira, minha Orientadora com “o” maiúsculo, que além de tudo, me norteou por estes caminhos da vida. Muito obrigado pelo apoio, paciência, ensinamentos profissionais e pessoais e confiança em mim depositada.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Biologia Vegetal pela oportunidade de realização desde projeto e pelo suporte técnico fornecido.

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro.

Aos professores Antonio Jacinto Demuner e Ana Paula Gonçalves por terem aceitado o convite de participar da banca. Muito obrigado pelas preciosas sugestões.

Aos funcionários da Mata do Paraíso, Sr. Ricardo, Sr. Raimundo, Alair, Vanderli e Sebastião pela força dada durante a pesquisa e por ajudar a conservar a Mata, tornando-a cada dia mais bonita.

Ao Ângelo, pela paciência, prontidão e boa vontade de sempre.

Aos funcionários do herbário, especialmente ao Celso e Fernanda, pelo apoio e atenção constante.

Aos professores do DBV, pelo auxílio na formação profissional e ensinamentos durante esta caminhada.

Ao Professor Antônio Jacinto Demuner, por toda boa vontade e prontidão em me ajudar com aquelas análises químicas “cabeludas”. Muito obrigado pelas suas sugestões.

Ao Zé Luiz, pela colaboração com as análises químicas nos equipamentos do Departamento de Química.

Aos fiéis amigos da salinha da Pós, especialmente a Livia lívia, Valentin, Ronaldo fenômeno, Mônica, Primulaceae, Alaísma, Lucía, Evandro e Van Terra. Vou sentir muitas saudades das nossas marmotices e do nosso convívio diário.

Ao pessoal do Laboratório de Anatomia Vegetal, especialmente Andrea, Dya, Gui, Aurora, Patrícia e toda a “moçadinha” que me acolheu durante o minha estadia por lá.

Ao Gui e Brenda, por toda a força, prontidão, disponibilidade e boa vontade nesta reta final à distância!

Ao Prof. Paulo Fiuza, pela triagem do material e disponibilidade em me socorrer sempre que solicitado.

Ao Prof. Lúcio Campos e o doutorando Hugo Werneck pela identificação das abelhas.

À Prof. Angélica Pentead-Dias da UFSCAR, pelas identificações dos Braconidae e Ichneumonidae.

Ao Prof. Marcel Hermes da UFLA, pelas identificações dos Vespidae.

Ao Prof. Carlos Einicker Lamas do Museu de Zoologia da USP de São Paulo, pela luz na orientação com os demais taxonomistas de Diptera. Sem sua ajuda o caminho teria sido mais tortuoso...

Ao Prof. Ramon Luciano Mello da UFMS, pelas identificações dos Milichiidae e Syrphidae.

Ao Prof. Dalton Amorim da USP de Ribeirão Preto, pela identificação dos Mycetophilidae, Sciaridae e Bibionidae. Que o senhor continue sendo este exemplo de profissional sempre.

Ao Prof. Silvio Nihei da USP de São Paulo, pelas identificações dos Muscidae.

À Prof. Vera Silva da UNESP de Jaboticabal, pelas identificações dos Sepsidae e Lauxaniidae.

À Prof. Cátia de Mello-Patiu do Museu Nacional do Rio de Janeiro, pelas identificações dos Sarcophagidae.

Ao Reinaldo, pelas belíssimas ilustrações botânicas.

À Silvia e demais colaboradores da ecologia, por possibilitarem o uso da “lupa de um milhão de reais” do Prof. Carlos Sperber.

À Alê, sempre do meu lado, me incentivando e me suportando sempre! Muito obrigado por toda a cumplicidade e companheirismo.

À minha família, sempre me incentivando e acreditando no meu trabalho, mesmo sem saber ao certo o que eu estava fazendo.

E enfim, agradeço a todos aqueles de uma forma ou outra contribuíram para a realização desta pesquisa. Muito obrigado!!!

## SUMÁRIO

RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	4
2.1. Área de estudo .....	4
2.2. Espécie estudada.....	5
2.3. Fenologia reprodutiva.....	7
2.4. Morfologia funcional da flor .....	8
2.5. Mecanismo de polinização e remoção de polinários .....	9
2.6. Visitantes florais .....	9
2.7. Diversidade química de voláteis florais .....	10
3. RESULTADOS .....	11
3.1. Fenologia reprodutiva.....	11
3.2. Morfologia funcional da flor .....	15
3.3. Mecanismo de polinização e remoção de polinários .....	19
3.4. Visitantes florais .....	20
3.5. Diversidade química de voláteis florais .....	25
4. DISCUSSÃO .....	27
5. CONCLUSÕES .....	34
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
APÊNDICE .....	45
ANEXO .....	47

## RESUMO

FONTES, Anderson Lopes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, janeiro de 2015. **Biologia reprodutiva de *Ditassa burchellii* Hook. & Arn. (Asclepiadoideae, Apocynaceae): fenologia, morfologia funcional, polinizadores e análise química de voláteis.** Orientadora: Milene Faria Vieira.

*Ditassa* R. Br. é um gênero neotropical composto por 100 espécies de lianas volúveis, distribuídas por toda a América Latina, exceto o Chile, e excepcionalmente no México. São 60 espécies brasileiras, 49 destas endêmicas. *Ditassa burchellii* Hook. & Arn. é restrita ao Distrito Federal e aos Estados do Sul e Sudeste. Na ocasião da sua floração, é facilmente localizada devido ao forte odor de urina liberado pelas suas pequenas flores, com cerca de 3 mm de diâmetro. Foi objetivo analisar as estratégias reprodutivas sexuadas dessa espécie, no maior remanescente de Floresta Atlântica do município de Viçosa, sudeste brasileiro. Para tanto, sete indivíduos foram acompanhados no período entre março de 2013 e dezembro de 2014. Neles, foi registrada a fenologia reprodutiva e, adicionalmente, foi verificada a sazonalidade das fenofases e sua correlação com as variáveis ambientais. A morfologia floral e o mecanismo de polinização foram analisados com auxílio da microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, através de procedimentos usuais. Para verificar a atividade dos visitantes florais, foi quantificada a remoção de polinários em 450 flores senescentes. Os visitantes florais foram identificados e a frequência de visitação foi realizada no pico da floração. A composição específica dos voláteis florais foi quantificada utilizando Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas. A floração e frutificação ocorreram, respectivamente, na transição da estação chuvosa para seca e na estação seca, com sobreposição entre elas e picos distintos e sequenciais. Os ciclos fenológicos foram ajustados à sazonalidade climática, influenciados principalmente pela precipitação, temperatura e comprimento do dia. A morfologia floral é semelhante à morfologia de outras espécies de Asclepiadoideae. Entretanto, a presença de tecidos secretores nos segmentos estaminais da corona é inédita. O néctar é o recurso procurado pelos visitantes florais e acumula-se em cavidades nectaríferas, localizadas abaixo das fendas antrais. Ao acessar o recurso, o aparelho bucal dos polinizadores é capturado pela fenda, que a percorre de baixo para cima, resultando em remoção ou inserção de polínias. Este mecanismo de polinização também foi observado em outras Asclepiadoideae. As flores apresentaram a tendência de um ou dois polinários removidos. Foram observados 53 espécies de visitantes florais, distribuídas entre as ordens

Hymenoptera (23 espécies) e Diptera (30 espécies). Apesar dessa diversidade, *D. burchellii* foi caracterizada como sapromiíófila. Os principais polinizadores foram as micro-moscas (cerca de 4-5 mm) da família Milichiidae, que realizaram 23,49% das visitas. Os compostos mais abundantes encontrados nos voláteis florais foram (*E*)- $\beta$ -ocimeno, (*E*)-cariofileno,  $\alpha$ -copaeno, tiglato de (*Z*)-hex-3-enila e p-1,3,8-mentatrieno, que provavelmente são os responsáveis pela atratividade dos insetos visitantes.

## ABSTRACT

FONTES, Anderson Lopes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, January, 2015. **Reproductive biology of *Ditassa burchellii* Hook. & Arn. (Asclepiadoideae, Apocynaceae): phenology, functional morphology, pollinators and chemical analysis of floral volatiles.** Adviser: Milene Faria Vieira.

The neotropical genus *Ditassa* R. Br. consists of about 100 species of lianas, distributed in Latin America, except Chile, and exceptionally in Mexico. There are 60 Brazilian species, of which 49 are endemic. *Ditassa burchellii* Hook. & Arn. is restricted to the Distrito Federal and the states of the South and Southeast. On occasion of flowering, it is easily located because of the strong odor of urine released by its small flowers, with about 3 mm diameter. Our goal were to analyse the reproductive strategies of this specie, in the largest fragment of Atlantic Forest located in the municipality of Viçosa, southeastern Brazil. For this purpose, seven individuos were monitored from March/2013 to December/2014. The reproductive phenology was recorded in these individuos and, additionally, were verified seasonality of the fenofases and their correlation with environmental variables. The floral morphology and pollination mechanism were analysed with the aid of studies in light microscopy and scanning electron microscopy. For that, we applied the usual methods. Removal of pollinaria was measured at 450 senescent flowers to check the activities of floral visitors. The floral visitors were identified and the visitation frequency was assessed during flowering peak. The specific composition of floral volatiles was quantified using gas chromatography coupled to mass spectrometry. The flowering and fruiting occurred respectively in the transition from the rainy to dry and dry seasons, with overlap between them and distinct and sequential peaks. The phenological cycles were adjusted to climate seasonality, influenced mainly by rainfall, temperature and daylength. The flower morphology resembles the morphology of other species of Asclepiadoideae. However, the presence of secretory tissues in staminal corona is unprecedented. Nectar is the resource used by floral visitors and it accumulates inside the nectar cavity, located below the anther slit. To access the resource, the pollinator mouthparts is “caught” by the anther slit, that runs upwards, resulting in removal or insertion of pollinia. This pollination mechanism was also observed in other species of Asclepiadoideae. The flowers showed one or two pollinia removed per flower. The floral visitors of *D. burchellii* were 53 insects species, distributed among the orders Hymenoptera (23 species) and Diptera (30 species). Despite this diversity, *D. burchellii* was characterized as sapromyophilous. The main pollinators were small flies from Milichiidae family (about 4-5 mm), accounted for 23,49% of the visits.

The most abundant compounds found in the floral volatiles were (*E*)- $\beta$ -ocimene, (*E*)-caryophyllene,  $\alpha$ -copaene, ethyl tiglate e p-1,3,8-mentatriene, which probably are responsible for the attractiveness of visiting insects.

## 1. INTRODUÇÃO

A família Apocynaceae foi descrita por Jussieu em 1789 e, atualmente, pertence à ordem Gentianales, juntamente com as Loganiaceae, Rubiaceae, Gelsemiaceae e Gentianaceae (APG III). Está entre as 10 famílias de angiospermas mais ricas em espécies, representando 5,5% da diversidade desse grupo de plantas no mundo (NICHOLAS & BAIJNATH 1994). De acordo com ENDRESS (2004), Apocynaceae possui 5.000 espécies e 375 gêneros, com distribuição predominantemente pantropical. No Brasil, esta família esta representada por 95 gêneros e cerca de 850 espécies (SOUZA & LORENZI 2008).

Este elevado número de espécies é devido à inclusão da família Asclepiadaceae em Apocynaceae, resultante de estudos em sistemática filogenética baseados em caracteres morfológicos e moleculares (SENNBLAD & BREMER 2002). Assim, segundo ENDRESS & BRUYNS (2000), Apocynaceae *s.l.* está atualmente subdividida em cinco subfamílias: Rauvolfioideae e Apocynoideae (Apocynaceae *s.s.*) e Periplocoideae, Secamonoideae e Asclepiadoideae (Asclepiadaceae). No Brasil, ocorrem as subfamílias Rauvolfioideae, Apocynoideae e Asclepiadoideae (MOROWAKA et al. 2013).

A morfologia dos órgãos reprodutivos das espécies de Apocynaceae é importante na delimitação das subfamílias, de forma que as Rauvolfioideae apresentam a morfologia floral mais simples e a complexidade morfológica aumenta-se gradativamente entre as demais subfamílias, culminando nas Asclepiadoideae (ENDRESS & BRUYNS 2000). Dessa forma, as Asclepiadoideae compõem um grupo reconhecidamente complexo do ponto de vista morfológico e taxonômico e apresentam um arranjo floral único, sendo consideradas as mais complexas dentre as angiospermas (WYATT & BROYLES 1994).

A subfamília Asclepiadoideae engloba aproximadamente 3.000 espécies (MEVE 2002) distribuídas em 172 gêneros (ENDRESS et al. 2007), que podem ser reconhecidas pela presença de látex e gineceu com dois ovários (apocarpia secundária) súperos, dois estiletos e uma estrutura dilatada, no ápice dos estiletos, chamada de cabeça dos estiletos (RAPINI 2000; JUDD et al. 2009; VIEIRA et al. 2012). Os frutos são do tipo folículo e as sementes são comosas, anemocóricas (RAPINI 2000; JUDD et al. 2009).

Estudos sobre fenologia em espécies desta subfamília envolveram basicamente a fenologia de floração, realizados em diversas espécies de *Asclepias* nos Estados Unidos (WYATT 1980; KEPHART 1987; KAUL et al. 1991) ou em outras espécies de outros gêneros em diferentes países (p. ex. LIEDE & WITEHEAD 1991; OLLERTON et al. 2003; KRINGS 2006; WOLFF et al. 2008). Trabalhos envolvendo aspectos fenológicos

em território brasileiro estão restritos à *Calotropis procera* (Aiton) W.T.Aiton (SOBRINHO et al. 2013), *Ditassa banksii* R.Br. ex Schult. (KOSCHNITZKE 2007) e espécies do gênero *Oxypetalum* (VIEIRA 1998).

As flores de representantes de Asclepiadoideae são hermafroditas, actinomorfas e completas, com cálice, corola, corona, androceu e gineceu (ENDRESS 1994). As cinco sépalas se alternam com as cinco pétalas, que, por sua vez, se alternam aos cinco elementos da corona e cinco estames, cada um com duas polínias. O conjunto formado por polínias e translador forma o polinário. Além disso, as pétalas estão unidas entre si e aos elementos da corona, que, por sua vez, estão unidos entre si e aos estames. Estes também estão unidos entre si e ao gineceu, formando o ginostégio (KUNZE 1991; ENDRESS 1994; MEVE & LIEDE 1994; VIEIRA et al. 2012). A união entre os elementos florais de um mesmo verticilo e entre elementos de verticilos diferentes resultou na origem de novas estruturas florais, que, em conjunto, estão ausentes em outras angiospermas: corona, ginostégio e polinário (ENDRESS 1994).

Nas Asclepiadoideae, o néctar é o recurso disponível aos polinizadores e o seu local de acúmulo é o fator responsável pela posição de adesão do polinário ao corpo do polinizador. Se o néctar estiver acumulado nos elementos da corona, como observado em *Asclepias curassavica* L. (GALIL & ZERONI 1965) e *Calotropis procera* (EISIKOWITCH 1986), o polinário se adere às pernas dos insetos; se acumulado na base do tubo da corola, como o observado em espécies de *Oxypetalum* (VIEIRA & SHEPHERD 1999a) e *Morrenia* (WIEMER et al. 2012), o polinário se adere ao aparelho bucal.

Assim, além da complexa morfologia floral das Asclepiadoideae, o mecanismo de polinização, que ocorre pela remoção dos polinários e posterior inserção das polínias em câmaras estigmáticas (BOOKMAN 1981; KUNZE 1991; MEVE & LIEDE 1994), é de difícil efetivação e visualização. Dessa forma, a polinização é inferida pelas taxas de remoção e inserção de polínias, que estimam, respectivamente, a atividade dos visitantes nas flores (WILLSON & RATHKE 1974) e o sucesso da polinização (LIEDE & WHITEHEAD 1991). A complexidade deste processo resulta em baixas taxas de polinização natural e, conseqüentemente, em baixas frutificações, com valores próximos de 1 a 5% (WYATT & BROYLES 1994; VIEIRA & SHEPHERD 1999b).

As espécies de Asclepiadoideae apresentam uma enorme diversidade de polinizadores (MEVE & LIEDE 1994; OLLERTON & LIEDE 1997) que incluem representantes das ordens Diptera (p. ex. OLLERTON & FORSTER 1995; MASINDE 2004; OLLERTON et al. 2009; HEIDUK et al. 2010), Lepidoptera (p. ex. MORSE 1985;

JENNERSTEN & MORSE 1991), Hymenoptera (p. ex. MACIOR 1965; KEPHART 1983; VIEIRA & SHEPHERD 1999a; WIEMER et al. 2012), e, menos frequentemente, Coleoptera (OLLERTON et al. 2003; SHUTTLEWORTH & JOHNSON 2008; VIEIRA & FONSECA 2011). Apesar de toda esta diversidade, menos de 10% das espécies dessa subfamília apresentam algum aspecto elucidado sobre a sua polinização (OLLERTON et al. 2014). No Brasil, os estudos envolvendo Asclepiadoideae e os seus polinizadores restringem-se aos gêneros *Asclepias* (ULE 1897), *Tassadia* (MEDEIROS et al. 2008) e *Oxypetalum* (VIEIRA & SHEPHERD 1999a; VIEIRA & FONSECA 2011).

A atratividade destes polinizadores parece estar associada com a emissão de odores florais, que desempenham papel importante nas interações entre flores e polinizadores (DOBSON & BERGSTRÖM 2000). De acordo com RAGUSO (2008), esta atratividade depende da intensidade, composição e duração da emissão dos voláteis florais. Os recentes trabalhos relacionados com a emissão de voláteis em Asclepiadoideae (JÜRGENS et al. 2006; FORMISANO et al. 2009; JÜRGENS et al. 2009; SHUTTLEWORTH & JOHNSON 2009; HEIDUK et al. 2010; JÜRGENS et al. 2010a) indicam que polinizadores específicos parecem ser atraídos por voláteis específicos. Entretanto, ainda muito pouco se sabe sobre voláteis emitidos por flores deste grupo de plantas (KNUDSEN et al. 2006).

*Ditassa* R.Br. é um gênero neotropical composto por 100 espécies, distribuídas por toda a América Latina, exceto o Chile (KONNO & FONTELLA-PEREIRA 2004). São 60 espécies brasileiras, 49 destas endêmicas (KOCH et al. 2014), trepadeiras ou lianas volúveis, ocorrendo por todos os estados, exceto Amapá e Mato Grosso do Sul (KOCH et al. 2014). Estudos que abordaram aspectos reprodutivos neste gênero são escassos e restritos a duas espécies brasileiras. KOSCHNITZKE (2007) analisou aspectos da fenologia e biologia floral em *Ditassa banksii* e CASTRO et al. (2005) realizaram um trabalho anatômico envolvendo a estrutura floral em *Ditassa burchellii* Hook. & Arn., com ênfase nos nectários. Inexistem na literatura informações sobre as estratégias reprodutivas de *D. burchellii*.

Diante da riqueza em espécies em *Ditassa* e da escassez de estudos sobre os seus aspectos reprodutivos, foi objetivo analisar as estratégias reprodutivas de *D. burchellii* no maior remanescente de Floresta Atlântica do município de Viçosa, Zona da Mata de Minas Gerais. Foram estudados a fenologia reprodutiva; a morfologia funcional da flor, para esclarecer o mecanismo de polinização; as taxas de remoção de polinários; os visitantes florais e, entre eles, os polinizadores; e a composição específica dos voláteis das flores

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido entre março de 2013 e dezembro de 2014 na Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso ( $20^{\circ}45'07''\text{S}$  e  $42^{\circ}55'31''\text{W}$ ), situada no município de Viçosa, Zona da Mata do Estado de Minas Gerais (figura 1). A Mata do Paraíso (MP), como será denominada no presente estudo, é administrada pelo Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa e sua vegetação encontra-se em diferentes estádios sucessionais (SILVA JR. 2002), como consequência da substituição de parte da floresta primária por cultivos, principalmente de café e pastagem (VOLPATO 1994). A MP é o maior fragmento florestal de Viçosa, abrange cerca de 195 ha e tem altitude média de 690 m (LEAL FILHO 1992). Sua vegetação é definida, segundo a classificação de VELOSO et al. (1991), como Floresta Estacional Semidecidual, que de acordo com RIZZINI (1992) está incluída nos domínios da Floresta Atlântica.

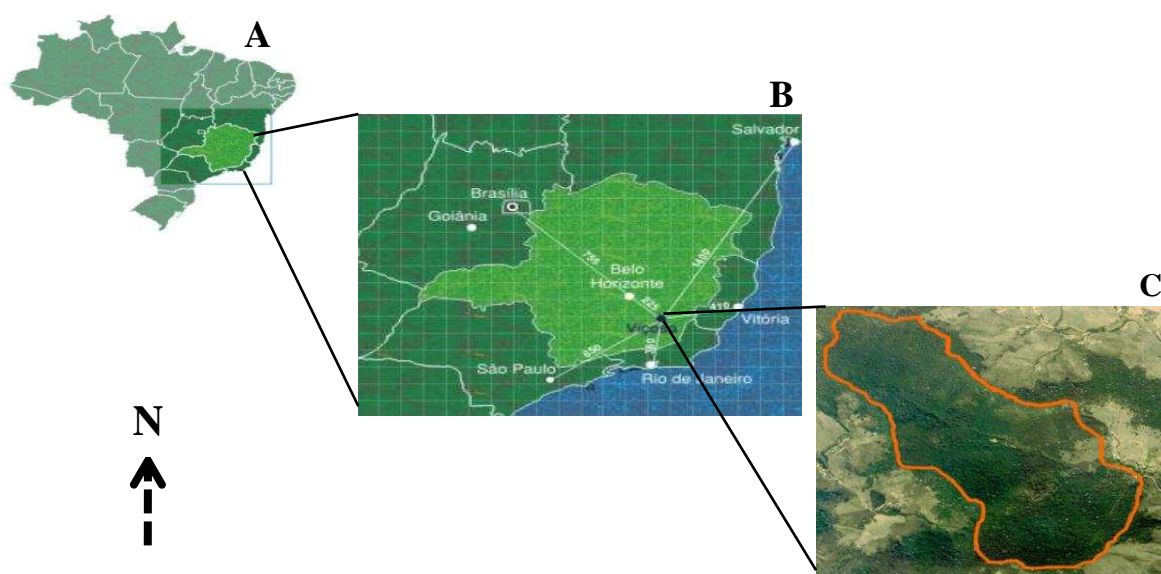


Figura 1: Localização geográfica da área de estudo. Mapa do Brasil, destacando-se o estado de Minas Gerais (A); o estado de Minas Gerais, destacando-se o município de Viçosa (B); delimitação aérea do fragmento florestal Mata do Paraíso, localizado em Viçosa (C).

O clima do município de Viçosa, segundo a classificação de KOPPEN (1948), é definido como Cwb, com verões quentes e úmidos e invernos frios e secos (PINTO et al. 2008). As médias anuais para temperatura variam de 19 a 22°C (LEAL FILHO 1992), enquanto a umidade relativa do ar e a precipitação apresentam valores médios de,

respectivamente, 80% e 1345 mm (ROMANOVISKI 2001). De acordo com a última normal climatológica (figura 2), a estação seca concentra-se entre os meses de abril a setembro, com menos de 60 mm de chuva por mês e temperatura variando de 11,1 a 26,6 °C; e a estação chuvosa inicia-se em outubro e estende-se até março, apresentando pluviosidade maior que 100 mm mensais e temperaturas entre 15,8 e 30 °C (DNMET 1992).

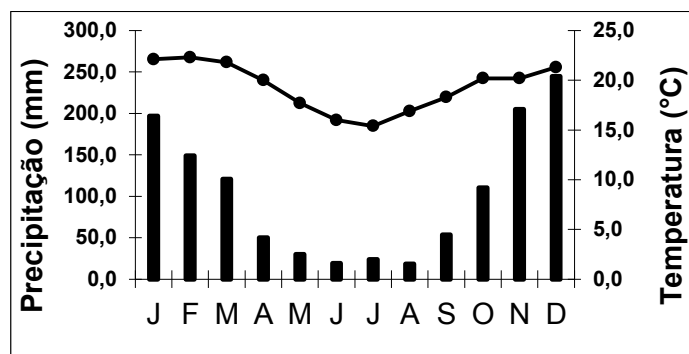


Figura 2: Normais climatológicas (1961 a 1990), no município de Viçosa, Minas Gerais. Barras = precipitação (mm); Linha = temperatura (°C). Fonte: Departamento Nacional de Meteorologia (1992).

## 2.2. Espécie estudada

*Ditassa burchellii* (figura 3) é trepadeira volúvel com ramos pubescentes e coléteres interpeciolares; possui folhas opostas, elípticas ou lanceoladas, com face adaxial glabra e face abaxial pilosa sobre as nervuras (KONNO 2005); as inflorescências são cimeiras umbeliformes, subaxilares, com 4-9 flores; as flores são diminutas, cerca de 3 mm, com tricomas no ápice dos lobos da corola e corona composta de duas séries; o fruto é do tipo folículo, com sementes comosas (KONNO 2005; RAPINI 2010).

*D. burchellii* está amplamente distribuída na região sul da América do Sul, ocorrendo na Argentina, Paraguai e Brasil (KONNO 2005). Em território brasileiro, esta espécie está restrita ao Distrito Federal e aos Estados do Sul e Sudeste (KOCH et al. 2014), geralmente em orlas de matas e capoeiras ou em restingas (RAPINI 2010). Na Mata do Paraíso, os indivíduos de *D. burchellii* são comumente observados ao longo das bordas das trilhas em locais parcialmente sombreados, crescendo sobre a vegetação. Na ocasião da floração, são facilmente localizados devido ao forte odor desagradável ao olfato humano liberado pelas suas flores.

O material botânico testemunho foi coletado e depositado no Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (n°43.006).

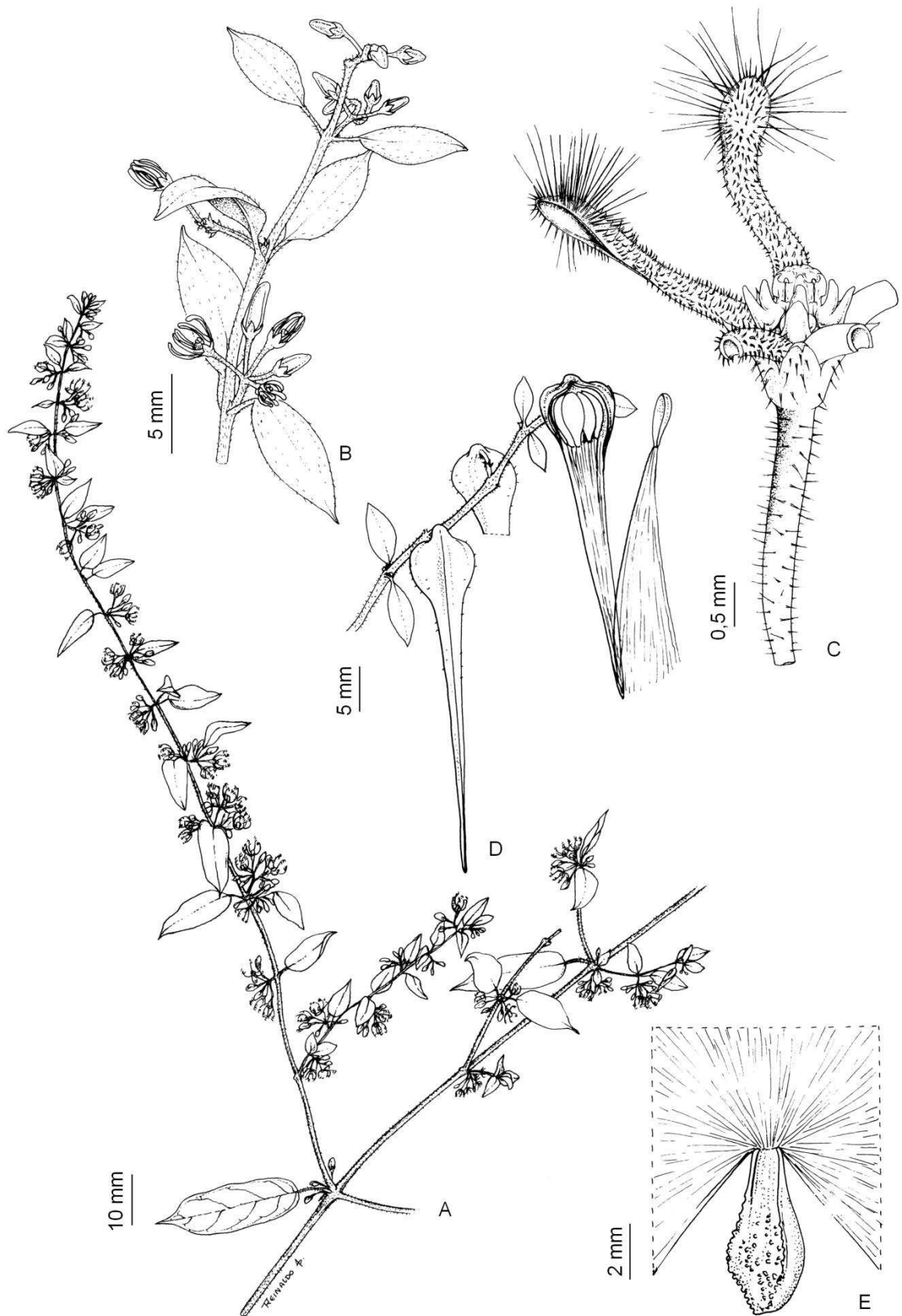


Figura 3: *Ditassa burchellii*. Ramo com folhas e inflorescências (A), detalhes das folhas e inflorescências (B), flor, com três pétalas removidas (C), fruto (folículo), fechado à esquerda e aberto com sementes comosas expostas à direita (D) e semente com a coma totalmente expandida e parcialmente representada (E).

### 2.3. Fenologia reprodutiva

Indivíduos foram selecionados percorrendo-se trilhas pré-existentes e em caminhadas aleatórias no meio da mata, conforme metodologia sugerida por MORELLATO & LEITÃO-FILHO (1990) e D'EÇA-NEVES & MORELLATO (2004). Foram marcados sete indivíduos adultos, respeitando a distância mínima de 10 m entre cada indivíduo, a fim de evitar a reavaliação de uma mesma planta. Esses indivíduos foram monitorados em dois episódios reprodutivos consecutivos, entre março de 2013 a dezembro de 2014, totalizando 21 meses de observações. As avaliações foram quinzenais no período vegetativo e semanais no período reprodutivo e registraram-se as presenças de botões florais, flores e frutos (imaturos e maduros).

Para o registro da longevidade da floração, 40 inflorescências com flores em botão, distribuídas em seis indivíduos, foram marcadas e acompanhadas diariamente a partir da antese das primeiras flores até a frutificação. Dessa forma, foram registradas a duração das flores, das inflorescências, o número de flores por inflorescência e o número de flores abertas por dia por inflorescência. A longevidade da frutificação foi verificada em 40 flores a partir do intumescimento do(s) ovário(s) até a dispersão das sementes. Além disso, observações não-sistemáticas sobre a taxa de frutificação por inflorescência e por flor foram realizadas em 650 inflorescências ao longo dos dois episódios reprodutivos.

Os padrões de floração e de frutificação foram classificados quanto à sua frequência e duração de acordo com NEWSTROM et al. (1994) em: contínuo – o evento se estendeu ao longo de todo o ano, com breve ou nenhuma interrupção; anual – com um ciclo reprodutivo por ano; sub-anual – mais de um ciclo reprodutivo por ano; supra-anual – um ciclo após um ano. O padrão anual foi dividido quanto à duração em: curto (< 1 mês), intermediário (1 - 5 meses) e estendido (> 5 meses).

Os eventos fenológicos foram quantificados através do cálculo do índice de atividade e intensidade *sensu* BENCKE & MORELLATO (2002b), utilizando-se a média dos valores semanais de cada mês. Ademais, a sincronia das fenofases foi avaliada segundo a classificação de BENCKE & MORELLATO (2002a), em que um evento fenológico assíncrono foi considerado quando menos de 20% dos indivíduos apresentaram a fenofase; pouco síncrono quando são observados de 20-60% dos indivíduos na fenofase; e altamente síncrono quando a fenofase está representada por mais de 60% dos indivíduos.

Para verificar a influência dos fatores climáticos na fenologia reprodutiva, foi calculada a correlação de Spearman ( $r_s$ ) utilizando os índices de atividade e intensidade

mensais e as variáveis climáticas (precipitação, temperatura média e comprimento do dia) do período de estudo. Adicionalmente, foi feita a correlação com as variáveis climáticas referentes aos três meses anteriores à ocorrência do evento.

Para verificar a sazonalidade sobre a frequência de distribuição das fenofases, os dados sobre o índice de atividade foram submetidos ao teste Rayleigh para distribuição circular (ZAR 1996), calculando a concentração de cada evento ( $r$ ) em torno de uma data específica no ano fenológico e testando a uniformidade da distribuição (teste  $Z$  de Rayleigh) da fenofase. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa *BioEstat 5.0* (AYRES et al. 2007).

#### **2.4. Morfologia funcional da flor**

Para os estudos morfológicos, flores frescas ou previamente estocadas em etanol 70%, de diferentes indivíduos, foram analisadas com auxílio de microscópio estereoscópico (Leica EZ4 D). A terminologia morfológica adotada seguiu a de LIEDE & KUNZE (1993), KUNZE (1995) e VIEIRA et al. (2012). Além disso, desenhos foram realizados através de observações do material fresco utilizando-se microscópio estereoscópico (Leica EZ4 D).

Em algumas flores, foi utilizada a glico-fita (fabricada pela Eli Lilly do Brasil Ltda.) para testar a presença de glicose na secreção floral coletada pelos visitantes. A glicose é um dos principais açúcares presente no néctar (BAKER & BAKER 1983).

Botões florais em pré-antese e flores foram fixados em FAA<sub>50</sub> (JOHANSEN 1940), imediatamente após terem sido coletados, para estudos morfoanatômicos. Este material foi incluído em resina hidróxi-etil-metacrilato (Historesin, Leica, Heidelberg, Germany) e os cortes transversais e longitudinais seriados (5  $\mu$ m de espessura) foram realizados em micrótomo rotativo de avanço automático (RM2155, Leica Microsystems Inc., Deerfield, USA). As lâminas foram coradas com azul de toluidina, pH 4,4 (O'BRIEN et al. 1964) e montadas sob lamínula com resina sintética (Permout, Fisher Scientific, Pittsburgh, USA). Adicionalmente, testes histoquímicos, utilizando-se o vermelho de rutênio (JOHANSEN 1940), foram realizados para detectar estruturas secretoras de polissacarídeos pécticos ou mucilagem, de acordo com VIEIRA & SHEPHERD (2002b). Cortes selecionados foram observados e fotografados em fotomicroscópio (AX-70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japan) equipado com o sistema Axion Vision com câmera fotográfica

digital acoplada (modelo Zeiss AxioCamHRc, Göttinger, Germany). Todo o procedimento foi realizado no Laboratório de Anatomia Vegetal da UFV.

Observações complementares de flores, seguidas de captura de imagens, foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV, modelo LEO 1430 VP, Zeiss, Cambridge, Inglaterra). Para tanto, as flores foram fixadas em FAA<sub>50</sub> e, após 24 h, substituídas por etanol 70%. Em seguida, foram desidratadas em série etílica, submetidas à secagem ao ponto crítico em CO<sub>2</sub> líquido no equipamento Balzers (modelo CPD 030, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein) e, posteriormente, cobertas com ouro em metalizador (SputterCoater, modelo FDU 010, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein), de acordo com o método proposto por ROBARDS (1978). Todo o procedimento foi realizado no Núcleo de Microscopia e Microanálise da UFV.

## **2.5. Mecanismo de polinização e remoção de polinários**

Foi descrito o mecanismo de polinização, com base na morfologia funcional da flor. Adicionalmente, para verificar a atividade dos visitantes nas flores, foi quantificada a remoção de polinários. Para tanto, 450 flores senescentes, previamente estocadas em etanol 70% (detalhes em VIEIRA & SHEPHERD 2002a) foram coletadas antes do pico de floração (n = 150), no pico de floração (n = 150) e após o pico de floração (n = 150), em seis indivíduos.

## **2.6. Visitantes florais**

O levantamento dos visitantes florais foi realizado em abril de 2013 e abril de 2014, por meio de observações visuais diretas. Os insetos foram coletados com o auxílio de um sugador artesanal ao longo da floração no período entre 7:00 e 17:00 h. Para cada inseto, foi registrado o horário, duração e comportamento de visita e local de deposição do polinário no seu corpo.

Análises complementares foram realizadas através da morfometria dos visitantes florais e, para isso, medições do comprimento da cabeça até o fim do abdômen foram realizadas. Adicionalmente, análises em microscópio eletrônico de varredura (MEV, modelo LEO 1430 VP, Zeiss, Cambridge, Inglaterra) foram realizadas para evidenciar o polinário aderido ao corpo do polinizador, utilizando o mesmo procedimento descrito anteriormente para as flores (ver tópico 2.4. Morfologia funcional da flor).

A frequência de visitação foi verificada em quatro dias não consecutivos em abril de 2014, no pico da floração, das 7:00 às 17:00 h, totalizando 40 horas de observação. O cálculo da frequência relativa de visitas foi feito pela divisão do total de visitas registradas para cada espécie nos quatro dias pelo número total de visitas realizadas por todos os insetos.

As identificações foram realizadas com o auxílio de especialistas e os espécimes, montados em alfinetes entomológicos, foram incorporados ao Museu de Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, à Coleção Zoológica da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, à Coleção Entomológica do Museu Nacional do Rio de Janeiro, à Coleção Entomológica da Universidade Federal de Lavras, à Coleção Entomológica da Universidade Federal de São Carlos, à Coleção Entomológica do Laboratório de Morfologia e Evolução de Diptera da Universidade de São Paulo (*campus* Ribeirão Preto) e ao Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (*campus* São Paulo).

## **2.7. Diversidade química de voláteis florais**

Para a extração dos voláteis florais, botões florais, no pico de floração, foram previamente ensacados para evitar o contato com os polinizadores. Na ocasião da antese, dois gramas de flores foram coletadas pela manhã, entre 8:00 e 9:00 h, pesadas em balança de precisão (Sovereign AY220) e imediatamente colocadas em frascos específicos para Headspace (22 mm x 75 mm; 20 mL). O mesmo procedimento se repetiu por três dias consecutivos. Os frascos contendo as flores foram aquecidos em banho-maria a 40 °C por 40 minutos.

A partir destas amostras obtidas, a análise qualitativa e quantitativa dos voláteis florais foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) utilizando fibra específica 50/30 µm (DVB/CAR/PDMS, Stableflex, 24Ga, Manual Holder, 3pK). A fibra, que estava inserida dentro do frasco contendo as flores em banho-maria, foi injetada no aparelho Shimadzu QP 5050A equipado com coluna DB-5 (30 m x 0,25 mm e 0,25 µm) e operando nas seguintes condições: fluxo de gás de arraste (He) de 1,8 mL/min, temperatura do injetor de 220 °C e temperatura inicial da coluna de 40 °C, aumentando de 3 °C por minuto até 240 °C, permanecendo constante por 30 minutos.

A identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos espectros de massas obtidos experimentalmente com o banco espectral Wiley, 7ª edição e também pelo índice de retenção relativo (ADAMS 1995).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Fenologia reprodutiva

As fenofases reprodutivas ocorreram, principalmente, na transição da estação chuvosa para seca e estação seca, com sobreposição entre elas e picos distintos e sequenciais (figura 4).

A presença de botões florais foi verificada em março e abril de 2013 e 2014 (figura 4A), com pico de atividade durante todo o mês de março e primeira quinzena de abril, em ambos os anos, em elevada sincronia (100% dos indivíduos); os picos de intensidade foram registrados no fim de março de 2013 (82%) e meados de março de 2014 (86%).

A floração ocorreu a partir da última semana de março e por todo o mês de abril, em ambos os anos (figura 4B), caracterizando o padrão anual intermediário. Os picos de atividade ocorreram nas três primeiras semanas de abril, em 100% dos indivíduos, sendo, portanto, um evento altamente síncrono; os picos de intensidade ocorreram na segunda semana de abril de 2013 (86%) e terceira semana de abril de 2014 (93%).

As flores abrem-se no início da manhã e duram, em média, 6,35 dias (Tabela 1). Os números médios de flores por inflorescência e de flores abertas por inflorescência e a duração média de uma inflorescência encontram-se na Tabela 1.

A frutificação (frutos imaturos e maduros) apresentou padrão anual estendido em ambos os anos. Em 2013, este evento teve início na terceira semana de abril e perdurou até a primeira semana de outubro (figura 4C). No ano seguinte, os frutos foram observados no período entre a última semana de abril e última semana de setembro. Desde modo, o tempo médio de desenvolvimento do fruto, a partir do intumescimento do(s) ovário(s) até a dispersão das sementes, foi de 139,25 ( $\pm 24,12$ ) dias.

Tabela 1: Números de flores e de flores abertas por inflorescência, durações, em dia, das inflorescências e das flores de *Ditassa burchellii* na Mata do Paraíso, em Viçosa, Minas Gerais.

Flores por infloresc. (n°) Média $\pm$ DP	Duração da infloresc., em dias Média $\pm$ DP	Flores abertas por dia por infloresc. (n°) Média $\pm$ DP	Duração da flor, em dias	
			Média	Amplitude
8,67 $\pm$ 1,76 (n = 40)	21,05 $\pm$ 4,39 (n = 40)	4,13 $\pm$ 1,56 (n = 40)	6,35 (n = 293)	02-11

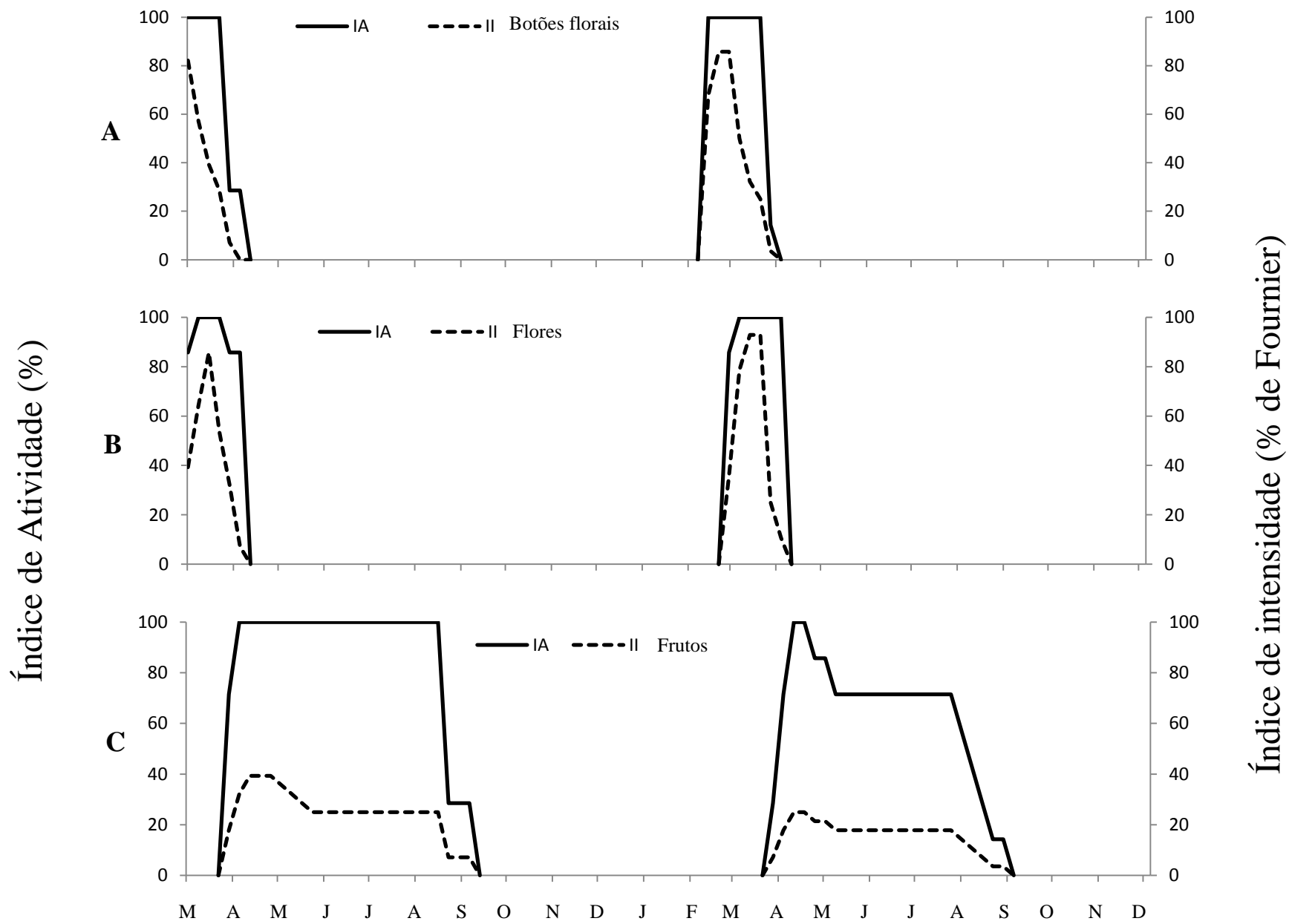


Figura 4: Índices de atividade (IA) e de intensidade (II) dos botões florais (A), flores (B) e frutos (C) no período entre março de 2013 a dezembro de 2014, em *Ditassa burchellii* na Mata do Paraíso, em Viçosa, Minas Gerais.

Os picos de atividade dos frutos em desenvolvimento ocorreram em elevada sincronia (100% dos indivíduos) entre a última semana de abril e início de setembro em 2013 e durante a primeira quinzena de maio em 2014. Após esta data em 2014, houve queda na frutificação, devido ao aborto dos frutos imaturos (figura 4C). Os picos de intensidade ocorreram em meados de maio de 2013 (39%) e durante a primeira quinzena de maio de 2014, quando os indivíduos apresentavam taxa de 25% de frutificação.

As observações sobre as taxas de frutificação indicam que houve baixa porcentagem de frutificação (5,96%, n = 4127). Os demais dados sobre a frutificação por inflorescência e por flor, a partir de observações não-sistemáticas de inflorescências que produziram frutos ao longo das duas florações estão apresentados na Tabela 2. Foi observada a tendência de apenas uma flor por inflorescência resultar em fruto, visto que 96,75% das inflorescências que produziram frutos apresentaram esta condição. Além disso, houve também a tendência de produção de um único folículo por flor, sendo pouco frequente a produção de folículos gêmeos (3,25%; Tabela 2).

Tabela 2: Frutificação por inflorescência e por flor em *Ditassa burchellii* na Mata do Paraíso, em Viçosa, Minas Gerais.

Infloresc. observadas (n°)	Infloresc. com frutos (n°)	Flores por infloresc. que resultaram frutos (%)			Frutos observados <sup>1</sup> (n°)	Folículos por flor (%)	
		1	2	3		1	2
650	240	97,50	2,5	0	246	96,75	3,25

1. Folículos gêmeos (dois folículos por flor) foram contados como um fruto.

Os frutos maduros foram observados, em 2013, no período entre a primeira semana de agosto até a primeira semana de outubro. Em 2014, a dispersão das sementes ocorreu a partir de meados de julho e se estendeu até o fim de setembro. Dessa forma, em ambos os anos, as sementes foram dispersadas no período de transição da estação seca para a chuvosa.

Houve correlação positiva de todas as variáveis climáticas com as fenofases botões florais e flores e correlação negativa com os frutos imaturos e maduros (Tabela 3). As fenofases botões florais e flores apresentaram correlação com as variáveis climatológicas durante todo o período de observação, exceto no seu mês de ocorrência (mês 0; Tabela 3). Os frutos imaturos apresentaram os maiores coeficientes de correlação com a temperatura e comprimento do dia no mês atual e os meses que antecederam esta fenofase. Os frutos

maduros, por sua vez, apresentaram correlação entre todas as variáveis climáticas e todos os períodos de observação, exceto no mês de ocorrência deste evento (mês 0; Tabela 3).

A análise circular demonstrou que todas as fenofases são sazonais e concentradas num determinado período de tempo (Tabela 4). Os maiores valores de  $r$  observados em botões florais, flores e frutos maduros demonstraram que as suas fenofases foram mais concentradas e síncronas em torno da data média. A presença frutos imaturos, durante toda a estação seca, caracterizou o evento menos sazonal ( $r = 0,73$ ; Tabela 4).

Tabela 3: Coeficientes de correlação de Spearman significativos ( $p \leq 0,05$ ) entre as fenofases reprodutivas de *Ditassa burchellii* e os dados meteorológicos do período de observação referentes ao mês de ocorrência do evento (0) e a três meses anteriores (1, 2, 3) na Mata do Paraíso em Viçosa, Minas Gerais. BF = botões florais; Fl = flores; Fr I = frutos imaturos; Fr M = frutos maduros; (-) = não significativo.

Índices	Dados meteorológicos	Meses	BF	Fl	Fr I	Fr M
Atividade	Precipitação	0	-	-	-0,51	-
		1	-	-	-0,43	-0,39
		2	-	-	-	-0,40
		3	0,37	-	-	-0,33
	Temperatura média	0	-	-	-0,83	-
		1	0,44	0,35	-0,70	-0,60
		2	0,49	0,40	-0,33	-0,60
		3	0,40	0,41	-	-0,55
	Comprimento do dia	0	-	-	-0,85	-
		1	-	-	-0,86	-0,51
		2	0,36	-	-0,70	-0,71
		3	0,57	0,44	-0,37	-0,70
Intensidade	Precipitação	0	-	-	-0,48	-
		1	-	-	-0,39	-0,39
		2	-	-	-	-0,40
		3	0,33	-	-	-0,33
	Temperatura média	0	-	-	-0,80	-
		1	0,44	0,36	-0,63	-0,60
		2	0,46	0,40	-0,21	-0,60
		3	0,36	0,41	-	-0,55
	Comprimento do dia	0	-	-	-0,84	-
		1	-	-	-0,79	-0,51
		2	0,36	-	-0,61	-0,71
		3	0,55	0,44	-0,27	-0,70

Tabela 4: Resultado da análise circular utilizando os valores semanais da fenologia reprodutiva de *Ditassa burchellii* na Mata do Paraíso em Viçosa, Minas Gerais. IA = Índice de Atividade.

Variável	Botões florais	Flores	Frutos Imaturos	Frutos Maduros
	IA	IA	IA	IA
Média Angular ( $\alpha$ )	91,11	100,71	184,87	243,93
Data média	3 Abr	12 Abr	6 Jul	4 Set
Comprimento médio do vetor ( $r$ )	0,98	0,99	0,73	0,97
Teste de Rayleigh ( $p$ )	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

### 3.2. Morfologia funcional da flor

As flores são compostas de cinco sépalas, cinco pétalas cobertas por tricomas (figuras 3C, 5A), cinco elementos de coroa (compostos por segmentos estaminais bifurcados e interestaminais), cinco estames e gineceu com dois carpelos livres, representados por dois ovários, dois estiletes e a cabeça dos estiletes (figuras 5-7). O cálice é dialissépalo e as sépalas se alternam às pétalas; a corola é gamopétala e as pétalas são adnatas aos cinco elementos da coroa, que, por sua vez, estão adnatos aos estames; o androceu apresenta os estames conados pelos filetes e estão adnatos à coroa; o gineceu é circundado pelo androceu e adnato à ele pela cabeça dos estiletes, caracterizando o ginostégio.

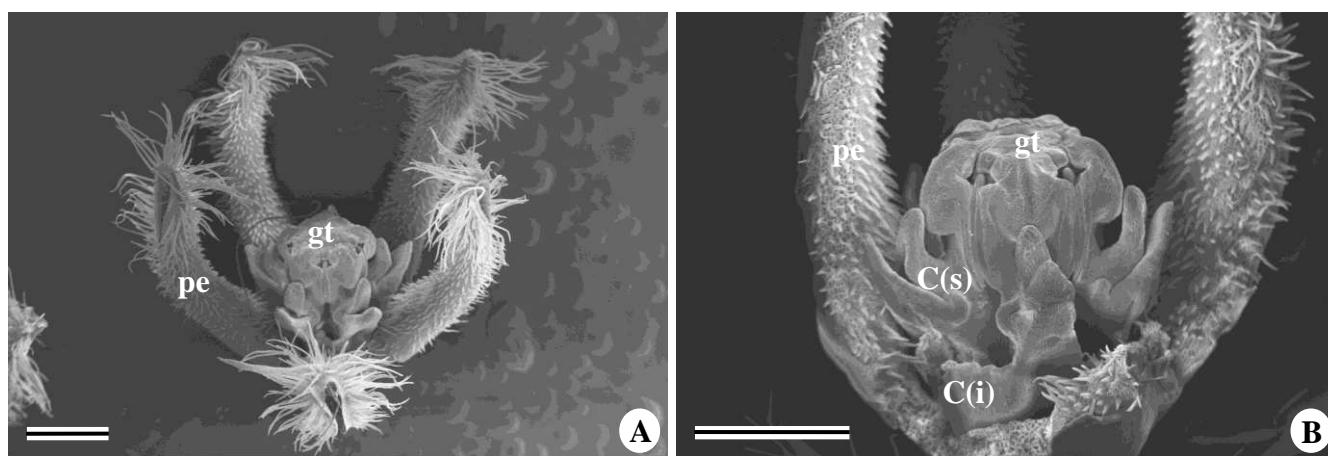


Figura 5: Flores de *Ditassa burchellii*. Aspecto geral (A), detalhe do ginostégio, corola e cavidade nectarífera; duas pétalas foram removidas (B). C(s) = coroa estaminal; C(i) = coroa interestaminal; gt = ginostégio; pe = pétala. Barras = 0,5 mm (figuras A e B).

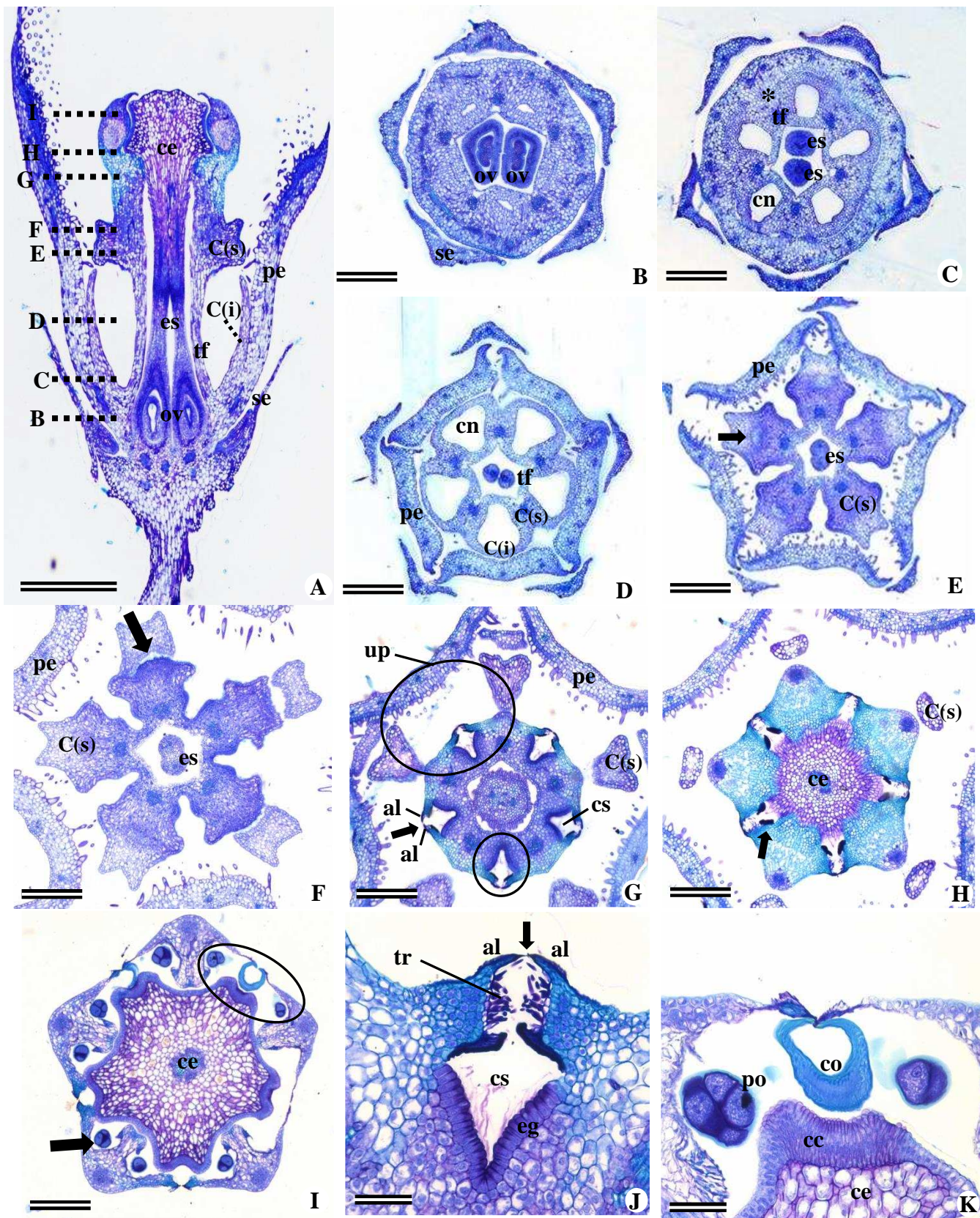
Na coroa, os segmentos estaminais bifurcados - C(s) - posicionam-se no dorso dos filetes (figuras 5B, 6D-H, 7); os segmentos interestaminais - C(i) - encontram-se entre estames adjacentes, na base do tubo de filetes e adnatos à corola (figura 6D). Assim posicionados, a coroa classifica-se como coroa do tipo C(is), que é caracterizada pela fusão de coroa estaminal com a interestaminal (figura 6D). Os segmentos da coroa interestaminal formam cinco contentores de néctar, que são as cavidades nectaríferas (5B, 6C-D).

Na região onde se inicia a bifurcação de cada segmento estaminal da coroa observa-se um tecido secretor formado por células epidérmicas (figura 7A). Essas células posicionam-se de maneira oblíqua, alcançando, a partir da base dos ramos da bifurcação, o terço inferior do dorso do ramo mais interno (figuras 7A, C-D). São, portanto, cinco tecidos por flor e sua atividade secretora foi comprovada pelo resultado positivo para mucilagem.

No androceu, cada antera possui duas polínias (total 10 polínias/flor; figura 6I) e dois apêndices laterais estéreis, rígidos e lignificados, chamados de alas (figuras 6G, J). As alas de anteras adjacentes formam a fenda anteral (total cinco fendas/flor; figuras 5B, 6G-K), que se projetam radialmente por toda a extensão da antera. No interior das fendas encontram-se os tricomas esclerenquimáticos (figura 6J) e também as câmaras estigmáticas (figuras 6G, J), que são forradas por tecidos secretores oriundos do tecido do tubo de filetes (total cinco tecidos/flor; teste positivo para mucilagem). Este tecido é encontrado na região interestaminal, próximo às fendas anterais e prolonga-se para dentro das câmaras estigmáticas, da base para o ápice, de forma contínua, até alcançar a cabeça dos estiletos (figuras 6D, G, J). Abaixo das fendas encontram-se as cavidades nectaríferas (figuras 5B, 6C). O teste realizado com a glico-fita no conteúdo acumulado nesta cavidade foi positivo, indicando a presença de néctar.

No gineceu, cada ovário possui quatro óvulos e placentação marginal. Os estiletos se fundem na sua porção apical e formam a cabeça dos estiletos (figura 6A, H-I), que secretam os transladores na região localizada logo acima das fendas anterais. Cada translador é composto por corpúsculo e duas caudículas. O corpúsculo é oriundo de secreções de células colunares epidérmicas (figuras 6I, K) e apresenta um sulco por toda sua extensão. Além disso, ele está ligado às caudículas, que sustentam, cada uma, uma polínia de anteras adjacentes. O conjunto composto pelo translador (originado no gineceu) e pelas polínias (originadas no androceu) forma o polinário (figura 6K). O polinário, portanto, é estrutura de origem mista, carregada pelos polinizadores.

Figura 6: Morfoanatomia da flor de *Ditassa burchellii*. Secção longitudinal da flor com indicações dos cortes transversais seriados das figuras seguintes (4B-I) (**A**). Corte transversal na região mediana dos ovários ainda circundada por tecidos fundidos de corola, corona e filetes; as sépalas são livres entre si (**B**). Corola gamopétala, estame epipétalo (\*) e início da formação das cinco câmaras nectaríferas devido à separação dos tecidos da corola e da corona interestaminal do tubo de filetes; observam-se as cinco sépalas (**C**). Sépalas e pétalas livres entre si, estiletes circundados pelo tecido do tubo de filetes e cavidades nectaríferas totalmente formadas pela união dos segmentos de corona estaminais e interestaminais (**D**). Pétalas livres, início da bifurcação dos segmentos estaminais da corona (seta) e união dos estiletes (**E**). Diferentes estádios da bifurcação dos segmentos estaminais, localizados no dorso do tubo de filetes e estiletes unidos. A seta mostra o tecido secretor localizado na porção inicial da bifurcação destes segmentos (**F**). Corona representada pelos segmentos bifurcados e estiletes totalmente fundidos, envoltos por tecidos do tubo de filetes. O círculo maior destaca uma das cinco unidades de polinização, que é delimitada por uma pétala, dois elementos de corona adjacentes e ginostégio. A fenda anterolateral (seta) é formada por extremidades estéreis de anteras adjacentes (alas), que funcionam como um trilho na condução do aparelho bucal do polinizador. O círculo menor (ampliado na imagem 4J) destaca uma das câmaras estigmáticas (**G**). Elementos de corona estaminal e formação da cabeça dos estiletes. A seta indica a almofada com epiderme multiseriada, que impede a saída das polínias das câmaras estigmáticas na retirada do aparelho bucal do polinizador (**H**). Anteras e cabeça dos estiletes. Cada antera é composta de duas polínias (seta). O círculo (ampliado na imagem 4K) mostra o corpúsculo e as células epidérmicas colunares, responsáveis pela sua secreção (**I**). Detalhe de uma das câmaras estigmáticas, cujo interior é forrado por um epitélio glandular de origem estaminal. Na sua frente, há a fenda anterolateral, formada por duas alas justapostas (estruturas rígidas e estéreis). O interior da fenda apresenta tricomas esclerenquimáticos, que impedem o retorno do aparelho bucal do polinizador ao longo da fenda anterolateral. Observam-se também as almofadas indicadas na figura H (**J**). Região da cabeça dos estiletes evidenciando a região de secreção do corpúsculo por células epidérmicas colunares dispostas em paliçada; são mostradas duas polínias, uma de cada lado do corpúsculo (**K**). al = ala da antera; C(i) = corona interestaminal; C(s) = corona estaminal; cc = células colunares; ce = cabeça dos estiletes; cn = cavidade nectarífera; co = corpúsculo; cs = câmara estigmática; eg = epitélio glandular; es = estilete; ov = ovário; pe = pétala; po = polínia; se = sépala; tf = tubo de filetes; tr = tricomas; up = unidade de polinização. Barras = 400 µm (figura A); 300 µm (figuras B-I); 50 µm (figuras J e K).



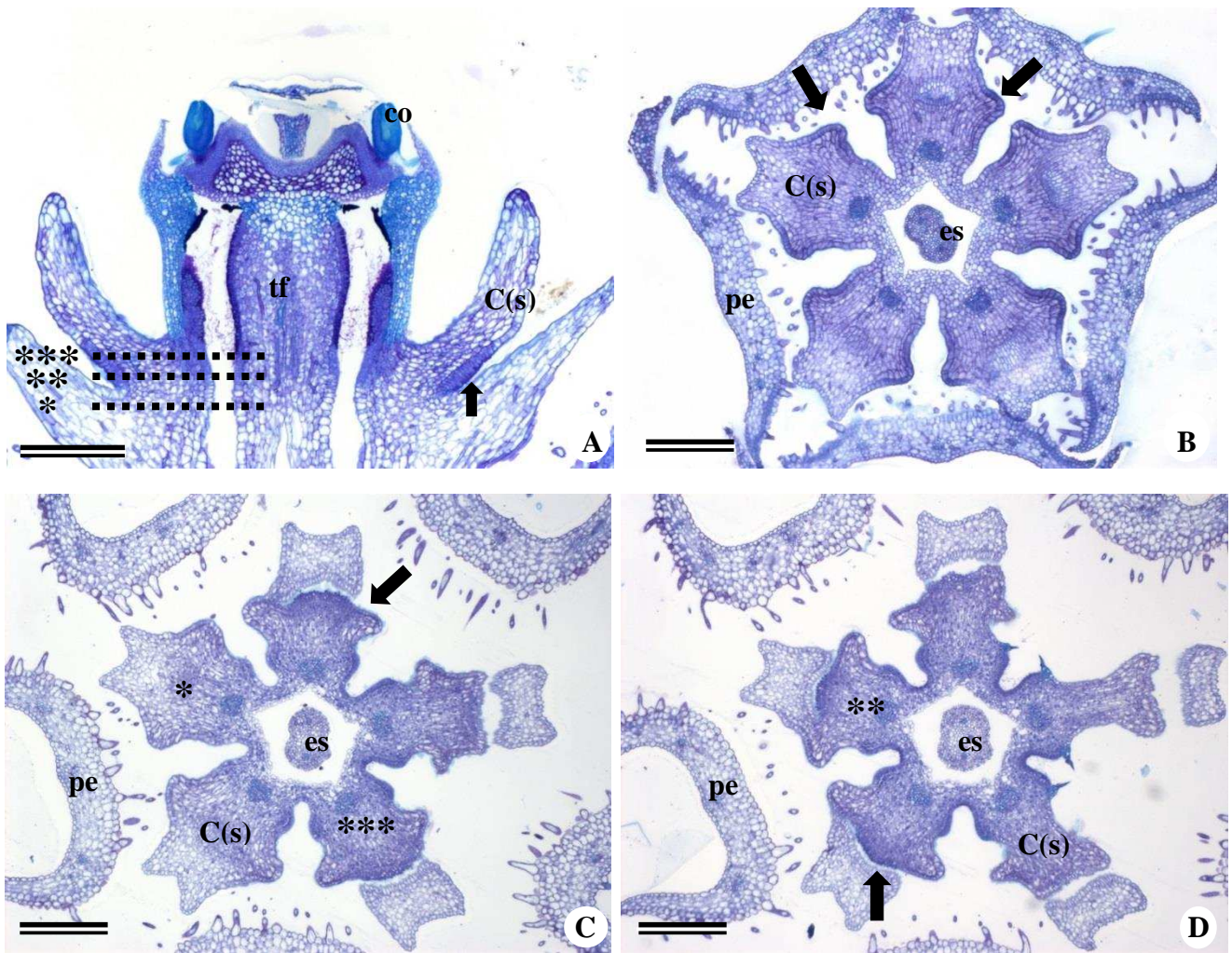


Figura 7: Morfoanatomia da flor de *Ditassa burchellii*, com detalhes da coroa e o seu tecido secretor. Secção longitudinal da flor com indicações dos cortes transversais seriados representados por asteriscos nas figuras 7C e D. A seta destaca as células epidérmicas em posição oblíqua do tecido secretor no dorso do ramo mais interno da bifurcação dos segmentos estaminais da coroa (A). Segmentos estaminais ainda não bifurcados. As setas indicam o tecido secretor que pode ser observado nas margens dos segmentos estaminais (B). Bifurcação de três dos cinco segmentos estaminais da coroa. A seta evidencia o tecido secretor agora posicionado no ramo mais interno da bifurcação (C). Bifurcação de todos os segmentos estaminais da coroa. A seta evidencia o tecido secretor (D). C(s) = coroa estaminal; co = corpúsculo; es = estilete; pe = pétala; tf = tubo de filetes. Barras: 200  $\mu$ m.

### 3.3. Mecanismo de polinização e remoção de polinários

O néctar é o recurso floral oferecido aos polinizadores e o seu acúmulo nas cavidades nectaríferas, localizadas abaixo das fendas anterais, favorece a captura do aparelho bucal do polinizador por estas fendas. Após a retirada do recurso, o polinizador retrai o seu aparelho bucal, direcionando-o para o ginostégio, que encaixa na base da fenda anteral, como uma armadilha. Assim encaixado, o aparelho deve percorrer toda a extensão da fenda, de baixo para cima, como um trilho. A presença de tricomas esclerenquimáticos, localizados internamente à fenda (figura 6J) e posicionados obliquamente, impedem o retorno do aparelho bucal. Como o corpúsculo do polinário localiza-se imediatamente acima da fenda anteral, o polinizador, após finalizar o percurso, encaixa o seu aparelho bucal no sulco do corpúsculo, resultando na remoção do polinário.

A disposição dos elementos florais permite que apenas o aparelho bucal do polinizador tenha acesso ao interior da flor. Dessa forma, o direcionamento do aparelho bucal é favorecido pelas unidades de polinização. Cada uma delas é formada por uma pétala, dois elementos de corona adjacentes, ginostégio e uma cavidade nectarífera, localizada imediatamente abaixo da fenda anteral (figura 6G). São cinco unidades independentes, de forma que é possível ocorrer a inserção das polínias em cinco câmaras nectaríferas.

O mecanismo para ocorrer a inserção das polínias é semelhante ao da remoção dos polinários. Entretanto, o inseto busca o recurso com o polinário aderido ao aparelho bucal. Ao retraí-lo, realiza o mesmo percurso da remoção, mas agora inserindo a polínia na câmara estigmática, localizada no interior das fendas anterais. Há estruturas especializadas localizadas no ápice das fendas anterais, denominadas almofadas de células epidérmicas multiseriadas (figura 6H), que retém a polínia inserida pelo polinizador na câmara estigmática. Nessa ocasião, deve ocorrer a quebra da caudícula e, por isso, o polinizador continua com o corpúsculo preso ao aparelho bucal.

Das 450 flores analisadas (Tabela 5), em 52,70% não houve remoção de polinários. Nas flores com polinários removidos, houve a tendência de um ou dois polinários removidos por flor, que, em conjunto, corresponderam a 43,56% das flores. Apenas 3,77% das flores apresentaram mais de dois polinários removidos por flor.

A maior parte das flores coletadas antes do pico de floração não apresentaram polinários removidos (70,67%; Tabela 5). No pico de floração, flores com um e dois polinários removidos corresponderam a 35,33 e 14,68%, respectivamente. Somente nesta

ocasião foi verificada a remoção de mais de três polinários por flor (Tabela 5). No período após o pico, as taxas de remoção de polinários foram semelhantes às observadas no pico de floração.

Tabela 5: Remoção de polinários em flores de *Ditassa burchellii*, na Mata do paraíso, em Viçosa, Minas Gerais.

Período de coleta das flores	N° de flores examinadas	Polinário removido (n° de flores/ % de flores)						Polinário removido por flor por período
		0	1	2	3	4	5	
antes do pico	150	106/ 70,67	36/ 24,00	6/ 4,00	2/ 1,33	0/ 0,00	0/ 0,00	0,29
no pico	150	66/ 44,00	53/ 35,33	22/ 14,68	5/ 3,33	2/ 1,33	2/ 1,33	0,56
após o pico	150	65/ 43,33	55/ 36,67	24/ 16,00	6/ 4,00	0/ 0,00	0/ 0,00	0,57
<b>Total geral:</b>	<b>450</b>	<b>237/ 52,67</b>	<b>144/ 32,00</b>	<b>52/ 11,56</b>	<b>13/ 2,89</b>	<b>2/ 0,44</b>	<b>2/ 0,44</b>	<b>0,47</b>

### 3.4. Visitantes florais

Ao longo das duas florações, as flores foram visitadas por 53 espécies de insetos (Tabela 6), totalizando 332 visitas, 210 visitas realizadas por espécies da ordem Diptera (moscas) e 122 por espécies da ordem Hymenoptera (abelhas, vespas e himenópteros parasitóides). Os dípteros foram representados por 15 famílias e os himenópteros por quatro.

Tabela 6: Frequência dos visitantes florais (n = 332 visitas) de *Ditassa burchellii* na Mata do paraíso, em Viçosa, Minas Gerais. \*Insetos coletados durante a floração em 2013 e, por isso, não foram contabilizados no cálculo da frequência de visitantes florais.

ORDEM	Frequência
Família	
Subfamília	(%)
Espécies	
<b>HYMENOPTERA</b>	
<b>Apidae</b>	
<i>Apis mellifera</i> (Linnaeus, 1758)	0,90
<i>Friesella schrottkyi</i> (Friese, 1900)	0,60
<i>Nannotrigona testaceicornis</i> (Lepeletier, 1836)	0,60

Tabela 2: continuação

<i>Plebeia droryana</i> (Friese, 1900)	0,60
<i>Tetragonisca angustula</i> (Latreille, 1811)	0,90
<b>Vespidae</b>	
<i>Brachygastra fistulosa</i> (Naumann, 1968)	0,60
<i>Brachygastra lecheguana</i> (Latreille, 1824)	1,20
<i>Mischocyttarus labiatus</i> (Fabricius, 1804)	0,60
<i>Polistes actaeon</i> (Haliday, 1836)	0,30
<i>Polistes versicolor</i> (Olivier, 1792)	0,60
<i>Polybia fastidiosuscula</i> (de Saussure, 1854)	10,84
<i>Polybia platycephala</i> (Richards, 1951)	3,61
<i>Protonectarina sylveirae</i> (de Saussure, 1854)	6,92
<i>Protopolybia sedula</i> (de Saussure, 1854)	0,60
<b>Braconidae</b>	
<i>Alphomelon</i> sp.	1,50
<i>Bracon</i> sp. 1	1,20
<i>Bracon</i> sp. 2	0,90
<i>Bracon</i> sp. 3*	-
<i>Cotesia</i> sp.	0,60
<i>Glyptapanteles</i> sp.*	-
<i>Sendaphne</i> sp.	0,90
<b>Ichneumonidae</b>	
<i>Pimpla sumichrasti</i> (Cresson, 1874)	0,60
Anomaloninae*	-
<b>DIPTERA</b>	
<b>Anthomyiidae</b>	
Morfo-espécie1	3,01
<b>Bibionidae</b>	
<i>Plecia</i> sp.*	-
<b>Calliphoridae</b>	
Morfo-espécie1	2,40
<b>Chironomidae</b>	
Morfo-espécie1	0,30

Tabela 2: continuação

<b>Chloropidae</b>	
Morfo-espécie 1*	-
<b>Lauxaniidae</b>	
<i>Poecilominettia</i> sp.	1,50
<i>Xenochaetina</i> sp. 1	0,90
<i>Xenochaetina</i> sp. 2	0,60
<b>Milichiidae</b>	
<i>Pholeomyia</i> sp. 1	23,49
<i>Pholeomyia</i> sp. 2*	-
<b>Muscidae</b>	
Morfo-espécie 1	1,20
Morfo-espécie 2	3,61
Morfo-espécie 3	2,40
Morfo-espécie 4	1,80
<b>Mycetophilidae</b>	
<i>Mycomyia</i> sp. 1	3,01
<i>Mycomyia</i> sp. 2	2,10
<b>Sarcophagidae</b>	
<i>Oxysarcodexia thornax</i> (Walker, 1849)	0,90
<i>Ravinia belforti</i> (Prado & Fonseca, 1932)	2,10
<b>Sepsidae</b>	
<i>Archisepsis discolor</i> (Bigot, 1857)	1,20
<i>Palaeosepsis</i> sp. 1*	-
<i>Palaeosepsis</i> sp. 2*	-
<b>Sciaridae</b>	
<i>Bradysia</i> sp. 1*	-
<i>Bradysia</i> sp. 2*	-
<i>Bradysia</i> sp. 3*	-
<i>Odontosciara</i> sp.	8,43
<b>Simuliidae</b>	
Morfo-espécie 1	0,60

Tabela 2: continuação

**Syrphidae**

*Aristosyrphus* sp. 0,90

**Tachinidae**

*Eucelatoria* sp. 1,20

*Siphona* sp. 2,10

*Telothyria* sp. 1,50

As visitas ocorreram durante todo o período de observação e a frequência de visitação variou conforme a ordem dos visitantes (figura 9). As duas ordens de visitantes tiveram o mesmo tipo de comportamento ao visitar as flores. Os insetos acessavam várias flores por inflorescência, uma seguida da outra, em visitas rápidas, com duração de cerca de 5-10 segundos. Em seguida, visitavam outras inflorescências do mesmo indivíduo.

Os dípteros foram mais frequentes durante o período entre 8:00 e 9:00 h, totalizando 35 visitas (figura 9). Os himenópteros, por outro lado, apresentaram maior atividade nos intervalos entre 11:00 e 12:00 e entre 13:00 e 14:00 h, quando 18 visitas foram observadas para ambos intervalos de tempo. A menor taxa de visitação foi observada no fim da tarde, em ambas as ordens, entre às 16:00 e 17:00 h.

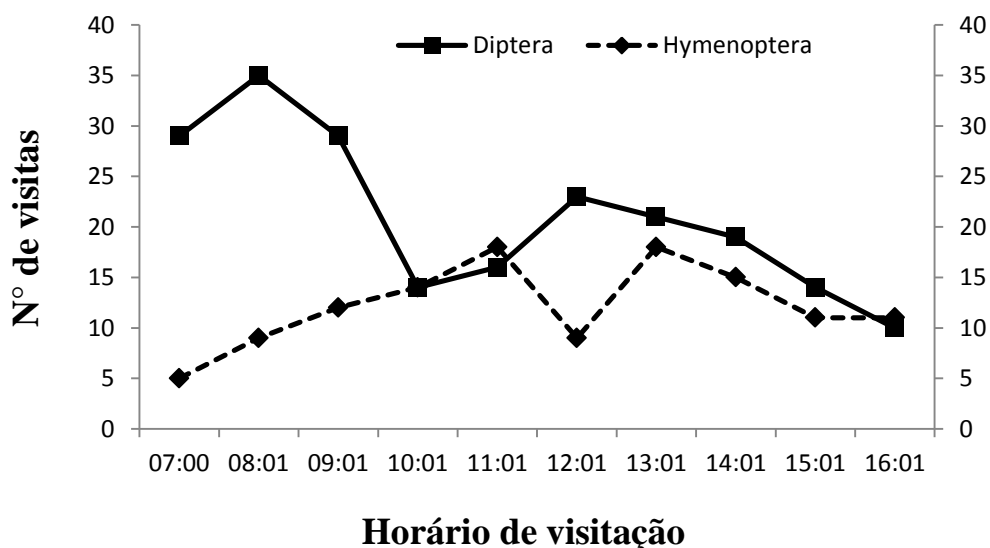


Figura 9: Frequência média das duas ordens de visitantes florais em *Ditassa burchellii*, registrada das 7:00 às 17:00h, em quatro dias de abril de 2014, na Mata do Paraíso, em Viçosa, Minas Gerais.

Houve diferença no tamanho corporal dos insetos visitantes. Todas as moscas coletadas (Tabela 6) apresentaram o comprimento entre 3 e 6 mm (micro-moscas), exceto as espécies de Sarcophagidae, Anthomyiidae e Calliphoridae, que apresentaram tamanho entre 7 e 9 mm. As espécies de Vespidae apresentaram o tamanho corporal entre 8 e 10 mm, exceto as vespas *Mischocyttarus labiatus*, *Polistes actaeon* e *Polistes versicolor*, que chegam a medir 2 cm. Os himenópteros parasitóides (Braconidae e Ichneumonidae), por outro lado, possuem o tamanho corporal entre 3 e 6 mm.

De acordo com a Tabela 6, as micro-moscas do gênero *Pholeomyia*, pertencentes à família Milichiidae, e as vespas do gênero *Polybia* apresentaram as maiores taxas de frequência de visitação. Apesar disso, todas as micro-moscas foram consideradas como polinizadores, embora somente espécies da família Milichiidae e Sciaridae tenham sido observadas com parte do polinário aderido ao aparelho bucal (figura 10). Os himenópteros parasitóides, embora não tenham sido observados carregando polinários, foram considerados polinizadores em potencial por apresentarem tamanho corporal semelhante ao das micro-moscas polinizadoras.

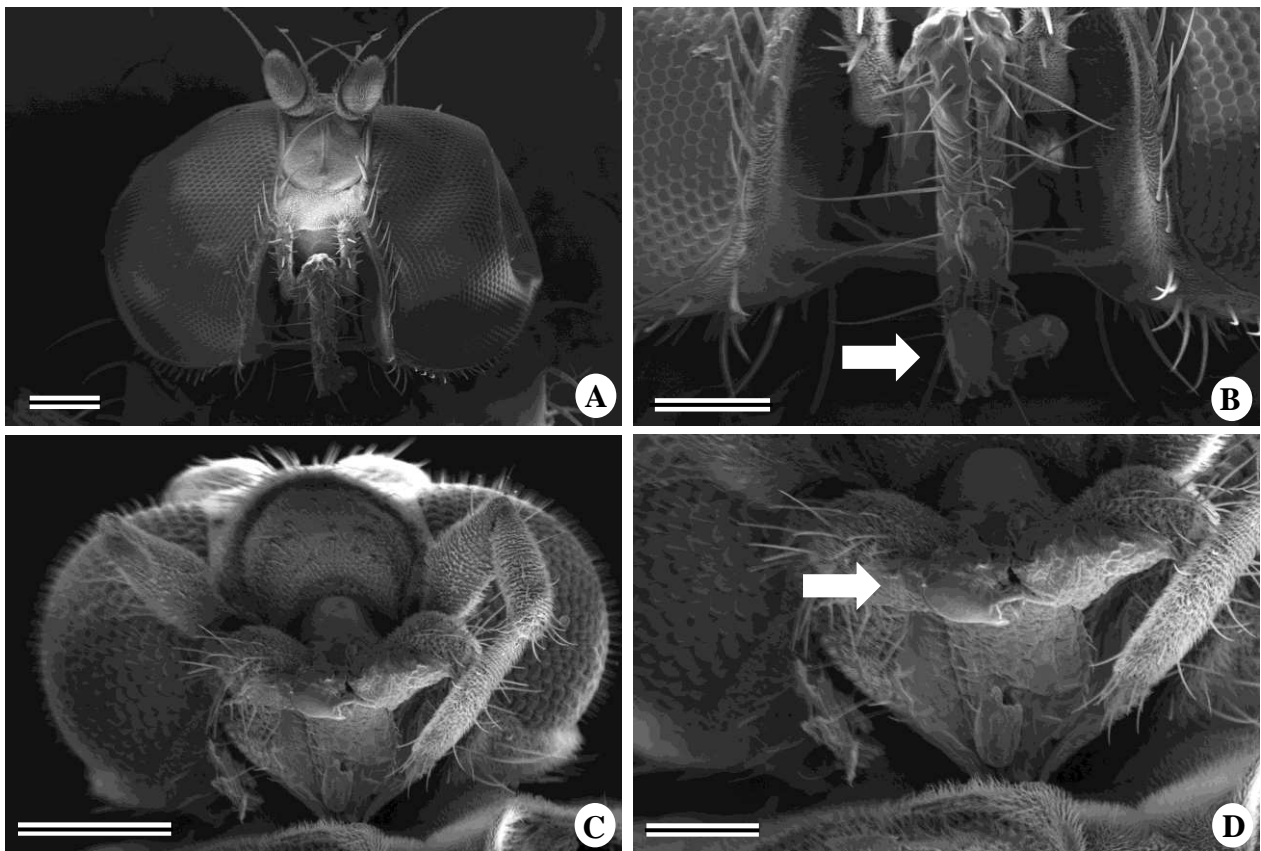


Figura 10: Moscas polinizadoras de *Ditassa burchellii*. Cabeça de *Pholeomyia* sp. em visão frontal (A) e detalhes do seu aparelho bucal (B). Região inferior da cabeça de *Odontosciara* sp. (C), com detalhes do seu aparelho bucal (D). As setas mostram corpúsculos aderidos ao aparelho bucal dos polinizadores. Barras: 200 µm (figuras A e C); 100 µm (figuras B e D).

### 3.5. Diversidade química de voláteis florais

A composição química dos voláteis florais possibilitou a identificação de 25 compostos, que somam aproximadamente 92% do total analisado. Os demais compostos não foram identificados por apresentarem baixa concentração e/ou pela não correspondência entre os índices de retenção relativo tabelado e calculado. O percentual dos constituintes está apresentado na Tabela 7, o cromatograma com os picos identificados dos principais compostos encontra-se no Apêndice 1 e os espectros de massa dos compostos encontrados nos voláteis florais de *D. burchellii* estão no Anexo 1.

As quantidades relativas das classes dos compostos voláteis das flores evidenciaram principalmente monoterpenos (62,72%), seguidos de sesquiterpenos (18,37%) e outros compostos, tais como ésteres, aldeídos e hidrocarbonetos (11,53%). Os dados das concentrações relativas apontam que o (*E*)- $\beta$ -ocimeno foi o composto majoritário (57,41 $\pm$ 13,94%), seguido dos compostos (*E*)-cariofileno (7,65 $\pm$ 7,66%),  $\alpha$ -copaeno (5,55 $\pm$ 3,32%), tiglato de (*Z*)-hex-3-enila (4,36 $\pm$ 3,81%), *p*-1,3,8-mentatrieno (4,17 $\pm$ 5,85%), germacreno D (1,81 $\pm$ 1,57%) e benzoato de etila (1,17 $\pm$ 0,73). Os demais compostos identificados apresentaram baixas concentrações, apresentando percentuais inferiores a 1% (Tabela 7).

Tabela 7: Composição química dos voláteis florais de *Ditassa burchellii* na Mata do Paraíso, em Viçosa, Minas Gerais. RI = índice de retenção relativo tabelado, de acordo com ADAMS (1995); RI\* = índice de retenção relativo calculado.

Constituintes	RI	RI*	Porcentagem relativa (% área no CG-EM)*
Tiglato de etila	929	939	0,84±0,00
(Z)-β-ocimeno	1032	1035	0,62±0,30
(E)-β-ocimeno	1044	1048	57,41±13,94
benzoato de metila	1088	1092	0,20±0,13
p-1,3,8-mentatrieno	1108	1116	4,17±5,85
neo-allo-ocimeno	1140	1141	0,52±0,01
benzoato de etila	1169	1170	1,17±0,73
butanoato de (Z)-hex-3-enila	1184	1186	0,87±0,83
2-metilbutanoato de (Z)-hex-3-enila	1229	1232	3,66±2,51
tiglato de (Z)-hex-3-enila	1319	1326	4,36±3,81
α-cubebeno	1345	1346	0,65±0,12
α-copaeno	1374	1373	5,55±3,32
β-bourboneno	1387	1381	0,21±0,12
β-elemeno	1389	1387	0,28±0,13
α-gurjuneno	1409	1405	0,12±0,06
Dodecanal	1408	1409	0,09±0,00
(E)-cariofileno	1417	1416	7,65±7,66
α-guaieno	1437	1434	0,19±0,09
α-humuleno	1452	1450	0,64±0,52
4,5-di-epi-aristolecheno	1471	1466	0,04±0,00
γ-muuruleno	1478	1474	0,16±0,09
germacreno D	1484	1478	1,81±1,57
Pentadecano	1500	1497	0,34±0,21
delta-cadineno	1522	1522	0,93±0,46
dendrolazina	1577	1570	0,14±0,06
Monoterpenos			62,72
Sesquiterpenos			18,37
Outros			11,53
<b>Total identificado</b>			<b>92,62</b>

\*Média de três repetições.

#### 4. DISCUSSÃO

O padrão de floração anual, tal como verificado, assemelha-se ao de outras espécies de *Ditassa* (KOSCHNITZKE 2007) e de outras Apocynaceae (ARAÚJO et al. 2011; SOBRINHO et al. 2013). Embora estas espécies apresentem floração anual, apenas *D. burchelli* apresentou floração por cinco semanas por ano, caracterizando um padrão anual intermediário e fortemente sazonal; as demais espécies floresceram de quatro a seis meses. Florações concentradas num curto período de tempo foram também registradas por MORELLATO et al. (1989), em espécies de diferentes famílias em floresta mesófila semidecidual, no sudeste brasileiro.

A floração no fim da estação chuvosa e na transição da estação chuvosa para seca, observada em ambos os anos de estudo, parece ser uma estratégia comum entre trepadeiras. Floração nesse período transicional também foi observada em diversas espécies de lianas volúveis por MORELLATO & LEITÃO-FILHO (1996). Segundo JANZEN (1967), a floração nesse período é vantajosa, pois as condições do tempo favorecem a atividade dos polinizadores e não há chuvas pesadas que possam causar danos às flores, derrubá-las ou diluir o seu néctar. Além disso, a sincronia de floração entre indivíduos, como observado em *D. burchellii*, favorece a alta produção de flores, aumentando a atratividade dos visitantes florais (BEATTIE et al. 1973) e reduzindo a competição por polinizadores (RATHCKE & LACEY 1985).

A frutificação durante a estação seca e a dispersão das sementes comosas no fim da estação seca e início da chuvosa parecem estar relacionadas à anemocoria (consultar FOURNIER & SALAS 1966; JANZEN 1967; FRANKIE et al. 1974), e, provavelmente, às condições favoráveis para germinação (MORELLATO et al. 1989). Assim, as sementes teriam toda a estação chuvosa para desenvolver o seu sistema radicular (FOURNIER & SALAS 1966). MORELLATO & LEITÃO-FILHO (1992a; 1996) e SPINA et al. (2001) também verificaram a frutificação de espécies anemocóricas na estação seca. SMYTHE (1970), estudando a época de frutificação de algumas espécies numa floresta tropical úmida no Panamá, constatou que a maior chance de sobrevivência das sementes está relacionada com a decomposição e liberação, na estação chuvosa, de nutrientes da serapilheira acumulada na estação seca. Esta ciclagem de nutrientes também foi observada em florestas semidecíduas do sudeste brasileiro por MORELLATO & LEITÃO-FILHO (1992b).

A morfologia floral, da espécie estudada, é semelhante à morfologia de outras espécies de Asclepiadoideae (BOOKMAN 1981; KUNZE 1991; ENDRESS 1994; MEVE & LIEDE 1994; VIEIRA et al. 2012). Entretanto, os segmentos de corona apresentam características que diferem das encontradas em descrições taxonômicas (p. ex. FONTELLA-PEREIRA & KONNO 2002; RAPINI 2002; KONNO 2005). Pela terminologia taxonômica, baseada em aspectos macromorfológicos, os segmentos de corona de *D. burchellii* estão dispostos em duas séries. Entretanto, os resultados do presente estudo mostraram que os segmentos estaminais são bifurcados, com uma base comum. Essa bifurcação foi erroneamente interpretada como uma disposição em duas séries. Outro fato relevante em relação à corona é o completo desconhecimento dos segmentos interestaminais. Esses, provavelmente, são ignorados, pois as pétalas os recobrem totalmente. Portanto, os estudos envolvendo aspectos micromorfológicos são essenciais para a correta interpretação da morfologia de espécies de Asclepiadoideae, como já sugerido por VIEIRA et al. (2012).

Os tecidos secretores localizados na região de bifurcação dos segmentos estaminais da corona é registro inédito entre as Asclepiadoideae. Somente tecidos secretores que foram as câmaras estigmáticas, oriundos do tecido interestaminal do tubo de filetes, tem sido descritos (BOOKMAN 1981; ENDRESS 1994; KUNZE 1991; 1996; VIEIRA et al. 2012). Esses últimos tecidos também estão presentes em *D. burchellii*, que somados aos tecidos secretores da corona, totalizam 10 áreas secretoras, tendo a mucilagem como secreção comum. Resultados positivos para mucilagem nos tecidos secretores das câmaras estigmáticas também foram verificados em *Oxypetalum banksii* subsp. *banksii* por VIEIRA & SHEPHERD (2002b). Esses autores constataram secreção mista por esses tecidos (néctar e mucilagem); o néctar como recurso floral e a mucilagem como meio para o crescimento de tubos polínicos. No presente estudo, não foi possível definir a funcionalidade dos tecidos secretores da corona, pois não foram realizados testes histoquímicos específicos para detectar a presença de néctar, além da mucilagem. É possível, que, pela sua proximidade com as cavidades nectaríferas, eles possam também secretar néctar, pois, em *D. burchellii*, os tecidos das câmaras estigmáticas posicionam-se bem acima das cavidades. Nesse caso, haveria divisão de funções, os tecidos secretores da corona responsáveis pela secreção do recurso floral e os das câmaras estigmáticas pela secreção da mucilagem. Estudos complementares poderão esclarecer essas questões, que trazem novas perspectivas para interpretação e compreensão do mecanismo de polinização das espécies de Asclepiadoideae.

O mecanismo de polinização de *D. burchellii* é semelhante ao de outras Asclepiadoideae (BOOKMAN 1981; KUNZE 1991; KUNZE & LIEDE 1991; VIEIRA et al. 2012). A unidade de polinização, compreendida por dois elementos da coroa estaminal, corola, fenda anteral e cavidade nectarífera, abaixo da fenda, são atributos florais também observados por KUNZE (1991), que permitem guiar o aparelho bucal do polinizador na flor, favorecendo a remoção e a inserção de polínias. Além disso, outros atributos associados aos mecanismos são as almofadas de células epidérmicas multiseriadas, posicionadas estrategicamente no teto das câmaras estigmáticas para garantir que a polínia inserida permaneça na câmara, e os tricomas esclerenquimáticos no interior das fendas, que impedem o retorno do aparelho bucal do polinizador, após sua captura pelo trilho formado pelas fendas. Esses últimos atributos também foram observados por WIEMER et al. (2012) em espécies de *Morrenia*.

A maior porcentagem de flores com um ou dois polinários removidos por flor também foi tendência em flores de *Matelea reticulata* e *Cynanchum foetidum* (LIEDE 1994), *Sarcostemma viminalis* (LIEDE & WHITEHEAD 1991) e espécies de *Oxypetalum* (VIEIRA & SHEPHERD 2002a). A baixa taxa de remoção de polínias antes do pico de floração sugere baixa atividade dos visitantes florais, como consequência, provavelmente, do menor número de flores no início da floração. O aumento das taxas de remoção no pico indica um aumento significativo da atividade dos visitantes devido à maior disponibilidade de flores, tal como observado por BEATTIE et al. (1973), aliada à expressiva emissão de voláteis florais (presente estudo).

A porcentagem de frutificação verificada (5,96%) é a maior dentre as demais espécies de Asclepiadoideae, sugerindo ausência de limitações reprodutivas na área de estudo. Apesar disso, esta porcentagem apresenta valor próximo do percentual de frutificação entre 1 e 5% estimados por WYATT & BROYLES (1994), provavelmente, devido ao complexo mecanismo de polinização entre as espécies desta subfamília. Porcentagens de frutificação com valores semelhantes a esta estimativa também foram encontradas em espécies de *Asclepias* (LYNCH 1977; KEPHART 1981; WYATT 1981; MORSE 1993) e *Oxypetalum* (VIEIRA & SHEPHERD 1999b; VIEIRA & GABRALOS 2003).

A tendência de produção de um único folículo por flor sugere que apenas uma câmara estigmática por flor é polinizada, tal como observado para outras Asclepiadoideae (SAGE et al. 1990; LIEDE & WHITEHEAD 1991; VIEIRA & SHEPHERD 2002a). A exceção, entre as espécies dessa subfamília, é *Oxypetalum banksii* subsp. *banksii*. Nessa

espécie, as flores produzem dois folículos (folículos gêmeos) com apenas uma câmara polinizada devido à presença de um compito extrapistilar (VIEIRA & SHEPHERD 2002b).

As ordens de insetos visitantes das flores de *D. burchellii* são comuns entre as Asclepiadoideae (OLLERTON & LIEDE 1997). Apesar da polinização por Hymenoptera ser a mais comum entre as espécies desta subfamília (OLLERTON & LIEDE 1997), a polinização por Diptera é também muito difundida (MEVE 2002). O padrão de coloração creme das flores, observado na espécie estudada, favorece a atração de uma grande variedade de visitantes florais, tal como postulado por SILBERBAUER-GOTTSBERGER & GOTTSBERGER (1988). Esta coloração, associada à emissão de voláteis, parece explicar a diversidade de visitantes encontrados neste estudo.

Dentre os Hymenoptera, abelhas e vespas atuam como polinizadores em diversas espécies de Asclepiadoideae (p. ex.; MORSE 1985; LIEDE & WHITEHEAD 1991; VIEIRA & SHEPHERD 1999a; WIEMER et al. 2012; OLLERTON et al. 2014). Entretanto, estes insetos não foram considerados como polinizadores principalmente pela incompatibilidade do seu tamanho corporal em relação ao tamanho das flores, sendo as visitas observadas provavelmente em busca do néctar de fácil acesso. Vespas são comumente encontradas tomando néctar, mas raramente são consideradas como polinizadores específicos (HEITHAUS 1979; PROCTOR et al. 1996). VIEIRA & SHEPHERD (1999a) também verificaram que vespas apresentam comportamento oportunista, embora sejam polinizadoras de algumas espécies de *Oxypetalum*.

Os himenópteros parasitóides como polinizadores de espécies de Asclepiadoideae são raros (OLLERTON et al. 2014). Este é o primeiro registro de Ichneumonidae e Braconidae visitando flores de Asclepiadoideae e atuando como potenciais polinizadores em território brasileiro. VÁSQUEZ & SIMBERLOFF (2003) relataram, pela primeira vez, a polinização por uma espécie desconhecida de Braconidae em *Cynanchum diemii* na Argentina. Os Ichneumonidae, por outro lado, foram observados polinizando algumas flores de Asclepiadoideae em diversas regiões do mundo, inclusive flores de *Ditassa franciscoi* na Colômbia (OLLERTON et al. 2014).

A diversidade de famílias de Diptera que visitam as flores de *D. burchellii* associada à emissão de voláteis florais semelhantes a urina sugere que a sapromiiofilia (*sensu* FAEGRI & VAN DER PIJL 1979) seja a síndrome de polinização dominante. Embora MEDEIROS et al. (2008) tenham coletado aleatoriamente algumas espécies da família Simuliidae com polinários na Amazônia, este é, de fato, o primeiro estudo que

apresenta espécies de Diptera como polinizadores de Asclepiadoideae no Brasil e registra a ocorrência de 14 novas famílias de moscas como visitantes florais em território brasileiro.

As micro-moscas da família Milichiidae, que são as principais polinizadoras de *D. burchellii*, também foram observadas polinizando espécies de *Ceropegia* (MASINDE 2004; OLLERTON et al. 2009; HEIDUK et al. 2010), *Caralluma* (MEVE & LIEDE 1994; RASPI et al. 2009) e *Matelea* (OLLERTON et al. 2014). WOLDA & SABROSKY (1986) verificaram que espécies de Milichiidae são as principais polinizadores de *Aristolochia pilosa* no Panamá. Além disso, estas moscas polinizam orquídeas dos gêneros *Pleurothallis* (BORBA & SEMIR 2001) e *Bulbophyllum* (BORBA & SEMIR 1998) nos campos rupestres brasileiros.

De acordo com a base de dados *online* ASCLEPOL (OLLERTON et al. 2014), o presente estudo ainda registra, pela primeira vez, espécies da família Mycetophilidae visitando flores de Asclepiadoideae no mundo. A polinização por espécies dessa família é rara e, até então, restrita às famílias botânicas Orchidaceae e Saxifragaceae (BERNHARDT 1995; GOLDBLATT et al. 2004; DUQUE-BUITRAGO et al. 2014). As demais famílias de moscas encontradas são comumente observadas em outras espécies de Asclepiadoideae (p. ex. FORSTER 1992; MEVE & LIEDE 1994; YAMASHIRO et al. 2008; OLLERTON et al. 2009; RASPI et al. 2009; COOMBS et al. 2011; NIHEI & SCHWARZ 2011; OLLERTON et al. 2014), inclusive em duas espécies de *Ditassa* no Equador (WOLFF et al. 2008).

MEVE & LIEDE (1994) sugerem que a sapromiiofilia está concentrada dentro de certos grupos taxonômicos, como é o caso da tribo Ceropegieae. Espécies pertencentes a esta tribo apresentam flores que emitem odores desagradáveis semelhantes à carniça, fezes, urina ou material em decomposição (LARSON et al. 2001; OLLERTON & RAGUSO 2006; OLLERTON et al. 2009), como forma de atração de local para oviposição ou fonte de alimentação (MEVE & LIEDE 1994; JÜRGENS et al. 2006; WOODCOCK et al. 2014). JÜRGENS et al. (2009) comentam que as demais tribos de Asclepiadoideae, inclusive a tribo Asclepiadeae, são predominantemente polinizadas por Hymenoptera. No entanto, há uma subtribo (Gonolobinae) e gêneros específicos em que a polinização por moscas é predominante (JÜRGENS et al. 2009). Este parece ser o caso de *Ditassa burchellii*, que apesar de estar inserida dentro da tribo Asclepiadeae (LIEDE-SCHUMANN et al. 2005; RAPINI et al. 2007), produz odores desagradáveis ao olfato humano (discutidos abaixo) e apresenta características de flores sapromiiofílicas.

Os compostos identificados nos voláteis florais de *D. burchellii* são, em sua maioria, comumente encontrados em outras espécies de Asclepiadoideae (JÜRGENS et al. 2006; KNUDSEN et al. 2006; FORMISANO et al. 2009; JÜRGENS et al. 2009; JÜRGENS et al. 2010a). A predominância de monoterpenos observada neste estudo também foi verificada em *Caralluma europaea*, uma espécie sapromiíofila nativa da Itália (FORMISANO et al. 2009). Vários compostos identificados também estão presentes em algumas espécies analisadas da tribo Asclepiadeae, inclusive o composto majoritário (*Z*)-ocimeno (JÜRGENS et al. 2009; SHUTTLEWORTH & JOHNSON 2009; OTIENOBURU et al. 2012). Além disso, a maior parte dos compostos identificados também foram encontrados num estudo com 15 espécies sapromiíofilas da tribo Ceropegieae (JÜRGENS et al. 2006).

Esta similaridade encontrada nos compostos presentes tanto na tribo Ceropegieae quanto na tribo Asclepiadeae corrobora as observações de JÜRGENS et al. (2009). De acordo com estes autores, apesar destas tribos apresentarem a predominância de grupos de polinizadores distintos, a similaridade sugere que alguns compostos são atrativos tanto para espécies de Diptera quanto de Hymenoptera. Como os voláteis florais exercem um importante papel na interação e atração entre flores e polinizadores (HOSSAERT-MCKEY et al. 2010), estes dados parecem esclarecer a atração destas duas ordens de visitantes florais em flores de *D. burchellii*.

Os compostos mais abundantes encontrados nos voláteis florais da espécie estudada foram (*E*)- $\beta$ -ocimeno, (*E*)-cariofileno,  $\alpha$ -copaeno, tiglato de (*Z*)-hex-3-enila e p-1,3,8-mentatrieno e provavelmente são os responsáveis pela atração dos polinizadores, tal como proposto por JÜRGENS et al. (2006; 2009). De acordo com estes autores, compostos que são relativamente abundantes tendem a ser os responsáveis pela atratividade dos visitantes florais.

A variação na concentração do odor entre indivíduos e a dominância de poucos compostos na atração das moscas polinizadoras, observados no presente estudo, também foram registrados por JÜRGENS et al. (2006) em espécies sapromiíofilas da subtribo Stapellinae. Embora espécies sapromiíofilas apresentem alguns compostos em comum, há uma elevada diversidade química na composição geral dos voláteis florais emitidos por espécies que apresentam este tipo de síndrome de polinização (JÜRGENS et al. 2010b). FORMISANO et al. (2009) verificaram que os compostos majoritários presentes nos voláteis florais da sapromiíofila *Caralluma europaea* foram o terpinoleno,  $\alpha$ -terpineno, linalol e provavelmente estes são os responsáveis pela atração das moscas polinizadoras.

Flores de *Ceropegia dolichophylla* emitem principalmente tridecano, pentadeceno, espiroacetais e atraem espécies de Milichiidae e Sciaridae (HEIDUK et al. 2010). Os compostos octanal, 2-heptanol, ácido butanóico, ácido hexanóico, ácido benzóico e p-cresol são alguns dos compostos majoritários encontrados por JÜRGENS et al. (2006) e provavelmente são os responsáveis por atrair diversas famílias de moscas polinizadoras. Em *Orthosia scoparia*, o acetato de 2-feniletila deve ser o responsável por atrair moscas da família Empididae (JÜRGENS et al. 2009). Assim, esta diversidade de compostos mostra que há diferenças na composição dos voláteis florais entre as espécies e isto sugere que cada espécie tem o seu volátil específico que possibilita a atração do polinizador.

Dentre as 3.000 espécies de Asclepiadoideae (MEVE 2002), apenas 41 delas já tiveram seus voláteis quantificados (JÜRGENS et al. 2010a) e, o presente estudo, acrescenta mais uma espécie. Portanto, muitos estudos sobre essas questões ainda são necessários para caracterizar a atratividade dos insetos polinizadores, principalmente porque compostos em baixa concentração ou a combinação entre eles também podem exercer um papel fundamental nessa atratividade. Estudos de caso, como este realizado, ainda são fundamentais para ampliar o conhecimento sobre a interação de compostos específicos e sua associação com as flores e seus polinizadores.

## 5. CONCLUSÕES

- As fenofases reprodutivas de *Ditassa burchellii* são anuais e ocorreram, principalmente, na transição da estação chuvosa para seca e estação seca;
- Os ciclos fenológicos foram ajustados à sazonalidade climática, influenciados pela precipitação, temperatura e comprimento do dia;
- A morfologia floral de *D. burchellii* apresenta características inéditas para a subfamília Asclepiadoideae, como a presença de tecidos secretores nos segmentos estaminais da coroa;
- A remoção de polinários foi baixa (0,47/flor) e assemelha-se ao observado nas demais espécies de Asclepiadoideae;
- Os visitantes florais são 53 espécies de insetos distribuídos entre as ordens Hymenoptera e Diptera;
- Os compostos presentes nos voláteis florais são atrativos tanto para espécies de Diptera quanto para espécies de Hymenoptera;
- *D. burchellii* é sapromiíófila e polinizada principalmente por micro-moscas da família Milichiidae, que realizaram 23,49% das visitas;
- Os compostos (*E*)- $\beta$ -ocimeno, (*E*)-cariofileno,  $\alpha$ -copaeno, tiglato de (*Z*)-hex-3-enila e p-1,3,8-mentatrieno são os majoritários e provavelmente são os responsáveis pela produção do odor característico que possibilita a atração dos polinizadores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. 1995. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy**. Illinois: Allured Publishing Corporation.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society** 161: 105-121.
- ARAÚJO, L.D.A.; QUIRINO, Z.G.M. & MACHADO, I.C. 2011. Fenologia reprodutiva, biologia floral e polinização de *Allamanda blanchetii*, uma Apocynaceae endêmica da Caatinga. **Revista Brasileira de Botânica** 34: 211-222.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L. & SANTOS, A.A. 2007. **BioEstat – aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém: Ong Mamiraua.
- BAKER, H.G. & BAKER, I. 1983. Floral sugar constituents in relation to pollinator type. *In: Handbook of Experimental Pollination Biology*. C.E. Jones & R.J. Little (eds.) New York: Van Nostrand Reinhold Company Inc.
- BEATTIE, A.J.; BREEDLOVE, D.E. & EHRLICH, P.R. 1973. The ecology of pollinators and predators of *Frasera speciosa*. **Ecology** 54: 81-91.
- BENCKE, C.S.C. & MORELLATO, L.P.C. 2002a. Estudo comparativo da fenologia de nove espécies arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** 25: 237-248.
- BENCKE, C.S.C. & MORELLATO, L.P.C. 2002b. Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia em plantas, sua interpretação e representação. **Revista Brasileira de Botânica** 25: 269-275.
- BERNHARDT, P. 1995. Notes on the anthecology of *Pterostylis curta* (Orchidaceae). **Cunninghamia** 4: 1-8.
- BOOKMAN, S.S. 1981. The floral morphology of *Asclepias speciosa* (Asclepiadaceae) in relation to pollination and a clarification in terminology for the genus. **American Journal of Botany** 68: 675-679.
- BORBA, E.L. & SEMIR, J. 1998. Wind-assisted fly pollination in three *Bulbophyllum* (Orchidaceae) species occurring in the Brazilian “campos rupestres”. **Lindleyana** 13: 203-218.
- BORBA, E.L. & SEMIR, J. 2001. Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: a multiple population approach. **Annals of Botany** 88: 75-88.
- CASTRO, M.M.; KINOSHITA, L.S. & ASCENSÃO, L. 2005. Floral structure of *Ditassa burchellii* var. *burchellii* (Apocynaceae, Asclepiadoideae) with emphasis on glands. *In: Anais do XVII International Botanical Congress*. Vienna: CD ROM.

- COOMBS, G.; DOLD, A.D. & PETER, C.I. 2011. Generalized fly-pollination in *Ceropegia ampliata* (Apocynaceae - Asclepiadoideae): the role of trapping hairs in pollen export and receipt. **Plant Systematics and Evolution** 296: 137-148.
- D'ÊÇA-NEVES, F.F. & MORELLATO, L.P.C. 2004. Métodos de amostragem e avaliação utilizados em estudos fenológicos de florestas tropicais. **Acta Botanica Brasilica** 18: 99-108.
- DNMET - DEPARTAMENTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. 1992. **Normais climatológicas (1961-1990)**. Brasília: SPI/EMBRAPA.
- DOBSON, H.E.M. & BERGSTRÖM, G. 2000. The ecology and evolution of pollen odors. **Plant Systematics and Evolution** 222: 63–87.
- DUQUE-BUITRAGO, C.A.; ALZATE-QUINTERO, N.F. & OTERO, T. 2014. Nocturnal pollination by Fungus Gnats of the Colombian endemic species, *Pleurothallis marthae* (Orchidaceae: Pleurothallidinae). **Lankesteriana** 13: 407-417.
- EISIKOWITCH, D. 1986. Morpho-ecological aspects on the pollination of *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) in Israel. **Plant Systematics and Evolution** 152: 185-194.
- ENDRESS, M.E. 2004. Apocynaceae: Brown and now. **Telopea** 10: 525-541.
- ENDRESS, M.E. & BRUYNS, P.V. 2000. A revised classification of the Apocynaceae *s.l.* **The Botanical Review** 66: 1-56.
- ENDRESS, M.E.; LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2007. Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 94: 259-267.
- ENDRESS, P.K. 1994. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1979. **The principles of pollination ecology**. London: Pergamon.
- FONTELLA-PEREIRA, J. & KONNO, T.U.P. 2002. Estudos em Asclepiadaceae, XXXI. Duas novas espécies de *Ditassa* para o Brasil. **Bradea** 8: 319-322.
- FORMISANO, C.; SENATORE, F.; DELLA PORTA, G.; SCOGNAMIGLIO, M.; BRUNO, M.; MAGGIO, A.; ROSSELLI, S.; ZITO, P. & SAJEVA, M. 2009. Headspace Volatile Composition of the Flowers of *Caralluma europaea* N.E.Br. (Apocynaceae). **Molecules** 14: 4597-4613.
- FORSTER, P.I. 1992. Insects associated with the flowers of *Marsdenia cymulosa* Benth. (Asclepiadaceae) and their possible role in pollination. **Australian Entomological Magazine** 19:45-47.
- FOURNIER, L.A. & SALAS, S. 1966. Algunas observaciones sobre la dinámica de la floración em el bosque húmedo de Villa Cólón. **Revista de Biología Tropical** 14: 75-85.

- FRANKIE, G.M.; BAKER, H.G. & OPLER, P.A. 1974. Comparative phenological studies of trees in tropical lowland wet and dry forest sites of Costa Rica. **Journal of Ecology** 62: 881-913.
- GALIL, J. & ZERONI, M. 1965. Nectar system of *Asclepias curassavica*. **Botanical Gazette** 126: 144-148.
- GOLDBLATT, P.; BERNHARDT, P.; VOGAN, P. & MANNING, J.C. 2004. Pollination by fungus gnats (Diptera: Mycetophilidae) and self-recognition sites in *Tolmiea menziesii* (Saxifragaceae). **Plant Systematics and Evolution** 244: 55-67.
- HEIDUK, A.; BRAKE, I.; TOLASCH, T.; FRANK, J.; JÜRGENS, A.; MEVE, U. & DÖTTERL, S. 2010. Scent chemistry and pollinator attraction in the deceptive trap flowers of *Ceropegia dolichophylla*. **South African Journal of Botany** 76: 762-769.
- HEITHAUS, E. R. 1979. Flower visitation records and resource overlap of bees and wasps in northwest Costa Rica. **Brenesia** 16: 9-52.
- HOSSAERT-MCKEY, M.; SOLER, C.; SCHATZ, B. & PROFFIT, M. 2010. Floral scent: their roles in nursery pollination mutualisms. **Chemoecology** 20: 75-88.
- JANZEN, D.H. 1967. Synchronization of sexual reproduction of trees within the dry season in Central America. **Evolution** 21: 620-637.
- JENNERSTEN, O. & MORSE, D. H. 1991. The quality of pollination by diurnal and nocturnal insects visiting common milkweed, *Asclepias syriaca*. **American Midland Naturalist** 125: 18-28.
- JOHANSEN, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. New York: Mcgraw-Hill Book Co.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A., STEVENS, P.F. & DONOGHUE, M.J. 2009. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. Porto Alegre: Artmed.
- JÜRGENS, A.; DÖTTERL, S. & MEVE, U. 2006. The chemical nature of fetid floral odors in stapeliads (Apocynaceae-Asclepiadoideae-Ceropegieae). **New Phytologist** 172: 452-468.
- JÜRGENS, A.; DÖTTERL, S.; LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2009. Chemical diversity of floral volatiles in Asclepiadoideae-Asclepiadeae (Apocynaceae). **Biochemical Systematics and Ecology** 36: 842-852.
- JÜRGENS, A.; DÖTTERL, S.; LIEDE-SCHUMANN, S. & MEVE, U. 2010a. Floral scent composition in early diverging taxa of Asclepiadoideae, and Secamonoideae (Apocynaceae). **South African Journal of Botany** 76: 749-761.
- JÜRGENS, A. & VILJOEN, A.M. 2010b. Chemical diversity and biological functions of plant volatiles. **South African Journal of Botany** 76: 607-611.
- KAUL, R.B.; ROLFSMEIER, S.B. & ESCH, J.J. 1991. The distribution and reproductive phenology of the milkweeds (Asclepiadaceae: *Asclepias* and *Cynanchum*) in Nebraska. **Transactions of the Nebraska Academy of Sciences** 18: 127-140.

- KEPHART, S.R. 1981. Breeding systems in *Asclepias incarnata* L., *A. syriaca* L., and *A. verticillata* L.. **American Journal of Botany** 68: 226-232.
- KEPHART, S.R. 1983. The partitioning of pollinators among three species of *Asclepias*. **Ecology** 64: 120-133.
- KEPHART, S.R. 1987. Phenological variation in flowering and fruiting in *Asclepias*. **The American Midland Naturalist** 118: 64-76.
- KNUDSEN, J.T.; ERIKSSON, R.; GERSHENZON, J. & STÅHL, B. 2006. Diversity and distribution of floral scent. **The Botanical Review** 72: 1-120.
- KOCH, I.; RAPINI, A.; KINOSHITA, L.S.; SIMÕES, A.O. & SPINA, A.P. 2014. *Apocynaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB4556>>. Acesso em: 15 Jul. 2014.
- KOEPPEN, W. 1948. **Climatologia: con un studio de los climas de la tierra**. México: Fondo de Cultura Econômica.
- KONNO, T.U.P. 2005. ***Ditassa* R. Br. no Brasil (Asclepiadoideae-Apocynaceae)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- KONNO, T.U.P. & FONTELLA-PEREIRA, J. 2004. Some nomenclatural and taxonomic notes on Brazilian *Ditassa* (Apocynaceae: Asclepiadoideae). **Kew Bulletin** 59: 297-300.
- KOSCHNITZKE, C. 2007. Fenologia e biologia floral de *Ditassa banksii* (Asclepiadoideae: Apocynaceae). In: **Anais LVIII Congresso Nacional de Botânica**. São Paulo: CD ROM.
- KRINGS, A. 2006. Distribution and phenology of *Gonolobus suberosus* (Apocynaceae, Asclepiadoideae) and its varieties in North America. **Vulpia** 5: 23-40.
- KUNZE, H. 1991. Structure and function in asclepiad pollination. **Plant Systematics and Evolution** 176: 227-253.
- KUNZE, H. 1995. Floral morphology of some Gonolobeae (Asclepiadaceae). **Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie** 117: 211-238.
- KUNZE, H. 1996. Morphology of the stamen in the Asclepiadaceae and its systematic relevance. **Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie** 118: 547-579.
- KUNZE, H. & LIEDE, S. 1991. Observations on pollination in *Sarcostemma* (Asclepiadaceae). **Plant Systematics and Evolution** 178: 95-105.
- LARSON, B.M.H.; KEVAN, P.G. & INOUE, D.W. 2001. Flies and flowers: taxonomic diversity of anthophiles and pollinators. **The Canadian Entomologist** 133: 439-465.

- LEAL FILHO, N. 1992. **Caracterização do banco de sementes de três estádios de uma sucessão vegetal na Zona da Mata de Minas Gerais.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- LIEDE, S. 1994. Some observations on pollination in Mexican Asclepiadaceae. **Madroño** 41: 266-276.
- LIEDE, S. & KUNZE, H. 1993. A descriptive system for corona analysis in Asclepiadaceae and Periplocaceae. **Plant Systematics and Evolution** 185: 275-284.
- LIEDE, S. & WHITEHEAD, V. 1991. Studies in the pollination biology of *Sarcostemma viminale* R. Br. *sensu lato*. **South African Journal of Botany** 57: 115-122.
- LIEDE-SCHUMANN, S.; RAPINI, A.; GOYDER, D.J. & CHASE, M.W. 2005. Phylogenetics of the New World subtribes of Asclepiadeae (Apocynaceae – Asclepiadoideae): Metastelmatinae, Oxypetalinae, and Gonolobinae. **Systematic Botany** 30: 183-194.
- LYNCH, S.P. 1977. The floral ecology of *Asclepias solanoana* Woods. **Madroño** 24: 159-177.
- MACIOR, L.W. 1965. Insect adaptation and behavior in *Asclepias* pollination. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** 92: 114-126.
- MASINDE, P.S. 2004. Trap-flower fly pollination in East African *Ceropegia* L. (Apocynaceae). **International Journal of Tropical Insect Science** 24: 55-72.
- MEDEIROS, J.F.; RAPINI, A.; BARBOSA, U.C.; PY-DANIEL, V. & BRAGA, P.I.S. 2008. First record of Simuliidae (Diptera) with pollinaria of Asclepiadoideae (Apocynaceae) attached. **Neotropical Entomology** 37: 338-341.
- MEVE, U. 2002. Species numbers and progress in asclepiad taxonomy. **Kew Bulletin** 57: 459-464.
- MEVE, U. & LIEDE, S. 1994. Floral biology and pollination in stapeliads – new results and a literature review. **Plant Systematics and Evolution** 192: 99-116.
- MORELLATO, L.P.C. & LEITÃO-FILHO, H.F. 1990. Estratégias fenológicas de espécies arbóreas em floresta mesófila na Serra do Japi. **Revista Brasileira de Biologia** 50: 163-173.
- MORELLATO, L.P.C. & LEITÃO-FILHO, H.F. 1992a. Padrões de frutificação e dispersão na Serra do Japi. *In: História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil.* Campinas: Editora da UNICAMP.
- MORELLATO, L.P.C. & LEITÃO-FILHO, H.F. 1992b. Sazonalidade e dinâmica dos ecossistemas florestais da Serra do Japi. *In: História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil.* Campinas: Editora da UNICAMP.

- MORELLATO, L.P.C. & LEITÃO-FILHO, H.F. 1996. Reproductive phenology of climbers in a southeastern Brazilian forest. **Biotropica** 28: 180-191.
- MORELLATO, L.P.C.; RODRIGUES, R.R.; LEITÃO-FILHO, H.F. & JOLY, C.A. 1989. Estudo comparativo de espécies arbóreas de uma floresta de altitude e floresta mesófila semidecídua na Serra do Japi, Jundiá, São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica** 12: 85-98.
- MOROKAWA, R.; SIMÕES, A.O. & KINOSHITA, L.S. 2013. Apocynaceae *s.str.* do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia** 64: 179-199.
- MORSE, D. H. 1985. Milkweeds and their visitors. **Scientific American** 253: 112-119.
- MORSE, D. H. 1993. The twinning of follicles by common milkweed (*Asclepias syriaca*). **The American Midland Naturalist** 130: 56-61.
- NEWSTROM, L.E.; FRANKIE, G.W. & BAKER, H.G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica** 26: 141-159.
- NICHOLAS, A. & BAIJNATH, H. 1994. A consensus classification for the order Gentianales with additional details on the suborder Apocynineae. **The Botanical Review** 60: 440-482.
- NIHEI, S.S. & SCHWARZ, E.A. 2011. On the first tachinid fly (Diptera, Tachinidae) carrying Asclepiadoideae pollinaria in the Neotropical Region. **Revista Brasileira de Entomologia** 55: 441-444.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N. & MCCULLY, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma** 59: 368-373.
- OLLERTON, J. & FORSTER, P.I. 1995. Diptera associated with flowers of *Ceropegia cumingiana* in Australia. **Asklepios** 66: 21-22.
- OLLERTON, J.; JOHNSON, S.D.; CRANMER, L. & KELLIE, S. 2003. The pollination ecology of an assemblage of grassland asclepiads in South Africa. **Annals of Botany** 92: 807-834.
- OLLERTON, J. & LIEDE, S. 1997. Pollination systems in the Asclepiadaceae: a survey and preliminary analysis. **Biological Journal of the Linnean Society** 62: 593-610.
- OLLERTON, J.; MASINDE, S.; MEVE, U.; PICKER, M. & WHITTINGTON, A. 2009. Fly pollination in *Ceropegia* (Apocynaceae: Asclepiadoideae): biogeographic and phylogenetic perspectives. **Annals of Botany** 103: 1501-1514.
- OLLERTON, J.; MEVE, U. & LIEDE, S. 2014. **ASCLEPOL database on line of plant-pollinator interactions in the Asclepiadaceae**. Disponível em: [http://www.bio.uni-bayreuth.de/planta2/research/pollina/as\\_pol\\_t.html](http://www.bio.uni-bayreuth.de/planta2/research/pollina/as_pol_t.html). Último acesso em 06 Jan. 2015.
- OLLERTON, J. & RAGUSO, R.A. 2006. The sweet stench of decay. **New Phytologist** 172: 382-385.

- OTIENOBURU, P.E. & EBRAHIMI, B. 2012. Analysis and optimization of a synthetic milkweed floral attractant for mosquitoes. **Journal of Chemical Ecology** 38:873-881.
- PINTO, S.I.C.; MARTINS, S.V.; BARROS, N.F.; DIAS, H.C.T. & KNUZ, S.H. 2008. Influence of environmental variables on the shrub and tree species distribution in two Semideciduous Forest sites in Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Revista de Biología Tropical** 56: 1557-1569.
- PROCTOR, M.; YEO, P. & LACK, A. 1996. The natural history of pollination. Timber Press: Portland.
- RAGUSO, R.A. 2008. Wake up and smell the roses: the ecology and evolution of floral scent. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** 39: 549-569.
- RAPINI, A. 2000. **Sistemática: Estudos em Asclepiadoideae (Apocynaceae) na Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- RAPINI, A. 2002. Six new species of *Ditassa* R. Br. from the Espinhaço Range, Brazil, with notes on generic delimitation in Metastelmatinae (Apocynaceae - Asclepiadoideae). **Kew Bulletin** 57: 565-583.
- RAPINI, A. 2010. Revisitando as Asclepiadoideae (Apocynaceae) da Cadeia do Espinhaço. **Boletim de Botânica** 28: 97-123.
- RAPINI, A. VAN DEN BERG, C. & LIEDE-SCHUMANN, S. 2007. Diversification of Asclepiadoideae (Apocynaceae) in the New World. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 94: 407-422.
- RASPI, A.; PISCIOTTA, S. & SAJEVA, M. 2009. *Milichiella lacteipennis*: new record for Lampedusa Island (Italy). **Bulletin of Insectology** 62: 133-135.
- RATHCKE, B. & LACEY, E.P. 1985. Phenological patterns of terrestrial plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** 16: 179-214.
- RIZZINI, C.T. 1992. **Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos**. São Paulo: Âmbito Cultural.
- ROBARDS, A.W. 1978. An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. *In*: HALL, J.L. (ed.). **Electron microscopy and cytochemistry of plant cells**. New York: Elsevier.
- ROMANOVISKI, Z. 2001. **Morfologia e aspectos hidrológicos da microbacia Rua Nova, Viçosa-MG, para fins de manejo**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SAGE, T.L.; BROYLES, S.B. & WYATT, R. 1990. The relationship between the five stigmatic chambers and the two ovaries of milkweeds flowers: a threedimensional assessment. **Israel Journal of Botany** 39: 187-196.

- SENNBLAD, B. & BREMER, B. 2002. Classification of Apocynaceae *s.l.* according to a new approach combining Linnaean and phylogenetic taxonomy. **Systematic Biology** 51: 389-409.
- SHUTTLEWORTH, A. & JOHNSON, S.D. 2008. Bimodal pollination by wasps and beetles in the African milkweed *Xysmalobium undulatum*. **Biotropica** 40: 568-574.
- SHUTTLEWORTH, A. & JOHNSON, S.D. 2009. The importance of scent and nectar filters in a specialized wasp-pollination system. **Functional Ecology** 23: 931-940.
- SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. & GOTTSBERGER, G. 1988. A polinização de plantas do cerrado. **Revista Brasileira de Biologia** 48: 651-663.
- SILVA JR, W.M. 2002. **Caracterização florística e fitossociológica da regeneração natural em dois trechos de uma floresta estacional Semidecidual do município de Viçosa – MG**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- SMYTHE, N. 1970. Relationships between fruiting seasons and seed dispersal methods in a neotropical forest. **The American Naturalist** 104: 25-35.
- SOBRINHO, M.S.; TABATINGA, G.M.; MACHADO, I.C. & LOPES, A.V. 2013. Reproductive phenological pattern of *Calotropis procera* (Apocynaceae), an invasive species in Brazil: annual in native areas; continuous in invaded areas of caatinga. **Acta Botanica Brasilica** 27: 456-459.
- SOUZA, V.C. & LORENZI, H. 2008. **Botânica sistemática**. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- SPINA, A.P.; FERREIRA, W.M. & LEITÃO-FILHO, H.F. 2001. Floração, frutificação e síndromes de dispersão de uma comunidade de floresta de brejo na região de Campinas (SP). **Acta Botanica Brasilica** 15: 349-368.
- ULE, E. 1897. Symbiosis between an *Asclepias* and a butterfly. **Journal of Botany** 35: 441-443.
- VÁSQUEZ, D.P. & SIMBERLOFF, D. 2003. Changes in interaction biodiversity induced by an introduced ungulate. **Ecology Letters** 6: 1077-1083.
- VELOSO, H.P.; RANGEL-FILHO, A.L.R. & LIMA, J.C.A. 1991. **Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
- VIEIRA, M. F. 1998. Biologia reprodutiva de espécies de *Oxypetalum* (Asclepiadaceae), na região de Viçosa, MG, sudeste brasileiro. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- VIEIRA, M.F.; FONSECA, R.S. & SHEPHERD, G.J. 2012. Morfologia floral e mecanismos de polinização em espécies de *Oxypetalum* R. Br. (Apocynaceae, Asclepiadoideae). **Revista Brasileira de Biociências** 10: 314-321.

- VIEIRA, M.F. & FONSECA, R.S. 2011. A casual cantharophily: The meeting between *Astylus variegatus* (Coleoptera: Myrtilidae) and *Oxypetalum banksii* (Apocynaceae: Asclepiadoideae). **Journal of Pollination Ecology** 5: 86-89.
- VIEIRA, M.F. & GABRALOS, R. 2003. Sistema reprodutivo de *Oxypetalum mexiae* Malme (Asclepiadaceae), espécie endêmica de Viçosa, MG, Brasil, em perigo de extinção. **Acta Botanica Brasilica** 17: 137-145.
- VIEIRA, M.F. & SHEPHERD, G.J. 1999a. Pollinators of *Oxypetalum* (Asclepiadaceae) in southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Biologia** 59: 693-704.
- VIEIRA, M.F. & SHEPHERD, G.J. 1999b. Sistema reprodutivo de *Oxypetalum appendiculatum* Mart. e *Oxypetalum banksii* Roem. & Schult. subsp. *banksii* (Asclepiadaceae). **Acta Botanica Brasilica** 13: 237-241.
- VIEIRA, M.F. & SHEPHERD, G.J. 2002a. Removal and insertion of pollinia in flowers of *Oxypetalum* (Asclepiadaceae) in southeastern Brazil. **Revista de Biologia Tropical** 50: 37-43.
- VIEIRA, M.F. & SHEPHERD, G.J. 2002b. *Oxypetalum banksii* subsp. *banksii*: a taxon of Asclepiadaceae with an extragynoecial compitum. **Plant Systematics and Evolution** 233:199-206.
- VOLPATO, M.M.L. 1994. **Regeneração natural em uma floresta secundária no domínio de Mata Atlântica: uma análise fitossociológica**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- WIEMER, A.P.; SÉRSIC, A.N.; MARINO, S.; SIMÕES, A.O. & COCUCCHI, A.A. 2012. Functional morphology and wasp pollination of two South American asclepiads (Asclepiadoideae – Apocynaceae). **Annals of Botany** 109: 77-93.
- WILLSON, M.F. & RATHCKE, B.J. 1974. Adaptive design of the floral display in *Asclepias syriaca* L.. **The American Midland Naturalist** 92: 47-57.
- WOLDA, H. & SABROSKY, C.W. 1986. Insect visitors to two forms of *Aristolochia pilosa* in Las Cumbres, Panama. **Biotropica** 18: 295-299.
- WOLFF, D.; MEVE, U. & LIEDE-SCHUMANN, S. 2008. Pollination ecology of Ecuadorian Asclepiadoideae (Apocynaceae): how generalized are morphologically specialized flowers? **Basic and Applied Ecology** 9: 24-34.
- WOODCOCK, T.S.; LARSON, B.M.H.; KEVAN, P.G.; INOUE, D.W. & LUNAU, K. 20014. Flies and flowers II: floral attractants and rewards. **Journal of Pollination Ecology** 12: 63-94.
- WYATT, R. 1980. The reproductive biology of *Asclepias tuberosa*: I. Flower number, arrangement, and fruit-set. **The New Phytologist** 85: 119-131.
- WYATT, R. 1981. The reproductive biology of *Asclepias tuberosa*: II. Factors determining fruit-set. **The New Phytologist** 88: 375-385.

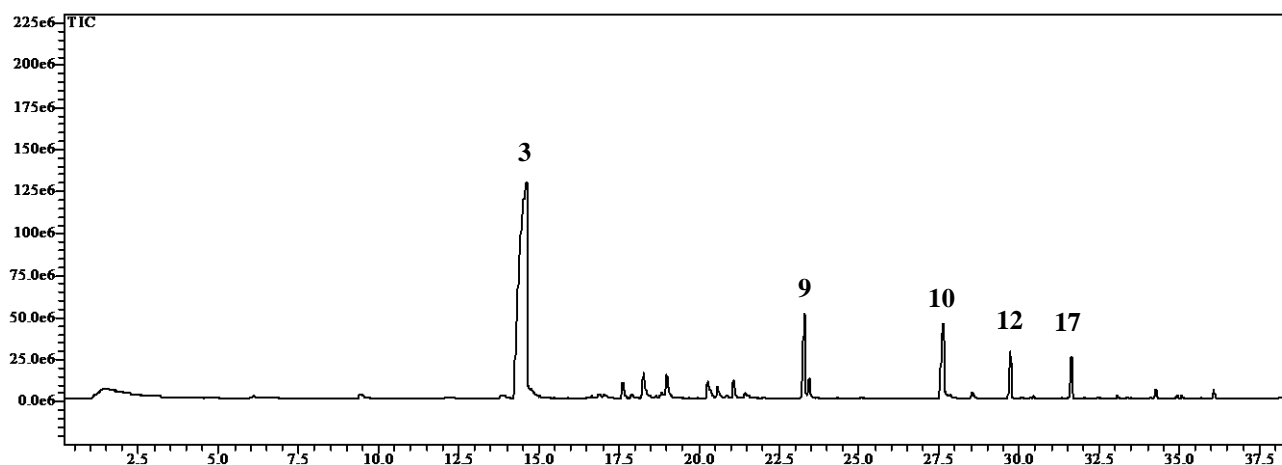
WYATT, R. & BROYLES, S.B. 1994. Ecology and evolution of reproduction in milkweeds. **Annual Review of Ecology and Systematics** 25: 423-441.

YAMASHIRO, T.; YAMASHIRO, A.; YOKOYAMA, J. & MAKI, M. 2008. Morphological aspects and phylogenetic analyses of pollination systems in the *Tylophora-Vincetoxicum* complex (Apocynaceae-Asclepiadoideae) in Japan. **Biological Journal of the Linnean Society** 93:325-341.

ZAR, J.H. 1996. **Biostatistical analysis**. Upper Saddle River, Prentice-Hall.

## **APÊNDICE**

Apêndice 1 – Cromatograma dos voláteis florais de *Ditassa burchellii*.

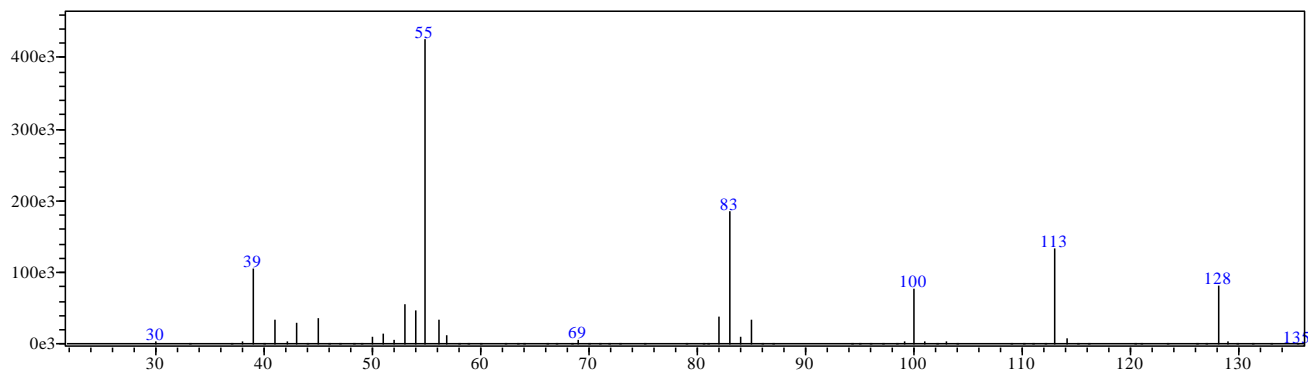


	Constituintes	IR	IR*	Porcentagem relativa (%)
1.	Tiglato de etila	929	939	0,84±0,00
2.	<i>cis</i> -β-ocimeno	1032	1035	0,62±0,30
3.	<i>trans</i> -β-ocimeno	1044	1048	57,41±13,94
4.	benzoato de metila	1088	1092	0,20±0,13
5.	<i>p</i> -1,3,8-mentatrieno	1108	1116	4,17±5,85
6.	neo-allo-ocimeno	1140	1141	0,52±0,01
7.	benzoato de etila	1169	1170	1,17±0,73
8.	butanoato de ( <i>Z</i> )-hex-3-enila	1184	1186	0,87±0,83
9.	2-metilbutanoato de ( <i>Z</i> )-hex-3-enila	1229	1232	3,66±2,51
10.	tiglato de ( <i>Z</i> )-hex-3-enila	1319	1326	4,36±3,81
11.	α-cubebeno	1345	1346	0,65±0,12
12.	α-copaeno	1374	1373	5,55±3,32
13.	β-bourboneno	1387	1381	0,21±0,12
14.	β-elemeno	1389	1387	0,28±0,13
15.	α-gurjuneno	1409	1405	0,12±0,06
16.	dodecanal	1408	1409	0,09±0,00
17.	<i>trans</i> -cariofileno	1417	1416	7,65±7,66
18.	α-guaieno	1437	1434	0,19±0,09
19.	α-humuleno	1452	1450	0,64±0,52
20.	4,5-di-epi-aristolecheno	1471	1466	0,04±0,00
21.	γ-muuruleno	1478	1474	0,16±0,09
22.	germacreno D	1484	1478	1,81±1,57
23.	pentadecano	1500	1497	0,34±0,21
24.	delta-cadineno	1522	1522	0,93±0,46
25.	dendrolazina	1577	1570	0,14±0,06
	Total			92,62

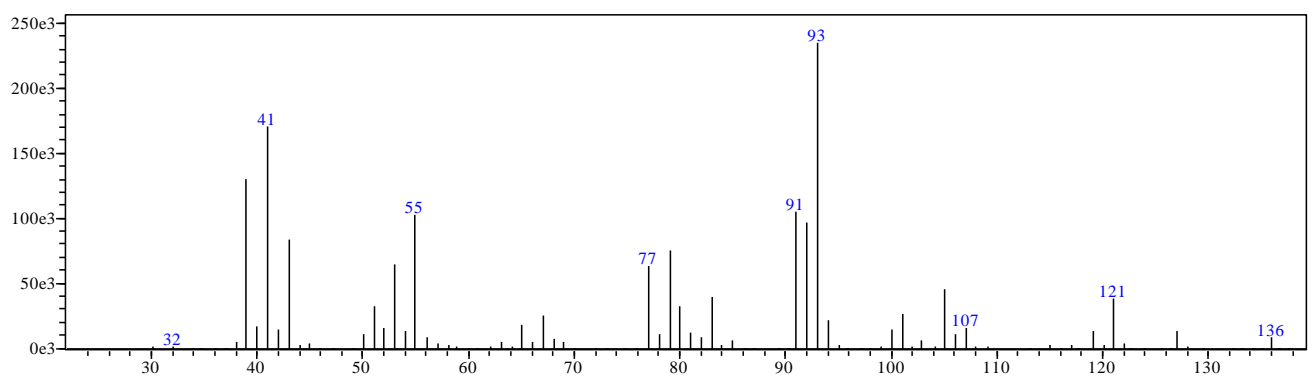
## **ANEXO**

Anexo 1 – Espectro de massa dos compostos encontrados nos voláteis florais de *Ditassa burchellii*.

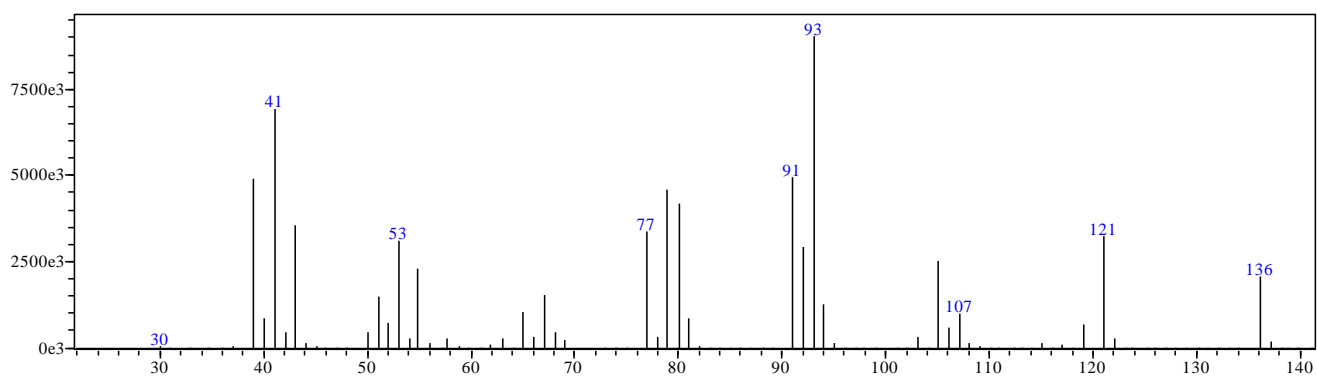
- Tiglato de etila:



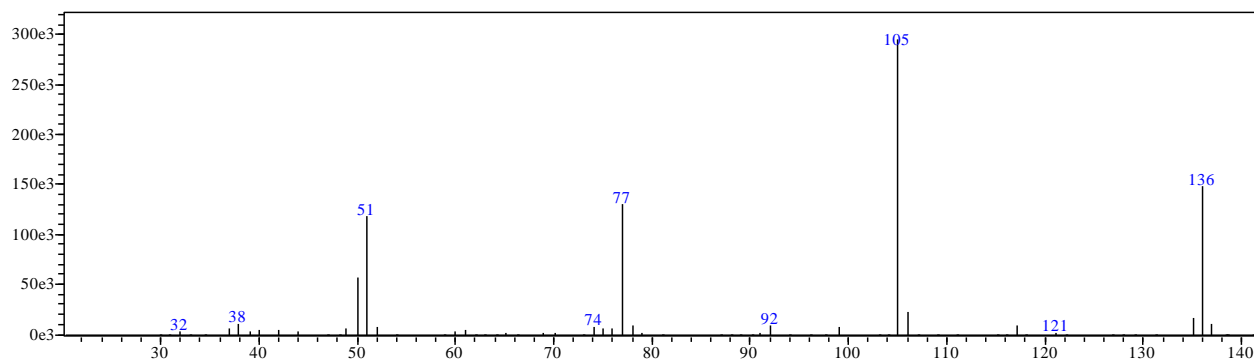
- *cis*- $\beta$ -ocimeno:



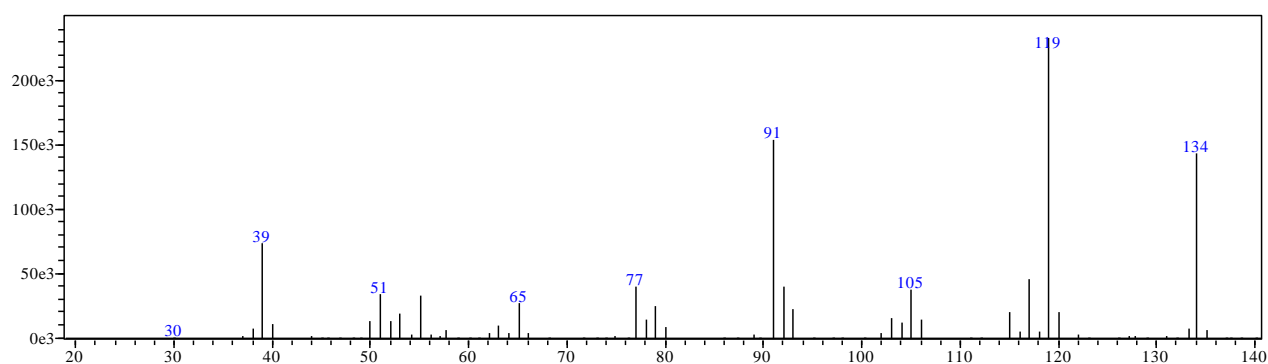
- *trans*- $\beta$ -ocimeno:



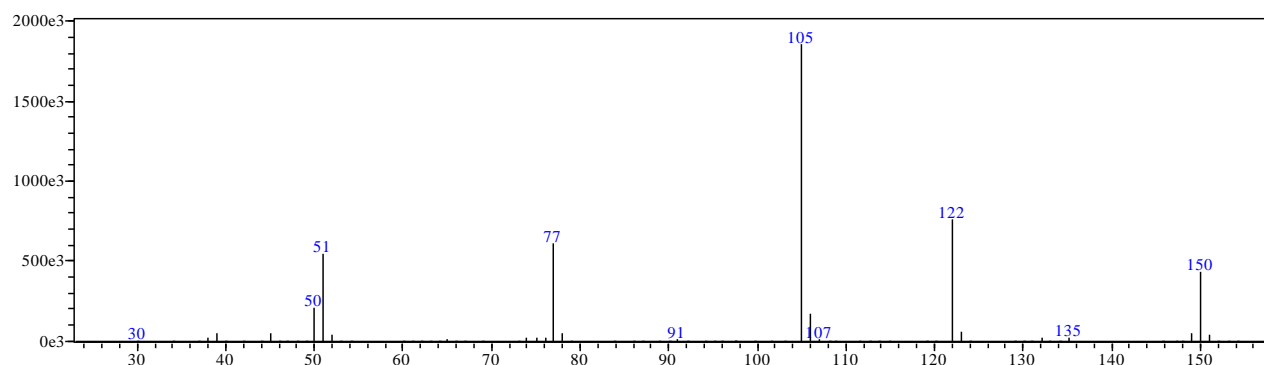
- benzoato de metila:



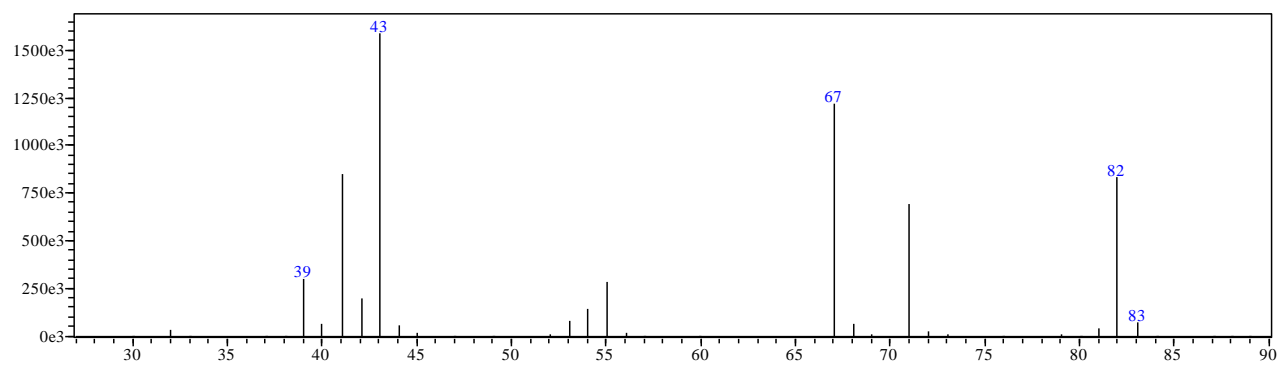
- *p*-1,3,8-mentatrieno:



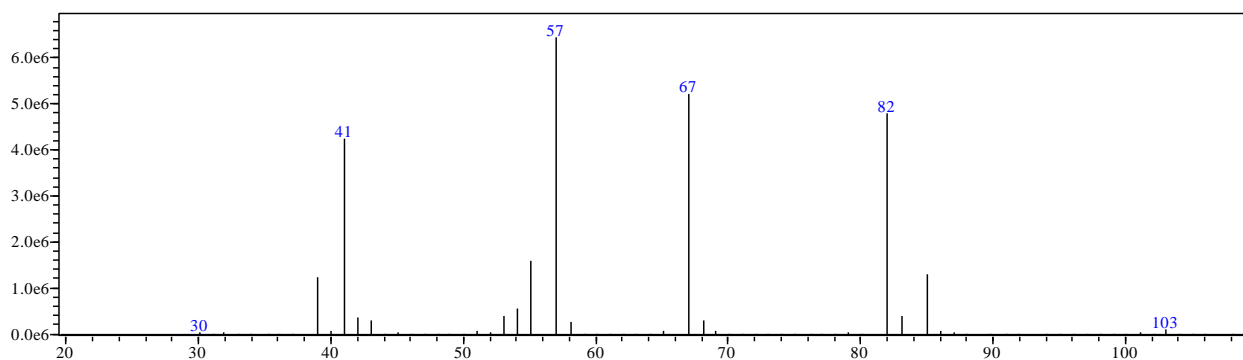
- benzoato de etila:



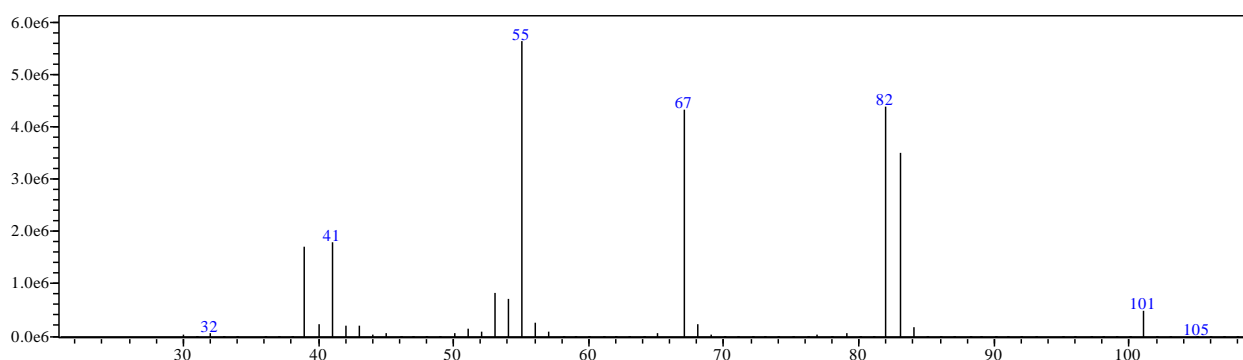
- butanoato de (*Z*)-hex-3-enila:



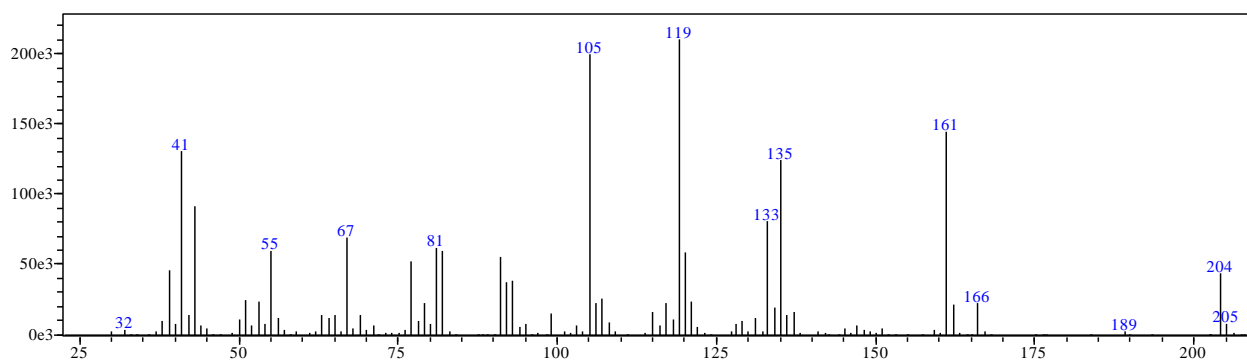
- 2-metilbutanoato de (Z)-hex-3-enila:



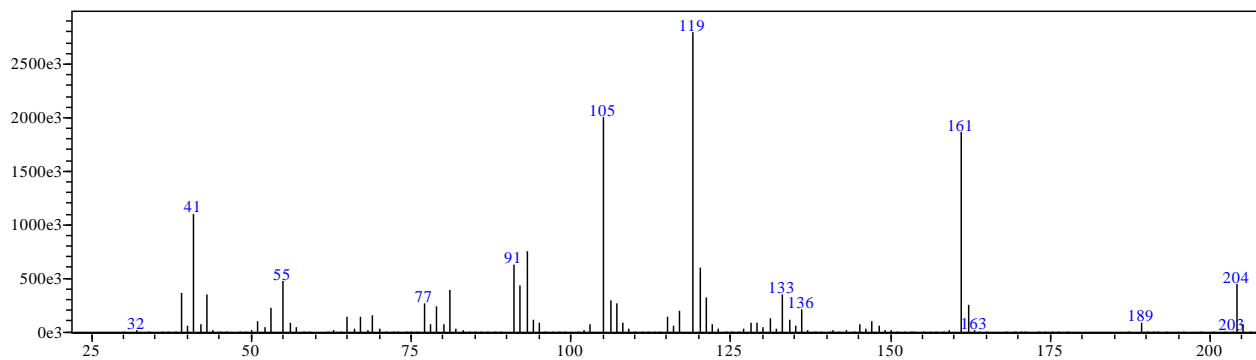
- tiglato de (Z)-hex-3-enila:



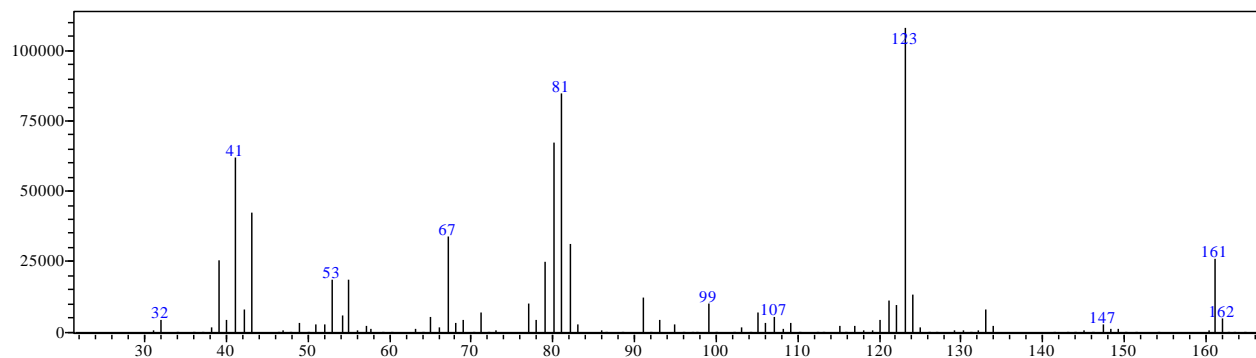
- $\alpha$ -cubebeno:



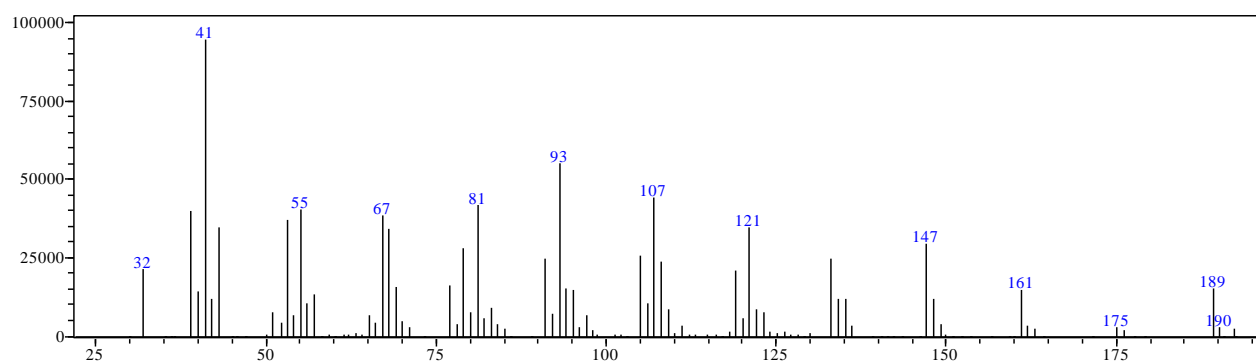
- $\alpha$ -copaeno:



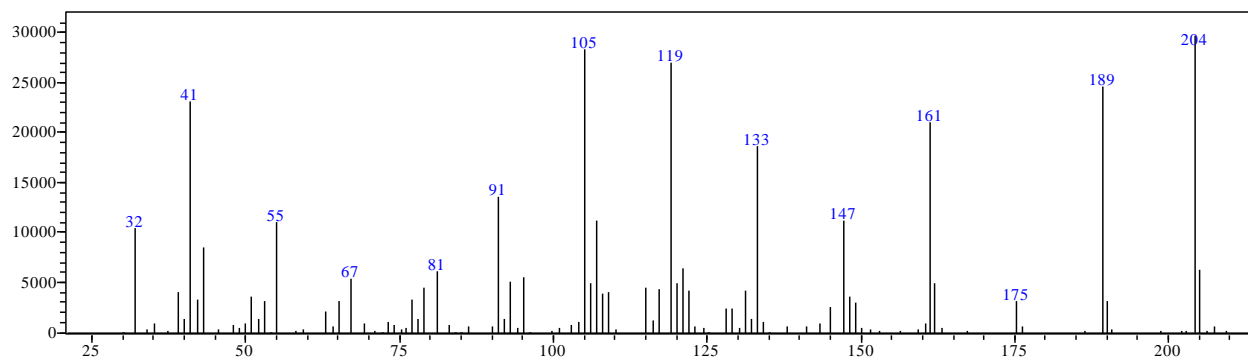
- $\beta$ -bourboneno:



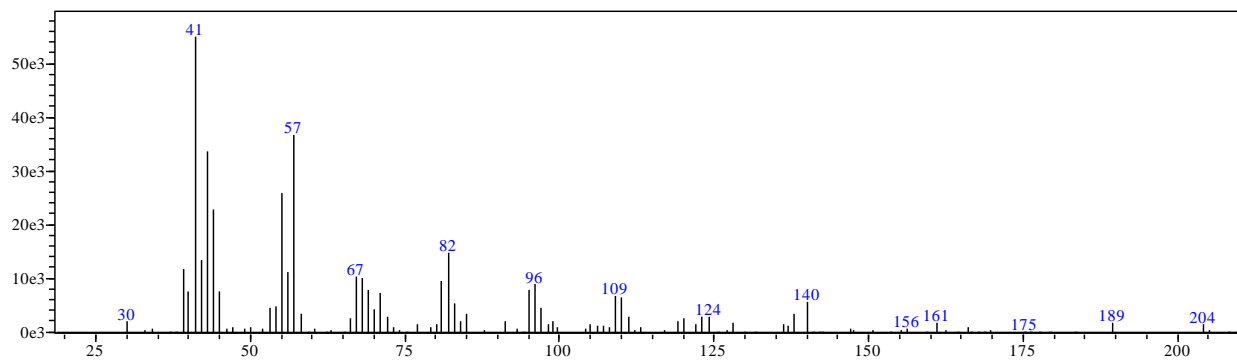
- $\beta$ -elemeno:



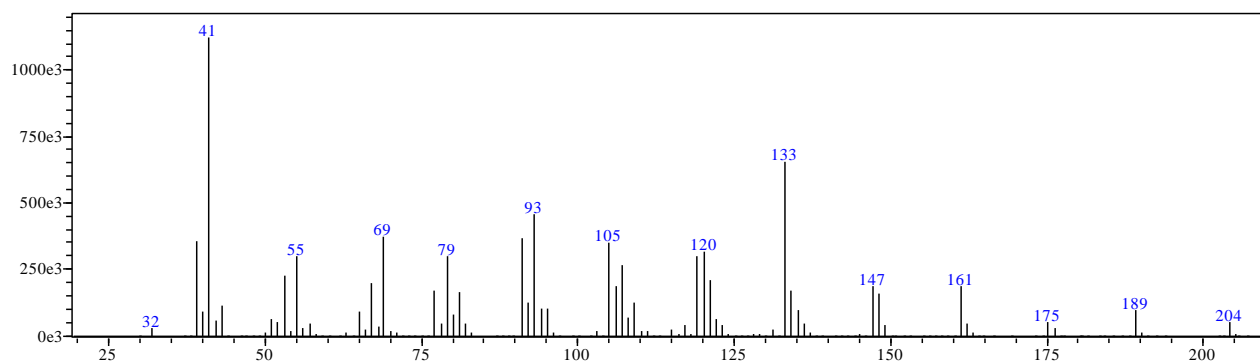
- $\alpha$ -gurjuneno:



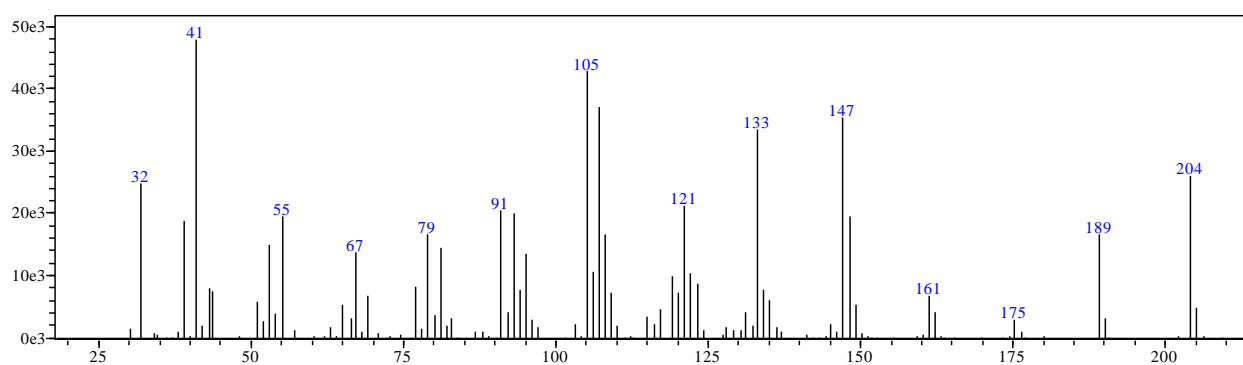
- dodecanal:



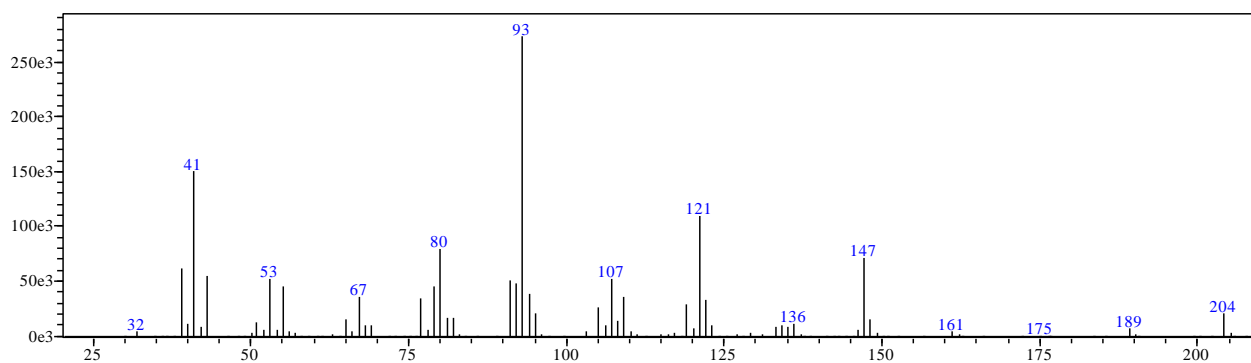
- *trans*-cariofileno:



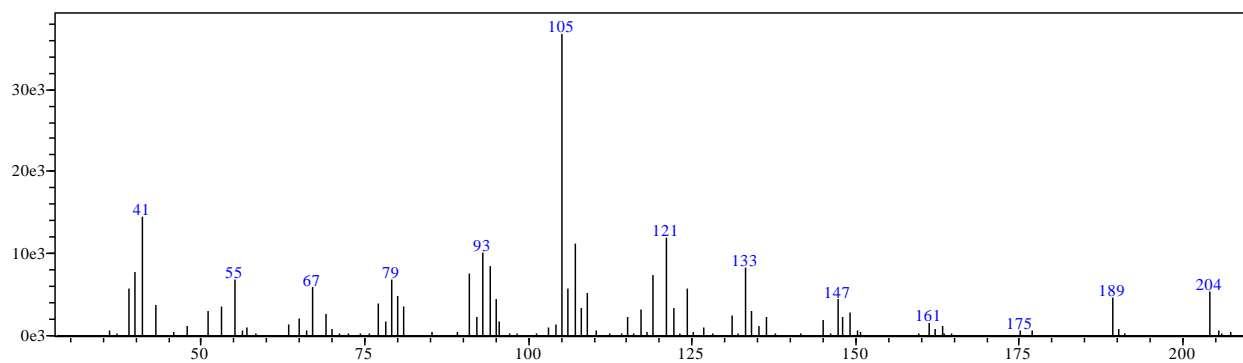
- $\alpha$ -guaieno:



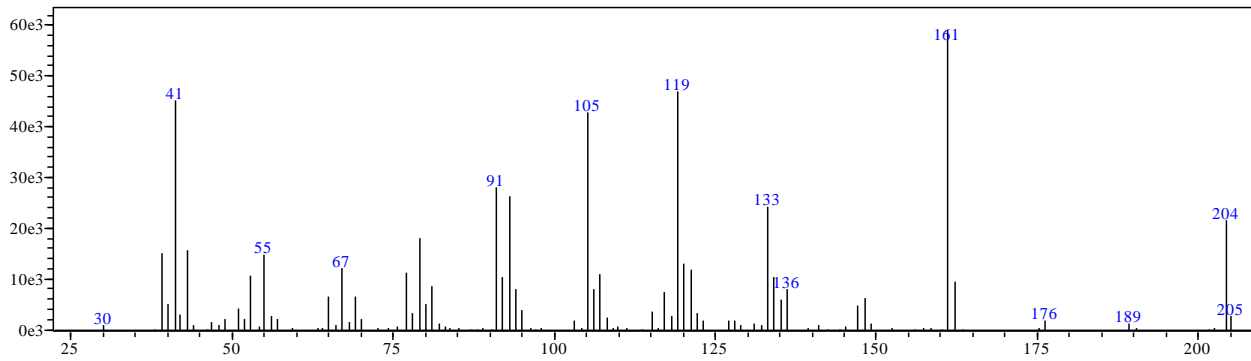
- $\alpha$ -humuleno:



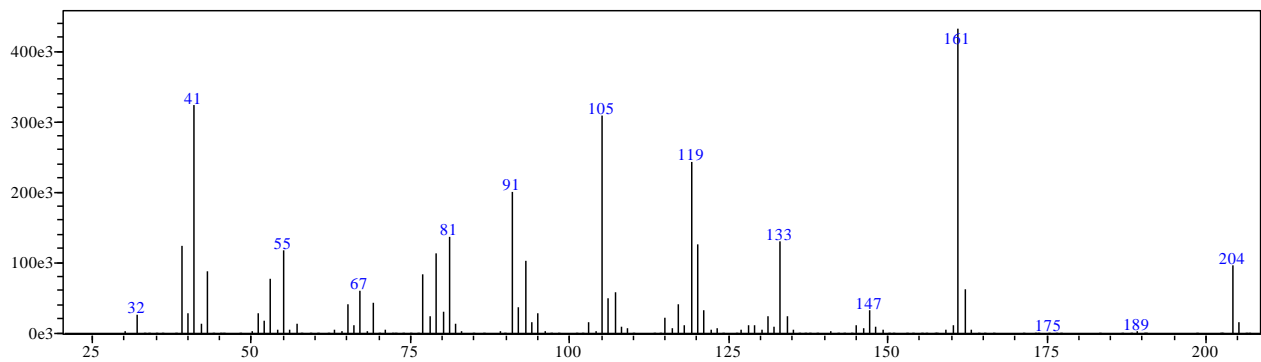
- 4,5-di-epi-aristolecheno:



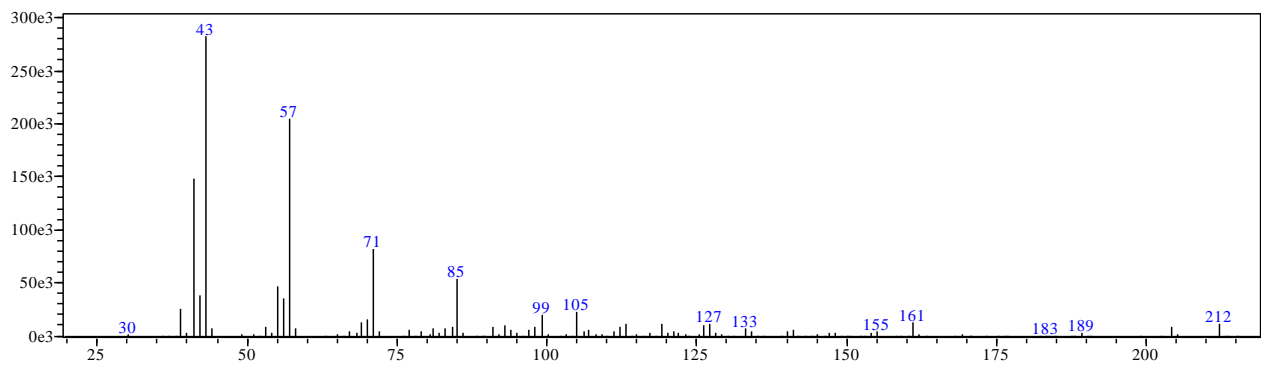
•  $\gamma$ -muuruleno:



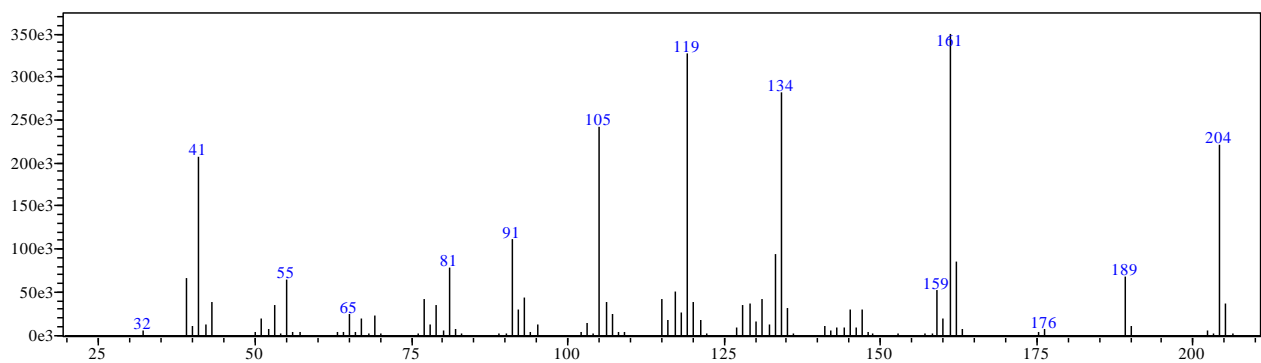
• germacreno D:



• pentadecano:



• delta-cadineno:



- dendrolazina:

