

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

NAYARA SILVA LINS DE ALBUQUERQUE

EFICIÊNCIA DOS POLINIZADORES DE *Sarcoglottis grandiflora*
(ORCHIDACEAE) GARANTEM ALTO SUCESSO REPRODUTIVO EM
ÁREAS FRAGMENTADAS DE MATA ATLÂNTICA

RECIFE- PE

2017

NAYARA SILVA LINS DE ALBUQUERQUE

**EFICIÊNCIA DOS POLINIZADORES DE *Sarcoglottis grandiflora*
(ORCHIDACEAE) GARANTEM ALTO SUCESSO REPRODUTIVO EM
ÁREAS FRAGMENTADAS DE MATA ATLÂNTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Área de Concentração Ecologia e Conservação, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Isabel Cristina Sobreira Machado

Co-orientadora: Profa. Dra. Denise Dias da Cruz

RECIFE - PE

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Albuquerque, Nayara Silva Lins de

Eficiência dos polinizadores de *Sarcoglottis grandiflora* (Orchidaceae) garantem alto sucesso reprodutivo em áreas fragmentadas de Mata atlântica / Nayara Silvas Lins de Albuquerque. – 2017.

50 f. : il.

Orientadora: Isabel Cristina Sobreira Machado.

Coorientadora: Denise Dias da Cruz.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia vegetal, Recife, 2017.

Inclui referências e anexos.

1. Fertilização de plantas 2. Polinização por insetos 3. Orquídea 4. Mata atlântica I. Machado, Isabel Cristina Sobreira (orientadora) II. Cruz, Denise Dias da (coorientadora) III. Título.

571.8642

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 - 069

NAYARA SILVA LINS DE ALBUQUERQUE

**EFICIÊNCIA DOS POLINIZADORES DE *Sarcoglottis grandiflora*
(ORCHIDACEAE) GARANTEM ALTO SUCESSO REPRODUTIVO EM
ÁREAS FRAGMENTADAS DE MATA ATLÂNTICA**

APROVADA EM: 23 de Fevereiro de 2017

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Área de Concentração Ecologia e Conservação, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profa. Dra. Isabel Cristina Machado (Orientador) – UFPE

Prof. Dr. André Rodrigo Rech – UFVJM

Profa. Dra. Emília Cristina Arruda – UFPE

Em memória da minha avó, Maria
Alves, com quem aprendi a admirar a
beleza das flores.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha família por todo apoio e suporte na realização desse trabalho. À minha mãe, Selma, por todo amor e dedicação e incentivo na realização de todos os meus sonhos. Às minhas irmãs e cunhados, em especial a minha irmã, Joany, e meu cunha, Sidclei, pelo apoio, por terem me acolhido em sua casa durante esses dois anos.

Às minhas orientadoras, Isabel Machado e Denise Cruz. À professora Isabel pela oportunidade da realização de um sonho de participar de sua equipe de pesquisa. À professora Denise pelos primeiros ensinamentos de biologia da polinização e por toda atenção nas longas discussões.

À equipe do Laboratório de Ecologia Química da UFPE, principalmente, ao Paulo Milet pela ajuda em campo e em experimentos, por toda atenção e paciência no ensinamento das técnicas de ecologia química.

Ao professor Celso Martins, da UFPB, pelo auxílio e discussões sobre metodologias no estudo das Euglossini.

Aos meus colegas do Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva (Polinizar), em especial ao Arthur Domingos, Sinzinando Albuquerque, Camila Miranda, Márcia Emmanuele e Ana Carolina Costa, por toda ajuda nas coletas de dados e discussões para a realização desse trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Ecologia Terrestre, pela ajuda em campo, em especial à Flávia Tamires pela companhia nas longas horas de coleta.

Aos meus amigos de graduação, Emille Natane e Jean Miguel, pela ajuda na montagem de experimentos e discussões na realização desse trabalho.

Às minhas colegas, Georgiana Pimentel e Aécia Cordeiro, pela parceria no início dos estudos de biologia da polinização de espécies da família Orchidaceae.

À minha amiga, Deisy Flor, por toda ajuda em campo e companhia em todos os momentos de descontração ao longo desses dois anos de trabalho.

Aos meus colegas de turma, Maryana Dias, Eline Tainá, Gesica Souza e Maria Reis por todo apoio e ensinamentos na trajetória da realização dessa dissertação.

RESUMO

Orchidaceae é uma das maiores famílias de angiospermas, que engloba espécies polinizadas por diversos grupos de polinizadores. As abelhas da tribo Euglossini, são chamadas das “abelhas das orquídeas”, devido à grande quantidade de espécies que são polinizadas por elas, entre essas espécies estão as do gênero *Sarcoglottis*. O objetivo deste trabalho foi investigar a biologia floral e reprodutiva de *Sarcoglottis grandiflora*, enfatizando o papel de odores na atração dos polinizadores e também avaliar o efeito da fragmentação na interação planta-polinizador em três áreas de diferentes tamanhos de Mata Atlântica do estado da Paraíba. *Sarcoglottis grandiflora* é autocompatível (Índice de incompatibilidade= 1), mas que precisa de um vetor para promover a polinização, pois espontaneamente a formação de frutos é muito baixa (11,66%, n=60), quando comparada a polinização natural nas áreas de estudos, que foi de 77,47% (n=333). Ela é polinizada por duas espécies de abelhas Euglossini, *Eulaema atleticana* e *E. bombiformis*. O néctar é produzido em pequena quantidade ($3,33 \pm 1,16$ µl por flor), e alta concentração ($38,86 \pm 10,93$ % por flor), característico de espécies polinizadas por abelhas. O odor possui compostos simples, como Nerol e Geraniol. Esses compostos geraram despolarização das antenas dos polinizadores que foram atraídos nos biotestes. A maior frequência de visita dos polinizadores ocorreu pela manhã, coincidindo com o horário de maior emissão do odor floral de *S. grandiflora* ($F_{2,22} = 24,565$; $p < 0,001$). O sucesso reprodutivo dependeu da frequência da espécie polinizadora mais eficiente, *Eulaema atleticana*, pois em áreas com menor frequência desse polinizador a formação de frutos também foi menor ($H = 8,174$; $df=2$; $p=0,016$). Portanto, *S. grandiflora* mostra grande especificidade e dependência de seu principal polinizador, *Eulaema atleticana*.

Palavras-chave: Abelhas das orquídeas. Perfume floral. Biologia da polinização.

ABSTRACT

Orchidaceae is one of the largest family of angiosperms. Several groups, like Euglossine bee, called 'orchid bees', pollinate orchid flowers. *Sarcoglottis* is a Orchidaceae genus pollinated by orchid bees. This work was aimed to understand the floral and reproductive biology of floral and reproductive biology of *Sarcoglottis grandiflora*, evidencing the role of scent in the attraction of pollinator and the effects of fragmentation on plant-pollinator interaction in three Mata Atlântica fragments of different sizes. *Sarcoglottis grandiflora* is self-compatible, (incompatibility index: 1.003), but requires a vector to provide pollination, since spontaneously the spontaneous fruit set was very low (11.66%, n = 60), compared to the natural fruit set reproductive success in the study areas (77.479%, n = 333). Two species of bees were observed visiting the flowers of *Sarcoglottis*: *Eulaema atleticana* and *E. bombiformis*. The nectar is produced in small amounts ($3.33 \pm 1.16 \mu\text{l}$) and high concentration ($38.86 \pm 10.93 \%$), as it commonly happened in bee pollinated species. The odor has simple compounds, such as Nerol and Geraniol. This compounds triggered pollinator antennal depolarisation and attracted them during field bioassays. The highest frequency of pollinator visitation occurred in the morning, which coincides with the greatest odour emission time of the *S. grandiflora* ($F_{2, 22} = 24,565$, $p < 0.001$). The studied orchid reproductive success depends on the frequency of the most efficient pollinating species, *Eulaema atleticana*, since in study areas with lesser pollinator the frequency of fruit fruit set was lower ($H = 8.174$, $df = 2$, $p = 0.016$). Therefore, *S. grandiflora* shows a great specificity and dependency with its pollinator.

Key-words: Orchid bees. Floral scent. Pollination biology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - <i>Sarcoglottis grandiflora</i> . (A) Botões, (B) Flores, (C) Frutos imaturos e (D) Frutos maduros.....	24
FIGURA 2 - Sementes de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> com (A) embrião viável e com (B) embrião não desenvolvido, setas indicando os embriões.	29
FIGURA 3 - Número total de visitas (50 horas de observação) em flores de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> na Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia (DSE) da UFPB.....	31
FIGURA 4 - Visitantes e polinizadores de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> no Campus da Universidade Federal da Paraíba. (A) Polínea de <i>S. grandiflora</i> aderida ao labrum de <i>E. atleticana</i> (B) <i>Eulaema atleticana</i> . (C) <i>Eulaema bombiformis</i> com várias políneas na sua frente. (D) Borboleta da família Hesperíidae sem contatar estruturas sexuais da flor.....	32
FIGURA 5 - Microscopia de fluorescência de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> (Orchidaceae) (A) Grãos de pólen; (B) Tubos polínicos; (C) Óvulos no momento da fecundação, seta indica os óvulos.....	32
FIGURA 6 - Quantidade de odor (porcentagem média) emitida por flores de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> durante o período da manhã, tarde e noite (n=12 inflorescências, sendo 41 flores, para cada horário do dia).	34
FIGURA 7 - Análise de GC-EAD mostrando a sensibilidade aos compostos de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> , Nerol (1) e Geraniol (2).....	35
FIGURA 8 - Visitantes florais: (A) <i>Eulaema atleticana</i> com polínea de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> ; (B) <i>E. bombiformis</i> com políneas de espécie desconhecida; (C) e <i>E. atleticana</i> recapturada no fragmento do Jardim Botânico de João Pessoa, Paraíba, Brasil.....	36
FIGURA 9 - Fenologia de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> e frequência das abelhas, <i>Eulaema bombiformis</i> e <i>E. atleticana</i> em três áreas de estudo em área de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. (DSE= Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia; JB= Jardim Botânico Benjamim Maranhão; Rebio= Reserva Biológicas Guaribas).....	36

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Experimentos de polinização controlada em <i>Sarcoglottis grandiflora</i> , realizados em três fragmentos de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil.....	29
TABELA 2 - Número de frutos formados naturalmente em três populações de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> em área de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. (Rebio= Reserva Biológicas Guaribas; JB= Jardim Botânico Benjamim Maranhão; DSE= Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia).....	30
TABELA 3 - Taxa de remoção de políneas em três populações de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> em área de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. (Rebio= Reserva Biológica Guaribas; JB= Jardim Botânico Benjamim Maranhão; DSE= Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia).....	30
TABELA 4 - Quantidade relativa (média e desvio padrão) de compostos voláteis exalados pelas flores de <i>Sarcoglottis grandiflora</i> . A média foi retirada das amostras coletadas pela manhã (9:00h) (n=12 inflorescências). Os voláteis estão listados de acordo com a eluição em uma coluna de HP-5. KRI - Índice de retenção de Kovats.....	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 PROBLEMATIZAÇÃO	13
1.1.1 O papel do polinizador na família Orchidaceae	13
1.1.2 Recursos e atrativos florais em Orchidaceae	14
1.1.3 As “abelhas das orquídeas”	17
1.1.4 Euglossini e a fragmentação da Mata Atlântica	19
1.1.5 Características gerais e polinização de <i>Sarcoglottis</i> e <i>S. grandiflora</i>	20
1.2 OBJETIVOS	22
1.2.1 Objetivo geral.....	22
1.2.2 Objetivos específicos.....	22
1.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	22
1.3.1 Área de Estudo.....	22
1.3.2 Espécie em estudo	23
1.3.3 Sistema reprodutivo	24
1.3.4 Remoção e deposição de políneas X Visitantes florais	25
1.3.5 Recursos e atrativos florais.....	26
1.3.5.1 Volume e concentração de néctar	26
1.3.5.2 Análise química dos perfumes florais	26
1.3.5.3 Análises eletrofisiológicas	27
1.3.6 Floração e abundância dos polinizadores.....	28
2 ANÁLISE DOS RESULTADOS	29
2.1 Sistema reprodutivo	29
2.2 Remoção e deposição de políneas x Visitantes florais	30
2.3 Recursos e atrativos florais.....	33
2.3.1 Volume e concentração de néctar.....	33
2.3.2 Análise química, eletrofisiologia e ensaios em campo dos perfumes florais ..	33
2.4 Floração e abundância dos polinizadores	35
3 CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

É comum observar especificidade entre as espécies da família Orchidaceae e seus polinizadores (TREMBLAY, 1992), assim como mecanismos rebuscados envolvendo a transferência do pólen. Apesar de a maioria das orquídeas ser autocompatível (VAN DER PIJL; DODSON, 1966; NEILAND; WILCOCK, 1998), o que garante uma segurança reprodutiva no caso da ausência de um polinizador (CAETANO; CORTEZ, 2014). A polinização cruzada parece uma regra na família (VAN DER PIJL; DODSON, 1966), pois a presença do rostelo (parte do estigma que projeta-se para frente como um bico), em muitas orquídeas, impede a deposição da polínea na superfície estigmática sem o auxílio de um vetor (ARDITTI, 1992).

Abelhas da tribo Euglossini são conhecidas como “abelhas das orquídeas”, pois polinizam um grande número de espécies da família Orchidaceae (DRESSLER, 1981; ROUBIK; ACKERMAN, 1987). Geralmente existe uma sincronia da floração das orquídeas e o período de maior atividade das abelhas Euglossini (ACKERMAN, 1983), o que reforça a grande dependência de espécies de Orchidaceae polinizadas por elas. Na região neotropical, cerca de 600 espécies de orquídeas produzem fortes perfumes florais, ao invés de néctar ou pólen, como recompensa para seus polinizadores. Esses perfumes são coletados exclusivamente por machos de abelhas Euglossini que efetuam a polinização das plantas ao coletar os perfumes (DRESSLER et al., 1982; OLIVEIRA et al., 2005, CARVALHO; MACHADO, 2002; MILET-PINHEIRO et al., 2015), mostrando a grande especificidade dessas interações. Diferente das plantas, que dependem exclusivamente dos machos de Euglossini como polinizadores, as abelhas não dependem exclusivamente das orquídeas como fonte de perfume (ROUBIK; ACKERMAN, 1987; SINGER, 2004), já que os mesmos podem coletar perfumes de plantas de outras famílias (SAZIMA et al., 1993, CARVALHO; WEBBER, 2000) e também de outras fontes como folhas, resinas de cascas de árvores, fungos, entre outros (DRESSLER, 1982; RAMALHO et al., 2006; WILLIAMS; WHITTEN, 1983).

Estima-se que mais de 60 voláteis florais produzidos por orquídeas são conhecidos (HARBORNE, 1993). No entanto, esse número pode ser bem maior, como demonstra um trabalho recente, onde, em uma única espécie de orquídea, foram encontrados cerca de 100 compostos (MILET-PINHEIRO et al., 2015). Esses voláteis podem ser tanto o recurso procurado quanto atrativos florais (VARASSIN; AMARAL-NETO, 2014). No caso de

recursos, seu papel ainda é um tanto enigmático, apesar de estudos indicarem fortemente que os mesmos estão ligados de alguma forma ao comportamento reprodutivo dessas abelhas (WILLIAMS; WHITTEN, 1983). Como atrativos, eles indicam a presença da disponibilidade de recurso (ARGUE, 2012).

Sarcoglottis grandiflora (Lindl.) Klotzsch é uma espécie de Orchidaceae, que faz parte do grupo *Pelexia alliance*, o qual tem como característica as políneas com viscidíolos adesivos que se fixam no labrum de abelhas (SINGER; SAZIMA, 1999). Estudos envolvendo espécies do gênero e seus polinizadores mostram a interação com abelhas da tribo Euglossini (ROUBIK; ACKERMAN, 1987; SINGER; SAZIMA, 1999). Tanto a espécie de orquídea *S. grandiflora*, como as abelhas da tribo Euglossini ocorrem em áreas de Mata Atlântica (BARROS et al., 2009; SILVEIRA et al., 2002), a qual é considerada um “hot spot” mundial, pela grande biodiversidade, alto grau de endemismo e avançado grau de desmatamento (MYERS et al., 2000).

A fragmentação da Mata Atlântica reduz a área e a qualidade dos habitats para as abelhas Euglossini (NEMÉSIO, 2013) que, apesar de voarem longas distâncias (WIKELSKI et al., 2010) em áreas de mata contínua, podem ser afetadas por essa fragmentação (NEMÉSIO; SILVEIRA, 2006). A vulnerabilidade de um organismo à fragmentação depende da sua história de vida e características ecológicas (DEVIES et al., 2004). Algumas espécies de Euglossini, como *Eulaema bombiformis* Packard, 1869 e *El. atleticana* Nemésio, 2009, não deixam os fragmentos de mata, o que resulta em uma área de forrageio mais limitada (MILET-PINHEIRO; SCHLINDWEIN, 2005). Alternativamente, espécies como *El. nigrita*, são mais abundantes em áreas fragmentadas, sendo até mesmo consideradas como indicadores de áreas perturbadas (PERUQUETTI et al., 1999; NEMÉSIO; SILVEIRA, 2006). Os tamanhos dos fragmentos e as distâncias de conexão com outros fragmentos são importantes para garantir a sobrevivência dessas abelhas e das plantas que dependem delas para a polinização (POWELL; POWELL, 1987).

1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

1.1.1 O papel do polinizador na família Orchidaceae

Orchidaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas, com distribuição cosmopolita e aproximadamente 25.000 espécies (GOVARTES, 2003), das quais aproximadamente 2.500 estão distribuídas em 235 gêneros que ocorrem no Brasil (SOUZA; LORENZI, 2012). Apesar de muitas espécies de orquídeas serem autocompatíveis, a polinização cruzada parece ser uma regra na família (VAN DER PIJL; DODSON, 1966; EDENS-MEIR; BERNHARDT, 2014).

A dependência de polinizadores é predominante na família Orchidaceae, entretanto a reprodução assexuada pode acontecer em algumas espécies, com registros raros de apomixia (ARDITTI, 1992; CATLING; CATLING, 1991) e, mais frequentemente, autogamia (autofertilização) (NEILAND; WILCOCK, 1998). A apomixia é a reprodução assexuada, na qual ocorre a formação das sementes, com o desenvolvimento de embriões a partir de tecidos do óvulo, com omissão da meiose e da dupla fecundação (ARDITTI, 1992; KOLTUNOW; GROSSNIKLAUS, 2003). As espécies apomíticas de Orchidaceae podem ser obrigatórias ou mais frequentemente facultativas, mantendo também a capacidade de se reproduzir sexualmente (KOLTUNOW; GROSSNIKLAUS, 2003).

A reprodução assexuada é uma importante estratégia de segurança reprodutiva, pois espécies que se reproduzem dessa forma possuem grande capacidade de colonização e são independentes dos polinizadores (CAETANO; CORTEZ, 2014). Em contrapartida gerado uma menor variabilidade genética em comparação à reprodução sexuada, o que torna as populações menos hábeis a responder rapidamente a mudanças ambientais via seleção natural (LEVIN, 2012; CAETANO; CORTEZ, 2014).

Grande parte das espécies da família Orchidaceae é polinizada por apenas uma espécie de polinizador, mas também há registros, em proporção menor, de espécies polinizadas por mais de um polinizador (DRESSLER, 1968; TREMBLAY, 1992; SCHIESTL; SCHLÜTER, 2009; CARVALHO; MACHADO, 2006). Parece haver uma redução no número de polinizadores dos clados mais ancestrais em comparação as mais derivados da família Orchidaceae (TREMBLAY, 1992). A presença nas orquídeas das políneas, na qual toda carga

polínica pode ser carregada em uma única visita, faz com que a transferência do pólen através da deposição da polínea seja mais precisa (TREMBLAY, 1992). Ao mesmo tempo, no caso da presença de um visitante não eficiente, que só retire, mas não deposite as políneas, em apenas uma visita toda carga polínica de uma flor pode ser perdida (TREMBLAY, 1992).

Quando existem dois grupos de polinizadores para uma mesma espécie de planta, podemos classificá-los como polinizadores primários e secundários. Polinizador primário é aquele com maior frequência e maior eficiência na polinização em relação ao polinizador secundário e, na maioria das vezes, é aquele relacionado com a síndrome floral apresentada pela planta (ROSA-GUERRERO et al., 2014). No entanto não há um consenso do conceito de polinizador mais eficiente e uma série de fatores pode dificultar a sua identificação, como a capacidade da planta de reconhecer qual seria esse polinizador (GÓMEZ, 2002). Porém, ainda utilizando a definição do Rosa-Guerrero (2014), em ambientes que sofrem perturbações pela ação antrópica o polinizador secundário, pode ser o único a realizar a polinização cruzada, por conta da ausência do polinizador primário.

1.1.2 Recursos e atrativos florais em Orchidaceae

O néctar é o recurso floral mais produzido pelas plantas da família Orchidaceae para atrair polinizadores (VAN DER PIJL; DODSON, 1966, NEILAND; WILCOCK, 1998, PEDRON et al, 2012), embora existam outros recursos presentes nas espécies dessa família como perfumes (DODSON et al., 1969, CARVALHO; MACHADO, 2002, MILET-PINHEIRO et al. 2015), óleos (STEINER, 1989) e menos frequentemente o pólen (GREGG, 1991). Há também muitas espécies dessa família que são classificadas como apresentando flores de engodo, pois possuem estratégias para “enganar” o polinizador, que vem a procura do recurso, porém não o encontra, mas acaba promovendo a polinização cruzada (ACKERMAN, 1986, JERSÁKOVA et al., 2006).

Espécies de orquídeas que produzem néctar tem maior formação de frutos em comparação às espécies que não apresentam néctar (NEILAND; WILCOCK, 1998). A quantidade de néctar produzido influencia no comportamento do polinizador, determinando o número e a duração de cada visita em cada flor (JERSÁKOVA et al., 2008), uma vez que quando a flor possui muito néctar o polinizador passa mais tempo visitando as flores de uma

mesma planta, promovendo assim, possivelmente, a autopolinização (deposição de pólen na superfície estigmática da própria flor) e a geitonogamia (deposição de pólen na superfície estigmática de flores do mesmo indivíduo) (JERSÁKOVA; JOHNSON, 2006). A produção de néctar nas orquídeas parece ser uma estratégia que permite a redução da limitação do polinizador que possui baixa frequência de visitas (NEILAND; WILCOCK, 1998, SCHIESTL; SCHLÜTER, 2009).

Os diferentes grupos de polinizadores possuem preferências em relação à composição e a concentração de néctar das plantas que são visitadas por eles (HEINRICH, 1975;). A composição química do néctar pode ter a função de atração, como foi citado, mas também pode ter a função de proteção, como contra pilhadores e microorganismos que infectam o néctar (HEIL, 2011). Como compostos presentes no néctar para atração são conhecidos o acetato de benzila, açúcares e aminoácidos, e como compostos repelentes temos o catalpol, nectarina e gelsemine, que são compostos secundários (HEIL, 2011).

Para plantas polinizadas por aves, morcegos e borboletas a concentração do néctar é diluída (15 a 25% de açúcar), enquanto para plantas polinizadas por abelhas essa concentração pode chegar a 50% de açúcar (HEINRICH, 1975; GALETTO et al., 1997, NICOLSON et al., 2007). Espécies de orquídeas polinizadas por esfingídeos produzem volume em torno de 39 μ L e concentração 15,2%, enquanto que as polinizadas por aves, 6,3 μ L e 9,7% (MICHENEAU et al., 2009).

O perfume do néctar é importante para sinalizar a sua disponibilidade ao polinizador, testes de preferência dos polinizadores por néctar perfumado e não perfumado mostram que ocorre o “aprendizado” ao relacionar o cheiro com a disponibilidade do recurso (GIL; MARCO, 2005). Trabalhos realizados com borboletas e mariposas mostram que elas preferem flores artificiais contendo néctar perfumado a flores apenas com a solução de açúcar (WEISS, 2001). Testes com a espécie de abelha *Apis mellifera* mostram que elas evertem mais o glossa em resposta ao néctar perfumado comparado ao néctar não perfumado (GIL; MARCO, 2005).

Com a baixa frequência do polinizador das espécies de orquídeas muitas delas produzem flores que duram mais de um dia, e esse período prolongado de antese, para espécies que possuem néctar, acaba sendo bastante dispendioso energeticamente (ASHMAN; SCHOEN, 1997). Por isso, estratégias de reabsorção e que minimizem esse gasto energético são interessantes para essas espécies. Algumas plantas, no final da antese, produzem néctar menos viscoso e com menor concentração de açúcar (CRUDEN et al., 1983). Tendo em vista que os interesses das plantas e polinizadores são diferentes; enquanto a planta precisa garantir

a polinização de forma mais eficiente e com menor custo energético os polinizadores sofrem seleção para conseguir o máximo de recurso com o mínimo de esforço (HEIL, 2011).

Um terço das espécies da família Orchidaceae não produzem recompensas e mimetizam espécies que produzem recompensas florais, como néctar, para atrair polinizadores (JERSÁKOVA et al., 2006). A espécie *Disa ferruginea*, é um exemplo de engodo, pois apresenta coloração diferente dependendo da sua localização geográfica, mimetizando as espécies que produzem néctar e partilhando o mesmo polinizador, qual seja, a borboleta *Aeropetes tulbaghia* (NEWMAN et al., 2012).

O período da produção de voláteis florais pode estar relacionado com as interações com seus polinizadores (ARGUE, 2012). Os perfumes das flores de Orchidaceae são combinações de vários compostos, que pode atuar como sinalizadores a curta e a longa distância da presença de néctar (ARGUE, 2012). Podem também servir para “enganar”, quando imitam o odor da fêmea de uma espécie de vespa ou abelha, atraindo assim o macho, que vai em busca da cópula, mas acaba fazendo a polinização (HARBORNE, 1993), ou ainda, quando mimetizam o cheiro de alimentos em decomposição para a atração de moscas polinizadoras (LUNAU, 1992).

Outro exemplo interessante de mimetismo é a espécie de orquídea do gênero *Dracula*, que tem o labelo modificado parecido com o corpo de frutificação de fungos e produz um perfume floral com o mesmo composto emitido pelos fungos (POLICHA et al., 2016). Essa espécie é polinizada por moscas *Drosophila*, que se enganam com a semelhança da orquídea e os fungos e acaba promovendo a polinização (POLICHA, 2014). Testes de frequência simulando a combinação e a junção dos sinais visuais e olfativos mostram que a sinergia dos dois sinais são importantes para a atração das moscas (POLICHA et al., 2016).

As fragrâncias florais podem agir de duas maneiras, como atrativos ou como recursos florais (VARASSIN; AMARAL-NETO, 2014). Como atrativos eles indicam a disponibilidade de um recurso (VARASSIN; AMARAL-NETO, 2014), como nos exemplos citados acima. Como recursos, quando eles são coletados ativamente por machos de abelhas Euglossini, que são atraídos por voláteis florais muito similares aos feromônios liberados por essas abelhas (WILLIAMS; WHITTEN, 1983).

Muitos trabalhos mostram que a cor e o aroma têm importâncias equivalentes para influenciar a preferência do polinizador (GLOVER, 2011). Existe uma ligação entre a cor das flores e o perfume que elas emitem. Quando a espécie possui variação intraespecífica, possuindo morfotipos com flores de cores diferentes, os perfumes exalados por cada morfotipo têm composições diferentes de voláteis (FLAMINI et al., 2002). A mudança nessas

duas características está ligada ao compartilhamento de compostos químicos que influenciam as duas características (MAJETIC et al., 2007).

Os perfumes florais surgiram com diferentes funções, não só de atração de polinizadores, mas também com função de defesa contra herbívoros e contra estresses abióticos (KNUDSEN et al., 2006). Como são moléculas químicas responsáveis pela comunicação eles são chamados de semioquímicos (NORDLUND; LEWIS, 1976; KASINGER et al., 2008), e dependendo da interação entre o receptor e o emissor eles são classificados de diferentes formas, podendo agir como atrativos ou repelentes. Quando eles atuam na comunicação de indivíduos da mesma espécie são chamados de hormônios, quando atuam entre espécies diferentes são chamados de aleloquímicos, que são divididos em alomônios (favorecem a espécie emissora), cairomônios (favorecem a espécie receptora) e sinomônios (ambas são favorecidas) (WHITTAKER; FEENY, 1971; KASINGER et al., 2008).

Os compostos florais podem ser de diversos grupos como os derivados de ácidos graxos, terpenoides, benzenoides, e compostos nitrogenados ou sulfurados (DUDAREVA; PICHERSKY, 2006). Alguns compostos presentes em espécies de orquídeas possuem grande especificidade com o polinizador, como os compostos presentes em espécies dos gêneros *Catasetum*, *Bulbophyllum*, *Chiloglottis* e *Ophrys*, que são polinizadas por determinadas espécies de vespas e de abelhas (RAGUSO, 2008).

O sinal olfativo muitas vezes é descrito nos trabalhos de biologia da polinização pela percepção do sistema sensorial humano, como odor adocicado ou não agradável. No entanto os grupos de polinizadores possuem mecanismos diferentes de percepção dos cheiros (BRITO et al., 2014). Por isso é importante realizar estudos da biologia cognitiva dos grupos de polinizadores, ou seja, de como os polinizadores percebem aquele estímulo.

1.1.3 As “abelhas das orquídeas”

Os polinizadores mais comuns das plantas da família Orchidaceae são abelhas, borboletas, mariposas, moscas e beija-flores (VAN DER PIJL; DODSON, 1966), no entanto, pode-se dar destaque às abelhas da tribo Euglossini, que são conhecidas como as ‘abelhas das orquídeas’, tendo em vista o grande número de espécies da família Orchidaceae que são

polinizadas por essas abelhas (DRESSLER, 1981; ROUBIK; ACKERMAN, 1987; NEMÉSIO, 2009).

As abelhas Euglossini estão amplamente distribuídas na região tropical do continente americano, ocorrendo da região central da Argentina até o sul dos Estados Unidos (SILVEIRA et al., 2002) e são conhecidas por coletarem néctar, pólen, resina e aromas (OLIVEIRA et al., 2005). Existem 200 espécies de Euglossini (NEMÉSIO, 2009) que estão divididas em cinco gêneros: *Eulaema*, *Euglossa*, *Eufriesea*, *Exaerete* e *Aglae*, dos quais *Eulaema* e *Euglossa* são os mais associados às orquídeas (DODSON et al, 1969).

As plantas polinizadas por abelhas apresentam em geral flores com antese diurna, com cores que vão do violeta ao amarelo escuro, presença de guias de néctar, odor com cheiro agradável ao olfato humano, néctar escondido, além de pequena quantidade e alta concentração de açúcar no néctar (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979; RECH et al., 2014). Mais especificamente para o sistema de coleta de fragrância realizado por machos de abelhas Euglossini, o sistema de polinização foi denominado de androeuglossinofilia ou euglossinofilia (VAN DER PIJL; DODSON, 1966).

Em muitos casos, o pico de floração das Orchidaceae está relacionado com a atividade e abundância de abelhas Euglossini (ACKERMAN, 1983), evidenciando a grande especialização da relação entre esses dois grupos de organismos. Os machos dessa tribo de abelhas, muitas vezes, são os únicos polinizadores de espécies de orquídeas que possuem osmóforos (tecido ou parte de um órgão que tem a capacidade de produzir e apresentar substâncias voláteis). No entanto, as abelhas não parecem depender apenas das orquídeas (ROUBIK; ACKERMAN, 1987, SINGER, 2004).

As políneas podem se fixar em lugares diferentes do corpo das abelhas, como atrás da cabeça, atrás do tórax, sobre o início do tórax, na frente da cabeça e no abdômen (DRESSLER, 1968; SINGER, 2004). Por isso a mesma espécie de abelha pode carregar políneas de várias espécies de orquídeas diferentes (DRESSLER, 1968).

As fêmeas das Euglossini possuem rotas específicas de forrageamento, visitando as mesmas plantas floridas em sequência, no mesmo período do dia e por dias consecutivos, comportamento esse que é conhecido como *trapline* (OLIVEIRA et al., 2005). Os machos são *trapliners* ocasionais dependendo da disponibilidade de recursos (OLIVEIRA et al., 2005), enquanto as fêmeas são conhecidas por coletarem néctar e os machos são conhecidos por coletarem néctar e perfumes em espécies da família Orchidaceae (ARDITTI, 1992). É relatado que o “aprendizado” sobre a oferta de recurso em abelhas pode acontecer pela

trofalaxia, no qual o alimento, que contém perfumes, é regurgitado para outros indivíduos (GIL; DE MARCO, 2005).

A relação do odor produzido pelas orquídeas e as abelhas Euglossini é tão específica que uma pequena mudança na sua composição pode alterar qual espécie de abelha é atraída por determinada flor (DODSON et al., 1969), como é o caso da população de *Stanhopea tricornis* do Equador que possui combinações diferentes de compostos de voláteis em uma população da mesma espécie na Colômbia, atraindo diferentes espécies de abelha (DODSON et al., 1969).

A relação entre a atração de abelhas por odores é conhecida há muito tempo. Em 1983, Willams e Whitten listavam fragrâncias e sua relação com machos das abelhas Euglossini. Vários trabalhos utilizam iscas de odores para atração de abelhas da tribo, inclusive em fragmentos de Mata Atlântica da Paraíba, onde foi coletada uma grande quantidade de abelhas Euglossini (BEZERRA; MARTINS, 2001; SOUZA et al., 2005).

1.1.4 Euglossini e a fragmentação da Mata Atlântica

A Mata Atlântica merece destaque como área de ocorrência de orquídeas, sendo nela encontradas 1257 ca. 50% das espécies brasileiras (BARROS et al., 2009). A Mata Atlântica é um domínio fitogeográfico de grande biodiversidade, mas que sofreu grande redução da sua área (SOS MATA ATLÂNTICA, 2014). Devido à sua grande biodiversidade, endemismo e grau de impacto antrópico, ela é considerada um 'hot spot' mundial, sendo definida como área prioritária para conservação (MYERS et al., 2000).

Dois dos principais fragmentos de Mata Atlântica encontrados no estado da Paraíba são a Reserva Biológica Guaribas e o Jardim Botânico Benjamim Maranhão. A Rebio Guaribas é um fragmento de 3.378 ha e está em processo de regeneração natural, pois sofreu cortes para extração de madeira e de carvão, há aproximadamente 30 anos, e está rodeada por plantações de cana de açúcar (BRASIL, 2003). O Jardim Botânico possui 417 ha e está localizado na região metropolitana de João Pessoa, sendo cercado por comunidades habitacionais. Existem vários poços de água perfurados pelo Jardim Botânico, pois antes esta área era sede da rede de abastecimento da cidade de João Pessoa (BARBOSA, 1996). O Jardim Botânico Benjamim Maranhão, também conhecido como Mata do Buraquinho,

também foi cortado para a construção da BR-230 e do *Campus I* da Universidade Federal da Paraíba (BARBOSA, 1996). As duas áreas possuem espécies da família Orchidaceae (BARBOSA et al., 2011; ARAÚJO et al., 2009) e espécies das abelhas da tribo Euglossini (BEZERRA; MARTINS, 2001; SOUZA et al., 2005).

Vários estudos foram realizados mostrando o impacto da fragmentação para a abundância e diversidade de abelhas visitantes de orquídeas (TONHASCA et al., 2002; BROSI et al., 2008), e, possivelmente, a fragmentação leva a uma mudança na interação entre plantas e polinizadores. Logo, se a fragmentação altera a dispersão das abelhas, ocorrerá também uma redução na taxa de polinização (TONHASCA et al., 2002). Desse modo, a redução na presença de polinizadores acaba sendo uma força seletiva, afetando a aptidão dos indivíduos e pressionando a seleção de indivíduos capazes de se manter na área, mesmo sem ter sua reprodução sexuada garantida. Trabalhos demonstraram que a ausência de polinizadores pode favorecer a seleção ou o fortalecimento de estratégias reprodutivas independentes de polinizadores tais como a autopolinização (KALISZ et al., 2004).

As abelhas Euglossini são conhecidas por voarem grandes distâncias, mas algumas não são capazes de sair dos fragmentos de mata (MILET-PINHEIRO; SCHLINDWEIN, 2005). Estas espécies e as plantas visitadas por elas são as mais prejudicadas com a fragmentação de habitat (MILET-PINHEIRO; SCHLINDWEIN, 2005). Estudar a biologia reprodutiva e a interação entre polinizadores e as espécies de plantas que ocorrem no bioma da Mata Atlântica é de grande importância para entender os padrões de interações entre as espécies e viabilizar sua conservação.

1.1.5 Características gerais e polinização de *Sarcoglottis* e *S. grandiflora*

A espécie nativa *Sarcoglottis grandiflora* (Lindl.) Klotzsch é encontrada na Mata Atlântica, ela pertence à subfamília Orchidoideae (4704 spp.), tribo Cranichideae (1.643 spp.) (SALAZAR; INGROUILLE, 2003) e subtribo Spiranthinae (470 spp.). O gênero *Sarcoglottis* possui 41 espécies, com distribuição pela América Latina (TROPICOS.org, 2015). No Brasil, existe registro para *Sarcoglottis grandiflora* nas regiões Norte (Amazonas e Rondônia), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte), Centro-Oeste

(Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro) e Sul (Paraná e Santa Catarina) (BARROS et al., 2014).

Algumas observações preliminares indicam que essa espécie é autocompatível, com um alto percentual de frutos formados por agamospermia (CARVALHO, 2001). A reprodução assexuada é uma importante estratégia de segurança reprodutiva, pois espécies que se reproduzem dessa forma possuem grande capacidade de colonização e são independentes dos polinizadores (CAETANO; CORTEZ, 2014). Em contrapartida existe uma menor variabilidade genética em comparação à reprodução sexuada, o que torna as populações menos hábeis a responder rapidamente às mudanças ambientais via seleção natural (CAETANO; CORTEZ, 2014).

Em uma floresta estacional semi-decidual no Nordeste do Brasil, indivíduos de *Sarcoglottis grandiflora* foram observados recebendo vários visitantes florais (Hymenoptera, Lepidoptera e Trochilinae). Embora os três grupos de visitantes sejam comumente observados como polinizadores de orquídeas (DODSON et al., 1969; SCHIESTL; SCHLÜTER, 2009), nenhum deles foi identificado como polinizador efetivo (CARVALHO, 2001).

Existem registros de polinização para apenas outras duas espécies de *Sarcoglottis*. Singer e Sazima (1999), no sudeste do Brasil registraram que *S. fasciculata* é autocompatível, mas que necessita de um agente polinizador (*Euglossa cordata*) para formação dos frutos. No Panamá foram coletados indivíduos de *Eulaema cingulata* carregando políneas de *S. acaulis* (ROUBIK; ACKERMAN, 1987).

Os gêneros de orquídeas *Sarcoglottis*, *Pelexia* e *Cyclopogon* formam um grupo chamado de *Pelexia alliance* (SINGER; SAZIMA, 1999). As espécies desse grupo possuem um polinário que se adere à superfície ventral do labrum das abelhas, característica que evita que outros animais, que não sejam abelhas, façam a polinização de espécies desse grupo (SINGER; SAZIMA, 1999).

Sarcoglottis grandiflora produz néctar como recurso de atração (CARVALHO, 2001), o que também foi observado em outras espécies do gênero (*S. acaulis* - ACKERMAN, 1985; *S. fasciculata* – SINGER; SAZIMA, 1999). Como atrativo, *S. grandiflora* produz uma fragrância semelhante a capim-cidreira (CARVALHO, 2001), mas a composição do odor e a relação com os seus visitantes não foram estudadas até este momento.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Neste trabalho foi investigada a biologia floral e reprodutiva de *Sarcoglottis grandiflora*, enfatizando o papel de odores na atração dos polinizadores e o efeito da fragmentação na interação planta-polinizador.

1.2.2 Objetivos específicos

- Conhecer o sistema reprodutivo de *S. grandiflora*, definindo se ela é dependente ou não de um polinizador para se reproduzir;
- Monitorar o polinizador de *S. grandiflora* e registrar sua relação com os recursos florais produzidos por essa espécie de orquídea, entendendo assim como esta orquídea garante o seu sucesso reprodutivo em áreas fragmentadas de Mata Atlântica.

1.3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

1.3.1 Área de Estudo

O trabalho foi desenvolvido em três fragmentos de Mata Atlântica localizados no estado da Paraíba: a Reserva Biológica Guaribas (Rebio Guaribas; 6°42S, 34°50O), o Jardim Botânico Benjamim Maranhão (JB; 7°08S, 34°50O) e a Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia da Universidade Federal da Paraíba (DSE, 7°08S, 34°51O).

A Reserva Biológica Guaribas está localizada nos municípios de Mamanguape no litoral norte do Estado da Paraíba, a 70 km da capital João Pessoa. A área é constituída por manchas de cerrado e remanescentes de mata Atlântica com 3.378 ha. As temperaturas médias anuais variam entre 24 °C e 26 °C e o total pluviométrico anual varia entre 1750 e 2.000 mm, sendo os meses mais chuvosos abril, maio e junho e os mais secos outubro, novembro e dezembro (BRASIL, 2003).

O fragmento do Jardim Botânico Benjamim Maranhão (417 ha) está localizado na região metropolitana de João Pessoa. A área apresenta clima quente úmido, com médias térmicas anuais próximas de 25° C e total pluviométrico variando entre 1500 e 1700 mm. Os meses mais chuvosos vão de março a agosto e os mais secos de outubro a dezembro (LIMA; HECKENDORFF, 1985).

O fragmento de estudo de menor tamanho é a Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia (DSE) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), com 7,4 ha. É uma Área de Preservação Ambiental (APA), proposta pelo plano diretor da Cidade Universitária. Antes da construção da UFPB e da Rodovia Federal (BR 230) a Mata do DSE estava conectada ao Jardim Botânico, mas hoje estão separadas por 1,5 km. Apresentando, portanto, as mesmas condições meteorológicas do Jardim Botânico Benjamim Maranhão (BARBOSA, 1996).

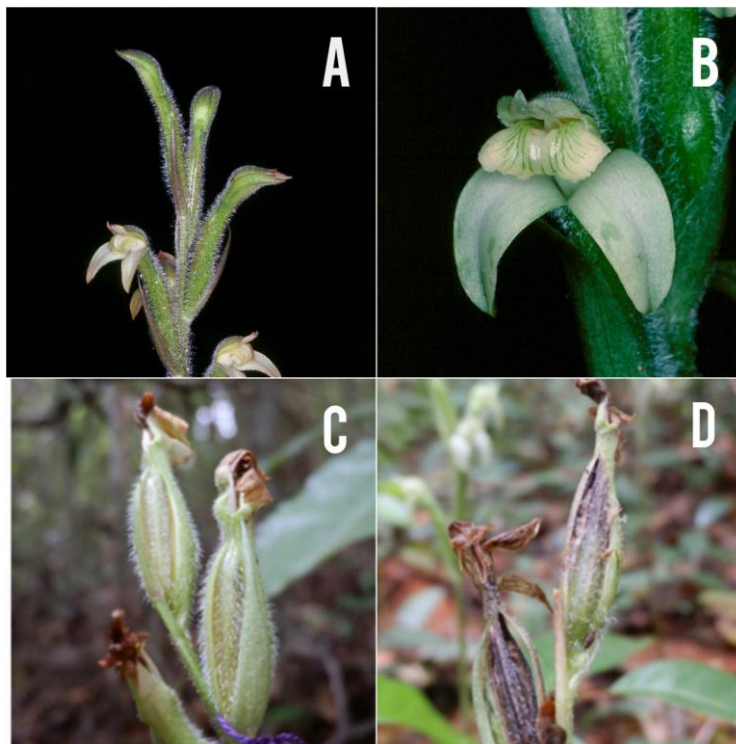
1.3.2 Espécie em estudo

Sarcoglottis grandiflora (Fig. 1) é uma espécie terrestre da família Orchidaceae, da subtribo Spiranthinae (BURNS-BALOGH, 1982), que ocorre em toda América Latina (TROPICOS.ORG, 2015). No Brasil, está distribuída em todas as regiões (BARROS *et. al.*, 2014). Suas flores alvo-esverdeadas, distribuídas em inflorescências racemosas (PESSOA; ALVES, 2012), ficam abertas durante o dia e a noite, tendo uma duração média de $5,95 \pm 2,4$ dias (Albuquerque, dados não publicados). Do início da formação dos frutos, passando pela fase de amadurecimento até a liberação das sementes, levam-se $11,76 \pm 3,36$ dias, em média (Albuquerque, dados não publicados). O pico de floração na região nordeste ocorre no período seco do ano, nos meses de agosto e setembro (Albuquerque, dados não publicados).

1.3.3 Sistema reprodutivo

Para a determinação do sistema reprodutivo, foram realizados testes de polinização controlada nas três áreas de estudo: 1) autopolinização espontânea – flores ensacadas desde o período de botão; 2) agamospermia – retirada das políneas na fase inicial da antese; 3) autopolinização manual e 4) polinização manual cruzada. Para todos os tratamentos, utilizaram-se flores previamente ensacadas em período de pré-antese, para que não ocorresse nenhuma influência dos polinizadores. Além dos testes manipulados foi realizado um controle, cujas plantas ficaram com as flores expostas para avaliação da formação natural de frutos. Os frutos formados oriundos dos quatro tratamentos e do controle foram coletados para verificação do desenvolvimento dos embriões. Duzentas sementes de cada fruto foram classificadas morfológicamente e considerou-se viáveis aquelas com embrião bem desenvolvido e inviáveis as sementes sem embrião ou com embrião rudimentar (BORBA et al., 2001). Com a divisão da taxa de formação de fruto por autopolinização manual pela polinização cruzada foi calculado o índice de incompatibilidade (ISI) (BULLOCK, 1985), considerando-se auto-incompatível quando $ISI < 0.25$ (OLIVEIRA; GIBBS, 2000).

Figura 1 - *Sarcoglottis grandiflora*. (A) Botões, (B) Flores, (C) Frutos imaturos e (D) Frutos maduros.



Fonte: O Autor, 2017.

Flores de *Sarcoglottis grandiflora* permaneceram expostas aos polinizadores, nas diferentes áreas para que fosse possível se observar a taxa natural de frutificação das diferentes populações (controles). Para comparar se o sucesso reprodutivo (número de frutos) é dependente do local onde o experimento foi realizado foi utilizado o teste de Qui-quadrado com tabela de contingência 2x3 e posteriormente 2x2, usando o programa R 3.3.1 ([HTTP://WWW.R-PROJECT.ORG/](http://www.R-project.org/)).

1.3.4 Remoção e deposição de políneas X Visitantes florais

Em cada uma das três áreas, foram acompanhados 24 indivíduos por três dias em dois momentos do dia: no começo da manhã (05:30h) e no final do dia (17:00h). Ao final do período de exposição, a fim de se avaliar e contabilizar a retirada e/ou deposição de políneas, as flores abertas foram observadas com o uso de lupa de campo. O número total de políneas removidas e não removidas por área foi comparado pelo teste de Qui-quadrado com tabela de contingência 2x3 e posteriormente 2x2, usando o programa R 3.3.1 ([HTTP://WWW.R-PROJECT.ORG/](http://www.R-project.org/)).

Com o objetivo de identificar a principal guilda de visitantes e seu comportamento nas flores foram realizadas observações nas áreas de estudo durante o pico de floração da espécie (entre os meses de agosto e setembro; Albuquerque, dados não publicados). Para isso, foi utilizado o método de "indivíduo focal" (ALTMANN, 1974), em três anos: 2011, 2013 e 2015. Em campo utilizou-se equipamentos de apoio para registro e observação do comportamento dos visitantes florais, como binóculos e câmeras fotográficas. As observações foram feitas das 06:00 h às 12:00 h no período da manhã e de 12:00 às 16:00 h à tarde. Na Rebio Guaribas também foram realizadas observações noturnas das 16:00 h às 06:00 h. No Jardim Botânico, o total de horas observadas foi de ca. 25 horas pela manhã e de 6 horas no período da tarde; na Mata do DSE, 30 horas no período da manhã e 20 horas no período da tarde. Na Rebio Guaribas monitoramos 24 horas no período da manhã, 16 horas no período da tarde e 33 horas no período da noite. Alguns exemplares dos insetos visitantes florais foram capturados para análise de morfologia e de ocorrência de políneas aderidas ao corpo, identificação taxonômica e para compor o material testemunho depositado na coleção entomológica do Departamento de Sistemática e Ecologia da UFPB.

Após 48 horas da observação de visita do polinizador, na Mata do DSE, 28 flores de *Sarcoglottis grandiflora* foram coletadas para verificação da presença de grãos de pólen, soltos pelas políneas, e tubos polínicos através da técnica de coloração de azul de anilina e seguida de observação com o microscópio de fluorescência.

1.3.5 Recursos e atrativos florais

1.3.5.1 Volume e concentração de néctar

Para análise do padrão de néctar produzido por *Sarcoglottis grandiflora* foram realizadas coletas de néctar, verificando o volume e a concentração, utilizando-se microseringa Hamilton 5 µL e refratômetro portátil Quimis 90% Brix., respectivamente. Dois métodos foram utilizados para coleta: o de néctar acumulado (12 indivíduos, 45 flores) e de *standing crop* (15 indivíduos, 25 flores). As coletas para ambos os tratamentos foram realizadas no período de maior frequência de visita do polinizador (09:00 horas). Para o néctar acumulado as plantas foram encobertas com sacos de tule e no método *standing crop* as plantas não foram ensacadas, permitido avaliar a quantidade de néctar disponível para o polinizador em um determinado momento do dia. A concentração de néctar foi transformada em gramas para calcular a produção de açúcar e o valor energético (DAFNI et al., 2005).

Para verificar se existe diferença na produção de néctar em períodos diferentes do dia, o néctar de 10 flores ensacadas (6 indivíduos) foi coletado em dois horários distintos, as 09:00 h e as 15:00 h, no fragmento de mata do DSE. O volume e a concentração nos diferentes horários foram comparados através do teste T pareado e a normalidade com o teste Shapiro Wilk, no programa STATISTICA 7 (STATSOFT, 2004).

1.3.5.2 Análise química dos perfumes florais

Para caracterizar o buquê de perfumes florais de *Sarcoglottis grandiflora*, bem como detectar possíveis variações na taxa de emissão ao longo da sua antese foram coletadas 12 amostras por horário (manhã, tarde e noite), usando as mesmas plantas, através do método

headspace dinâmico (RAGUSO; PELLMYR, 1998). Sacos de polietileno foram usados para ensacar as inflorescências, com posterior retirada do ar, para a qual foi utilizada uma bomba de sucção. Foram coletadas amostras controle da parte vegetativa e do ar do ambiente, para eliminar possíveis contaminantes. Todas as amostras foram eluídas com 200 microlitros de hexano e armazenadas a - 24°C. A identificação dos compostos foi realizada a partir de cromatografia gasosa associada com espectrômetro de massa, utilizando o mesmo equipamento e as mesmas condições de injeção descritas por Maia *et al.* (2014). Para comparar a quantidade de voláteis emitidos por flores de *Sarcoglottis grandiflora* nos diferentes horários, foi utilizado um teste de ANOVA para medidas repetidas, seguido do teste a posteriori de Tukey, ambos realizados no programa STATISTICA 7 (STATSOFT, 2004).

1.3.5.3 Análises eletrofisiológicas

Análises de cromatografia gasosa acoplada à detecção eletroantenográfica (GC-EAD) foram realizadas com machos de *Eulaema atleticana* e *El. bombiformis* com o intuito de detectar quais compostos do buquê de voláteis de *Sarcoglottis grandiflora* estão provavelmente envolvidos na atração desses polinizadores. Para isso, machos de *El. atleticana* e de *El. bombiformis* foram coletadas no campo (Jardim Botânico) com o auxílio de armadilhas de cheiro (quatro papéis filtro impregnados cada um com um tipo de essência diferente: Acetato de Benzila, Salicilato de Metila, Geraniol e Eucaliptol). A eletroantenografia é uma técnica que permite detectar compostos isolados dentro de misturas complexas para os quais as abelhas apresentam receptores olfativos (SCHIELSTL; POOL, 2002; HUBER et al., 2005). Em geral, compostos que geram despolarizações nas antenas das abelhas desempenham um papel comportamental.

Para avaliar o significado comportamental dos voláteis florais de *S. grandiflora* que geraram despolarização na antena das abelhas nas análises de GC-EAD, foram realizados ensaios comportamentais no campo, com uma mistura sintética de Nerol (60%) e Geraniol (40%), respeitando-se a proporção em que esses compostos ocorrem nas amostras das flores. A mistura foi impregnada em um papel filtro (iscas odores) que foi então fixado em ramos de arbustos ou árvores do Jardim Botânico na altura de um metro e meio do solo e distante quatro metros de um papel-filtro sem a mistura (controle negativo). A quantidade da mistura

utilizada em cada papel filtro foi de 200 µl, que equivale ao que é emitido por aproximadamente 20 inflorescências durante um período de 30min. As observações de atração de Euglossini às iscas com odores foram realizadas após o fim da floração de *S. grandiflora*, entre as 07:00 h e 11:00 h. Em intervalos de 30 minutos o local de observação era alterado respeitando a distância de 50 metros e a mistura dos compostos era recolocada. No total foram feitos 12 pontos de observação.

1.3.6 Floração e abundância dos polinizadores

Para verificar se existe relação entre a intensidade de floração das populações de *S. grandiflora* estudadas e a abundância de seus polinizadores, foi realizado o acompanhamento tanto da frequência das abelhas como da fenologia das plantas nas três áreas: DSE, Jardim Botânico e Rebio Guaribas. Nos meses de começo e final de floração, junho e outubro, respectivamente, foram feitas a frequência da abundância de abelhas mensalmente, enquanto que nos meses de pico, agosto e setembro, foram feitas coletas quinzenais.

As abelhas foram atraídas por essências sintéticas usadas em outros trabalhos para atrair Euglossini (BEZERRA; MARTINS, 2001; MARTINS; SOUZA, 2005): Geraniol, Eucaliptol, Acetato de Benzila e Salicilato de Metila. As essências eram colocadas em papel-filtro pendurado em troncos de árvores cerca de um metro e meio do chão e distantes entre si por três metros. As abelhas eram capturadas com rede entomológica, resfriadas para que pudessem ser marcadas com uma caneta com tinta atóxica (Edding) e liberadas em seguida. As capturas foram realizadas em três dias consecutivos nas três áreas, no período das 07:00 até as 14:00 h.

Para acompanhar a fenologia foram marcadas 50 plantas em cada uma das três áreas e realizado o seu acompanhamento com relação ao número de flores abertas no dia da captura das abelhas. Com o objetivo de comparar a relação da frequência dos polinizadores com a área de estudo e com a quantidade de flores foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal – Wallis, no programa STATISTICA 7 (STATSOFT, 2004).

2 ANÁLISE DOS RESULTADOS

2.1 Sistema reprodutivo

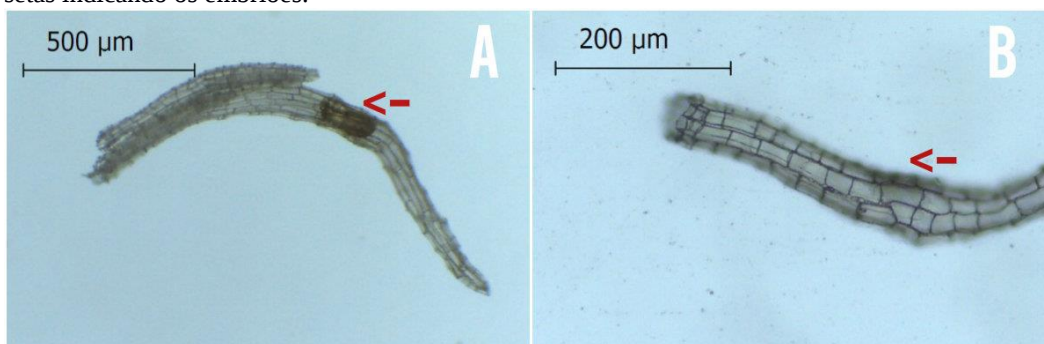
Sarcoglottis grandiflora é autocompatível, uma vez que os tratamentos de autopolinização manual formaram frutos, sendo o índice de incompatibilidade é 1 (Tabela 1 e Fig. 2). No entanto, o processo de fecundação é nove vezes mais eficaz na presença de um vetor de pólen (Tabela 1), já que o resultado de autopolinização espontânea foi ca. 11% contra os ca. 92%, tanto de autopolinização manual como de polinização manual cruzada. Houve diferença significativa quando foram comparados os três fragmentos estudados, mostrando que o sucesso reprodutivo é dependente da área de estudo ($X^2 = 10,0054$; gl= 2; p= 0.006), sendo a diferença encontrada entre a Rebio e o DSE ($X^2 = 9,27$; gl= 1; p= 0,002) (Tabela 2).

Tabela 1 - Resultados dos experimentos de polinização controlada em *Sarcoglottis grandiflora*, realizados em três fragmentos de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil.

Tratamento	Nº de flores	Nº de frutos	Frutos %
Agamospermia	55	3	5,45
Autopolinização Espontânea	60	7	11,66
Autopolinização Manual	54	50	92,59
Polinização Cruzada Manual	52	48	92,3
Controle	333	258	77,47

Fonte: O Autor, 2017.

Figura 2 - Sementes de *Sarcoglottis grandiflora* com (A) embrião viável e com (B) embrião não desenvolvido, setas indicando os embriões.



Fonte: O Autor, 2017.

Tabela 2 - Número de frutos formados naturalmente em três populações de *Sarcoglottis grandiflora* em área de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. (Rebio= Reserva Biológicas Guaribas; JB= Jardim Botânico Benjamim Maranhão; DSE= Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia) * Diferença significativa entre as áreas

Áreas	Nº de flores	Nº de frutos	Frutos %
Rebio	111	76	68,47*
JB	69	52	73,91
DSE	153	130	84,98*

Fonte: O Autor, 2017.

2.2 Remoção e deposição de políneas x Visitantes florais

Todas as remoções de políneas ocorreram durante o período do dia, mas nenhuma deposição foi registrada. Desse modo, o horário de remoção indica que os polinizadores possuem atividade diurna. A taxa de remoção diferiu significativamente entre as áreas estudadas ($X^2 = 18,716$; gl = 2; $p < 0,0001$), sendo encontrada a diferença entre a Rebio e o Jardim Botânico ($X^2 = 15$; gl = 1; $p < 0,0001$) e a Rebio e o DSE ($X^2 = 19,22$; gl = 1; $p < 0,0001$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Taxa de remoção de políneas em três populações de *Sarcoglottis grandiflora* em área de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. (Rebio= Reserva Biológica Guaribas; JB= Jardim Botânico Benjamim Maranhão; DSE= Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia) ^{a,b} Diferença significativa entre as áreas

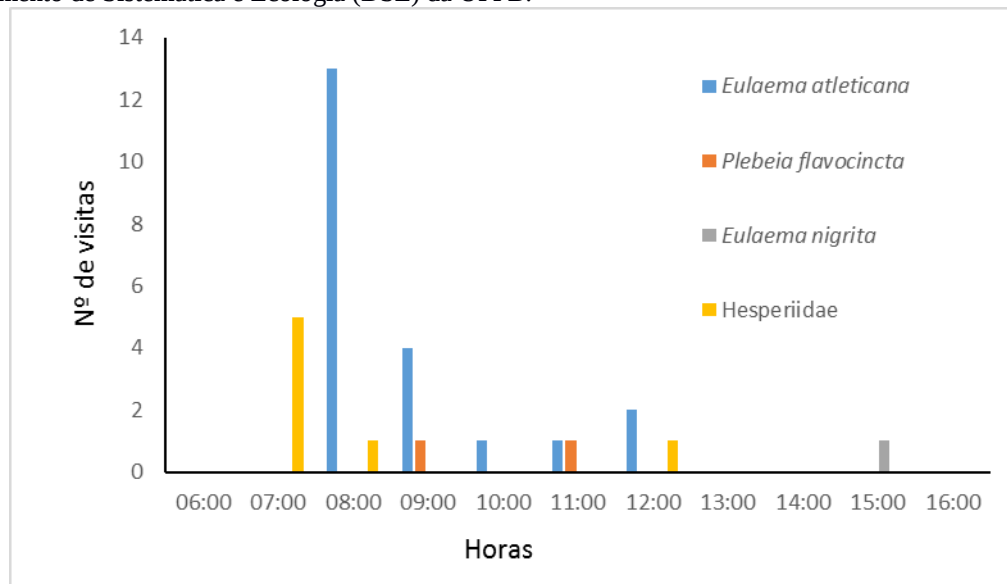
Área	Nº de flores	Nº de remoção	Remoção de políneas %
Rebio	99	5	5 % ^a
JB	100	26	26 % ^b
DSE	95	27	28 % ^b
Total	294	58	19.7%

Fonte: O Autor, 2017.

As observações focais mostraram que o principal polinizador de *Sarcoglottis grandiflora* é a abelha Euglossini, *Eulaema atleticana*. Na Rebio Guaribas não foram

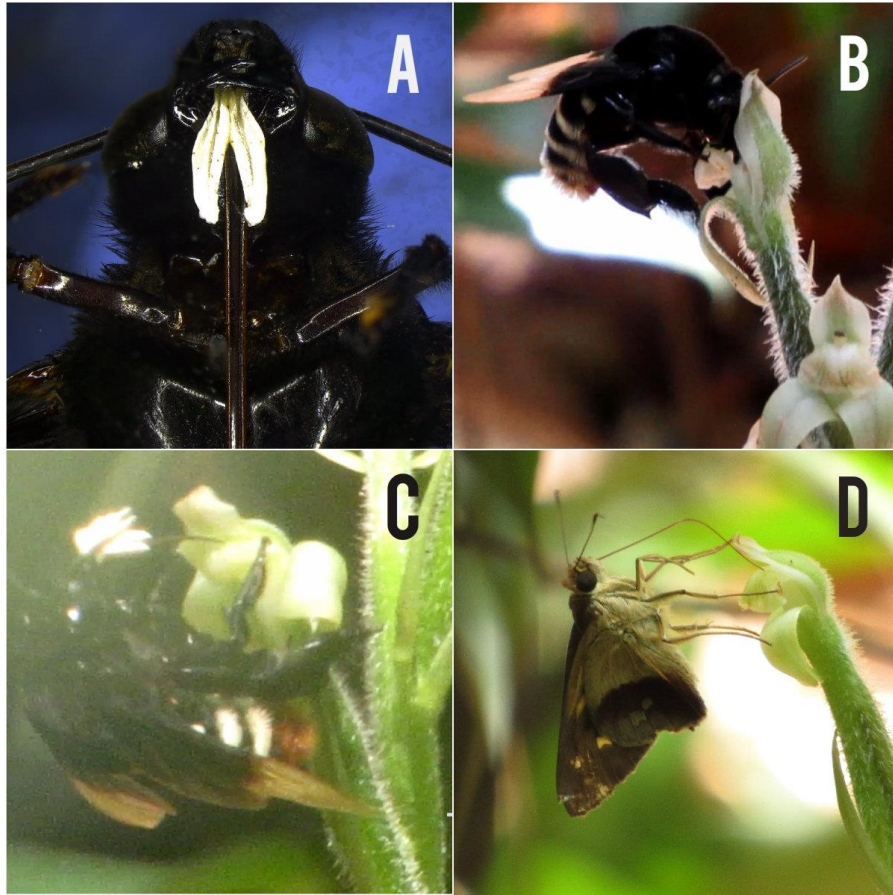
observadas visitas de polinizadores, apenas registros ocasionais de visitas não legítimas de duas espécies, uma de beija flor (provavelmente *Phaethornis ruber*) e outra de uma abelha não identificada. No Jardim Botânico não houve registro de nenhum visitante. Na Mata do DSE foram observadas visitas de *El. atleticana* e visitantes não polinizadores, como as abelhas *El. nigrita* Lepeletier, 1841, *Plebeia flavocincta* Cockerell, 1912 e uma borboleta da família Hesperidae (Figs. 3 e 4). Foram observadas visitas dos polinizadores quando outros experimentos de campo estavam sendo realizados, tanto no Jardim Botânico como no DSE de *El. atleticana* e *E. bombiformis*. As espécies polinizadoras pousavam nas flores inserindo a glossa no tubo da corola para retirar o néctar, conseqüentemente removiam as políneas das flores de *Sarcoglottis grandiflora* e deixavam parte do pólen contidos nas políneas na superfície estigmática quando visitavam outras flores da mesma inflorescência e de outros indivíduos. Apesar do registro exclusivamente de coleta de néctar, apenas machos foram vistos visitando as flores. O principal polinizador de *S. grandiflora* foi *El. atleticana*, pois apresentou uma maior frequência de visitas, e em 78,57 % (n = 28) das flores visitadas por essa espécie de abelha foram encontrados grãos de pólen, que foram desprendidos das políneas, germinando em seguida (Fig. 5).

Figura 3 - Número total de visitas (50 horas de observação) em flores de *Sarcoglottis grandiflora* na Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia (DSE) da UFPB.



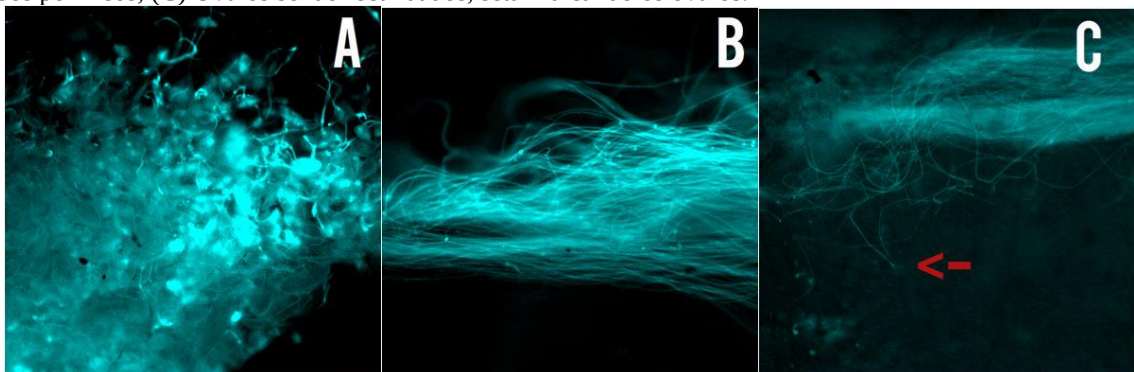
Fonte: O Autor, 2017.

Figura 4 - Visitantes e polinizadores de *Sarcoglottis grandiflora* no Campus da Universidade Federal da Paraíba. (A) Polínea de *S. grandiflora* aderida ao labrum de *Eulaema atleticana* (B) *Eulaema atleticana*. (C) *Eulaema bombiformis* com várias políneas na sua fronte. (D) Borboleta da família Hesperíidae sem contatar estruturas sexuais da flor.



Fonte: O Autor, 2017.

Figura 5 - Microscopia de fluorescência de *Sarcoglottis grandiflora* (Orchidaceae) (A) Grãos de pólen; (B) Tubos polínicos; (C) Óvulos sendo fecundados, seta indicando os óvulos.



Fonte: O Autor, 2017.

2.3 Recursos e atrativos florais

2.3.1 Volume e concentração de néctar

O néctar acumulado produzido por *Sarcoglottis grandiflora* na hora de maior frequência dos visitantes florais, 09:00h, teve volume médio de 3,33 μ l ($\pm$ 1,1, N=45 de flores) e concentração média de 38,86% ($\pm$ 10,93, N=45 de flores). O néctar disponível (*standing crop*), também no horário de maior frequência de visitas, teve volume médio de 3,88 μ l ($\pm$ 2,26, N=25 de flores) e concentração de 32,92 % ($\pm$ 12,87, N=25 de flores). Esses valores resultaram, no pico de floração (=150 flores), em uma disponibilidade de 6147,52 calorias, como recompensa para os polinizadores. O volume de néctar acumulado produzido às 15:00h (1,8 $\pm$ 2,48 μ l, N=10 flores) foi diferente daquele produzido às 09:00h ($t=2,4$; $gl=9$; $p=0,03$), da mesma forma que a concentração (13,42 $\pm$ 17,76%, N=10 flores) ($t=5,08$, $gl=9$ $p<0,001$).

2.3.2 Análise química, eletrofisiologia e ensaios em campo dos perfumes florais

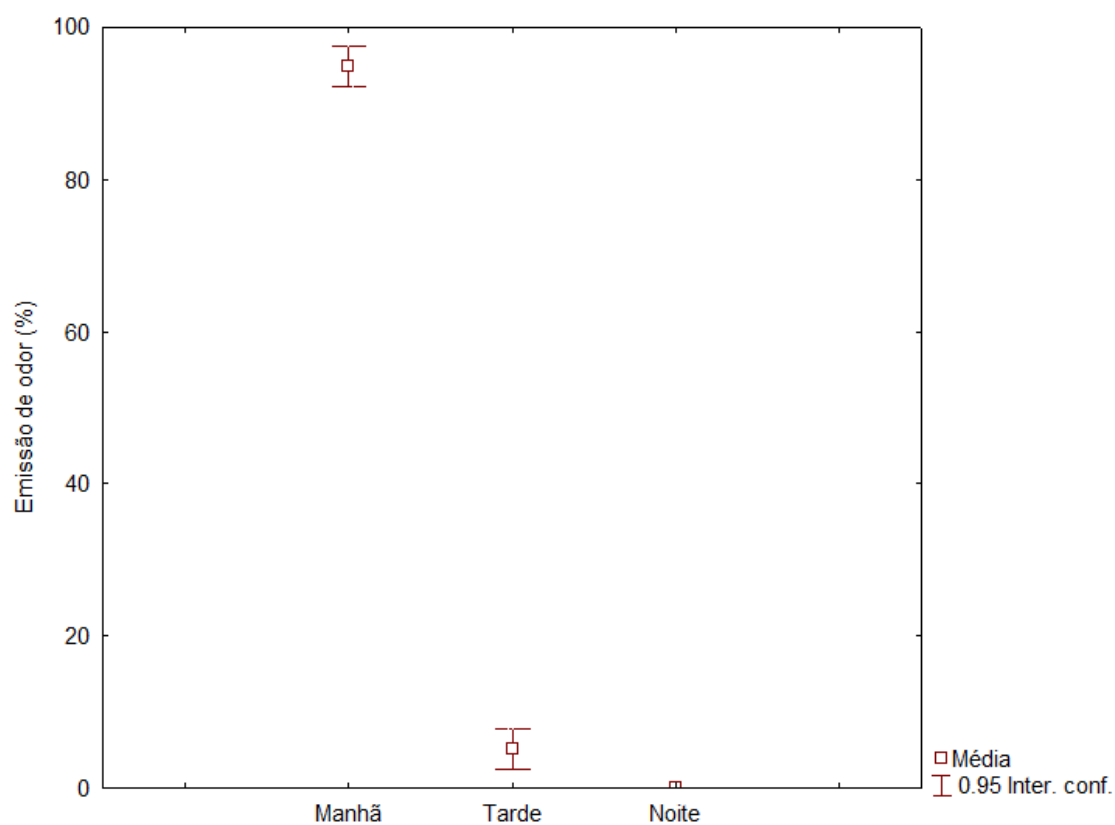
O perfume floral de *S. grandiflora* é constituído por seis compostos, sendo todos eles monoterpenos (Tabela 4). A quantidade total de perfume emitido pelas flores de *S. grandiflora* varia ao longo do dia ($F_{2,22} = 24,565$; $p=0,000002$), sendo mais intensa pela manhã e diminuindo significativamente à tarde e à noite (Fig. 6). As análises de GC-EAD mostraram que as antenas de *Eulaema atleticana* e *E. bombiformis* respondem aos dois compostos majoritários do buquê de voláteis de *S. grandiflora*, quais sejam Nerol e Geraniol (Fig.7). Nos ensaios comportamentais, os papéis de filtro impregnados com a mistura sintética destes dois compostos atraíram cinco indivíduos de *Eulaema*, sendo um de *E. atleticana*, dois de *E. bombiformis* e dois de *E. nigrita*. O controle negativo (papel-filtro sem a mistura sintética) não atraiu qualquer visitante.

Tabela 4. Quantidade relativa (média e desvio padrão) de compostos voláteis exalados pelas flores de *Sarcoglottis grandiflora*. A média foi retirada das amostras coletadas pela manhã (9:00h) (n=12 inflorescências). Os voláteis estão listados de acordo com a eluição em uma coluna de HP-5. KRI - Índice de retenção de Kovats

Composto	KRI	Quantidade média relativa (%)	Desvio padrão
Mirceno	990	0.38	0.20
Linalol	1097	1.43	0.53
Nerol	1229	57.29	10.39
Neral	1241	1.50	1.02
Geraniol	1255	36.35	8.39
Geranial	1271	3.05	2.71

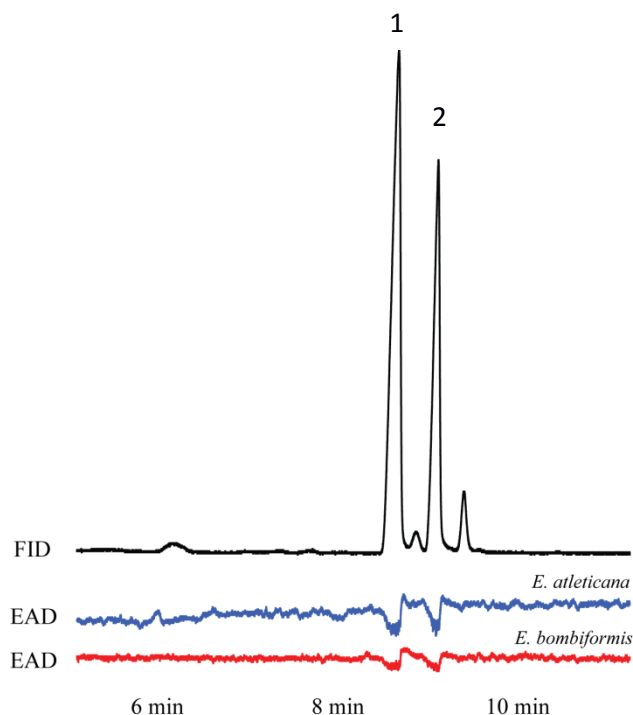
Fonte: O Autor, 2017.

Figura 6 - Quantidade de odor (porcentagem média) emitida por flores de *Sarcoglottis grandiflora* durante o período da manhã, tarde e noite (n=12 inflorescências, sendo 41 flores, para cada horário do dia).



Fonte: O Autor, 2017.

Figura 7 - Análise de GC-EAD mostrando a sensibilidade aos compostos de *Sarcoglottis grandiflora*, Nerol (1) e Geraniol (2).



Fonte: O Autor, 2017.

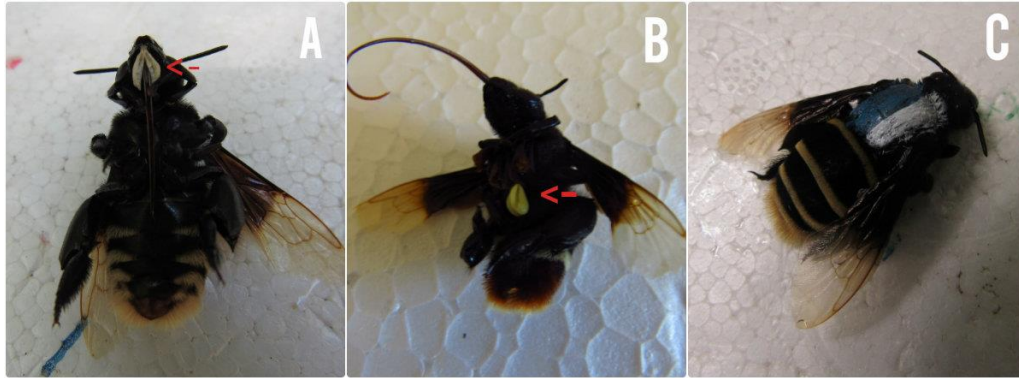
2.4 Floração e abundância dos polinizadores

Nas três áreas de estudo foram capturadas *E. atleticana* e *E. bombiformis* carregando políneas de *S. grandiflora* aderidas ao labrum. Na Rebio Guaribas também foi capturada uma *E. bombiformis* carregando políneas de outra espécie de orquídea não identificada. Houve recaptura de abelhas no Jardim Botânico, que anteriormente haviam sido capturadas no DSE (Fig. 8).

A frequência das espécies polinizadoras parece não estar relacionada com a floração de *S. grandiflora*, que possui a mesma intensidade de floração (DSE= $14,3 \pm 11,6$; JB= $15 \pm 12,6$; Rebio= $19,3 \pm 13,7$, média de floração, N=6) nas três áreas de estudo. Por sua vez, a frequência de *E. atleticana* (DSE= $6,1 \pm 4,7$; JB= $5,6 \pm 4,1$; Rebio= $0,8 \pm 0,7$, média de indivíduos, N=6) esteve relacionada com o local de estudo ($H= 8,174$; $gl=2$; $p=0,016$), sendo a diferença encontrada entre a Rebio Guaribas comparada com o DSE ($p=0,035$). No entanto,

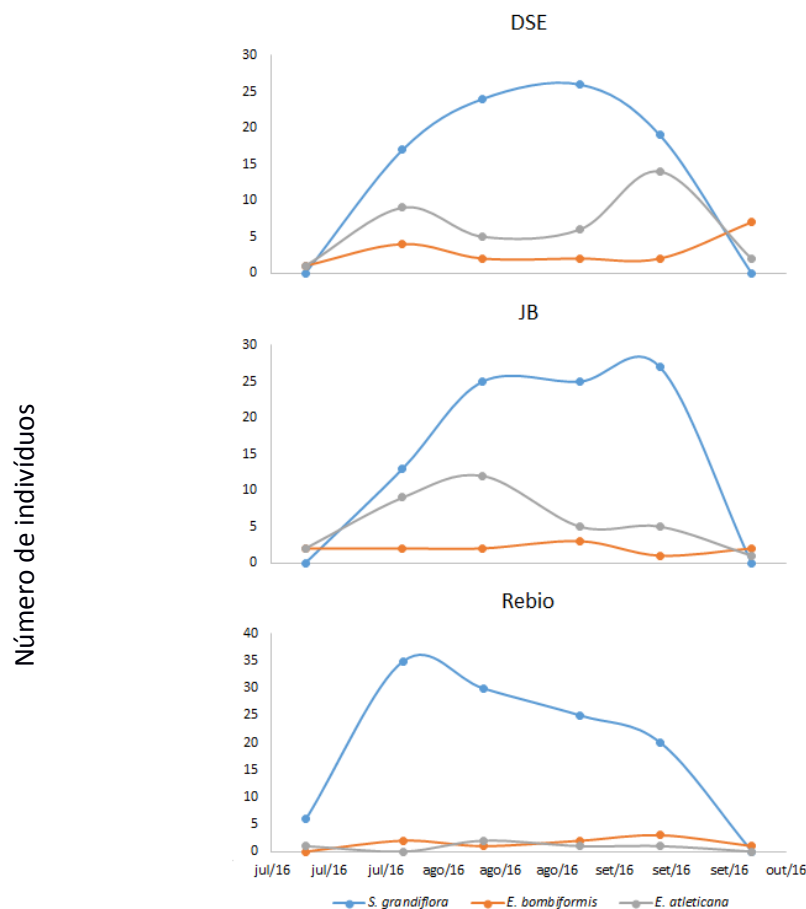
a frequência da outra espécie de abelha polinizadora, *E. bombiformis*, não foi relacionada com as áreas ($DSE = 3 \pm 2,19$; $JB = 2 \pm 0,63$; $Rebio = 1,5 \pm 1,04$, média de indivíduos, $N=6$) (Fig.9).

Figura 8 - Visitantes florais: (A) *Eulaema atleticana* com polínea de *Sarcoglottis grandiflora*; (B) *Eulaema bombiformis* com políneas de espécie desconhecida; (C) e *Eulaema atleticana* recapturada no fragmento do Jardim Botânico de João Pessoa, Paraíba, Brasil.



Fonte: O Autor, 2017

Figura 9 - Fenologia de *Sarcoglottis grandiflora* e frequência das abelhas, *Eulaema bombiformis* e *E. atleticana* em três áreas de estudo em área de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. (DSE= Mata do Departamento de Sistemática e Ecologia; JB= Jardim Botânico Benjamin Maranhão; Rebio= Reserva Biológicas Guaribas).



Fonte: O Autor, 2017

Para determinar que um visitante é um polinizador em espécies da família Orchidaceae, geralmente, é observada a remoção e a deposição das políneas (PANSARIN, 2003; CARVALHO; MACHADO, 2006; MILET-PINHEIRO et al., 2015), tendo em vista que o pólen está contido nessas estruturas e não é disperso facilmente em algumas espécies. No entanto, as políneas de *Sarcoglottis grandiflora* possuem pólen que se solta facilmente, e permite que a polinização ocorra sem a necessidade da deposição da polínea por completo, semelhante ao observado para *Sarcoglottis fasciculata* (SINGER; SAZIMA, 1999) e *S. acaulis* (ACKERMAN, 1985) e outras espécies do grupo *Pelexia alliance* (SINGER; SAZIMA, 1999). Como *S. grandiflora* é autocompatível, uma única abelha carregando apenas uma polínea pode realizar a polinização de várias flores do mesmo indivíduo e/ou de indivíduos próximos, garantindo assim um alto sucesso reprodutivo das populações. Esse comportamento do polinizador pode promover a geitonogamia. Entretanto, como estratégia para minimizar isso, poucas flores da mesma inflorescência abrem no mesmo dia (apenas uma ou duas flores) evitando temporalmente a geitonogamia.

A pequena quantidade ($3,33\mu\text{l} \pm 1,16$), alta concentração ($38,86\% \pm 10,93$) e localização escondida do néctar, único recurso oferecido pelas flores de *S. grandiflora*, seguem o padrão apresentado por plantas polinizadas por abelhas (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979; RECH et al., 2014). Padrão semelhante de produção de néctar é também encontrado em outra orquídea do grupo *Pelexia alliance*, a espécie *Pelexia bonariensis* ($4\mu\text{l}$ e 37.3%) (GALETTTO et al., 1997), o que evidencia a especialização do grupo de serem polinizadas apenas por abelhas, pois as políneas possuem morfologia que permite a adesão exclusivamente no labrum desses animais (SINGER; SAZIMA, 1999). Portanto, o padrão de néctar do grupo dessas orquídeas deve ter sofrido pressões seletivas pela preferência alimentar desse grupo de polinizadores. A diferença encontrada no volume e concentração de néctar dependendo do horário, havendo menor concentração no período da tarde, coincide com a maior frequência de visita dos polinizadores na parte da manhã. Essa diminuição de açúcar é relatada como uma estratégia de diminuição de gasto energético (PYKE, 1991).

O odor é um importante atrativo floral dessa espécie de orquídea, sendo produzido mais intensamente no período de maior frequência de visitas do polinizador, às 09:00 horas. De uma forma geral, estudos utilizando iscas artificiais em florestas neotropicais mostram que o período de maior atividade dos machos das abelhas Euglossini é justamente pela manhã (DODSON et al., 1969; OLIVEIRA, 1999). Em fragmentos de Mata Atlântica o pico de atividade de abelhas Euglossini ocorre das 08:00h às 10:00h (BEZERRA; MARTINS, 2001). Uma maior emissão de perfume floral no período de maior frequência do polinizador também

foi encontrada em outra espécie de orquídea (MILET-PINHEIRO et al., 2015). A emissão de odor no horário de maior frequência do polinizador pode ser, portanto, entendido como uma estratégia de evitar o gasto energético desnecessário na produção de odor em horários quando o polinizador não esteja ativo. É característico de espécies polinizadas por abelhas ter o odor emitido durante o dia e com perfume agradável ao olfato humano (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979; RECH et al., 2014), como é encontrado em *S. grandiflora*.

Os seis compostos classificados como monoterpenos foram encontrados nos voláteis florais de *S. grandiflora* em quantidade semelhante ao encontrado em outras orquídeas polinizadas por abelhas Euglossini (DODSON et al., 1969, HILLS et al., 1972). A diversidade das classes de compostos e a quantidade de compostos produzidos por uma espécie de orquídea pode estar relacionada com a sua estratégia de polinização (SALZMANN et al., 2007). *Sarcoglottis grandiflora* segue o padrão de espécies com estratégia de polinização especialista, ou seja, aquelas que produzem poucos compostos e em menor diversidade, pois sofrem a seleção de um único grupo de polinizador. Nerol e Geraniol são os compostos mais representativos no buquê floral dessa espécie, sendo o Geraniol um composto conhecido na atração das abelhas Euglossini (PERUQUETTI et al., 1999). A composição dos voláteis florais é importante, pois determina qual espécie de polinizador é atraído (DODSON et al., 1969), sendo alguns compostos específicos conhecidos na atração de determinados grupos de polinizadores em orquídeas (RAGUSO, 2008). Portanto, a mudança na composição dos voláteis florais pode levar à atração de grupos polinizadores diferentes numa mesma espécie de planta (DODSON et al., 1969, SHUTTLEWORTH; JOHNSON, 2010).

O sinal olfativo de *S. grandiflora* parece ser importante para atração dos polinizadores, tendo em vista a sensibilidade das abelhas a esses compostos, fato que foi evidenciado por meio do experimento de atração em campo. Esse experimento simulando apenas o sinal olfativo demonstrou que a essência parece atuar como um sinalizador da disponibilidade de néctar, uma vez que não foi observado qualquer polinizador coletando a fragrância de *S. grandiflora*, nem nos papéis de filtro pendurados onde a mistura sintética foi oferecida. Outras orquídeas também usam o perfume floral para indicar a disponibilidade de néctar (ARGUE, 2012). Além disso, o odor floral não tem apenas a função de atrair polinizadores, ele pode também atuar na defesa contra herbívoros e contra estresses abióticos (KNUDSEN et al., 2006). É conhecido que florívoros podem aproveitar o odor emitido pelas flores para atração dos polinizadores para localizá-las (NUNES et al., 2016). No entanto, no presente trabalho apenas polinizadores foram atraídos pela mistura sintética nos ensaios comportamentais.

Parece haver baixa frequência do principal polinizador, *E. atleticana*, no fragmento maior, a Rebio Guaribas, pois ela possui menor abundância comparado com as outras áreas de estudos, o que é condizente com a observação de menor taxa de remoção de políneas e formação de frutos nessa área. Nesse fragmento, a maior riqueza de orquídeas e de outras plantas produtoras de néctar é maior quando comparada ao número de espécies descritas para as outras duas áreas (BARBOSA et al., 2011; ARAÚJO et al., 2009), e que podem florescer no mesmo período. Essa sobreposição fenológica associada a maior diversidade de recursos parece estar promovendo uma competição maior pelos polinizadores. Esta impressão foi corroborada uma vez que abelhas carregando políneas de outras espécies foram capturadas.

O fragmento do DSE, apesar de ser o menor, possui alta frequência de visitas em flores de *S. grandiflora*, alta produção de frutos e alto número de remoção de políneas. A abundância dessas abelhas nesse fragmento pode ser devido ao fluxo de abelhas entre o Jardim Botânico e a Mata do DSE, tendo assim o suprimento de outras necessidades, como local pra nidificação e outras fontes de alimento providas pela área maior. Há registros do deslocamento de espécies de abelhas Euglossini por grandes distâncias (WIKELSKI et al., 2010) e similaridade na composição das espécies dessas abelhas em fragmentos de mata muito próximos (2km distância) (RAMALHO et al., 2009). Uma maior competição no compartilhamento de polinizadores no Jardim Botânico e uma maior concentração de recursos oferecidos por *S. grandiflora* na Mata do DSE, torna *S. grandiflora* mais atrativa ao polinizador no fragmento menor. Considerando-se que não só fatores abióticos interferem na sazonalidade dessas abelhas, mas concentrações de recursos, como perfumes florais e uma grande quantidade de flores produzindo néctar, pode aumentar a abundância temporal de Euglossini em um fragmento (ARMBRUSTER, 1993).

Um único fruto de orquídea possui uma grande quantidade de sementes (VAN DER PIJL; DODSON, 1966; DRESSLER, 1981), mesmo com uma baixa frequência do polinizador, as sementes produzidas por indivíduos de *S. grandiflora* garantem o estabelecimento das populações. Outra característica que garante o sucesso de estabelecimento é que apenas algumas visitas são necessárias para garantir a fecundação (considerando que o pólen de *S. grandiflora* é facilmente liberado da polínea). Esse número elevado de sementes permite o estabelecimento de grandes populações de orquídeas como ocorre no caso de *Epidendrum paniculatum* (PANSARIN, 2003).

Como é conhecido para outras espécies da família Orchidaceae (TREMBLAY, 1992), *S. grandiflora* apresenta um grau de especificidade muito grande com os seus polinizadores, *Eulaema atleticana* e *E. bombiformis*, tendo em vista que a diminuição do sucesso

reprodutivo dessa espécie pode estar relacionada com a menor frequência do principal polinizador, *E. atleticana*, dependendo da área de estudo. Esse fato também mostra uma grande especificidade e a possível pressão seletiva sofrida na produção de recursos e atrativos, néctar e odor, respectivamente, de acordo com as preferências alimentares e o período de maior atividade das abelhas da tribo Euglossini.

3 CONCLUSÕES

Sarcoglottis grandiflora é uma espécie autocompatível, mas que precisa de um vetor biótico para realizar a polinização, pois a morfologia das suas flores impede que ocorra autopolinização. A agamospermia é uma estratégia reprodutiva presente em *S. grandiflora*, no entanto tem um número de formação de frutos muito baixo, mas ainda assim pode ser considerada uma estratégia reprodutiva para a espécie no caso da ausência do polinizador, garantindo assim uma segurança reprodutiva mínima em curto prazo.

O principal polinizador é a abelha da tribo Euglossini, *Eulaema atleticana*, que visita com maior frequência as flores *S. grandiflora*, enquanto o polinizador secundário é a abelha *Eulaema bombiformis*, que possui morfologia muito parecida com o principal polinizador, como o tamanho dos indivíduos, que possuem um aparato bucal capaz de acessar o néctar e por sua vez acaba tendo contato com as políneas de *S. grandiflora*.

Os recursos e atrativos, néctar e odor, seguem os padrões de plantas polinizadas por abelhas, como o padrão do volume e da concentração do néctar, e a composição e o horário de emissão de odor, que coincide com o período de maior frequência do polinizador. A produção desses recursos e atrativos nesse período é uma estratégia interessante para a espécie, que acaba economizando energia nas suas produções.

A menor abundância do polinizador, dependendo da área de estudo, leva a um menor sucesso reprodutivo de *S. grandiflora*, mas mesmo em baixa frequência do polinizador ainda é garantido um alto sucesso reprodutivo, mostrando a elevada eficiência das duas abelhas, *Eulaema atleticana* e *E. bombiformis*. A interação de *S. grandiflora* e seus polinizadores mostra-se como um bom modelo de estudo para entender a mudança da dinâmica planta-polinizador em função da fragmentação do habitat.

REFERÊNCIAS

- ACKERMAN, J.D. **Euglossine bees and their nectar hosts**. In: D'Arcy, W.G.; Correa, M.D (Org.) **The botany and natural history of Panama**. St. Louis, Missouri: Missouri Botanical Garden. p.225-233, 1985.
- ACKERMAN, J.D. Mechanisms and evolution of food deceptive pollination systems in orchids. **Lindleyana**, v.1, p.108-113, 1986.
- ACKERMAN, J.D. Specificity and mutual dependency of the orchid-euglossine bee interaction. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.20, p.301–314, 1983.
- ALTMANN, J. Observational study of behavior: sampling methods. **Behavior**, v.49, p. 227–266, 1974.
- AMORIM, F.W; GALETTO, L.; SAZIMA, M. Beyond the pollination syndrome: nectar ecology and the role of diurnal and nocturnal pollinators in the reproductive sucesso of *Inga sessilis* (Fabaceae). **Plant Biology**, 2012.
- ARAÚJO, A.C.; et al. Síndromes de polinização ocorrentes em uma área de Mata Atlântica, Paraíba, Brasil. **Biotemas**, v.4, n.22, p.83-94, 2009.
- ARDITTI, J. **Fundamentals of orchid biology**. New York: John Wiley & Sons, 1992.
- ARGUE, C.L. **The Pollination Biology of North American Orchids: North of Florida and Mexico**. New York: Springer Science. v.1, 2012.
- ARMBRUSTER, W.S. Within-habitat heterogeneity in baiting samples of Euglossine bees: Possible causes and implications. **Biotropica**, v.25, p.122-128, 1993.
- ASHMAN, T.; SCHOEN, D.J. The cost of floral longevity in *Clarkia tembloriensis*: an experimental investigation. **Evolutionary Ecology**, Springer, 1997.
- BARBOSA, M.R.V. **Estudo florístico e fitossociológico da Mata do Buraquinho, João Pessoa, Paraíba**. Campinas: 1996. (Doutorado em Biologia Vegetal). Universidade Estadual de Campinas.
- BARBOSA, M.R.V; et. al. Checklist of the vascular plants of the Guaribas Biological Reserve, Paraíba, Brazil. **Revista Nordestina de Biologia**, p.79-106, 2011.
- BARROS, F.; RODRIGUES, V.T.; BATISTA, J.A.N. **Orchidaceae**. In: Stehmann, J.R.; Forzza, R.C.; Salino, A.; Sobral, M.; Costa, D.P.; Kamino, L.H.Y. (Org.). **Plantas da Mata Atlântica**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro. p.372-403, 2009.

- BARROS, F.; et. al. **Orchidaceae** In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB12194>>. Acesso: 06 out. 2014.
- BEZERRA, C.P.; MARTINS, C.F. Diversidade de Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) em dois fragmentos de Mata Atlântica localizados na região urbana de João Pessoa, Paraíba, **Brasil. Revista Brasileira Zoologia**, v.18, p.823-835, 2001.
- BORBA E.L.; SEMIR, J.; SHEPHERD, G.J. Self-incompatibility, Inbreeding Depression and Crossing Potential in Five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) Species. **Annals of Botany**, v.88, p.89-99, 2001.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente/ Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais renováveis. **Plano de Manejo, Reserva Biológica Guaribas**. Brasília, 2003.
- BRITO, V.; TELLES, F.; LUNAU, K. Ecologia Cognitiva da Polinização. In: Rech, A.; Agostini, K.; Oliveira, P.E.; Machado, I.C. (Org.) **Biologia da Polinização**. 1ed. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014.
- BROSI, B.J.; DAILY, G.C.; SHIH, T.M.; OVIEDO, F.; DURÁN, G. The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. **Journal of Applied Ecology**, v.45, p.773–783, 2008.
- BULLOCK, S.H. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest. **Biotropica**, v.17, p.287 -301, 1985.
- BURNS-BALOGH, P. Generic redefinition in the subtribe *Spiranthinae* (Orchidaceae). **Botanical Society of America**, v.69, p.1119-1132, 1982.
- CAETANO, A.P.S.; CORTEZ, P.A. Reprodução assexuada. In: RECH, A.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. (Org.). **Biologia da Polinização**. 1ed. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014.
- CARVALHO, R.; MACHADO, I.C. Pollination of *Catasetum macrocarpum* (Orchidaceae) by *Eulaema bombiformis* (Euglossini). **Lindleyana**, v.17, p.85-90, 2002.
- CARVALHO, R; MACHADO, I.C. *Rodriguezia bahiensis* Rchb. f.: biologia floral, polinizadores e primeiro registro de polinização por moscas Acroceridae em Orchidaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v.29, p.461-470, 2006.
- CARVALHO, R. **Recursos florais e ecologia da polinização de quatro espécies de Orchidaceae em um remanescente de Floresta Estacional Semi-Decidual no Nordeste do Brasil**. Recife: 2001. (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal de Pernambuco.
- CARVALHO, R.; WEBBER, A.C. Biologia floral de *Unonopsis quatterioides* (ADC) RE Fr., uma Annonaceae polinizada por Euglossini. **Revista Brasileira de Botânica**, v.23, n.4, p.421-425, 2000.

- CATLING, P.M.; CATLING, V.R. A synopsis of breeding systems and pollination in North American orchids. **Lindleyana**, v.6, p.187-210, 1991.
- CRUDEN, R.W.; HERMANN, S.M.; PETERSON, S. Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. In: Bentley, B. & Elias, T. (Org.). **The biology of nectaries**. New York: Columbia University Press. p.80-125, 1983.
- DAFNI, A.; KEVAN, P.G.; HUSBAND, B.C. **Practical pollination biology**. Ontario: Enviroquest Cambridge, 2005.
- DAVIES, K.F.; MARGULES, C.R.; LAWRENCE, J.F. A synergistic effect puts rare, specialized species at greater risk of extinction. **Ecology**, v.85, p.265– 271, 2004.
- DODSON, C.H; et. al. Biologically active compounds in orchid fragrances. **Science**, v.164, p.1243-1249, 1969.
- DRESSLER, R.L. Biology of the orchid bees (Euglossini). **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, v.13, p.373-394, 1982.
- DRESSLER, R.L. Observations on orchids and euglossine bees in Panama and Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, v.15, n.1, p.143-183, 1968.
- DRESSLER, R.L. **The Orchids: Natural History and Classification**. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 1981.
- DUDAREVA, N.; PICHERSKY, E. (Org.) **Biology of floral scent**. Boca Raton, Florida: Taylor e Francis, 2006.
- EDENS-MEIR, R.; BERNHARDT, P. **Darwin's Orchids: Then and Now**. University of Chicago Press: Chicago, 2014.
- FAEGRI, K.; VAN DER PILJ, L. **The principles of pollination ecology**. 3ed. New York: Pergamon Press, 1979.
- FLAMINI, G.; CIONI, P.L.; MORELLI, I. Analysis of the essential oil of the aerial parts of *Viola etrusca* from Monte Labbro (South Tuscany, Italy) and in vivo analysis of flower volatiles using SPME. **Flavour and Fragrance Journal**, v.17, p.147–149, 2002.
- GALETTO, L.; BERNARDELLO, G.; RIVERA, G. Nectar, nectaries, flower visitors, and breeding system in five terrestrial Orchidaceae from Central Argentina. **Journal of Plant Research**, v.110, p.393–403, 1997.
- GIL, M.; DE MARCO, R.J. Olfactory learning by means of trophallaxis in *Apis mellifera*. **Journal of Experimental Biology**, v.208, p.671-680, 2005.
- GLOVER, B.J. Pollinator attraction: the importance of looking good and smelling nice. **Current Biology**, v.21, n.9, p.307–309, 2011.

- GÓMEZ, J. M. Generalización en las interacciones entre plantas y polinizadores. **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 75, p. 105-116, 2002.
- GOVAERTS, R. Computer printout of the monocot checklist. **Kew, Royal Botanic Gardens**, 2003.
- GREGG, K.B. Defrauding the deceitful orchid: pollen collection by pollinators of *Cleistes divaricata* and *C. bifaria*. **Lindleyana**, v.6, p.214–220, 1991.
- HARBORNE, J.B. Biochemistry of plant pollination. In: **Introduction to ecological biochemistry**. London: Academic Press, 1993.
- HEIL, M. Nectar: generation, regulation and ecological functions. **Trends in Plant Science**, v.16, p.191-200, 2011.
- HEINRICH, B. Energetics of Pollination. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.6, p.139-170, 1975.
- HILLS, H.G.; WILLIAMS, N.H.; DODSON, C.H. Floral fragrances and isolating mechanisms in the genus *Catasetum* (Orchidaceae). **Biotropica**, v.4, p.61-76, 1972.
- HUBER, F.K.; KAISER, R.; SAUTER, W.; SCHIESTL, F.P. Floral scent emission and pollinator attraction in two species of *Gymnadenia* (Orchidaceae). **Oecologia**, v.142, p.564–575, 2005.
- JERSÁKOVA, J.; et al. Effect of nectar supplementation on male and female components of pollination success in the deceptive orchid *Dactylorhiza sambucina*. **Acta Oecologica**, v.33, p.300-306, 2008.
- JERSÁKOVA, J.; JOHNSON, S.D.; KINDLMANN, P. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. **Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society Journal**, v.81, p.219–235, 2006.
- JERSÁKOVA, J.; JOHNSON, S.D. Lack of floral nectar reduces self-pollination in a fly pollinated orchid. **Oecologia**, v.147, p.60-68, 2006.
- KALISZ, S.; VOGLER, D.W.; HANLEY, K.M. Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. **Nature**, v.430, p.884-887, 2004.
- KASINGER, H.; BAUER, B.; DENZINGER, J. The Meaning of Semiochemicals to the Design of Self-Organizing Systems. This is a preprint of an article to appear in Proceedings of the 2nd IEEE Int. Conf. on Self-Adaptive and Self-Organizing Systems, Venice, v.1, p.20-24, 2008.
- KNUDSEN, J.T.; ERIKSSON, R.; GERSHENZON, J.; STAHL, B. Diversity and distribution of floral scent. **Botanical Review**, v.72, p.1-120, 2006.
- KOLTUNOW, A.M.; GROSSNIKLAUS, U. Apomixis: a developmental perspective. **Annual Review of Plant Biology**, v.54, p.547-74, 2003.

- LEVIN, D.A.; Mating system shifts on the trailing edge. **Annals of Botany**, v.109, p. 613-620, 2012.
- LIMA, P.J.; HECKENDORFF, W.D. Climatologia. In: **Governo do Estado da Paraíba. Atlas geográfico do Estado da Paraíba**. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. 1985.
- LUNAU, K. Evolutionary aspects of perfume collection in male euglossine bees (Hymenoptera) and of nest deception in bee-pollinated flowers. **Chemoecology**, v.3, p.65-73, 1992.
- MAIA, A.C.D.; LIMA, C.T.; NAVARRO, D.M.A.F.; CHARTIER, M.; GIULIETTI, A.M.; MACHADO, I.C. The floral scents of *Nymphaea* subg. *Hydrocallis* (Nymphaeaceae), the New World night-blooming water lilies, and their relation with putative pollinators. **Phytochemistry**, v.103, p.67-75, 2014.
- MAJETIC, C.J.; RAGUSO, R.A.; TONSOR, S.J.; ASHMAN, T.L. Flower color-flower scent associations in polymorphic *Hesperis matronalis* (Brassicaceae). **Phytochemistry**, v.68, p.865–874, 2007.
- MARTINS, C.F.; SOUZA, A.K.P. Estratificação vertical de abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae em uma área de Mata Atlântica, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.22, p.91-913, 2005.
- MICHENEAU, C.; JOHNSON, S.D.; FAY, M. Orchid pollination: from Darwin to the present day. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.161, p.1-19, 2009.
- MILET-PINHEIRO, P.; NAVARRO D.M.A.F, DÖTTERL, S.; CARVALHO, A.T.; PINTO, C.E.; AYASSE, M.; SCHLINDWEIN, C. Pollination biology in the dioecious orchid *Catasetum uncatum*: How does floral scent influence the behaviour of pollinators? **Phytochemistry**, v.116, p.149-161, 2015.
- MILET-PINHEIRO, P.; SCHLINDWEIN, C.; Do euglossine males (Apidae, Euglossini) leave tropical rainforest to collect fragrances in sugarcane monocultures? **Revista Brasileira de Zoologia**, v.22, n.4, 2005.
- MYERS, N.; et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v.403, p.853-585, 2000.
- NEILAND, M.R.; WILCOCK, C.C. Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae. **American Journal of Botany**, v.,85, p.1657–1671, 1998.
- NEMÉSIO, A. **Orchid bees (Hymenoptera: Apidae) of the Brazilian Atlantic Forest**. Zootaxa. New Zealand: Magnolia Press, v.2041, p.241, 2009.
- NEWMAN, E.; ANDERSON, B.; JOHNSON, S.D. Flower colour adaptation in a mimetic orchid. **Proceedings of the Royal Society B**, v.279, p.2309-2313, 2012.

- NEMÉSIO, A. Are orchid bees at risk? First comparative survey suggests declining populations of forest-dependent species. **Brazilian Journal Biology**, v.73, p.367–374, 2013.
- NEMÉSIO, A.; SILVEIRA, F.A. Edge effects on the orchid-bee fauna (Hymenoptera: Apidae) at a large remnant of Atlantic Rain Forest in southeastern Brazil. **Neotropical Entomology**, v.35, p.313–323, 2006.
- NICOLSON, S.W.; NEPI, M.; PACINI, E. (Org.). **Nectaries and Nectar**. Dordrecht: Springer, 2007.
- NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. **Journal of Chemical Ecology**, v.2, n.2, p.211–220, 1976.
- NUNES, C.E.P.; PEÑAFLORES, M.F.G.V.; BENTO, J.M.S.; SALVADOR, M.J.; SAZIMA, M. The dilemma of being a fragrant flower: The major floral volatile attracts pollinators and florivores in the euglossine-pollinated orchid *Dichaea pendula*. **Oecologia**, 2016.
- OLIVEIRA, M.L. Sazonalidade e horário de atividade de abelhas Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) em florestas de terra firme na Amazônia Central. **Revista brasileira Zoologia**, v. 16, n.1, p.83-90, 1999.
- OLIVEIRA, P.E.; GIBBS, P.E. Reproductive biology of wood plants in cerrado Community of Central Brazil. **Flora**, v.195, p.311-329, 2000.
- OLIVEIRA, R.; et. al. Abelhas Euglossini (Hymenoptera – Apidae) no Centro de Endemismo Pernambuco. In: Pôrto, K.; Almeida-Cortez, J.; Tabarelli, M. (Org.). **Diversidade Biológica e Conservação da Mata Atlântica ao Norte do Rio São Francisco**. 1ed, v.1, p.239-256. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005.
- PANSARIN, E.R. Biologia reprodutiva e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (Orchidaceae). **Revista Brasileira Botânica**, n.26, v.2, p.203-211, 2003.
- PEDRON, M.; BUZATTO, C.R.; SINGER, R.B.; BATISTA, J.A.N.; MOSER, A. Pollination biology of four sympatric species of *Habenaria* (Orchidaceae: Orchidinae) from Southern. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.170, p.141-156, 2012.
- PERUQUETTI, R.C.; CAMPOS, L.A.O.; COELHO, C.D.P.; ABRANTES, C.V.M.; LISBOA, L.C.O. Abelhas Euglossini (Apidae) de áreas de Mata Atlântica: abundância, riqueza e aspectos biológicos. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, n.2, p.101-118, 1999.
- PESSOA, E.; ALVES, M. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Orchidaceae. **Rodriguésia**, v.62, n.3, p.341-356, 2012.
- POLICHA, T. **Pollination biology of the mushroom-mimicking orchid genus *Dracula***. Oregon: 2014. (PhD thesis). University of Oregon.

- POLICHA, T.; et. al. Disentangling visual and olfactory signals in mushroom-mimicking *Dracula* orchids using realistic three-dimensional printed flowers. **New Phytologist**, 2016.
- POWELL, A.H.; POWELL, G.V.N. Population Dynamics of Male Euglossine Bees in Amazonian Forest Fragments. **Biotropica**, v.19, n.2, p.176-179, 1987.
- PYKE, G.H. What does it cost a plant to produce floral nectar? **Nature**, v.350, p.58–59, 1991.
- RAGUSO, R.A.; PELLMYR, O. Dynamic headspace analysis of floral volatiles: a comparison of methods. **Oikos**, n.81, p.238-254, 1998.
- RAGUSO, R.A.; Wake up and smell the roses: The ecology and evolution of floral scent. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics**, v.39, p.549-569, 2008.
- RAMALHO, A.V.; GAGLIONE, M.C.; OLIVEIRA, M.L. Comunidades de abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em fragmentos de Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.53, n.1, p. 95-101, 2009.
- RAMALHO, M.; SILVA, M.; SILVA, M.D.; ROSA, J.F.; BATISTA, M.L.S. Por que machos de abelhas *Eulaema nigrita* (Hymenoptera: Euglossini) coletam o mesófilo de folhas de *Guarea guidonia* (Meliaceae)? **Sitientibus - Série Ciências Biológicas**, v.6, p.277-281, 2006.
- RECH, A.; AVILA JR, R.S.; SCHLINDWEIN, C. Síndrome de polinização: especialização e generalização. In: RECH, A.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. (Orgs.) **Biologia da Polinização**. 1ed. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014.
- ROSA-GUERRERO, V.; et. al. A quantitative review of pollination syndromes: floral traits predict effective pollinators? **Ecology Letters**, v.17, p.388-400, 2014.
- ROUBIK, D.W.; ACKERMAN, J.D. Long-term ecology of euglossine orchid-bees in Panama. **Oecologia**, v.73, p.321-333, 1987.
- SALAZAR, G.A.; INGROUILLE, M.J. Phylogenetics of Cranichideae with an emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae: Orchidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA sequences. **American Journal of Botany**, v.90, p.777-795, 2003.
- SALZMANN, C.C.; NORDELLA, A.M.; COZZOLINO, S.; SCHIESTL, F.P. Variability in Floral Scent in Rewarding and Deceptive Orchids: The Signature of Pollinator-imposed Selection? **Annals of Botany**, v.100, p.757-765, 2007.
- SAZIMA, M.; VOGEL, S.; COCUCCI, A.; HAUSNER, G. The perfume flowers of *Cyphomandra* (Solanaceae): pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores, and volatiles. **Plant Systematics and Evolution**, v.187, p.51-88, 1993.
- SCHIESTL, F.P.; POLL, F.M. Detection of physiologically active flower volatiles using gas chromatography coupled with electroantennography In: Jackson JF, Linskens HF, Inman R, eds. **Molecular Methods of Plant Analysis**. Analysis of Taste and Aroma. Berlin, Germany: Springer, 173–198, 2002.

- SCHIESTL, F.P.; SCHLÜTER, P.M. Floral isolation, specialized pollination, and pollinator behavior in orchids. **Annual Review of Entomology**, v.54, p.425-46, 2009.
- SHUTTLEWORTH, A.; JOHNSON, S.D. The missing stink: sulphur compounds can mediate a shift between fly and wasp pollination systems. **Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences**, v.277, p.2811–2819, 2010.
- SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.; ALMEIDA, E.A. **Abelhas brasileiras. Sistemática e identificação**. 1ed. Belo Horizonte: Fernando A. Silveira, 2002.
- SINGER, R.B. Orquídeas brasileiras e abelhas. 2004 Disponível em: www.webbee.org.br. Acesso em: 10 jan. 2016.
- SINGER, R.B.; SAZIMA, M. The pollination mechanism in the ‘Pelexia alliance’ (Orchidaceae: Spiranthinae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.131, p.249-262, 1999.
- SOS MATA ATLÂNTICA. Disponível em: < <http://www.sosmataatlantica.org.br> >. Acesso em: 18 dez. 2014.
- SOUZA, A.K.P.; HERNÁNDEZ, M.I.M.; MARTINS, C.F. Riqueza, abundância e diversidade de Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em três áreas da Reserva Biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira Zoologia**, v.22, p.320-325, 2005.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática - Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3ed. Rio de Janeiro: Editora Plantarum, 2012.
- STATSOFT, I. STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com ed. (15 Dez 2016). 2004.
- STEINER, R.K.E. The pollination of *Disperis* (Orchidaceae) by oil-collecting bees in southern Africa. **Lindleyana**, v.4, p.164-183, 1989.
- TONHASCA JR, A.; BLACKMER, J.L.; ALBUQUERQUE, G.S. Abundance and diversity of Euglossine bees in the fragmented landscape of the Brazilian Atlantic forest. **Biotropica**, v.34, p.416-422, 2002.
- TREMBLAY, R.L.; ACKERMAN, J.D.; ZIMMERMAN, J.K.; CALVO, R.N. Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.84, p.1–54, 2005.
- TREMBLAY, R.L. Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. **Canadian Journal of Botany**, v.70, p.642-650, 1992.
- TROPICOS.ORG. MISSOURI BOTANICAL GARDEN. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/Name/40029773>> . Acesso em: 10 jun. de 2015.

- VAN DER PIJL, L.; DODSON, C.H. **Orchid flowers: their pollination and evolution**. Coral Gables, University of Miami Press, 214 pp, 1966.
- VARASSIN, I.G.; AMARAL-NETO, L.P. Atrativos. In: RECH, A.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. (Org.) **Biologia da Polinização**. 1ed. Rio de Janeiro: Editora Projeto Cultural, 2014.
- WEISS, M. Vision and learning in some neglected pollinators. In: CHITTKA, L.; THOMSON, J.D. (Org.). **Cognitive Ecology of Pollination, Animal Behavior and Floral Evolution**. Cambridge: Cambridge University Press. p.171-190, 2001.
- WHITTAKER, R.H.; FEENY, P. P. Allelochemics: Chemical interactions between species. **Science**, v.171, p.757-770, 1971.
- WIKELSKI, M.; MOXLEY, J.; EATON-MORDAS, A.; *et. al.*. Large-range Movements of Neotropical Orchid Bees Observed via Radio Telemetry. **PLoSOne**, v.5, 2010.
- WILLIAMS, N.H.; WHITTEN, W.M. Orchid floral fragrances and male Euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. **Biological Bulletin**, v.164, p.355-395, 1983.