

Osmóforos: Retrospectiva dos Últimos 20 Anos de Pesquisa¹

Ary Gomes da Silva²

Palavras chaves: osmóforos, glândulas florais, voláteis florais, flores de perfume, polinização, pseudocópula, eletrofisiologia, Euglossini, Hymenoptera.

Key words: osmophores, floral glands, floral scents, perfume flowers, pollination, pseudocopulation, electrophysiology, Euglossini, Hymenoptera

Resumo

Foram levantados os trabalhos produzidos nos últimos 20 anos de pesquisa em osmóforos, uma estrutura glandular floral envolvida na secreção de substâncias voláteis acompanhada, em muitos casos, de termogênese. As informações abrangem as tendências de pesquisa na estrutura e ultraestrutura anatômica da glândula, no perfil químico dos voláteis secretados, seu envolvimento na ecologia da polinização de angiospermas e nas respostas etológicas e eletrofisiológicas de insetos, induzidas pelos osmóforos e suas secreções.

Abstract

A survey of the last 20-year publications about osmophores is presented. Osmophores are floral scent glands which volatile secretion process is followed by heating in many of its types. Available data include trends in research about anatomical structure and ultrastructure of the gland, chemical constituents of produced volatiles, its role on pollination of angiosperms and ethological and electrophysiological responses of insects to osmophores and their secretion.

INTRODUÇÃO

A produção de substâncias químicas voláteis não é exclusiva de partes florais de angiospermas. Tanto entre elas, como entre gimnospermas, é comum encontrar óleos essenciais sendo produzidos no eixo vegetativo, através de estruturas secretoras até bem diversificadas entre si, topograficamente distribuídas, desde o interior de ramos e folhas, até as superfícies desses mesmos órgãos (SVENDSEN

& SCHEFFER 1985). Independentemente da origem no vegetal, é inegável a participação dessas substâncias em interações de plantas e animais, atuando como mediadores de uma gama de respostas etológicas, que variam desde a atração até a repelência (DUSENBERY 1992; HARBORNE 1994).

Quando se trata de substâncias voláteis florais, é inegável o seu envolvimento nos eventos associados à polinização que, por sua vez, podem representar desde o papel de sinalizadores para os visitantes, até servir como o único recurso disponível na flor. Podem ainda mimetizar feromônios de fêmeas de abelhas e vespas, atraindo os respectivos machos que, por sua vez,

1. Apoio CAPES

2. Professor Adjunto. Faculdade de Farmácia e Bioquímica do Espírito Santo / Pós-Graduação em Biologia Vegetal. Departamento de Botânica. Instituto de Bio-logia. Universidade Estadual de Campinas. Caixa Postal 6109. 13081-970 Campinas, SP, Brasil.

estabelecem pseudocópulas com as flores que os atraem, efetuando assim a polinização (NILSSON 1992).

Em meio a esse contexto da polinização, VOGEL (1983) agrupou alguns tipos básicos de eliminação de odor pelas flores. Um deles seria caracterizado por uma emissão difusa de voláteis, envolvendo elementos do perianto, ou do pseudanto ou brácteas adjacentes às flores. Padrões mais localizados de emissão ocorreriam nos campos e nos guias de odor que atuam como indicativos quimiotrópicos, capazes de atuar como motivadores para exploração do recurso floral que, freqüentemente, é associado à localização do néctar. Até mesmo o pólen de flores entomófilas pode conter voláteis, originários do produto de secreção do tapete e acumulado no *pollenkitt* (DOBSON 1988).

Uma particularidade em meio ao tipo de secreção localizada é representada pelos osmóforos, definidos por Vogel (1963) como radiadores de odor, freqüentemente localizados na porção mais distal do perianto ou do pseudanto, com uma estrutura glandular epidérmica diferenciada, associada ao acúmulo de assimilados.

Do ponto de vista celular, embora pequenas gotas de secreção possam ser, algumas vezes, observadas nas células secretoras, os voláteis não se acumulam previamente nos osmóforos, antes de ser liberados. Ao contrário, são eliminados à medida em que são produzidos, sendo mantidos sob a forma de precursores até a exalação. Devido à presença temporária de intermediários e subprodutos hidrofílicos, os vacúolos do tecido osmogênico acumulam rapidamente o vermelho neutro em coloração vital, o que permite detectar padrões localizados de emissão de odor, não só como osmóforos, mas também como guias de odor (VOGEL 1963; 1983).

KNUDSEN *et al.* (1993) numa recente revisão sobre voláteis florais, identificados desde 1966 até o de 1992, relacionam mais de 700 substâncias químicas, isoladas em 441 *taxa*, de 174 gêneros, pertencentes a 60 famílias, entre flores de angiospermas e estróbilos de gimnospermas. Apesar desse fato criar a expectativa de um avanço equivalente no estudo de osmóforos, a literatura botânica recebeu, em

1990, a tradução para o inglês do trabalho original de Vogel (1963), publicado em alemão. Ainda mais surpreendente é o fato de, apesar de não ter sido revisto e nem atualizado, o trabalho continua contemporâneo, em muito de sua abordagem e muito pouco se avançou no conhecimento sobre o assunto, em termos botânicos.

Localizar a importância dessa tradução, decorridos 30 anos da efetiva publicação do original alemão, talvez resida na possibilidade de esclarecer dúvidas que se proliferaram ao longo desse tempo. Dúvidas essas que vão desde a citação do trabalho original até a utilização da técnica de coloração vital pelo vermelho neutro.

Apesar dos osmóforos terem uma definição essencialmente bioquímica e estrutural, em termos anatômicos, muito pouco tem sido produzido desde o trabalho original de VOGEL (1963) e, indubitavelmente, representa um campo totalmente aberto à investigação. Do ponto de vista químico e biológico, os trabalhos têm sido mais numerosos, pelo menos em Orchidaceae, refletindo em investigações tanto sobre o perfil químico qualitativo das substâncias voláteis secretadas pelos osmóforos, como sobre as respostas etológicas que os visitantes florais apresentam a elas. Em termos de etologia de Hymenoptera, já há, inclusive, alguns resultados quantificados através da eletrofisiologia.

Um estudo mais detalhado sobre este tema merece destaque, não só pela relativa escassez de trabalhos, mas porque nele estão envolvidas relações ecológicas entre plantas e animais, em muitos casos, extremamente especializadas. Essas interações, por sua vez, ou podem culminar com a polinização ou podem funcionar como barreiras reprodutivas efetivas entre espécies vegetais, pela segregação de visitantes florais. Dessa forma, assumem também importância nos mecanismos determinantes do fluxo gênico e, portanto, da especiação em condições naturais.

Devido à importância que esta estrutura secretora vegetal assume na biologia reprodutiva de plantas e, possivelmente, de muitos dos polinizadores envolvidos, este trabalho tem como objetivo levantar a produção científica que trata sobre este assunto, nos últimos 20 anos.

SÍNTESE DAS ATUAIS TENDÊNCIAS DE PESQUISA EM OSMÓFOROS

É difícil tratar das tendências atuais na pesquisa em osmóforos, sem tomar o trabalho original de VOGEL (1963) como referência. Em sua definição, os osmóforos têm que ser individualizados como estruturas secretoras. Sendo assim uma linha de pesquisa consiste em expandir as informações a respeito da estrutura e ultraestrutura dos osmóforos, caracterizados como glândulas de origem epidérmica. É inegável que um suporte microquímico acompanha tais informações, devido à associação do epitélio secretor com um parênquima acumulador de assimilados. Os dados estruturais também têm se revelado úteis para fins taxonômicos, fazendo com que se derive ainda uma outra linha de pesquisa.

Ainda naquele trabalho, uma das primeiras considerações do autor, já na introdução, chamava atenção para a insuficiência organoléptica do olfato humano para tratar da produção e significação ecológica dos voláteis florais. Desse fato resulta que uma das linhas de pesquisa conseqüente ao estudo dos osmóforos, engloba a elucidação das substâncias químicas que constituem o *bouquet* das fragrâncias florais.

Do ponto de vista ecológico, dois grandes grupos de respostas à atividade fisiológica dos osmóforos, suportam linha de pesquisa em ecologia da polinização das espécies vegetais em cujas flores eles ocorrem. Em ambos os grupos, os voláteis desempenham um papel importante na localização das flores pelos visitantes.

Em um deles, entretanto, a formação de um microclima intrafloral com temperaturas até 22°C mais altas que a do ambiente, cria condições à formação de dormitórios para insetos, além de se tornarem locais usados, muitas vezes, para o acasalamento (MEEUSE 1975). Em outro grupo, os voláteis ou funcionam como um recurso floral explorado por machos de abelhas da tribo Euglossini ou podem mimetizar feromônios sexuais de fêmeas de espécies de abelhas e vespas, atraindo os respectivos machos para falsas cópulas, não havendo, nesse caso, nenhum outro recurso explorável pelo visitante.

Uma outra linha de pesquisa, decorrente da participação dos osmóforos na ecologia da polinização, consiste nas investigações sobre as relações qualitativas e quantitativas entre as respostas etológicas dos visitantes e as substâncias voláteis, estando agrupadas numa área em que têm avançado os experimentos de eletrofisiologia.

As pesquisas em estrutura e ultraestrutura

Desde a definição de osmóforo, os trabalhos que tratam da avaliação estrutural dessa glândula tornaram-se pontuais e, quase absolutamente, concentrados em Orchidaceae. Antes de chegar à estrutura, VOGEL (1963) preconizou a utilização de colorações vitais, como o vermelho neutro, que poderiam ser associadas a métodos de revelação de amido de reserva, como indicadores de osmóforos. Essas técnicas seriam exploratórias desde que respeitassem a pré-condição de não ser aplicadas a partes florais que fossem naturalmente coradas em vermelho ou outras cores escuras:

A partir daí, algumas confusões se instalaram. BUCHMANN *et al.* (1977), por exemplo, chegaram a propor osmóforos em duas espécies de *Solanum*, tanto nas tecas de anteras, onde é comum o processo de degeneração do tapete, como no pólen, um esporo com fortes limitações de biossíntese até a germinação (MASCARENHAS 1975; DOBSON 1988). Ou seja, a coloração pelo vermelho neutro não foi acompanhada da caracterização do osmóforo como uma estrutura glandular morfológica e anatomicamente diferenciada.

ORMOND *et al.* (1982), ao estudar as regiões produtoras de odor em *Couroupita guianensis* (Lecythidaceae), chamaram a atenção para a insuficiência daquela técnica como caráter decisivo, para detectar os osmóforos, valendo-se disso, inclusive, para questionar os resultados apresentados por BUCHMANN *et al.* (1977). Postularam ainda, a necessidade de estudos anatômicos e microquímicos complementares, embora tais considerações já constassem da definição original de VOGEL (1963). Uma investigação exploratória, com nuances microquímicas pela associação do sudan black b ao vermelho neutro, realizada para a

Localização de osmóforos em 25 gêneros de Orchidaceae, por STERN *et al.* (1986) ratifica, entretanto, o uso apropriado deste último, nos termos em que foi proposto.

Embora o teste pelo vermelho neutro realizado por ORMOND *et al.* (1981; 1982) em *C. guianensis* não atendesse à pré-condição básica de VOGEL (1963), ou seja, de que as peças florais em questão não fossem naturalmente coradas em vermelho ou cores escuras, as autoras buscaram outros indicativos, anatômicos e microquímicos, para elucidar a natureza da emissão do odor. Não ficou caracterizado em *C. guianensis* uma glândula que secretasse voláteis e não há sequer uma secreção localizada de odor. Ao contrário, a emissão é feita pelas pétalas e pelos filetes, ambos vermelho-vinosos na flor dessa espécie.

As referidas autoras apontaram outros indicativos caracterizadores de osmóforos, tais como a presença de amido no botão floral, num estágio precedente em 12 horas à antese, e seu posterior desaparecimento, após a antese, e a presença de gotículas de óleo nos protoplastos de células epidérmicas das pétalas e nos filetes dos estames do capuz da flor, desde a fase de pré-antese assinalada. Quanto aos dados microquímicos dessa natureza, é importante lembrar que, devido aos tecidos florais terem pouca ou nenhuma clorofila, é comum que se formem na flor, reservas em óleo ou, mais freqüentemente, em amido. Essas reservas funcionam como fontes calóricas para o elevado metabolismo oxidativo floral, atendendo a situações de episódios de intenso crescimento ou movimentação de verticilos florais precedentes à antese (VOGEL 1983).

Indicativos dessa natureza, para que sejam válidos, devem atender à condição de que os assimilados sejam consumidos a partir do momento em que o osmóforo entrar em atividade, não havendo nenhum tipo de acúmulo prévio de secreção no protoplasto das células secretoras e que a secreção seja eliminada, à medida em que for produzida. Enfim, esses eventos são todos posteriores à antese e, portanto, os assimilados devem persistir após a antese, devendo seu consumo ser acompanhado em intervalos regulares de tempo, compatíveis com a duração da atividade glandular (VOGEL 1963).

Trabalhos estruturais sobre osmóforos só foram retomados 20 anos depois dos originais de VOGEL (1963), estando restritos, entretanto, à família Orchidaceae, relativos aos gêneros *Restrepia* (PRIDGEON & STERN 1983), *Scaphosepalum* (PRIDGEON & STERN 1985) e *Stanhopea* (WILLIAMS 1983; STERN *et al.* 1987; CURRY *et al.* 1991).

PRIDGEON & STERN (1983) apresentaram as primeiras informações ultraestruturais sobre osmóforos, caracterizando sua secreção em *Restrepia* como granulócrica e que, após vencer a plasmalema, penetra e se difunde pela cutícula sem distendê-la, após um acúmulo temporário no espaço subcuticular. Naquela ocasião, não foi possível determinar as organelas envolvidas na síntese dos voláteis, mas foi constatado que era profuso o número de pequenos vacúolos, mitocôndrias e amiloplastídios nas células epidérmicas e subepidérmicas do osmóforo. Durante toda a fase secretora, os dictiossomas eram escassos ou ausentes, sendo expressiva a presença tanto do retículo endoplasmático granular (REG) como a do agranular (REA), ambos sob a forma de cisternas e associados à membrana dos plastídios.

Informações ultraestruturais complementares, em Orchidaceae, foram obtidas para o gênero *Scaphosepalum* (PRIDGEON & STERN 1985). Nessa ocasião foi documentada a existência de campos de pontuação entre as células epidérmicas e suas adjacentes, caracterizando um sistema de transporte via simplasto e, ao contrário do observado pelos referidos autores em *Restrepia*, não foi encontrada nenhuma evidência de que a secreção fosse do tipo granulócrica, assinalando outras diferenças, mais relativas à localização e constituição possível da fragrância floral, do que propriamente relativas à ultraestrutura.

Os osmóforos do gênero *Stanhopea* haviam sido estudados através da microscopia eletrônica de varredura por WILLIAMS (1983). STERN *et al.* (1987) reencontram as mesmas organelas anteriormente descritas em *Restrepia*. *Stanhopea* também apresentava uma secreção granulócrica, mas um novo acréscimo importante consistiu na observação de microcorpos associados tanto a mitocôndria como ao REA. Esta descoberta subsidiária, posteriormente,

uma especulação sobre o processo biossintético nos osmóforos e as organelas que pudessem estar associadas a ele.

A primeira abordagem citoquímica para localização das organelas envolvidas na síntese de voláteis em osmóforos foi feita por CURRY (1987) em *Stanhopea anfracta* (Orchidaceae), baseando-se na localização da atividade da Hidroximetil-glutaril-CoA sintetase, a enzima iniciadora da via do mevalonato, um processo biossintético em que se produz terpenóides. Os resultados citoquímicos demonstraram que a atividade dessa enzima se localiza, primariamente, no espaço entre as membranas interna e externa das mitocôndrias e no REA. Secundariamente, essa enzima também foi encontrada associada à membrana dos plastídios, caracterizando uma compartimentalização pronunciada, durante a síntese de terpenóides.

Apenas uma abordagem ontogenética foi encontrada para osmóforos, realizada por CURRY *et al.* (1988), em *S. anfracta* e *S. pulla*. Nela ficou demonstrado o envolvimento de grupos de células subepidérmicas na aquisição de superfícies rugosas ou papilosas nos osmóforos dessas espécies, bem como a definição da similaridade ou não das células epidérmicas com as da camada subjacente a elas, produzindo um osmóforo com padrão histológico homogêneo ou com a formação de um tecido em bicamada.

Ainda em *Stanhopea* (Orchidaceae), CURRY *et al.* (1991) usaram uma abordagem estrutural e ultraestrutural dos osmóforos para fundamentar uma proposta de sistemática filogenética para o gênero. Não houve acréscimo de informação, ao nível morfológico ou estrutural, mas os dados disponíveis foram úteis para estabelecer uma hipótese evolutiva mais consistente para o gênero.

STPICZYNSKA (1993) identificou osmóforos na base das pétalas e margem do labelo de *Cymbidium tracyanum* (Orchidaceae). Do ponto de vista estrutural, a epiderme desses locais apresentava células glandulares algo alongadas e vesiculosas, particularmente no labelo. Havia ainda o envolvimento de 2 a 3 camadas de células subepidérmicas na produção de odor. A ultraestrutura dessas células evidenciou um núcleo grande, numerosos grãos

de amido e plastoglôbulos nos plastídios, um elevado número de mitocôndrias e REA.

Fora de Orchidaceae, uma única citação para a estrutura de osmóforos foi encontrada para 3 espécies do gênero *Cyphomandra* (Solanaceae), nas quais SAZIMA *et al.* (1993) demonstraram que toda a porção externa do conectivo dos estames diferenciava-se em osmóforo. Apresentaram dados anatômicos, ao nível da microscopia óptica e algumas informações sobre o desenvolvimento dos osmóforos, obtidas paralelamente ao acompanhar o desenvolvimento da antera. Não foram realizadas observações ultraestruturais.

Dados estruturais e ultraestruturais sobre a anatomia de partes florais envolvidas em termogênese são ainda mais escassos. Uma análise ultraestrutural comparada da anatomia das estruturas termogênicas de *Victoria cruziana* e *Nelumbo lutea* revelou um tecido rico em mitocôndrias, grandes amiloplastídios e corpos lipídicos, além de corpúsculos, ainda não identificados, limitados por unidades de membrana, quando em fase de pré-antese. Ocorreu uma reorientação na disposição das cristas internas das mitocôndrias, após a antese em *V. cruziana*, ao contrário de *N. lutea* cujas mitocôndrias se mantêm inalteradas após a antese, durante a termogênese (SKUBATZ *et al.* 1990b).

As pesquisas sobre a química dos voláteis florais

Os avanços sobre a química de voláteis florais relacionados com osmóforos, na qualidade de estruturas responsáveis pela secreção, são mais abundantes para espécies de Orchidaceae. Esta família foi a que mais contribuiu para identificar as mais de 700 substâncias químicas diferentes, relatadas para as flores de angiospermas e gimnospermas. Tem se tornado mais comum uma melhor investigação química do que morfológica ou estrutural e as correlações com osmóforos são feitas através de extrapolações baseadas em afinidades taxonômicas (WILLIAM & WHITTEN 1983; GERLACH & SCHILL 1989 e 1991; KNUDSEN *et al.* 1993).

Entre os voláteis florais são encontrados diversos tipos de hidrocarbonetos, benzenóides, éteres, ésteres, aldeídos, cetonas, terpenóides,

aminados, enfim, substâncias de todas as origens metabólicas possíveis (WILLIAMS & WHITTEN 1983; KNUDSEN *et al.* 1993). Neste campo, o desenvolvimento e aprimoramento das técnicas de coleta e análise de voláteis foi mais importante do que a ampliação do elenco de substâncias químicas isoladas na fração volátil das flores.

A coleta de odores passou a ser feita pela captação através da saturação de resinas fixadoras, como Tenax e Porapak, ou ainda utilizando o carvão ativado, ambos empacotados em pré-colunas de vidro e submetidos a um fluxo de ar contínuo, aspirado a partir da microatmosfera saturada pela flor - *headspace technique* (KAISER 1993). Esta técnica permitiu uma simplificação metodológica capaz de ser facilmente aplicada em trabalhos de campo, com a vantagem de não retirar a flor da planta matriz mantendo-a viva enquanto os voláteis são coletados.

Em termos analíticos, um grande avanço foi dado com o desenvolvimento e melhoramento das técnicas de Cromatografia de Fase Gasosa, acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM), onde as colunas capilares de comprimento superior a 25m refinaram a resolução analítica e viabilizaram uma expressiva redução do volume de amostra necessário (WILLIAMS 1983).

No trabalho de SAZIMA *et al.* (1993), após os osmóforos terem sido identificados nos estames de *Cyphomandra* (Solanaceae), as anteras e os conectivos foram separados dos demais verticilos florais e extraídos com hexano. Depois de saturado o solvente, o extrato obtido foi submetido à análise cromatográfica. Dessa forma pode ser obtido um perfil de mais de 40 substâncias químicas das quais, pelo menos em parte, tinham a mais elevada probabilidade de incluir o produto de secreção dos osmóforos.

As pesquisas em ecologia da polinização ***A Termogênese em Flores***

Um dos campos de investigação na ecologia da polinização de flores, nas quais os osmóforos desempenham um papel importante, envolve a produção de calor que acompanha a secreção de voláteis, um fenômeno que foi inicialmente assinalado para Araceae (MEEUSE 1975 e

1978). Nesses casos, osmóforos funcionam como radiadores de substâncias voláteis, mas a termogênese cria um microclima favorável à formação de dormitório ou sítio de acasalamento para dípteros (YOUNG 1986), para coleópteros (YAFUSO 1993). Também já foram registradas visitas de machos de abelhas da tribo Euglossini que coletam perfume nas inflorescências (WILLIAMS & DRESSLER 1976), mas que não mantêm ligação com a atividade termogênica.

Outras famílias vegetais também possuem espécies com flores termogênicas. Em Nymphaeaceae, a produção de calor ocorre em apêndices carpelares de *Victoria cruziana* (VALLA & CIRINO 1972; SCHENEIDER 1976) e em apêndices estaminais de *Nelumbo pentapetala* (SCHNEIDER & BUCHANAN 1980). Em ambas as espécies, a temperatura interna da flor chegou a ser 5°-10°C maior que a temperatura ambiente. Na família Lecythidaceae, ORMOND *et al.* (1981) relatam que flores de *C. guianensis* chegaram a apresentar temperaturas até 7°C superiores às do ambiente, mas um melhor estudo deste efeito termogênico não foi incluído entre os objetivos do trabalho.

A coexistência de assimilados sob a forma de amido e lipídios nas células do tecido termogênico constitui uma outra característica comum com os osmóforos. WALKER *et al.* (1983) demonstraram uma alternância de oxidação de lipídios e amido durante a atividade respiratória que produz calor nas inflorescências de *Philodendron sellow* (Araceae).

MEEUSE *et al.* (1984) identificaram esse efeito termogênico como conseqüente a um tipo de respiração não fosforilativa nas inflorescências de *Sauromatum guttatum* (Araceae). Esse fenômeno é acoplado ao desenrolar da espata e sincrônico com a produção de odor, ambos ligados à polinização por coleópteros que se acasalam na inflorescência. Haveria ainda a possibilidade desses coleópteros se utilizarem dos corpúsculos alimentares, onde ocorre a liberação de calor.

A natureza do tipo de respiração envolvida no processo de termogênese foi elucidada por ELTHON & McINTOSH (1987). Tratava-se de uma atividade respiratória insensível à ini-

bição pelo cianeto e, portanto, não fosforilativa, na qual estaria envolvida uma oxidase alternativa terminal, isolada em mitocôndrias de plantas superiores.

Paralelamente à elucidação do tipo de respiração envolvida na termogênese, houve a identificação do ácido salicílico (ácido 2-hidroxibenzóico), através de espectrometria de massa em extratos altamente purificados de flores masculinas de *S. guttatum*. A indução de produção de calor nas inflorescências de *S. guttatum*, realizada tanto por aqueles extratos como por uma solução de ácido salicílico puro permitiu identificá-lo, de maneira conclusiva, como um regulador endógeno da produção de calor em flores, pelo menos em Araceae (RASKIN *et al.* 1987).

De fato, duas das proteínas associadas à atividade da oxidase resistente ao cianeto têm sua síntese regulada pelo ácido salicílico (ELTHON *et al.* 1989). Este mesmo tipo de respiração não fosforilativa foi identificado por MEEUSE & RASKIN (1988) na inflorescência de *Arum italicum* (Araceae) e em flores de duas espécies de Nymphaeaceae, *Victoria cruziana* e *Nelumbo lutea* por SKUBATZ *et al.* (1990b).

Buscando maiores informações sobre a ocorrência de ácido salicílico em vegetais, RASKIN *et al.* (1990) quantificaram seus teores em partes de estruturas reprodutivas de 11 espécies com flores termogênicas, pertencentes a 4 famílias diferentes, como também em folhas, inflorescências e flores de outras 30 espécies não termogênicas. Os níveis de ácido salicílico excederam a $1\mu\text{g g f.wt}^{-1}$ durante a produção de calor em 5 espécies de Araceae e nos estróbilos de pelo menos 4 espécies de Cycadaceae, níveis esses muito maiores que os 13ng g f.wt^{-1} necessários para desencadear a termogênese em *S. guttatum*. Ele não foi detectado, entretanto, nas flores termogênicas de *Victoria regia* (Nymphaeaceae) e nem em *Bactris major* (Arecaceae).

Entre as espécies não termogênicas, os teores de ácido salicílico variaram consideravelmente nas partes florais de 7 espécies e nas folhas de 27 outras. Esses resultados foram tidos como indicadores de uma distribuição bastante ampla do ácido salicílico em plantas. Ainda não há informações, entretanto, sobre sua partici-

pação em outros processos fisiológicos, além da regulação endógena do metabolismo respiratório durante a termogênese. Mesmo nos casos de produção de calor, o fato de não ter havido teores detectáveis de ácido salicílico em flores de *V. regia* e *B. major*, os dados apontaram para outros mediadores endógenos possíveis.

O estudo da termogênese ganhou nova abordagem através do monitoramento da produção de calor pela termografia de infravermelho. SKUBATZ *et al.* (1990a) acompanharam a radiação infravermelho emitida pela superfície das inflorescências de 12 espécies de Araceae, distribuídas entre os gêneros *Amorphophallus*, *Philodendron*, *Monstera*, *Dracunculus*, *Arum*, *Caladium* e *Remusatia*.

As imagens das inflorescências dessas espécies registradas em fotografias feitas em câmera de infravermelho mostraram diferenças entre as espécies quanto à magnitude das temperaturas, quanto ao tempo de duração de níveis detectáveis de calor e quanto ao tipo de órgão envolvido na termogênese, podendo variar entre flores masculinas, flores femininas, a espata ou o espádice.

Todas as espécies apresentaram, entretanto, 3 características em comum, ou seja, a produção de calor pelas flores masculinas, a liberação de pólen imediatamente após o fim da termogênese e a não detecção de calor nas flores femininas, quando estas estavam a uma distância considerável das masculinas, ao longo do espádice.

SKUBATZ *et al.* (1991), pela termografia de infravermelho dos padrões de temperaturas superficiais do espádice de *S. guttatum*, demonstraram que as flores masculinas eram fracamente termogênicas ao primeiro e segundo dias da antese, com temperaturas de $0,5^{\circ}\text{--}1^{\circ}\text{C}$ mais altos que os do ambiente. O apêndice apical estéril da inflorescência foi bastante termogênico já no primeiro dia, alcançando $25^{\circ}\text{--}26^{\circ}\text{C}$, caindo consideravelmente no segundo dia da antese, quando as temperaturas não passaram de 1°C acima da ambiental. A porção inferior do referido espádice, próxima às flores femininas, foi igualmente termogênica no primeiro e segundo dias, com temperaturas similares às do apêndice apical.

A produção de calor ocorreu a uma temperatura ambiente ótima de 22°-25°C, diminuindo consideravelmente quando a temperatura ambiente caía para valores próximos a 20°C. A capacidade de utilizar a via respiratória alternativa, cianeto-resistente, cresceu com o processo de amadurecimento da inflorescência. Quando a utilização dessa via respiratória atingia seu máximo, a via respiratória pelos citocromos estava bastante limitada.

As Flores de Perfume

Um outro grupo em que os osmóforos assumem importância é constituído por espécies cujas flores apresentam óleos voláteis como recurso. Sua exploração tem sido, até agora, ligada unicamente a machos de abelhas da tribo Euglossini (Apidae) e, este conjunto de atributos ecológicos caracteriza a síndrome de flores de perfume, ou seja, aquelas em que não há um outro tipo de recurso explorável pelo visitante ou, se há, não é outro, senão o pólen (VOGEL 1963 e 1983; SIMPSON & NEFF 1983; WILLIAMS & WHITTEN 1983).

Visitas de machos de Euglossini explorando óleos voláteis em flores, foram descritas para Orchi-daceae e Araceae (VOGEL 1963) sendo posteriormente relatadas para as famílias Bignoniaceae, Gesneriaceae, Mimosaceae, Myrtaceae e Solanaceae (ARM-BRUSTER & WEBSTER 1979).

Isto representa em si, um fato curioso e importante, pois é uma particularidade a visita de machos de abelhas, ainda que solitárias, parasociais ou comunais, como as Euglossini, a flores que não apresentam o néctar como recurso. Em abelhas desse grupo, a longevidade dos machos é, muitas vezes, suficiente para o acasalamento e, por isto, não adquiriram o hábito de coletar pólen (ROUBIK 1989 e 1992).

No caso da síndrome das flores de perfume, os óleos voláteis coletados são transferidos para uma dilatação da tibia da perna posterior dos machos cuja estrutura interna é glandular, e daí, havendo especulações de que sejam utilizados desde a marcação territorial até como kairomônios de defesa, transferidos para as respectivas fêmeas no momento da cópula (WILLIAMS 1983; WILLIAMS & WHITTEN 1983; ROUBIK 1989).

Em *Spathiphyllum* (Araceae), a polinização por machos de Euglossini foi trabalhada em detalhes sobre a química dos voláteis, caracterizada pela dominância de monoterpenos e benzenóides (WILLIAMS & DRESSLER 1976).

Esta relação foi enriquecida pela inclusão do gênero *Dalechampia* (Euphorbiaceae) entre as flores de perfume. ARMBRUSTER & WEBSTER (1979) registraram machos de 3 espécies de *Eulaema* (Apidae:Euglossini) polinizando *Dalechampia spathulata*, enquanto coletavam óleos voláteis nos apêndices viliformes do pseudanto.

Estudos de natureza filogenética evidenciaram que a polinização por machos de Euglossini seria um evento relativamente incomum entre as 40 espécies neotropicais de *Dalechampia*, onde os ramos do cladograma que inclui as espécies produtoras de resina chega a ser 10 vezes mais diverso que o das produtoras de óleos voláteis (ARMBRUSTER 1993).

Uma extensão dessa análise filogenética, incluindo outras entre as quase 120 espécies neo-, paleo- e pantropicais que compõem o gênero, reuniu evidências que colocam este tipo de polinização como alternativa, juntamente com aquele realizado pelas abelhas coletoras de pólen, como o provável estado primitivo de polinização para o grupo. Dele teria se derivado a polinização por fêmeas coletoras de resina (ARMBRUSTER 1994).

A citação de Solanaceae entre as flores visitadas por machos de Euglossini deveu-se a relatos de DRESSLER (1979), nos quais *Eulaema bombiformis* foi vista visitando e polinizando flores de *Cyphomandra hartweggi*, mas não houve, na ocasião, qualquer ligação deste serviço de polinização com a síndrome das flores de perfume.

Apesar das anteras poricidas de *Cyphomandra* levarem a uma primeira indicação da síndrome de polinização vibrátil, SOARES *et al.* (1989) demonstraram conclusivamente que machos de *Euglossa mandibularis*, ao visitarem as flores de *Cyphomandra calycina*, trabalhavam sobre os conectivos dos estames, raspando-os para coletar óleos voláteis. Enquanto faziam isto, recebiam, passivamente, jatos de pólen sobre o abdômen, capaci-

tando-os assim, para atuar como polinizadores não vibráteis.

SAZIMA *et al.* (1993) documentaram outras 3 espécies de *Cyphomandra* (Solanaceae), em que as flores são polinizadas sem atividade vibrátil por machos de *Eufriesia violacea*, *E. mandibularis* e *Eulaema meriana*, todos de espécies da tribo Euglossini (Bombinae-Apoidea). Identificaram o processo de liberação do pólen como pertencendo a um mecanismo de fole, ou seja, a expulsão do pólen ocorria pela compressão que as abelhas provocavam nas tecas, enquanto raspavam os conectivos das anteras.

Este fato tornou-se interessante porque, como os machos não coletam pólen ativamente, eles não aplicam a vibração produzida pela musculatura dorsal de vôo, capaz de promover a liberação do pólen das anteras. ROUBIK (1989) chama atenção para o fato de que esses machos utilizam, normalmente, a vibração para sinalização e atração de fêmeas ao seu território de acasalamento. Só não o fazem nas flores, simplesmente porque não coletam pólen, atividade esta que é restrita às fêmeas de espécies solitárias, para-sociais comunais e semi-sociais, ou ainda, pelas operárias das eussociais.

Polinização por Pseudocópula.

Um terceiro grupo de casos consiste em um tipo de interação denominada pseudocópula, até agora conhecido apenas em Orchidaceae. Neste tipo de polinização, osmóforos localizados nas flores *Ophrys* e, no mínimo, outros 11 gêneros, eliminam um *bouquet* de voláteis cuja constituição química é muito semelhante a dos feromônios sexuais de fêmeas de himenópteros, com maior número de relatos, e de dípteros (DAFNI & BERNHARDT 1990). Em casos como esses, o benefício da polinização não é acompanhado de nenhum tipo de recurso como recompensa aos polinizadores (NILSSON 1992).

Entre as abelhas solitárias, estão os gêneros *Andrena* (Andrenidae), *Colletes* (Colletidae) (WARNCKE & KÜLLENBERG 1984), *Eucera* e *Tetralonia*, ambos os gêneros da tribo Eucerini (Anthophorinae: Anthophoridae) (KÜLLENBERG, BÜEL & TKALCU, 1984).

Relatos de vespas incluem um grupo de predadoras das famílias Sphecidae (KÜL-

LENBERG & BERGSTRÖM 1976; AGREN & BORG-KARLSON 1984; STEINER *et al.* 1994) e Pompiliidae (STEINER *et al.* 1994), e outro de parasitas das famílias Scoliidae (KÜLLENBERG & BERGSTRÖM 1976), Ichneumonidae e Tiphidae (STOUTAMIRE 1983). Registros menos frequentes incluem a participação de machos de Tenthredinidae (STOUTAMIRE, 1983) e de machos de Fomicidae (PEAKALL *et al.* 1987; PEAKALL 1989).

A polinização por pseudocópula envolve, principalmente, machos de himenópteros aculeados que, geralmente, emergem antes de suas fêmeas, e orquídeas que florescem quando a competição dos machos está em seu máximo, antes da emergência das fêmeas (NILSSON 1992).

Embora mediadores químicos sejam os agentes determinantes dessa interação (BORG-KARLSON 1990), estímulos táteis e visuais também podem estar envolvidos no processo. Isto é admitido porque os labelos chegam a apresentar uma congruência expressiva entre o padrão de organização de seu indumento e o padrão de organização de cerdas do abdômen das fêmeas das espécies em questão (AGREN *et al.* 1984).

As pesquisas em etologia e eletrofisiologia em insetos

A Interação com Machos de Euglossini

O papel dos voláteis coletados por machos de abelhas, da tribo Euglossini (Apidae) em sua biologia, ainda se mantém obscuro. A idéia de que tais moléculas pudessem atuar diretamente como feromônios sexuais não se sustentou, porque as respectivas fêmeas não eram atraídas para as espécies visitadas pelos machos, nem para nenhuma das combinações realizadas entre seus perfumes (DRESSLER 1982).

Um outro fato curioso é que esses machos não sofrem mortalidade, ou migração ou qualquer outro tipo de pressão pela falta dos perfumes, quando as espécies que os produzem não estão em flor (ACKERMAN 1983), apesar da polinização por machos de abelhas coletoras de perfume apresentar uma elevada restrição quanto à especificidade (NILSSON 1992). Em função desta especificidade, mutações que provo-

quem a produção diferenciada de compostos críticos para a seleção de visitantes abrem espaço para uma diferenciação simpátrica entre orquídeas nas quais um único tipo químico pudesse ser capaz de atrair uma nova espécie de visitante (WILLIAMS & WHITTEN 1983).

A territorialidade do *display* sexual de machos de *Euglossa imperialis* foi estimulada pela facilidade de acesso a perfumes florais (SHEMSKE & LANDE 1984), embora uma fração relativamente pequena dessas abelhas foi coletada portando polinários de orquídeas (ROUBIK & ACKERMAN 1987).

Um estudo sobre a preferência de machos de Euglossini revelou que indivíduos de 2 regiões geográficas diferentes podem sobrepor sua escolha, quanto à constituição química do *bouquet* produzido. As variações geográficas intra-específicas dessa preferência ocorreu em 7 das 11 espécies comuns às duas áreas. Ocorreram variações sazonais em 16 das 21 espécies de abelhas e, em uma delas, houve indícios de mudança de preferência em decorrência da idade. O grau em que as fragrâncias naturais disponíveis e as diferenças genéticas entre indivíduos afetam a relação escolha/preferência das abelhas não puderam, contudo, ser melhor esclarecidas (ACKERMAN 1989).

Restaria a possibilidade de que os voláteis coletados pudessem ser biotransformados e, desta maneira, atuar como feromônios. Por outro lado, evidências ainda duvidosas indicam que alguns desses machos utilizam esses perfumes, quimicamente inalterados, para agregar machos coespecíficos para um território comum de acasalamento. Faltam experimentos com marcação radioativa dos componentes dos perfumes para uma resposta mais conclusiva sobre o assunto (DRESSLER 1982).

A Interação de Pseudocópula

Este talvez seja o mais insipiente campo de investigação relacionado aos osmóforos. De uma maneira geral, a resposta desses machos ao estímulo floral, na interação de pseudo-cópula, caracteriza-se por ser dependente da frequência de plantas, promovendo a fecundação cruzada, ao mesmo tempo em que pressiona para a seleção de um certo grau de variabilidade de características florais (NILSSON 1992).

Como os mediadores químicos da pseudocópula são voláteis miméticos de feromônios sexuais, este tipo de polinização assume um elevado grau de especialização, com uma estreita relação espécie-específica entre as orquídeas e os machos envolvidos. Tanto assim que cada espécie de orquídea é polinizada por um único, ou então, um grupo bastante reduzido de diferentes *taxa* (DAFNI & BERNHARDT 1990; PAULUS & GACK 1990)

Estudos de campo utilizando iscas de veludo embebidas com o extrato hexânico do labelo de *Ophrys tenthredinifera* foram usadas como ensaio biológico para estudos comportamentais em machos de *Eucera nigrilabris*. Os resultados demonstraram que tais respostas eram inicial e predominantemente mediadas por estímulos químicos (KÜLLENBERG, BORG-KARLSON & KÜLLENBERG 1984).

Ainda em *Ophrys*, álcoois mono- e diidroxílicos alifáticos e terpenos são os grupos de compostos fundamentais para a atração que induzem nos machos a expressão de seu comportamento sexual, caracterizado por uma agitação de deslocamentos, exposição da genitália antes do pouso na flor e movimentos pré-copulatórios. Apesar do mimetismo químico, as fêmeas virgens ainda são mais atraentes e a ejaculação dos machos não chega a ocorrer nas flores, evitando a exaustão sexual dos machos e a perda de esperma (BORG-KARLSON 1990).

Ocorre habituação dos machos às flores, assim como ocorre em relação às respectivas fêmeas durante a cópula. Isto modula a capacidade deles responderem a flores já visitadas, inclusive a flores de uma mesma planta. Este fato força os machos a procurarem, continuamente, flores ainda não visitadas, como também a procurarem, continuamente, fêmeas virgens após a sua eclosão (NILSSON 1992).

Em outros casos, como na polinização de *Drakaea* (Orchidaceae), a maioria dos machos da espécie de Tiphiidae (Vespoidea) chegam a abandonar a área após uma visita, sem repetir nenhuma outra visita no local num dado intervalo de tempo, caracterizando assim, um período refratário. Este tipo de resposta foi acompanhada do registro de um fluxo polínico cobrindo uma distância média de 32m dentro da

população sendo que deslocamentos de até 132m foram assinalados. Considerando que o macho desta vespa mede cerca de 1,5cm, essas distâncias tornam-se surpreendentes (PEAKALL 1990).

Há ainda uma outra referência que faz menção ao uso de experimentos em eletrofisiologia para quantificação de respostas em machos de *Argogorytes* (Sphecidae: Hymenoptera), um gênero de vespa. Através da introdução de eletrodos em sensilas olfatórias nas antenas dessas vespas, o extrato do labelo de *Ophrys insectifera* foi testado, fração por fração, sendo as respostas quantificadas pelas diferenças de potencial elétrico produzidas nas sensilas (ÁGREN & BORG-KARLSON 1984).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As investigações envolvendo osmóforos, realizadas até o momento, apresentam mais um caráter inicial, devido à fragmentação, do que expressam o fruto da atividade contínua de pesquisa.

As lacunas de informação que persistem no campo da anatomia desta estrutura secretora não têm viabilizado avaliações importantes, até mesmo ao nível conceitual. Quando, por exemplo, Vogel (1963) descreveu tricomas odoríferos no gênero *Phragmopedilium* (Orchidaceae), caberia avaliar a possibilidade de estabelecer um paralelo entre osmóforos e nectários, uma vez que estes últimos também podem ser tricomácios ou epidérmicos.

Se este paralelo pudesse ser estabelecido, seria importante verificar também se, da mesma forma que os nectários podem ser estruturados e não estruturados, as demais formas localizadas de emissão de odor (campos ou guias) bem como os verticilos que apresentam uma emissão do tipo difusa, também não poderiam representar tipos não estruturados de osmóforos.

Não parece que as tendências até agora identificadas encerrem toda a gama de possibilidades de pesquisa em osmóforos. Ainda há iniciativas em cada uma delas, isoladas entre si e, por isto, dificultando o estabelecimento de uma correlação entre voláteis florais, polinização e osmóforos.

KNUDSEN & TOLLSTEN (1993), por exemplo, ao fazerem uma relação da composição química da fração volátil de 15 espécies, distribuídas entre 9 famílias vegetais que são polinizadas por mariposas, apresentam informações sobre o perfil químico, mas não se propuseram a fazer o respectivo enfoque estrutural, o que não permite garantir que sejam os osmóforos as estruturas responsáveis pela secreção.

Um outro exemplo disso consiste num estudo sobre a variação da fragrância floral em *Epidendrum ciliare* (Orchidaceae), relacionada especulativamente com o processo de polinização (MOYA & ACKERMAN 1993). O trabalho não se propôs a evidenciar que osmóforos fossem as estruturas responsáveis pela secreção nessa espécie e essa lacuna permanece. Mas como eles foram encontrados em outras três espécies desse gênero (STERN *et al.* 1986), apesar disso não representar uma garantia incontestável de que eles estejam presentes em *E. ciliare*, não se pode descartar tal possibilidade.

Neste e em todos os casos similares, assim como todos os estudos que envolvam a ecologia de polinização, nos quais a mediação química da interação possa envolver substâncias voláteis, quando não se propuseram a investigar a estrutura envolvida na produção de odor, não viabilizam a correlação com os osmóforos.

Por isto, apesar de fragmentado, os temas até agora abordados são, sem dúvida, muito empolgantes. As particularidades estruturais, a química dos voláteis e sua biossíntese nos osmóforos ou ainda, os envolvimentos ecológicos que essa estrutura secretora assume, não só quanto aos serviços de polinização, mas também pela gama de respostas etológicas que induzem, ainda demandam pesquisas, sobretudo, porque estão longe de ser esgotados os estudos sobre elas.

AGRADECIMENTOS

Aos professores, Dra. Marília de Moraes Castro (UNICAMP), Cláudio Müller (UEL) e Milene de Faria Vieira (UFV), e à Simone de Pádua Teixeira pela leitura crítica e sugestões ao manuscrito. À CAPES pela concessão da bolsa de doutorado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMAN, J.D. 1983. Specificity and mutual dependency of the orchid-euglossine bee interaction. *Biol. J. Linn. Soc.*, **20**: 301-313.
- ACKERMAN, J.D. 1989. Geographic and seasonal variation in fragrance choices and preferences of male euglossine bees. *Biotropica*, **21**: 340-347.
- ÅGREN, L. & BORG-KARLSON, A.K. 1984. Responses of *Argogorytes* (Hymenoptera: Sphecidae) males to odor signals from *Ophrys insectifera* (Orchidaceae); preliminary EAG and chemical investigation. *Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis, ser. V: C, 3*: 111-117.
- ÅGREN, L., KÜLLENBERG, B. & SENSENBAUGH, T. 1984. Congruencies in pilosity between three species of *Ophrys* (Orchidaceae) and hymenopteran pollinators. *Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis, ser. V: C, 3*: 15-25.
- ARMBRUSTER, W.S. 1993. Evolution of plant pollination systems: hypotheses and tests with the neotropical vine *Dalechampia*. *Evolution*, **47**: 1480-1505.
- ARMBRUSTER, W.S. 1994. Early evolution of *Dalechampia* (Euphorbiaceae): insights from phylogeny, biogeography, and comparative ecology. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, **81**: 302-316.
- ARMBRUSTER, W.S. & WEBSTER, G.L. 1979. Pollination of two species of *Dalechampia* (Euphorbiaceae) in Mexico by euglossine bees. *Biotropica*, **11**: 278-283.
- BORG-KARLSON, A.K. 1990. Chemical and ethological studies of pollination in the genus *Ophrys*. *Phytochemistry*, **29**: 1359-1387.
- BUCHMANN, S.L.; JONES, C.E. & COLLIN, L.J. 1977. Vibratile pollination of *Solanum gouglasii* and *S. xanti* (Solanaceae) in southern California. *Wasmann J. Biol.*, **35**: 1-25.
- CURRY, K.J. 1987. Initiation of terpenoid synthesis in osmophores of *Stanhopea anfracta* (Orchidaceae); a cytochemical study. *Amer. J. Bot.* **74**: 1332-1338.
- CURRY, K.J.; McDOWELL, L.M.; JUDD, W. S. & STERN, W.L. 1991. Osmophores, floral features, and systematics of *Stanhopea* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.*, **78**: 610-623.
- CURRY, K.J.; STERN, W.L. & McDOWELL, L.M. 1988. Osmophore development in *Stanhopea anfracta* and *S. pulla* (Orchidaceae). *Lincleyana*, **3**: 212-220.
- DAFNI, A. & BERNHARDT, P. 1990. Pollination of terrestrial orchids in southern Australia and the Mediterranean region; systematic, ecological, and evolutionary implications. *Evol. Biol.*, **24**: 193-252.
- DOBSON, H.E.M. 1988. Survey of pollen and pollenkitt lipids - chemical cues to flower visitors? *Amer. J. Bot.*, **75**: 170-180.
- DRESSLER, R.L. 1979. *Eulaema bombiformis*, *E. meriana*, and müllerian mimicry in related species (Hymen.: Apidae). *Biotropica*, **11**: 144-151.
- DRESSLER, R.L. 1982. Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, **13**: 373-394.
- DUSENBERY, D.B. 1992. *Sensory ecology; how organisms acquire and respond to information* New York, W.R. Freeman.
- ELTHON, E.T. & McINTOSH, L. 1987. Identification of the alternative terminal oxidase of higher plant mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **84**: 8399-8403.
- ELTHON, E.T.; NICKELS, R. & McINTOSH, L. 1989. Mitochondrial events during development of thermogenesis in *Sauromatum guttatum* (Schott). *Planta*, **180**: 82-89.
- GERLACH, G. & SCHILL, R. 1989. Fragrance analysis and aid to taxonomic relationships of the genus *Coryanthes*. *Pl. Syst. Evol.*, **168**: 159-165.
- GERLACH, G. & SCHILL, R. 1991. Composition of orchid scents attracting euglossine bees. *Bot. Acta*, **104**: 379-391.
- HARBORNE, J.B. 1994. *Introduction to ecological biochemistry*. London, Academic Press.
- KAISER, R. 1993. *The scent of orchids: olfactory and chemical investigations*. Amsterdam, Elsevier: Basel, Editiones Roche.
- KNUDSEN, J.T. & TOLLSTEN, L. 1993. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. *Bot. J. Linn. Soc.*, **113**: 263-284.
- KNUDSEN, J.T.; TOLLSTEN, L. & BERGSTRÖM, L.G. 1993. Floral scents: a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques. *Phytochemistry*, **39**: 253-280.
- KÜLLENBERG, B. & BERGSTRÖM, L.G. 1976. The pollination of *Ophrys* orchids. *Bot. Not.*, **129**: 11-19.
- KÜLLENBERG, B. BORG-KARLSON, A.K. & KÜLLENBERG, A.L. 1984. Field studies on the behaviour of the *Eucera nigrilabris* male in the odour flow from flower labellum of *Ophrys tenthredinifera*. *Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis, ser. V: C, 3*: 79-110.

- KÜLLENBERG, B.; BÜEL, H. & TKALCU, B. 1984. Übersicht von Beobachtungen über Besuche von *Eucera*- und *Tetralonta*-Männchen auf *Ophrys*-Blüten (Orchidaceae). *Nova Acta Reg. Soc. Sci Upsaliensis, ser. V: C*, 3: 27-40.
- MASCARENHAS, J.P. 1975. The biochemistry of angiosperm pollen development. *The Bot. Rev.*, 41: 259-314.
- MEEUSE, B.J.D. 1975. Thermogenic respiration in aroids. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 26: 117-126.
- MEEUSE, B.J.D. 1978. The physiology of some sapromyophilous flowers. In: RICHARDS, A.J. (ed). *The pollination of flowers by insects*. London, Academic Press. p. 99-104.
- MEEUSE, B.J.D. & RASKIN, I. 1988. Sexual reproduction in the *Arum* family, with emphasis on thermogenicity. *Sex. Plant. Reprod.*, 1: 3-15.
- MEEUSE, B.J.D.; SCHNEIDER, E.L.; HESS, C.M.; KERKWOOD, K. & PATT, J.M. 1984. Activation and possible role of "food-bodies" of *Sauromatum guttatum* (Araceae) *Acta Bot. Neer.*, 33: 483-496.
- MOYA, S. & ACKERMAN, J.D. 1993. Variation in the floral fragrance of *Epidendrum ciliare* (Orchidaceae). *Nord. J. Bot.*, 13: 41-47.
- NILSSON, L.A. 1992. Orchid pollination biology. *Trends Ecol. Evol.*, 7: 255-259.
- ORMOND, W.T; PINHEIRO, M.C.B & CASTELLS, A.R.C. de. 1981. A contribution to the floral biology and reproductive system of *Couroupita guianensis* Aubl. (Lecythidaceae). *Ann Missouri Bot. Gard.*, 68: 514-523.
- ORMOND, W.T; PINHEIRO, M.C.B & CASTELLS, A.R.C. de. 1982. Contribution to biology study of *Couroupita guianensis* Aubl. (Lecythidaceae) - osmophores. *Boletim do Museu Nacional - n.s.*, 65: 1-7.
- PAULUS, H.F. & GACK, C. 1990. Pollinators as prepollinating isolation factors: evolution and speciation in *Ophrys* (Orchidaceae). *Isr. J. Bot.*, 39: 43-79
- PEAKALL, R. 1989. The unique pollination of *Leporella finbriata* (Orchidaceae): pollination by pseudocopulating male ants *Myrmecia urens* (Formicidae). *Pl. Syst. Evol.*, 167: 137-148
- PEAKALL, R. 1990. Responses of male *Zaspilothynnus trilobatus* Turner to females and the sexually deceptive orchid it pollinates. *Funct. Ecol.*, 4: 159-167.
- PEAKALL, R.; BEATTIE, A.J. & JAMES, S.H. 1987. **Pseudocopulation of an orchid by male ants: a test of two hypotheses accounting for the rarity of an ant pollination.** *Oecologia*, 73: 522-524.
- PRIDGEON, A.M. & STERN, W.L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.*, 70: 1233-1243.
- PRIDGEON, A.M. & STERN, W.L. 1985. Osmophores of *Scaphosepalum* (Orchidaceae). *Bot Gaz.*, 146: 115-123.
- RASKIN, I.; EHMANN, A.; MELANDER, W.R. & MEEUSE, B.J.D. 1987. Salicylic acid: a natural inducer of heath production in Arum lilies. *Science*, 237: 1601-1602.
- RASKIN, I.; SKUBATZ, H.; TANG, W.; & MEEUSE, B.J.D. 1990. Salicylic acid level in thermogenic and non-thermogenic plants. *Ann. Bot.*, 66: 369-373.
- ROUBIK, D.W. 1989. **Ecology and natural history of tropical bees.** New York, Cambridge University Press.
- ROUBIK, D.W. 1992. Loose niches in tropical communities; why are there so few bees and so many trees. In: HUNTER, M.D.; OHGUSHI, P. & PRICE, P.W. (ed). **Effects of resource distribution on animal-plant interactions.** San.Diego, Academic Press. p. 327-354.
- ROUBIK, D.W. & ACKERMAN, J.D. 1987. Long-term ecology of euglossine orchid bees (Apidae:Euglossini) in Panama. *Oecologia*, 73: 321-333.
- SAZIMÁ, M.; VOGEL, S. COCUCCHI, A. & HAUSNER, G. 1993. The perfume flowers of *Cyphomandra* (Solanaceae): Pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores, and volatiles. *Pl. Syst. Evol.*, 187: 51-88.
- SHEMSKE, D.W. & LANDE, R. 1984. Fragrance collection and territorial display by male orchid bees. *Anim. Behav.*, 32: 935-937.
- SCHNEIDER, E.L. & BUCHANAN, J.D. 1980. Morphological studies of the Nymphaeaceae. XI. the floral biology of *Nelumbo pentapetala*. *Amer. J. Bot.*, 67: 182-193.
- SCHNEIDER, E.L. 1976. The floral anatomy of *Victoria Schomb.* (Nymphaeaceae). *Bot. J. Linn. Soc.*, 72: 115-148.
- SIMPSON, B.B. & NEFF, J.L. 1983. Evolution and diversity of floral rewards. In: JONES, C.E. & LITTLE, R.J. (ed). **Handbook of experimental pollination biology.** New York, Van Nos Reinhold. p. 142-159.
- SKUBATZ, H.; NELSON, T.A.; DONG, A.M.; MEEUSE, B.J.D. & BENDICH, A.J. 1990a. Infrared thermography of *Arum* lily inflorescences. *Planta*, 182: 432-436.

- SKUBATZ, H.; WILLIAMSON, P.S.; SCHNEIDER, E.L. & MEEUSE, B.J.D. 1990b. Cyanide-insensitive respiration in thermogenic flowers of *Victoria* and *Nelumbo*. **J. Exper. Bot.**, **41**: 1335-1339.
- SKUBATZ, H.; NELSON, T.A.; MEEUSE, B.J.D. & BENDICH, A.J. 1991. Heat production in voodoo lily (*Sauromatum guttatum*) as monitored by infrared thermography. **Plant Physiol.**, **95**: 1084-1088.
- SOARES, A.A.; CAMPOS, O. de; VIEIRA, M.F. & MELO, G.R. de. 1989. Relações entre *Euglossa (Euglossela) mandibularis* Friese 1899 (Hymen., Apidae, Euglossini) e *Cyphomandra calycina* (Solanaceae). **Ciênc. Cult.**, **41**: 903-905.
- STPICZYNSKA, M. 1993. Anatomy and ultrastructure of osmophores of *Cymbidium tracyanum* Rolfe (Orchidaceae). **Acta Soc. Bot. Poloniae**, **62**: 5-9.
- STEINER, K.E.; WHITEHEAD, V.B. & JOHNSON, S.D. 1994. Floral and pollinator divergence in two sexually deceptive south african orchids. **Amer. J. Bot.**, **81**: 185-194.
- STERN, W.L.; CURRY, K.I. & WHITTEN, W.M. 1986. Staining fragrance glands in orchid flowers. **Bull. Torrey Bot. Club.**, **113**: 288-297.
- STERN, W.L.; CURRY, K.I. & PRIDGEON, A.M. 1987. Osmophores of *Stanhopea* (Orchidaceae). **Amer. J. Bot.**, **74**: 1323-1331.
- STOUTAMIRE, W.P. 1983. Wasp-pollinated species of *Caladenia* in south-western Australian. **Aust. J. Bot.**, **31**: 383-394.
- SVENDSEN, A.B. & SCHEFFER, J.J.C. 1985. **Essential oils and aromatic plants**. Dordrecht, Martinus Nijhof/Dr. W. Junk Publishers.
- VALLA, J.J. & CIRINO, D.R. 1972. Biologia floral del irupé, *Victoria cruziana* d'Orb. **Darwiniana**, **17**: 477-498.
- VOGEL, S. 1963. Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung; über Bau und Funktion der Osmophoren. **Abh. Akad. Wiss. Lit. Mainz, Math.-Naturwiss., Kl. 10**: 1-165.
- VOGEL, S. 1983. Ecophysiology of zoophilic pollination. In: LANGE, O.L.; NOBEL, P.S.; OSMOND, C.B. & ZIEGLER, H. (ed). **Physiological plant ecology III**. Berlin, Springer Verlag. p. 559-624. (Encyclopedia of Plant Physiology. New ser., v. 12c).
- VOGEL, S. 1990. **The role of scent glands in pollination**; on the structure and function of osmophores. Washington, Smithsonian Institution: New Deli Amerind. Publ. Comp. (Translated by S.S. Renner).
- WALKER, D.B.; GYSI, J.; STERNBERG, L. & DeNIRO, M.J. 1983. Direct respiration of lipids during heat production in the inflorescence of *Philodendron sellowm*. **Science**, **220**: 419-421.
- WARNCKE, K. & KÜLLENBERG, B. 1984. Übersicht von Beobachtungen über Besuche von *Andrena*- und *Colletes*-Männchen auf Ophrys-Blüten (Orchidaceae). **Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis, ser. V- C**, **3**: 41-55.
- WILLIAMS, N.H. 1983. Floral fragrances as cues in animal behavior. In: JONES, C.E. & LITTLE, R.J. (ed). **Handbook of experimental pollination biology**. New York, Van Nostrand Reinhold. p. 50-72.
- WILLIAMS, N.H. & DRESSLER, R.L. 1976. Euglossine pollination of *Spathiphyllum* (Araceae). **Selbyana**, **1**: 349-356.
- WILLIAMS, N.H. & WHITTEN, W.M. 1983. Orchid floral fragrances and male euglossine bees; methods and advances in the last sesquidecade. **Biol. Bull.**, **164**: 355-395.
- YAFUSO, M. 1993. Thermogenesis of *Alocasia odora* (Araceae) and the role of *Calocasiomyia* flies (Diptera: Drosophilidae) as cross posters. **Environ. Entomol.**, **22**: 601-606.
- YOUNG, H.J. 1986. Beetle pollination of *Diffenbachia longispatha* (Araceae). **Amer.**

Recebido para publicação em 27/11/95.