



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE SISTEMÁTICA E ECOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – BACHARELADO

Cristhyane Claudino Pimentel

Fenologia, sucesso reprodutivo e mirmecofilia de *Epidendrum cinnabarinum* (Salzm. ex
Lindl) (Orchidaceae) em fragmento de floresta atlântica no nordeste do Brasil

João Pessoa
Novembro, 2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE SISTEMÁTICA E ECOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – BACHARELADO

Cristhyane Claudino Pimentel

Fenologia, sucesso reprodutivo e mirmecofilia de *Epidendrum cinnabarinum* (Salzm. ex Lindl) (Orchidaceae) em fragmento de floresta atlântica no nordeste do Brasil

Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas, apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

Orientadora: Denise Dias da Cruz

João Pessoa
Novembro 2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

P644f Pimentel, Cristhyane Claudino.

Fenologia, sucesso reprodutivo e mirmecofilia de
Epidendrum cinnabarinum (Salzm. ex Lindl) (Orchidaceae)
em fragmento de floresta atlântica no nordeste do
Brasil / Cristhyane Claudino Pimentel. - João Pessoa,
2018.

45 f. : il.

Orientação: Denise Cruz.

Monografia (Graduação) - UFPB/CCEN.

1. defesa, herbivoria, nectário-extrafloral. I. Cruz,
Denise. II. Título.

UFPB/CCEN

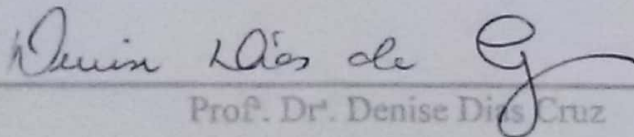
Cristhyane Claudino Pimentel

Fenologia, sucesso reprodutivo e mirmecofilia de *Epidendrum cinnabarinum* (Salzm. ex Lindl) (Orchidaceae) em fragmento de floresta atlântica no nordeste do Brasil

Trabalho de conclusão do curso de Ciências Biológicas, apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

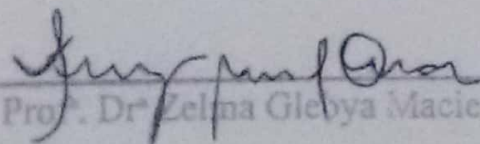
Aprovada em 12/11/2018.

Banca Examinadora



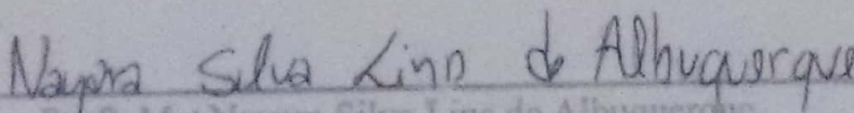
Profª. Drª. Denise Dias Cruz

Orientadora



Profª. Drª. Zelma Glebaya Maciel Quirino

DEMA/UFPB



Profª. Msc. Nayara Silva Lins de Albuquerque

PPGBV/UFPE

*Agradeço em primeiro a lugar a Deus,
que iluminou meu caminho durante esta
caminhada e a minha mãe, que sempre
fez de tudo sem nunca medir esforços
para que eu chegasse nessa etapa em
minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo gostaria de agradecer a Deus que em sua infinita bondade e misericórdia me deu forças para que pudesse chegar até aqui. Foram inúmeras as dificuldades, mas em tudo o Senhor me ajudou.

Também gostaria de agradecer a minha mãe Lucia Claudino dos Santos, essa mulher guerreira que sempre se sacrificou para me dar as melhores oportunidades, sem seu apoio eu jamais teria conquistado essa vitória. Tudo que sou hoje devo a senhora, a pessoa que mais amo e admiro nessa vida.

Meu namorado Leandro Mendes dos Santos, meu companheiro, que sempre me apoiou e instigou a superar minhas dificuldades e ir além dos meus anseios, você é um exemplo em minha vida.

A minha orientadora Denise Dias da Cruz, que com muita paciência me instruiu em tudo, fazendo com que eu ultrapasse meus limites, agradeço pelas correções, por todo incentivo e dedicação. Seus ensinamentos irei guardar por toda minha vida.

As minhas fieis companheiras Andréia Nunes e Elisama Rayane, sem dúvida nossa amizade foi um dos maiores presentes que eu poderia ganhar nessa instituição. Vocês continuaram sempre presentes em minha vida.

A todos meus amigos do Laboratório de Ecologia Terrestre, agradeço pela companhia e ajuda nos campos, pelas risadas, troca de conhecimento, vocês foram como uma família para mim.

Ao professor Rivete, Luiz Fernando, a professora Mirella, a Romilda, o Igor, a Jessica que me receberam de braços abertos em seus laboratórios, eu jamais teria conquistado esses resultados sem a ajuda de vocês.

A toda a equipe da REBIO que permitiu o desenvolvimento do meu trabalho durante esses anos, em especial ao Getúlio e Afonso.

Ao seu Guilherme juntamente com os motoristas da UFPB que sempre foram muito prestativos comigo.

A todo corpo docente e técnico administrativo que colaboraram direta ou indiretamente para a minha formação acadêmica, o meu muito obrigado.

RESUMO

Em *Epidendrum* L. o néctar é a principal recompensa oferecida aos polinizadores, no entanto, algumas espécies podem não oferecer. Os nectários extraflorais, servem de alimento para formigas que protegem a planta contra herbivoria. Nesse sentido, este estudo tem como principal objetivo investigar a fenologia, biologia reprodutiva e o sucesso reprodutivo de *Epidendrum cinnabarinum*. O estudo foi realizado na Reserva Biológica Guaribas (Rebio Guaribas), localizada na zona rural entre os municípios de Mamanguape e Rio Tinto nos anos de 2015, 2016, 2017 e 2018. Com a marcação de indivíduos para avaliação de vários parâmetros. O período de floração e frutificação inicia no mês de setembro, no entanto a produção de flores se estende até abril, enquanto que a de frutos ocorre até março. A pluviosidade exerce influência positiva sobre a frutificação ($r = -0.6094$; $p = 0.0026$). Os indivíduos apresentam um padrão na antese e na morfometria floral. É uma espécie autocompatível, no entanto, é incapaz de formar frutos espontaneamente precisando que um polinizador realize a fecundação. O sucesso reprodutivo da população ($N=3431$ flores) é baixo (1,51%), não havendo diferença significativa entre frutos formados por autopolinização e fecundação cruzada ($p=0,8014$), assim como para viabilidade de sementes ($p=0,2105$). *Epidendrum cinnabarinum* secreta néctar no interior do cuniculum onde o polinizador tem acesso, mas, também secreta externamente, na base do pecíolo de botões, flores, frutos e nas cicatrizes das brácteas atraindo formigas para sua inflorescência. Em troca, essas formigas apresentam comportamento defensivo, como observado ao atacar *Nasutitermes* sp pertencente ao grupo Isoptera, diminuindo a taxa de herbivoria, que na população correspondeu a apenas 2,6%. O investimento energético na produção de néctar em *E. cinnabarinum* é maior para defesa do que para polinização. A Lepidoptera *Phoebis sennae* foi o único visitante capaz de remover a polínea, mas, não houve deposição, uma vez que frutos não foram formados após as visitas.

Palavras Chave: defesa, herbivoria, nectário-extrafloral.

ABSTRACT

In *Epidendrum* L. nectar is the main reward offered to pollinators, however, some species may not offer. Extrafloral nectaries serve as food for ants that protect the plant against herbivory. In this sense, this study has as main objective to investigate the phenology, reproductive biology and reproductive success of *Epidendrum cinnabarinum*. The study was carried out in the Guaribas Biological Reserve (Rebio Guaribas), located in the rural zone between the municipalities of Mamanguape and Rio Tinto in the years of 2015, 2016, 2017 and 2018. With the marking of individuals to evaluate several parameters. The period of flowering and fruiting begins in the month of September, however the production of flowers extends until April, while the fruit period occurs until March. Rainfall exerts a positive influence on fruiting ($r = -0.6094$; $p = 0.0026$). The individuals present a pattern in anthesis and floral morphometry. It is a self-compatible species, however, it is unable to spontaneously produce fruit by requiring a pollinator to perform fecundation. The reproductive success of the population ($N = 3431$ flowers) was low (1.51%), there was no significant difference between fruits formed by self-pollination and cross fecundation ($p = 0.8014$), as well as for seed viability ($p = 0.2105$). *Epidendrum cinnabarinum* secretes nectar inside the cuniculum where the pollinator has access, but also secretes externally, at the base of the petiole of buds, flowers, fruits and the scars of the bracts attracting ants to their inflorescence. In contrast, these ants present defensive behavior, as observed when attacking *Nasutitermes* sp belonging to the Isoptera group, reducing the rate of herbivory, which in the population corresponded to only 2.6%. Energetic investment in nectar production in *E. cinnabarinum* is greater for defense than for pollination. *Lepidoptera Phoebis sennae* was the only visitor able to remove the polinia, but there was no deposition, since fruits were not formed after the visits.

Keywords: defense, herbivory, nectary-extrafloral.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Título: <i>Epidendrum cinnabarinum</i> com variações de cores.....	9
Figura 2 – Título: Estruturas florais.....	10
Figura 3– Título Sementes viáveis e inviáveis de <i>E. cinnabarinum</i>	11
Figura 4 – Título: Néctar em <i>E. cinnabarinum</i>	13
Figura 5 – Título: Período reprodutivo.....	14
Figura 6 – Título: Período da antese.....	15
Figura 7 – Título: Esquema ilustrativo com todas as medições feitas.....	16
Figura 8 – Título: Corte transversal do botão.....	18
Figura 9 – Título: Tempo de ataque das formigas.....	19
Figura 10 – Título: <i>Phoebis sennae</i> usando sua probóscide na flor.....	20

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Título: Média de todas as medidas das flores.....	16
Tabela 2 – Título: Média e desvio padrão da viabilidade de sementes.....	17
Tabela 3 – Tamanho médio e desvio padrão das espécies de formigas.....	18

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	3
ARTIGO CIENTÍFICO (MANUSCRITO).....	8
CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS.....	26

INTRODUÇÃO

Epidendrum L. é um dos maiores gêneros em Orchidaceae, com elevada diversidade, tendo em vista que apenas na região neotropical já foram registradas 1500 espécies (HÁGSATER & SOTO-ARENAS, 2005). No Brasil já foram identificadas 134, das quais 52 espécies são encontradas na região nordeste do país (BARROS *et al.*, 2015). Esse gênero tem sido considerado um excelente modelo para se compreender as relações evolutivas entre as espécies (PINHERIRO & COZZOLINO 2013; STPICZYNSKA, 2018), uma vez que é extremamente diverso quanto a biologia reprodutiva variando desde a auto-incompatibilidade a autogamia (HÁGSATER & SOTO-ARENAS, 2005), possui síndromes florais variadas, relações específicas ou de amplo espectro com seus polinizadores principalmente nas espécies que não oferecem recursos florais (planta de engodo) (DAFNI, 1987; NILSSON, 1992; VAN der CINGEL, 1995; COZZOLINO *et al.*, 2005). Além disso, são espécies que possuem alta variação no número de cromossomos (PINHERIRO & COZZOLINO 2013) e não apresentam barreiras genéticas e químicas que impeçam a especiação neste grupo (SOLTIS & SOLTIS, 2009; BUGGS & *et al.*, 2011).

As características que mais atraem os polinizadores são: cor, tamanho e perfumes das flores, além do fornecimento de recursos (VAN der PIJL & DODSON, 1966; HÁGSTER & SOTO-ARENAS, 2005). Segundo Tavares (2011), em *Epidendrum* o néctar é o principal recurso ofertado devido a estrutura morfológica das flores que possui o labelo adnato à coluna e permite que borboletas e mariposas, que são os principais polinizadores deste grupo, introduzam sua probóscide fina nos cunículos a procura do néctar e assim toque nas estruturas reprodutivas, realizando mais eficientemente a polinização (PIJL & DODSON 1966; DRESSELER, 1981; ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003; PANSARIN, 2003; PANSARIN & AMARAL 2008; FUHRO *et al.*, 2010; PANSARIN & PANSARIN 2017; STPICZYNSKA, 2018). Neste grupo, além das espécies que recompensam seus visitantes florais, também ocorrem espécies que não oferecem nenhum recurso, enganando os seus polinizadores (PANSARIN, 2003; PANSARIN & AMARAL, 2008; PANSARIN & PANSARIN, 2014; 2017).

Dentre os sistemas reprodutivos encontrados, a fecundação cruzada geralmente é a forma predominante de reprodução, permitindo que haja maior variabilidade genética (BORBA & BRAGA, 2003; PANSSARIM *et al.*, 2008). Em Orchidaceae é comum, principalmente nas plantas de engodo, um baixo número de visitas, uma vez que os polinizadores não recebem recompensas (ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003;

PANSARIN, 2003; PANSARIN & AMARAL, 2008; FUHRO *et al.*, 2010). Portanto, a fim de aumentar seu sucesso reprodutivo muitas dessas espécies são autocompatíveis (WITTMANN & AGNOL, 2002). Porém, é baixa a taxa de geitonogamia (quando o doador de pólen é uma flor da mesma planta), porque os polinizadores 'enganados' não tentam visitar outras flores da mesma inflorescência, as deixando após algumas tentativas de coletar o recurso (COZZOLINO & WIDMER, 2005; PASARIN & PANSARIN, 2017). Nos indivíduos autocompatíveis também pode ocorrer um sistema de reprodução mista envolvendo fatores bióticos (polinizadores) e abiótico (chuva), para desempenhar sua reprodução (AGUIAR *et al.*, 2011; PANSARIN *et al.*, 2008). Onde a autogamia é o principal sistema reprodutivo responsável pela polinização e maior taxa de produção de frutos, tendo em vista que as visitas dos polinizadores são escassas (AGUIAR *et al.*, 2012).

No entanto, a produção de recurso pela planta nem sempre está associada com a visita do polinizador. Muitas espécies de *Epidendrum* possuem nectários extra-florais, que servem de alimento para formigas que garantem proteção à planta, reduzindo os níveis de herbivoria (DELABIE, 1995; ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003). O investimento energético na produção de néctar é uma estratégia que pode ser bastante eficaz nesse sentido (NEILAND & WILCOCK, 1998). A relação mutualística entre estas duas espécies garante proteção à planta e alimento e abrigo à formiga (PEAKALL, 1994). A presença das formigas, em geral, não interfere na visita dos polinizadores e plantas com formigas não apresentam danos de herbivoria (ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003). Devido ao comportamento territorialista das formigas frente ao herbívoro, ao levantar seu abdome apontando para o intruso, além de usar sua mandíbula para expulsá-lo da inflorescência (SUBEDI *et al.*, 2011).

Epidendrum cinnabarium é uma orquídea endêmica do nordeste do Brasil, com maior predominância desde o Rio Grande do Norte até o sul da Bahia (PINHEIRO & BARROS, 2006), comumente observada em afloramentos rochosos e cerrado. Possui um hábito epífita, pois sempre é observada associada com outras plantas (ALVES & PESSOA, 2014) e por ser presente em um ambiente hostil, a mesma apresenta estruturas especializadas como pseudobulbo, o velame, hipoderme e cutícula espessa para garantir sua sobrevivência (ALMEIDA *et al.*, 2007; DELBONE, 2012). Tendo em vista que o gênero *Epidendrum* é um grupo extremamente diverso, ainda há poucos estudos feitos com este grupo (RABELO, 2016). Nesse sentido, este estudo tem como principal objetivo investigar a fenologia, biologia reprodutiva e o sucesso reprodutivo de *Epidendrum*

cinnabarinum. Objetiva-se analisar mais especificamente a influência da pluviosidade no padrão fenológico, a morfometria floral, avaliar se é uma espécie auto compatível e qual a guilda de polinizadores, investigar anatomicamente a presença de nectários florais e extraflorais, determinar a taxa de herbivoria natural e avaliar se as formigas protegem as estruturas reprodutivas contra herbivoria.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Fenologia

Dentro das populações é de suma importância entender os padrões fenológicos das espécies, ou seja, seu ciclo de vida que inclui diversas fases como: o brotamento, a floração e frutificação e assim compreender as relações ecológicas que as mesmas possuem (TALORA & MORELLATO, 1999; TANNUS *et al*, 2006). Neste contexto, os fatores abióticos podem influenciar na fenologia das espécies (PESSOA, 2011). Dentre esses fatores um dos que mais se destacam é a pluviosidade. Que tem grande influência no período de floração principalmente de orquídeas que vivem no cerrado, uma vez que estes ambientes são marcados predominantemente por duas estações no ano (verão e inverno) (LEAL & MORAES, 2014).

Algumas espécies que recebem um baixo número de visitas de seus polinizadores aumenta a longevidade de suas flores para otimizar sua reprodução (MARQUES & DRAPER, 2012). Uma vez que a longevidade é um fator chave na aptidão reprodutiva das plantas (SCHOEN & ASHAMAN, 1995). O tempo de vida da flor pode ser influenciado por condições ambientais, como mudanças sazonais do clima e a atividade dos polinizadores (RATHCKE, 2003). É comum em Orchidaceae algumas espécies permanecerem com suas flores abertas por muito tempo, podendo chegar a vários meses (PRIMACK, 1985; ASHMAN & SCHOEN 1994). Isso ocorre porque em habitats onde a visita dos polinizadores são raras é vantajoso ter um maior gasto energético para manter as flores atrativas e assim aumentar o sucesso reprodutivo (RATHCKE, 2003).

A pluviosidade pode afetar negativamente o período de vida das flores, assim como dificultar as visitas dos polinizadores, diminuindo assim seu sucesso reprodutivo (VEGA & MARQUES, 2015). No entanto, em algumas orquídeas autocompatíveis, a pluviosidade pode ajudar na reprodução dessas espécies, uma vez que os pingos de chuva fazem com que haja a autopolinização, quando as visitas dos polinizadores são escassas (AGUIAR *et al.*, 2011; PANSARIM *et al.*, 2008).

Biologia reprodutiva e recursos florais

Para atrair seus polinizadores as flores possuem diversas características morfológicas e recursos que podem configurar as denominadas síndromes florais, sendo definidas por parâmetros como tamanho, cor e odor (perfumes florais) e tipo de recurso floral produzido (VAN der PIJL & DODSON, 1966; HÁGSTER & SOTO-ARENAS, 2005; VIEIRA & FONSECA, 2014). As cores atraentes e flores vistosas na maioria das síndromes têm o objetivo de induzir os polinizadores a procurar o recurso e, ao mesmo tempo, leva-los a realizar a polinização (quando o grão de pólen toca o estigma, havendo fecundação no ovário e posteriormente formação de fruto) (LIMA, 2010).

Segundo Sakai *et al.*, (1998) a morfologia da flor e o tipo de recurso oferecido são estratégias para delimitar as síndromes de polinização, pois podem restringir ou orientar o acesso do visitante aos recursos florais. Em muitos estudos já foram observadas flores com características específicas para tipos específicos de polinizadores (FAEGRI & PIJL, 1979). No entanto, atualmente essa relação de especificidade tem sido revista, devido a exemplos de espécies vegetais que possui flores morfológicamente complexas e com características favoráveis à polinização por um determinado grupo, mas que apresentam um grande número de visitantes (MCDADE, 1992; HERRERA; OLLERTON; WASER *et al.*, 1996).

Apesar de definirmos a polinização como uma relação mutualística entre a planta e o seu polinizador, existe um conflito de interesse entre ambas as partes, uma vez que o polinizador deseja obter o máximo de lucro durante o forrageamento, sem gastar tanta energia (RECH, 2014). Enquanto que a planta deve oferecer o recurso mais nutritivo e atrativo, mas que esteja bem distribuído entre as diferentes flores, para que ‘force’ o polinizador a visitar o máximo de flores possíveis (RECH, 2014). O polinizador efetivo deve ter um ajuste físico que permita que ao consumir o recurso o mesmo retire o grão de pólen e transfira para o estigma da outra flor (RECH, 2014). Este também precisa forragear no período (sazonal ou diário) adequado, ou seja, durante o período em que a flor esteja receptiva. (RECH, 2014).

Os recursos florais são classificados como nutritivos, ou seja, para alimentação (pólen, néctar, lipídeos e tecidos florais) e não nutritivos (construção de ninhos e atração sexual), sendo estes as resinas e as fragrâncias (RECH *et al.*, 2014). Com relação ao percentual de distribuição destes recursos, Santos (2006), em seu trabalho observou que o néctar é o recurso mais ofertado pelas plantas correspondendo a 37%, seguido do pólen

(31%), pólen/néctar (12%), óleo (5%) e resina (1%). Esse mesmo padrão de distribuição tem sido visto em outros estudos (GOTTSBERGER & GOTTSBERGER, 1988; RAMIREZ *et al.*, 1990; ORMOND *et al.*, 1993; BARBOSA, 1997; OLIVEIRA & GIBBS, 2000; MACHADO & LOPES, 2002; TAVARES, 2011). Tendo em vista que a maioria das visitas são impulsionadas pela necessidade alimentar, essa distribuição é uma característica comum nas comunidades com uma grande diversidade de polinizadores (KEVAN & BAKER, 1983; RECH *et al.*, 2014).

As plantas que não oferecem nenhuma recompensa aos seus visitantes florais são denominadas como plantas de engodo. Essa característica é relativamente comum em Orchidaceae onde estima-se que um terço das orquídeas não oferecem nenhum tipo de recurso aos seus polinizadores (COZZOLINO & WIDMER, 2005) e consequentemente possui um número baixo de visitas (ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003; PANSARIN, 2003; PANSARIN & AMARAL, 2008; FUHRO *et al.*, 2010). Portanto, afim de aumentar seu sucesso reprodutivo muitas dessas espécies são autocompatíveis (WITTMANN & AGNOL, 2002), ou seja, são espécies que não apresentam barreiras químicas, físicas ou genéticas que impeçam que sua polínea (bolsa armazenadora do grão de pólen), entre em contato com o seu estigma, formando o tubo polínico e consequentemente promovendo a fecundação (WITTMANN & AGNOL, 2002). Além disso, nessas espécies não ocorre a geitonogamia (quando o doador de pólen é uma flor da mesma planta), porque os polinizadores 'enganados' não tentam visitar outras flores da mesma inflorescência, as deixando após algumas tentativas de coletar o néctar (COZZOLINO & WIDMER, 2005; PANSARIN & PANSARIN, 2017).

Dentre os gêneros pertencentes a família Orchidaceae, *Epidendrum* L. é um dos maiores, com mais de 1500 espécies apenas na região neotropical (HÁGSATER & SOTO-ARENAS, 2005) este engloba um amplo repertório de sistemas reprodutivos que variam de auto-incompatibilidade a autogamia (HÁGSATER & SOTO-ARENAS, 2005). Mas para garantir uma maior variabilidade genética a fecundação cruzada é geralmente a forma predominante (BORBA & BRAGA, 2003; PANSARIM *et al.*, 2008). Essas espécies também utilizam um sistema de reprodução misto envolvendo tanto fatores bióticos que são os polinizadores, como abiótico, que é a chuva, para desempenhar sua reprodução (AGUIAR *et al.*, 2011; PANSARIM *et al.*, 2008).

Interação planta-polinizador

O surgimento de flores nas angiospermas permitiu a maior diversificação das espécies por meio da polinização (FAVATO, 2009). Após a definição das zonas climáticas (Cretáceo), principalmente nas regiões tropicais do globo, houve-se a necessidade do mecanismo de polinização, uma vez que, a distância entre indivíduos e diversidade de espécies dificultava a anemofilia (polinização pelo vento). Para que haja fecundação é preciso passar obrigatoriamente por três etapas das quais são: retirada do grão de pólen das anteras, transporte do mesmo até uma flor e pôr fim a deposição do pólen no estigma da flor receptiva (HARDER, 1997; SANTOS, 1998). Por isso, os vetores animais têm capacidade superiores às do vento para a polinização, pois além de serem mais rápidos são também mais precisos (LIMA; PELLMYR 2000).

É de suma importância compreender e dimensionar o grau de dependência entre a relação planta-polinizador, uma vez que interações estreitas trazem informações importantes sobre as necessidades que populações animais e vegetais apresentam em seu processo de diversificação (MITTEMIER *et al.*, 1992; ENDRESS, 1994). Além disso, estima-se que a dispersão de pólen por animais contribui para a reprodução sexuada de aproximadamente 90% das 250 mil espécies conhecidas de angiospermas (BAWA, 1990).

Em algumas famílias como Fabaceae, Malpighiaceae, Bignoniaceae e Orchidaceae, os recursos são acessíveis apenas aos visitantes efetivos, visando assim otimizar o sucesso reprodutivo (OBELLUMER *et al.*, 2008). As principais síndromes de polinização por vetores bióticos são: melitofilia (polinização por abelhas e vespas) cantarofilia (besouros), miofilia (moscas), psicofilia (borboletas), falenofilia (mariposas), ornitofilia (aves), quiropterofilia (morcegos) e vetores abióticos anemofilia (pelo vento) e hidrofilia (pela água) (FRAEGI & VAN der PIJL, 1979). Tais síndromes não representam ligações filogenéticas entre plantas que visam atrair o mesmo grupo de polinizadores, ou seja, que tenham em comum o mesmo tipo de síndrome, no entanto, essas relações é reflexo de um padrão de convergência evolutiva (GUEDES, 2011).

Antigamente acreditava-se que a polinização por borboletas (psicofilia) era pouca efetiva (WIKLUND *et al.*, 1979). No entanto, com o aumento dos estudos ecológicos a nível de comunidade foi observado que diferentes espécies de borboletas podiam se comportar, em diferentes níveis de eficiência durante a polinização, podendo ser desde mais generalistas a específicas (BLOCH *et al.*, 2006; STEFANESCEU & TRAVESET, 2009). Atualmente são conhecidas diversas famílias que são exclusivamente polinizadas por Lepidopteras (CRUDEN & HERMANN-PARKER,

1979; WILLMER, 2011). Dos quais se destaca em Orchidaceae o gênero *Epidendrum* onde as flores apresentam características morfológicas, das quais são flores tubulares, com labelo adnato a coluna e néctar como recompensa para o polinizador (PIJL & DODSON 1966; DRESSELER, 1981; ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003; PANSARIN, 2003; PANSARIN & AMARAL 2008; FUHRO *et al.*, 2010; PANSARIN & PANSARIN 2017; STPICZYNSKA, 2018). Tendo em vista que borboletas percorrem maiores distancias do que abelhas, estas são consideradas excelentes vetores para a polinização cruzada (WASER, 1982; HERRERA, 1987).

A principal família com o maior número de plantas polinizadas por engodo é Orchidaceae, com aproximadamente 6.000 espécies (DRESSLER, 1990). Estas espécies podem simular características gerais de plantas recompensadoras tais como: cor, odor e morfologia, sendo assim polinizadas pelo mesmo grupo de polinizadores (JERSÁKOVÁ *et al.*, 2009), não havendo o mimetismo batesiano, que é quando a espécie mimica imita uma espécie modelo (GUMBERT & KUNZE, 2001; GALIZIA *et al.*, 2005). A polinização por engodo generalista é muito comum no gênero *Epidendrum*, onde as espécies apresentam similaridades fenotípicas entre espécies que são polinizadas por várias espécies de Lepidopteras (PANSARIN *et al.*, 2008). O engano pode se dar pela simulação de alimento onde as espécies enganadoras possui maior sucesso reprodutivo quando estão presentes em simpatria com espécies recompensadoras, uma vez que o polinizador não consegue distingui-las e acaba visitando ambas as espécies (JOHNSON, 1994). Porém, as flores também podem se assemelhar a locais de ovoposição e abrigo, além de simular ser um parceiro sexual, ambas as interações são bem mais específicas e é comum ocorrer em plantas polinizadas por insetos (BORBA & SEMIR, 2001; VAN DER NIET *et al.*, 2011; SCHIESTL, 2005).

Orchidaceae é uma das famílias características por apresentar uma enorme diversidade de mecanismos de polinização (DARWIN, 1862; VAN der PIJL & DODSON, 1966), uma vez que já foi observado aves, borboletas, mariposas, moscas e besouros polinizando suas flores (HÁGSTER & SOTO-ARENAS, 2005; ANJOS *et al.*, 2017; PANSARIN & PANSARIN, 2017). A presença de híbridos em algumas espécies denota que não existem barreiras genéticas, morfológicas ou químicas que impeçam a especiação neste grupo (SOLTIS & SOLTIS, 2009; BUGGS & *et al.*, 2011). No entanto, apesar da diversidade de polinizadores, o processo de polinização em orquídeas é extremamente especializado e complexo (VAN der PIJL & DODSON, 1966; TREMBLAY *et al.*, 2005; VILLABOLOS, 2015). Exceto nas espécies de engodo que

tem um grande espectro de polinizadores visitando suas flores por engano e portanto não apresenta esse tipo de sistema reprodutivo (DAFNI, 1987; NILSSON, 1992; VAN der CINGEL, 1995; COZZOLINO *et al.*, 2005).

METODOLOGIA

Área de estudo

O estudo foi realizado na Reserva Biológica Guaribas (Rebio Guaribas), que é uma unidade de conservação integral gerida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. A Rebio Guaribas está localizada na zona rural dos municípios de Mamanguape e Rio Tinto no estado da Paraíba (6°44'02"S 35°10'32"W, 6°40'53"S 35°09'59"W). Sua vegetação principal é a Floresta Atlântica, mas com machas de cerrado, apresentando uma extensão total de 4.321 hectares, dividido em três fragmentos chamados de SEMA I, II e III (DOMINGUES *et al.*, 2013).

O trabalho de campo foi realizado na SEMA II, caracterizada por apresentar predominantemente fisionomia de floresta, no entanto, também podem ser observadas manchas abertas proveniente do Cerrado, que é o habitat da espécie *E. cinnabarium*. A temperatura média anual varia entre 24° e 26 °C, com máxima de 36 °C e a precipitação anual varia entre 1.310 mm (Rio Tinto) e 1.512 mm (Mamanguape). Assim destacam-se duas principais estações, sendo uma chuvosa e outra de seca. A maior precipitação, ocorre de fevereiro a julho, sendo abril, maio e junho os meses mais úmidos (1.512 mm) e o período de verão vêm logo depois, com novembro se caracterizando por ser o mês mais seco (MMA/IBAMA, 2003; AESA/PB 2004).

Espécie estudada

Epidendrum cinnabarium é uma orquídea endêmica do nordeste do Brasil, com maior predominância desde o Rio Grande do Norte até o sul da Bahia (PINHEIRO, 2006), comumente observada em afloramentos rochosos e cerrado. Possui um hábito epífita, pois sempre é observada associada com outras plantas (ALVES & PESSOA, 2014) e por ser presente em um ambiente hostil, a mesma apresenta estruturas especializadas como pseudobulbo, o velame, hipoderme e cutícula espessa para garantir sua sobrevivência (ALMEIDA *et al.*, 2007; DELBONE, 2012).

Possui crescimento clonal e em geral, apresentam até 5 inflorescências em um único indivíduo e podem chegar à 21 flores por inflorescência. As flores têm uma variação de cores, desde o laranja meio amarelado, até um tom rosado (Fig. 1), as mesmas possuem cinco tépalas glabras, eretas, lanceoladas e livres entre si, seu labelo também é glabo, trilobado, com margens fribriadas, membranáceo com dois calos lineares e é adnato ao ovário que se localiza no interior do pedicelo (BASTOS & BERG, 2011). O fruto é do tipo capsula com centenas de diminutas sementes (DRESSLER, 1993).

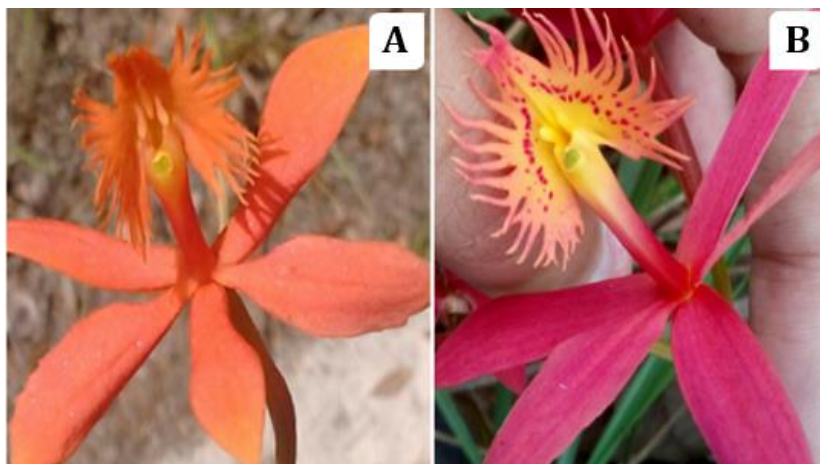


Figura 1: A-B Flor de *Epidendrum cinnabarinum*, com variação de cores. Fonte: Andréia Nunes.

Técnicas de coleta

O trabalho de campo foi realizado nos anos de 2015, 2016, 2017 e 2018 com a marcação dos indivíduos em início de floração, ou seja, indivíduos com emissão de inflorescência, e a partir disso vários critérios foram avaliados, conforme descrição abaixo.

2.1 Fenologia: Para avaliar a frequência de botões, flores, frutos verdes e maduros, os indivíduos foram marcados à medida que as inflorescências eram emitidas, chegando a um total de 40 indivíduos com 376 inflorescências diferentes, estes mesmos indivíduos foram acompanhados do período de outubro de 2015 a junho de 2017, totalizando dois anos de acompanhamento fenológico (2015-2016 e 2016-2017). Durante o período reprodutivo, as inflorescências eram acompanhadas semanalmente. Ao término desse período, as visitas foram mensais.

2.2 Pluviosidade: Os dados das médias mensais de pluviosidade foram coletados do site da AESA para avaliação do efeito da pluviosidade sobre as fenofases, onde foi

realizada uma Correlação de Pearson As análises foram realizadas no programa BioEstat 5.0.

2.3 Período de antese: Os botões que estavam prestes a abrir foram marcados, observados e fotografados a cada hora. Esse acompanhamento foi realizado em dois botões, a partir das 05h00min até a sua abertura completa.

2.4 Morfometria floral: Ao todo foram retiradas 21 flores de diferentes indivíduos que foram medidas com o auxílio de um paquímetro algumas horas depois de serem coletadas, garantindo assim maior fidelidade nos resultados encontrados. Todas as partes das flores foram submetidas a esta análise, portanto foram medidas as tépala, comprimento e distância de uma em relação à outra, o labelo, o pedicelo onde estar contido o ovário ínfero e a polínea (Fig.2). Dessa forma, os resultados foram comparados e analisamos a determinação da amplitude das medições morfológicas da flor.

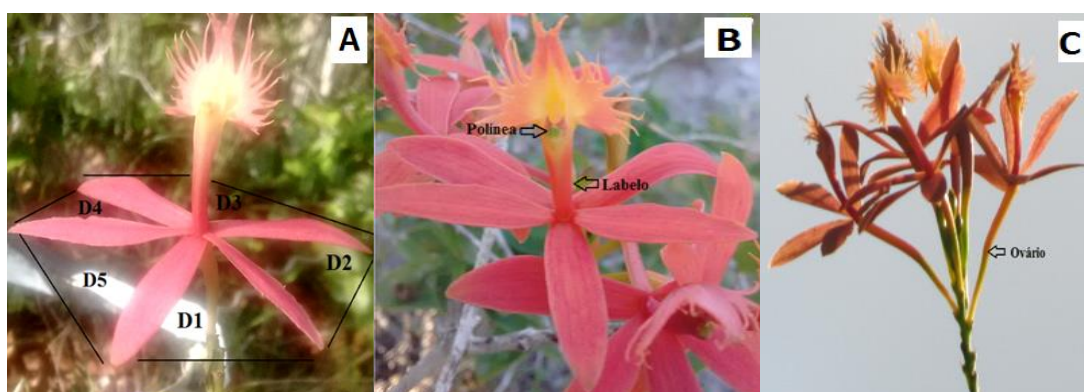


Figura 2: A-C. *E. cinnabarinum*. A. D1= Distância entre 1° e 2° tépala, D2= Distância entre 2° 3°, D3= Distância entre 3° e 4° tépala, D4= Distância entre 4° e 5° tépala, D5= Distância entre 5° e 1° tépala. B. Polínea e Labelo. C. Ovário. Fonte: próprio autor.

2.5 Testes reprodutivos: Indivíduos que apresentavam apenas botões foram ensacados com sacos de tule, impedindo o contato do polinizador com as suas partes reprodutivas, além disso, foram utilizadas fitas com cores distintas para cada experimento. Ao todo foram feitos quatro testes: Autopolinização manual (N=90 flores), polinização cruzada (N=60), autopolinização (N=354) e agamospermia (N=14). A frutificação natural (controle) foi acompanhada em toda população (N=3431 flores). Em todos os testes as flores foram observadas até após a senescência, avaliando-se a formação ou não de frutos. Posteriormente estes foram submetidos ao teste Quiquadrado com tabela de contingência. Com os resultados das taxas de formação de fruto por autopolinização manual e polinização cruzada foi calculado o índice de incompatibilidade

(ISI) (BULLOCK, 1985), considerando-se auto-incompatível quando $ISI < 0.25$ (OLIVEIRA & GIBBS, 2000).

2.6 Viabilidade de sementes: Após a realização de testes reprodutivos foram coletados os frutos de autopolinização manual (N=27 frutos), polinização cruzada (N=20) ambos os testes de 7 indivíduos diferentes e o controle com 10 indivíduos (N=52), estes foram guardados em freezer, permitindo assim que os mesmos permanecessem conservados por mais tempo para futura observação das sementes que foram separadas e analisadas em um microscópio estereoscópico. Foram observadas duzentas sementes por fruto, onde foi observado a presença ou não de embriões (Fig. 3) (BORBA *et al.*, 2001). As sementes viáveis por frutos oriundos de cada teste foram comparadas através de uma análise de variância.

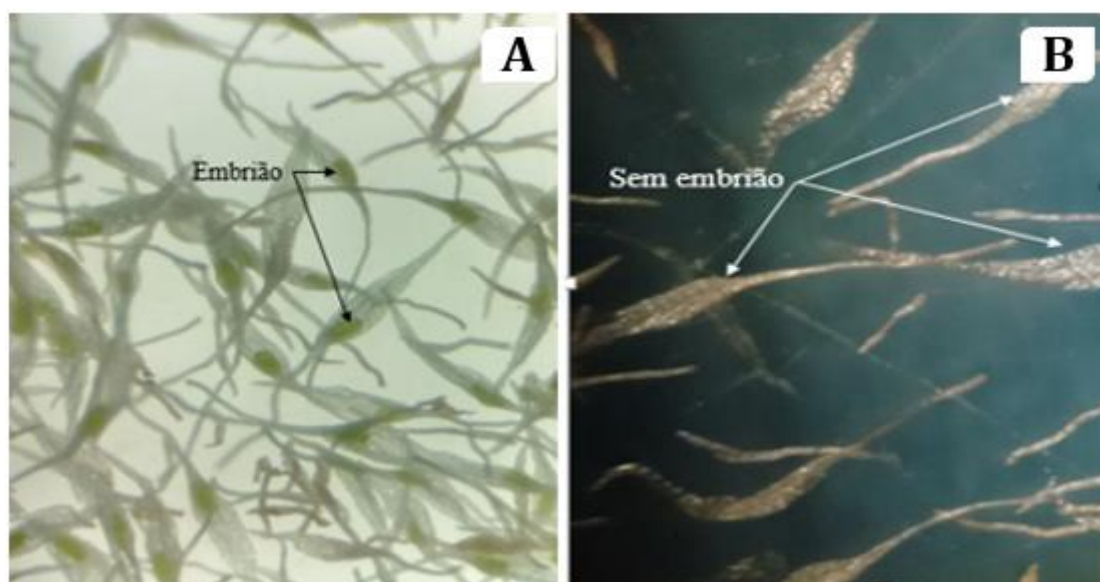


Figura 3: A-B Sementes viáveis e inviáveis de *Epidendrum cinnabarinum*, respectivamente. Fonte: próprio autor.

2.7 Coleta de néctar floral: A extração deste recurso foi feita com uma seringa microliter para CG Modelo 701RN de 5 μ L e a concentração de açúcares foi observada com um refratômetro portátil. Os botões que estavam prestes a abrir eram marcados, logo depois a inflorescência era ensacada com um saco de tule, para garantir que nenhum polinizador, visitante ou pilhador iria consumir o néctar. No dia posterior, a coleta foi realizada no período da manhã. Esse procedimento foi realizado em 18 flores, em diferentes dias de sol. Também foi realizado uma secção longitudinal (N= 44 flores) de cinco indivíduos diferentes para a observação macroscópica de nectários florais

(STPICZYNSKA, 2018), que posteriormente foram submetidas a um teste histoquímico utilizando lugol para a verificação de amido (JOHANSEN, 1940).

2.8 Identificação de nectários florais e extraflorais: Após coleta das inflorescências foram fixadas em FAA (18: 1: 1 de etanol [50%], ácido acético e formalina) por 24 horas e desidratados com álcool 50% e 70% duas vezes, durante 1 hora cada. Para identificação de nectários florais foram utilizados a base do pedicelo de botões (N=6) e flores (N=6), cortados com a 1 cm de diâmetro e para observação de nectário extrafloral porções onde à cicatrizes das brácteas também foram cortadas (N=10) em 1 cm. Este material continuou a ser desidrato em uma serie álcool etílico (50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% e solvente orgânico) e posteriormente foi feito uma série com acetato (1/3, 1/1, 3/1, acetato puro duas vezes e acetato puro + resina branca) durante 1 hora cada. Para remoção total do acetato a amostra foi colocada em estufa digital de esterilização e secagem com vários banhos de parafina. Posteriormente o material ficou emblocado em cassetes na resina branca e foi seccionado com o micrótomo rotativo (Leica RM2125RT) em 10µm, termofixado as lâminas de vidro, corado com safrablau, observado em microscópio Olympus e fotografado (SUBEDI *et al.*, 2011).

2.9 Taxa de herbivoria natural: A princípio foi calculado o comprimento e largura do labelo e pétalas de 10 flores, para se obter o valor médio dessas estruturas. Feito isto, foram marcados 7 indivíduos com 12 inflorescências diferentes e acompanhados semanalmente, observando se havia danos de herbivoria.

2.10 Tamanho das formigas: As formigas presentes nas inflorescências foram coletadas (N= 57), armazenadas em freezer, observadas em microscópio estereoscópico para sua identificação, posteriormente medidas com auxílio de um paquímetro disma e assim calculamos a média e o desvio padrão do tamanho de cada espécie.

2.11 Teste comportamento de formiga: O comportamento das formigas forrageiras em direção ao potencial herbívoro foi avaliado usando cupins vivos, que foram colados pelo dorso no eixo reprodutivo da orquídea com formigas. Utilizamos cola plástica (Cascolar®,Alba Química, Brasil) que é comumente usado neste tipo de experiência e nem atrai nem repele formigas (ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003). As observações foram feitas em diferentes dias e horários no intervalo das 6:30hrs às 17:00hrs . Em cada inflorescência foram cronometrados durante 5 minutos o comportamento das formigas e o sucesso do ataque foi considerado quando a formiga usou sua a mandíbula para retirar o cupim da planta (ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003).

2.12 Observação de polinizador: Para descobrir o possível polinizador, fizemos observações (matutino e vespertino) durante 30 dias (distribuídos entre os anos de 2015, 2016 e 2018), iniciando-se as 04:30 hrs e terminando 17:00 hrs. Após as visitas, ensacamos as inflorescências para ver se havia formação de frutos. Foi realizada uma carga horária total de 272h16min. Para saber se houve visita noturna, 36 inflorescências de 6 indivíduos diferentes, foram observadas as 17: 00 hrs quanto a presença de polínea, no dia seguinte as 04: 00 hrs foi visto se a mesma havia sido removida.

RESULTADOS

Quando receptiva *Epidendrum cinnabarinum* apresenta suas políneas na coloração verde e quando as flores estão em senescência ficam escuras. Além disso, secreta néctar na base do pedicelo de botões, flores e frutos e nas cicatrizes das brácteas (Fig.4).

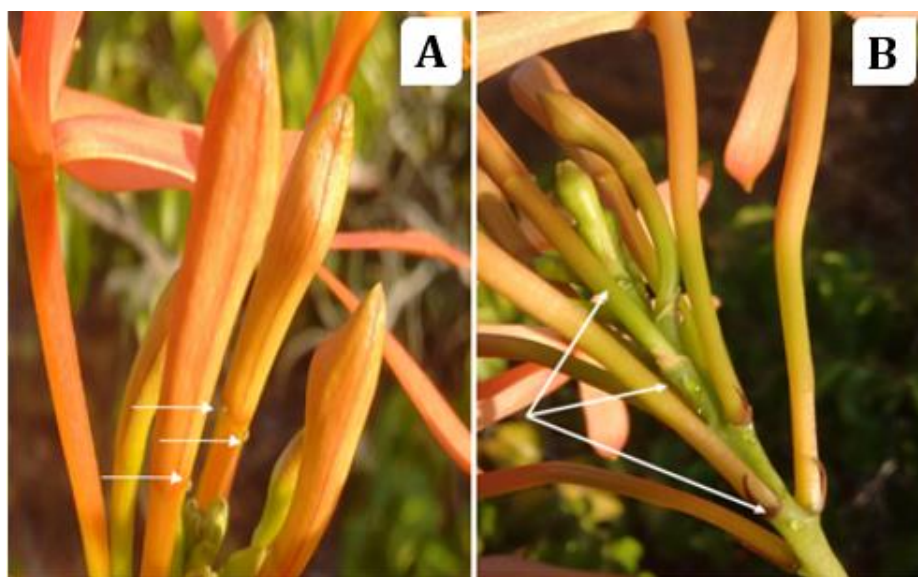


Figura 4: A- B Néctar em *Epidendrum cinnabarinum*. Fonte: próprio autor.

Nas inflorescências foram observadas ao todo quatro espécies de formigas: *Crematogaster* sp. (com 7,4% da frequência), *Ectatomma tuberculatum* (18,56%), *Azteca* sp¹, sp² e sp³ (22,22%) e *Camponotus* sp¹ e sp². (48,15%) (Fig. 5) que não se sobrepõem, ou seja, para cada inflorescência é encontrada apenas uma única espécie de formiga que não mudam ao longo do dia.

2.1 Fenologia: Durante o período de acompanhamento, observamos que o pico da floração ocorreu no mês de setembro onde a estação do ano predominante é o verão,

quando os números de flores e botões são mais altos e com o passar dos meses essa porcentagem vai decaindo gradativamente (Fig. 5 A). A floração foi negativamente influenciada pela pluviosidade ($r = -0.6094$; $p = 0.0026$).

Com relação ao período de frutificação, a maior produção de frutos verdes no ano de 2016 foi em janeiro, enquanto que em 2017 foi em março, e no mês de maio houve o maior número de frutos maduros para ambos os anos durante o inverno (Fig. 6 B). A frutificação foi significativamente afetada pela pluviosidade ($r = 0.4500$; $p = 0.0355$).

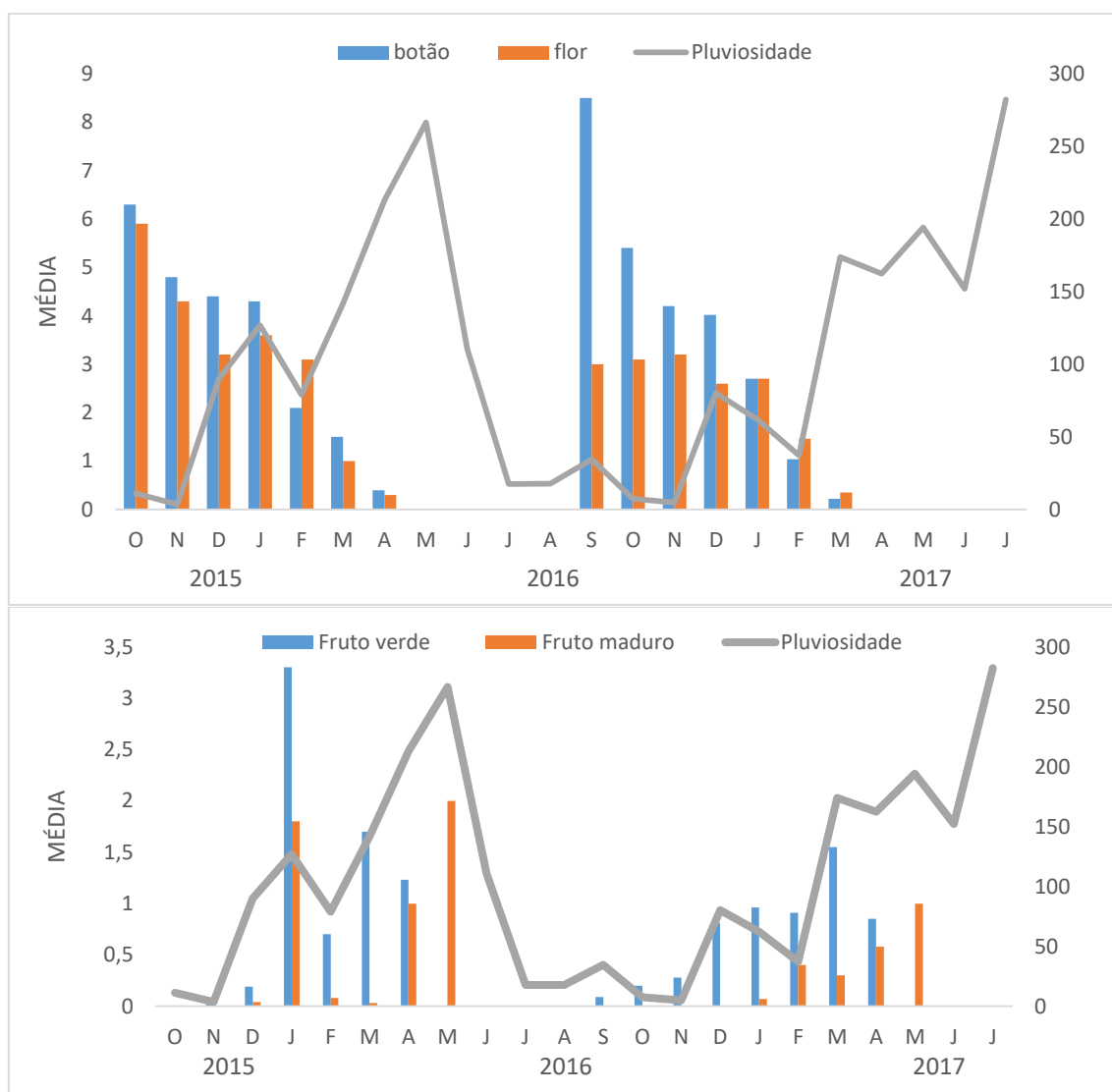


Figura 5: Período reprodutivo A) número médio de botões e flores; B) número médio de frutos verdes e maduros de *E. cinnabarium* e pluviosidade da área de Tabuleiro da Reserva Biológica Guaribas, PB, Nordeste do Brasil

2.2 Período de antese: A abertura do botão inicia-se no turno da manhã podendo se estender até a tarde. Sendo que um dia este período foi observado das 05h30min até às 10h00min horas e no dia seguinte em outro botão da mesma inflorescência a observação

foi feita das 10h00min até as 18hmin horas, onde houve abertura completa dos botões nos respectivos dias (Fig.6). Portanto, a antese dura cerca de 6h00min horas. Em geral apenas uma flor abre por vez, porém pode acontecer de duas abrirem simultaneamente, no entanto, sempre são as da base que se abrem primeiro.

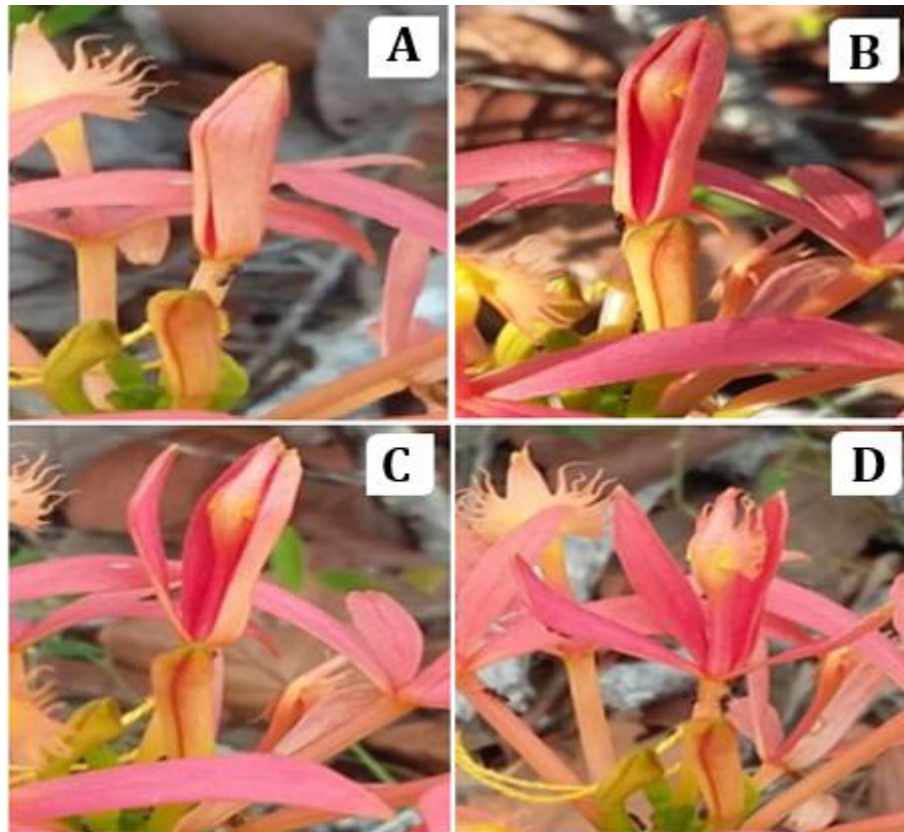


Figura 6: A-D *Epidendrum cinnabarinum*. J. Início da antese. K. Tépalas começam a se separar. M. Primeira sépala é desprendida. N. Flor completamente aberta. Fonte: próprio autor.

2.4 Morfometria floral: Das 21 flores medidas observamos que segue um padrão em sua morfometria, tendo em vista que os valores são muito aproximados (Tabela1). Além disso, os indivíduos são morfológicamente organizados em cinco tépalas, um labelo, e um ovário localizado no interior do pedicelo (Fig.7).

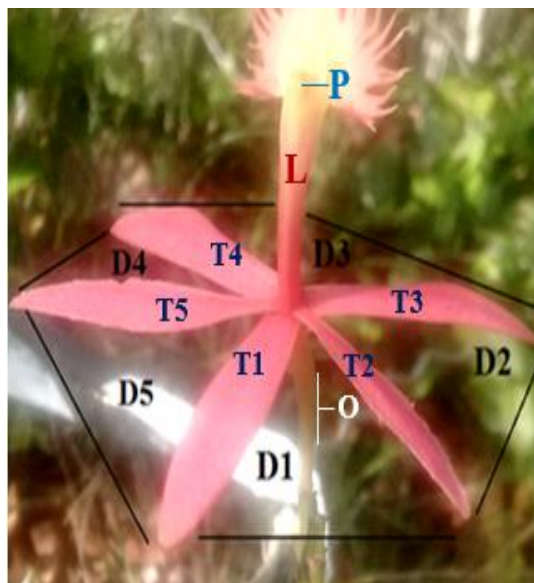


Figura 7: Esquema ilustrativo com todas as medições feitas. D= Distância; T= Tépalas; P= Polínea; L= Labelo e O= Ovário. Fonte: próprio autor.

Tabela 1: Média de todas as medidas (mm) feitas das 21 flores coletadas.

Tépala	Média	Desvio Padrão
1	20,5	4,2
2	21,4	3,4
3	21,3	3,2
4	21	3,6
5	21,6	3,8
Distância		
1	22	4,5
2	19,5	4,5
3	36,5	6,2
4	19,8	5,5
5	22,4	4,6
Labelo	23,4	3,1
Pedicelo	30	9,2
Polínea	2	0

2.3 Testes reprodutivos: O teste de autopolinização manual revelou que *E. cinnabarinum* é auto compatível com sucesso reprodutivo de 28,8%. O Índice de Autoincompatibilidade (ISI) foi 1,57, o que indica que a espécie é autocompatível. Não houve formação de frutos para os testes de agamospermia e autopolinização espontânea, ou seja, para formar frutos é necessária a presença de um polinizador. A porcentagem de

frutos formados naturalmente foi baixo (controle= 1,51%) e nenhum dos frutos foi abortado. A polinização cruzada teve um sucesso de 18,3%. Para o teste de autopolinização manual houve uma taxa de 11,11% de aborto, enquanto que no teste de polinização cruzada a porcentagem foi 31,58%.

2.4 Viabilidade de sementes: Em todos os testes, mais de 50% das sementes observadas apresentaram embriões (Tabela 2). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as sementes com embriões oriundas dos diferentes testes ($P > 0,05$).

Tabela 2: Média e desvio padrão da viabilidade de sementes para os testes: controle, autopolinização manual e fecundação cruzada em *E. cinnabarinum*.

Testes	Sementes
Controle	$57 \pm 0,27$
Autopolinização manual	$65 \pm 0,28$
Fecundação cruzada	$66 \pm 0,25$

2.7 Coleta de néctar: Das 18 flores utilizadas para a coleta de néctar com a microseringa, só foi possível retirar 0.6 microlitros do seu volume em uma única flor, obtendo-se uma média de $0,12 \pm 0,17$. Seu baixo volume impossibilitou a análise da concentração. No interior dos cuniculuns o néctar estar presente como gotículas de néctar que só é possível ser observado em esteromicroscópico, este conteúdo reagiu com o lugol demonstrando sua natureza química rica em amido.

2.8 Identificação de nectários florais e extrafloral: *Epidendrum cinnabarinum* apresenta nectários florais em sua coluna acima do ovário ínfero (Fig. 8). O néctar além de estar presente no interior do labelo, também é secretado externamente em botões, flores, frutos e nas cicatrizes das brácteas (Fig. 2) através de células secretoras de néctar, do qual não foi possível observar anatomicamente, mas que atuam funcionalmente como nectários extraflorais. A secreção não ocorre constantemente, sendo observada com maior evidência em inflorescências com formigas.

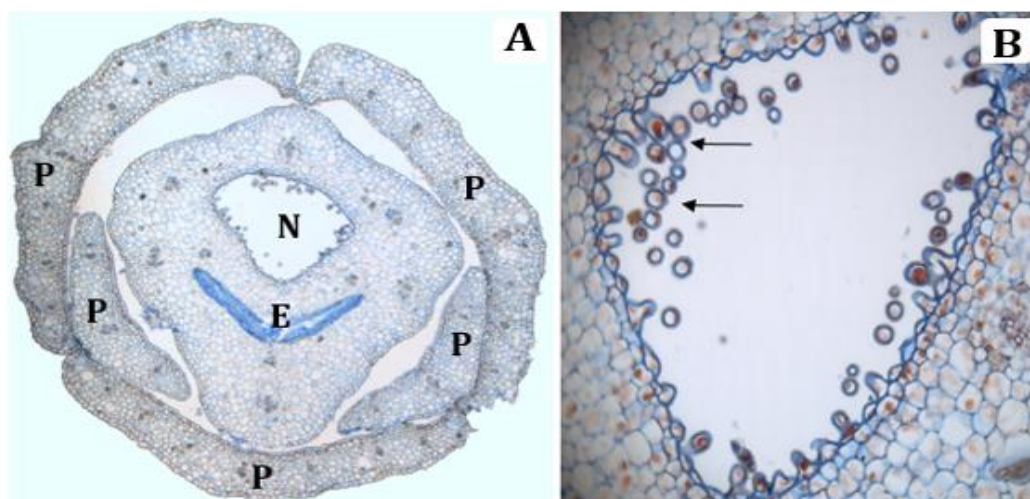


Figura 8: A- Esquema geral do corte transversal do botão (E= estilete; N= nectário; P= pétala). B- Células do nectário floral.

2.9 Taxa de herbivoria natural: A porcentagem de flores herbivoradas dentro da população (N= 3431 flores) correspondeu a 2.6%. Sendo que das 12 inflorescências observadas se havia ou não formigas, os indivíduos com formigas tiveram apenas 22,58% das flores herbivoradas ($p=0.006986$), enquanto que nas inflorescências sem formigas 77,42% das flores mostrou-se com danos de herbivoria na pétala e labelo. Portanto, a presença das formigas indica haver diminuí a taxa de herbivoria nas plantas.

2. 10 Tamanho das formigas: Dentre as formigas observadas nas inflorescências de *E. cinnabarinum*, *Ectatomma tuberculatum* é a maior com $9 \text{ mm} \pm 0$ e a menor é *Aztecasp*² com $0,83 \text{ mm} \pm 0,23$ (Tab.).

Tabela 3: Tamanho médio e desvio padrão das espécies de formigas presentes nas inflorescências de *E. cinnabarinum*.

Formiga	Tamanho	Tamanho da amostra
<i>Ectatomma tuberculatum</i>	$9,0 \pm 0$	7
<i>Crematogaster</i>	$1,1 \pm 0$	8
<i>Camponotus</i> sp ¹	$4,2 \pm 0,4$	9
<i>Camponotus</i> sp ²	$4,0 \pm 0$	8
<i>Azteca</i> sp ¹	$1,2 \pm 0,4$	10
<i>Aztecasp</i> ²	$0,8 \pm 0,2$	7
<i>Azteca</i> sp ³	$1,4 \pm 0,53$	8

2.11 Teste comportamento de formiga: Dentre as espécies de formigas observadas nas inflorescências de *E. cinnabarinum*, a única que tentou atacar várias vezes *Nasutitermes* sp., mas não conseguiu foi *Crematogaster* sp. que teve dificuldade para remover o mesmo, por ser menor ($1,1 \text{ mm} \pm 0$) que o cupim ($1,4 \text{ mm} \pm 0,5$). Além disso, Todas as outras espécies de formigas maiores (*Azteca* sp¹ e *Camponotus* sp¹, *Camponotus* sp² e *Ectatomma tuberculatum*) (Tabela 1) atacaram o cupim em menos de cinco minutos (Fig.9). Em alguns casos também pode haver o recrutamento de outros indivíduos para otimizar o ataque, esse comportamento foi observado em *Azteca* sp³, uma vez que após várias tentativas das espécies que estavam presentes na inflorescência (N=4) houve o recrutamento de outras formigas (N=25) e finalmente conseguiram retirar o cupim (levando 10 minutos para concretizar a ação). Essas formigas estão presentes nas inflorescências durante todo o período reprodutivo, ou seja, desde botões até frutos.

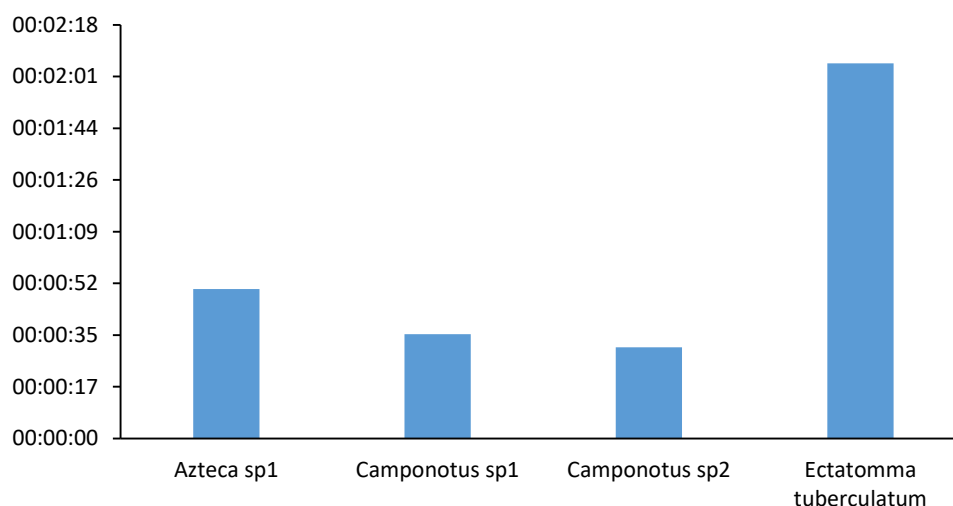


Figura 9: Tempo de ataque (5 minutos cronometrados) das formigas (*Azteca* sp¹, *Camponotus* sp¹ e sp² e *E. tuberculatum*) para expulsar o suposto herbívoro (cupim vivo) da inflorescência

2.12 Observação de polinizador: Visitas foram feitas por alguns grupos das ordens Hymenoptera, Lepidoptera e Trochiliformes. A maioria destes tiveram comportamento de forrageamento, tendo maior atividade pelo período da manhã onde foram observados a partir das 6h40min horas até as 11h30min horas, se apresentando apenas como visitantes ilegítimos, uma vez que não retornaram a planta e não removeram a polínea, exceto o possível polinizador *Phoebis sennae* (Fig. 10) que retornou visitando várias vezes às flores da mesma inflorescência (36,4% do número de visitas) e de outras inflorescências

diferentes (63,6%), totalizando onze visitas das quais duraram em média $3,7 \text{ segundos} \pm 1,1$. Em nenhuma visita se observou deposição de polínea, mas apenas retirada (27,3%), consequentemente não ocorreu formação de frutos e dessa forma não podemos afirmar que a polinização de fato ocorreu.

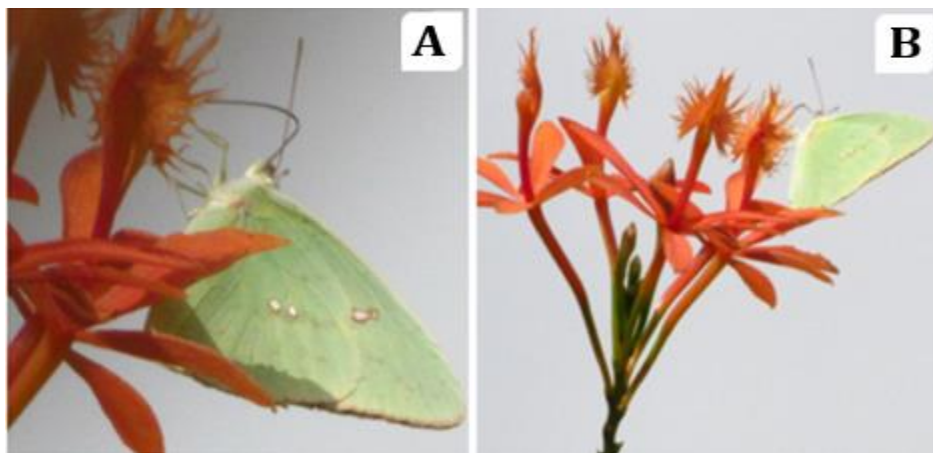


Figura 10: A-B *Phoebis sennae* usando sua probóscide para tocar as partes reprodutivas de uma das flores de *E. cinnabarinum*. Fonte: Andréia Nunes.

DISCUSSÃO

A fenologia de *Epidendrum cinnabarinu*, é caracterizada por ser sub-anual segundo a classificação de Nestrom *et al.*, 1944, onde há dois ciclos de floração por ano, além de ser sazonal, sofrendo influência das duas estações do ano que predominam no cerrado (seca e chuvosa) (LEAL & MORAES, 2014). O pico da floração se deu no mês setembro mês característico por ser seco (MMA/IBAMA, 2003; AESA/PB 2004). Neste período várias espécies perdem suas folhas (caducifólia) (DRESSLER, 1993), possibilitando uma maior visualização das flores de *E. cinnabarinum*. A maior produção de frutos verdes no ano de 2016 foi em janeiro, enquanto que em 2017 ocorreu em março, o amadurecimento dos frutos juntamente com sua deiscência ocorreu em maio, um dos meses onde houve maior precipitação pluviométrica (AESA/PB 2016 e 2017). Em algumas espécies de *Epidendrum* a pluviosidade exerce influência negativa na floração, pois, contribui para a diminuição da longevidade das flores, fazendo com que consequentemente as mesmas sejam menos visitadas por seus polinizadores, além de impedir a atividade de forrageamento (VEGA & MARQUES, 2015; PASSARIM, 2008). No entanto, este fator abiótico afeta positivamente o período de frutificação, como observado em *Epidendrum cinnabarinum*, pois os frutos que são do tipo capsula possuindo centenas de sementes diminutas sem endosperma tem sua dispersão favorecida

por anemocoria, tendo em vista que no inverno há maior precipitação pluviométrica e maior ocorrência de ventos (VILLABOLOS, 2015).

A antese de *E. cinnabarinum* é diurna e segue um padrão assim como em outras espécies do gênero, pois as flores abrem sempre da base para o ápice na inflorescência, que pode ter mais de uma flor abrindo simultaneamente esse processo leva aproximadamente 6 horas para se concretizar. Apresentam também tanto o estigma como o pólen receptivo desde a antese até o período de pré-fenecimento (PASSARIN, 2003). É fácil identificar quando a mesma está receptiva, pois apresenta flores robustas com polínea verde e quando entra na fase de senescência a mesma escurece ficando da cor preta. Esse processo também é observado em algumas espécies do gênero *Tibouchina* que mudam a cor dos verticilos florais alguns dias depois da antese, permitindo que os polinizadores visitem apenas flores receptivas (ROCHA, 2008). Quanto a morfometria floral, mesmo em indivíduos diferentes há um padrão no tamanho das flores possibilitando um melhor ajuste para o polinizador durante a sua visita.

Epidendrum cinnabarinum é uma espécie auto compatível com ISI: $1,57 > 0,25$. No entanto, não é capaz de formar frutos pelo desenvolvimento do tegumento interno, ou seja, por agamospermia ou polinização espontânea sendo necessário a presença de um vetor de pólen para efetuar a sua reprodução (BORBA & BRAGA, 2003). O sucesso reprodutivo dos indivíduos controle correspondeu a 1,51% de frutos formados naturalmente, padrão encontrado em algumas Orchidaceae, principalmente em espécies epífitas, devido à limitação de recursos (BORBA & BRAGA, 2003). O elevado custo da reprodução, faz com que a baixa produção de frutos seja uma excelente estratégia evolutiva, uma vez que são mantidos uma menor quantidade de frutos, mas que tenham sementes de boa qualidade (COZZOLINO & WIDMER, 2005).

A porcentagem de frutos formados por fecundação cruzada e autopolinização manual não deferiram estatisticamente, não corroborando com outros trabalhos, pois, em geral os frutos formados por fecundação cruzada são predominantes, principalmente em plantas de engodo, que evitam a geitonogamia, (COZZOLINO & WIDMER, 2005; PASARIN & PANSARIN, 2017), não havendo endogamia nas espécies autocompatíveis, (PINHEIRO *et al.*, 2013) e permitindo uma maior variabilidade genética (BARNEY & ACKERMAN, 1999; VEGA & MARQUES, 2015). No entanto, a porcentagem de sementes viáveis em todos os testes correspondeu a mais que 50%, não havendo diferença significativa entre os mesmos. Esse padrão divergiu do encontrado em outras espécies de

orquídeas, onde a produção de frutos também é baixa, porém há alta viabilidade de sementes, sendo superior a 90% (BORBA & BRAGA, 2003; PANSSARIM, *et al.*, 2008). Com relação aos embriões não foram observados poliembrião, ou embriões com malformações como apresentado em outras orquídeas (BORBA *et al.*, 2001; PANSARIM *et al.*, 2008). Em Orchidaceae, a germinação das sementes sofre limitação, devido à baixa reserva nutricional para manutenção do embrião sendo necessário a associação com micorrizas (RASMUSSEN, 1995).

As flores de *E. cinnabarinum* foram visitadas por alguns grupos das ordens Hymenoptera, Trochiliformes e Lepidoptera. Dos quais exerceram comportamento de forrageamento, se apresentando apenas como visitantes ilegítimos, uma vez que não retornaram à inflorescência e não removeram a polínea, exceto pela Lepidoptera *Phoebis sennae*, que retornou à inflorescência visitando flores do mesmo indivíduo e de indivíduos diferentes, além de remover a polínea de algumas flores (27,3%). A maioria das espécies do gênero *Epidendrum* são adaptadas à psicofilia (polinização por bobyotas) (VAN der PIJL & DODSON 1966; ALMEIDA & FIGUEIREDO 2003; PANSARIN, 2003; PANSARIN & AMARAL 2008; FUHRO *et al.*, 2010). A rápida visita que durou em média 3,7 segundos e a baixa frequência na ida a flores da mesma inflorescência (36,4%) se deve a pouca quantidade de néctar disponível. Evitando assim a geitonogamia, uma vez que o vôo a longas distâncias permitiria uma maior variabilidade genética entre os indivíduos envolvidos na polinização (COZZOLINO & WIDMER, 2005; PASARIN & PASARIN, 2017). Em suas visitas não houve deposição de polínea, mas apenas retirada, não havendo formação de frutos. A dificuldade em haver deposição, pode se dar ao fato de que a polínea deve ser desidratada primeiro para que só depois consiga ser depositada como observado por PANSARIN, 2003 em *E. paniculatum*. Portanto, a deposição só seria possível no dia posterior, como não foi visto visita na mesma flor em dias seguidos é necessário se fazer teste para verificar se *E. cinnabarinum* possui esse mesmo padrão.

Epidendrum cinnabarinum possui nectário floral rico em tricomas e material citoplasmático (Fig. 9b), indicando exorbitante atividade metabólica das células epidérmicas para secreção de néctar (MOREIRA *et al.*, 2008) como recurso ao seu polinizador. Assim como outras espécies do gênero, sua estrutura morfológica permite que principalmente mariposas e borboletas, sejam os polinizadores mais frequentes no grupo ao forragear toque nas estruturas reprodutivas da planta, removendo a polínea com

sua probóscide (PIJL & DODSON 1966; DRESSELER, 1981; ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003; PANSARIN, 2003; PANSARIN & AMARAL 2008; FUHRO *et al.*, 2010; TAVARES, 2011; PANSARIN & PANSARIN 2017; STPICZYNSKA *et al.*, 2018). No interior do cuniculun, o néctar de *E. cinnabarinum* assim como em *E. porpax* é presente como diminutas gotículas que só é possível ver por meio de esteromicroscópico (STPICZYNSKA, 2018). O conteúdo rico em açúcar ao reagir com o lugol torna sua visualização mais evidente, tendo em vista que a quantidade de néctar produzido é ínfima, dessa forma, não foi possível sua coleta com a seringa microliter. Portanto, apenas uma estrutura especializada como a fina probóscide de uma espécie de Lepidoptera ao raspar a epiderme do nectário é capaz de remove-lo (PANSARIN, 2003).

O gênero *Epidendrum* é um grupo monofilético e seu ancestral é uma espécie secretora de néctar (GUSTAVZON *et al.*, 2018). Embora muitas espécies ofereçam recursos florais para atrair seus polinizadores (VAN der PIJL & DODSON, 1966; HÁGSTER & SOTO-ARENAS, 2005; PANSARIN & PANSARIN, 2017; STPICZYNSKA *et al.*, 2018), é estimado que um terço das orquídeas não oferecem nenhum tipo de recurso aos seus visitantes florais (COZZOLINO & WIDMER, 2005). Pressões evolutivas têm atuado fazendo com que algumas espécies não invista energeticamente em recompensas para seus polinizadores. Tendo em vista que essa característica ancestral vem sendo perdida em algumas espécies, pois segundo Ackerman (1986) *Epidendrum* é o principal gênero em Orchidaceae com plantas de engodo, sendo essa característica derivada de um sistema que oferece recompensa. Além do mais a polinização por engano têm se mostrado uma excelente estratégia evolutiva para otimizar a produção de frutos por fecundação cruzada.(COZZOLINO & WIDMER, 2005; PASARIN & PANSARIN, 2017). E espécies recompensadoras têm menor fluxo gênico quando comparadas com espécies enganadoras (COZZOLINO & WIDMER, 2005).

Assim como em *Epidendrum denticulatum* (ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003) *E. cinnabarinum* secreta externamente néctar na base do pecíolo de botões, flores e nas cicatrizes das brácteas, atraindo formigas que diminuem a taxa de herbivoria, uma vez que apenas 22,58% das inflorescências com formigas foram herbivoradas, enquanto que nas inflorescências sem formigas 77,42% das flores mostrou-se com danos de herbivoria na pétala e labelo. Isso acontece porque estruturas reprodutivas são mais vulneráveis que as folhas, que geralmente possui defesa química (PEAKAL, 1994). Esse recurso é produzido por células secretoras de néctar (não foi possível ver anatomicamente), das

quais não podem ser denominadas como nectários, pois não estão organizadas em uma estrutura nectarífera, mas que atuam funcionalmente como nectários extraflorais. Em geral, são estômatos ou células epidérmicas modificadas (HOBBAHN *et al.*, 2013).

As maiores espécies de formigas (*Ectatomma tuberculatum*, *Azteca* sp¹, *Aztecasp*³, e *Camponotus* sp¹ e *Camponotus* sp²) demonstraram comportamento defensivo atacando *Nasutitermes* sp. Apesar de *Camponotus* sp² ser a espécie mais rápida, não significa que a mesma seja a protetora mais eficiente, uma vez que *E. tuberculatum* também obteve sucesso ao remover o cupim, mesmo demorando mais tempo para concretizar a ação, esses dados corroboram com o trabalho de Ameilda & Figueiredo, 2003. Frente ao herbívoro as formigas podem demonstrar comportamento territorial, ao levantar seu abdome apontando para o intruso, além de usar sua mandíbula para expulsá-lo da inflorescência (SUBEDI *et al.*, 2011). Apesar de *Crematogaster* sp., ter tido essa mesma conduta, houve várias tentativas, mas não foi possível retirar o cupim. As formigas também podem ignorar a presença do herbívoro e permanecer forrageando ou pode até mesmo fugir como ocorreu com *Azteca* sp². Portanto, uma vez que o comportamento de diferentes formigas pode variar frente ao inimigo natural da planta é importante que as espécies presentes nas estruturas reprodutivas sejam as maiores e mais agressivas (MCEVOY, 1977).

A defesa coletiva pode ser maior em locais de nidificação, como observado em inflorescência com *Azteca* sp³. As formigas que exercem esse tipo de sistema de resistência aos herbívoros podem ser atraídas quimicamente por substâncias voláteis lançadas por folhas herbivoradas. Esse processo acontece principalmente nas relações obrigatórias entre planta e formiga (TALLAMY & RAUPP, 1991; KARBAN & BALDWIN, 1997; AGRAWAL & THALER, 1999). Em *E. cinnabarinum* esta relação é facultativa, uma vez que envolve recompensa para estas espécies. Nossos resultados demonstram que as estruturas reprodutivas e vegetativas estavam intactas, e o aumento da densidade populacional das formigas na inflorescência durante o ataque a *Nasutitermes* sp. se deu exclusivamente por chamamento de outros indivíduos.

Em *Epidendrum cinnabarinum* o investimento energético na produção de néctar é maior para defesa do que para polinização, uma vez que a quantidade de néctar secretado para que as formigas tenham acesso é muito superior do que a quantidade oferecida para o polinizador. Assim ocorre uma redução no nível de herbivoria sem que haja um maior custo energético (PINHEIRO & COZZOLINO, 2013). Além disso, os polinizadores

ainda se sente atraídos a visitar as flores, uma vez que suas estruturas reprodutivas permanecem intactas, por isso investir energeticamente em células secretoras de néctar que atuam funcionalmente como nectários extraflorais, garanti um aumento do sucesso reprodutivo, uma vez que as formigas forrageiras estarão presentes nas regiões, conferindo-lhe proteção contra herbivoria (DELABIE, 1995; NEILAND & WILCOCK, 1998; ALMEIDA & FIGUEIREDO, 2003).

CONCLUSÕES

A pluviosidade é um fator abiótico que afeta positivamente o período de frutificação de *Epidendrum cinnabarinum*. Sua antese é diurna e a mesma possui um padrão na morfometria. Além disso, é uma espécie auto compatível, mas que só consegue formar frutos por meio de um polinizador. Possui nectário floral e células secretoras de néctar na base do pedicelo de botões, flores, frutos e nas cicatrizes das brácteas que atuam funcionalmente como nectários extraflorais, atraindo formigas para as inflorescências que protege as estruturas reprodutivas contra herbivoria. Apesar de oferecer recurso a Lepidoptera *Phoebis sennae* que é o único visitante legítimo, a quantidade ofertada é muito baixa. Portanto, o investimento energético para produção de néctar é maior para defesa do que para polinização. As poucas visitas *P. sennae* e a baixa produção de frutos na população, demonstra que apesar de *E. cinnabarinum* ser uma espécie recompensadora, tem sua biologia e sucesso reprodutivo semelhante as plantas de engodo. Apesar de haver inúmeros trabalhos acerca da fenologia, biologia, sucesso reprodutivo e história evolutiva do grupo, são pouquíssimos estudos que demonstram o investimento energético de *Epidendrum* para defesa por meio da relação mutualística com formigas. Portanto, se faz necessário mais trabalhos que traga essa abordagem.

REFERÊNCIAS

- AESA. **Monitoramento**. Disponível em: < <http://www.aesa.pb.gov.br/>>. Acesso em 26 de jul. 2017.
- AGUIAR, J. M. R. B. V.; PANSARIN, L. M.; ACKERMAN, J. D.; PANSARIN, E. R. **Biotic versus abiotic pollination in *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl. (Orchidaceae)**. *Plant Species Biology* 27: 86–95, 2012.
- ALMEIDA, A. M. & FIGUEIREDO R. A. **Ants visit nectaries of *Epidendrum denticulatum* (Orchidaceae) in a Brazilian rain forest: effects on herbivory and pollination**. *Brazilian Journal of Biology* 63: 551–558, 2003.
- ALMEIDA, A; FELIX, P. J. W; ANDRADE, A. L; FELIX, P. L. **A família Orchidaceae em inselbergues da Paraíba, Nordeste do Brasil**. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 753-755, 2007.
- ASHAMN, T. L.; SCHOEN, D. J. **How long should flowers live?** *Nature*, 371 (6500):788– 791, 1994.
- BARBOSA, A. A. **Biologia reprodutiva de uma comunidade de Campo Sujo, Uberlândia - MG**. Tese (Doutorado em Ecologia) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 1997.
- BARROS, F. V.; RODRIGUES, F.; BARBERENA, V. T.; FRAGA, F. F. V. A.; PESSOA, C. N.; FORSTER, E. M.; MENINI, W.; NETO, L.; FURTADO, S. G.; NARDY, C.; AZEVEDO, C. O.; GUIMARÃES, L. R. S. **Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB11518>>. Acesso em: 22 de agosto de 2018.
- BARNEY, E. O. & ACKERMAN, J. D. **The cost of selfing in *Encyclia cochleata* (Orchidaceae)**. *Plant Systematics and Evolution*. 219:55-64, 1999.
- BAWA, K. S. **Plant-pollinator interactions in tropical rainforests**. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21 (1): 399-422, 1990.
- BASTOS, C. A; BERG, C. **A família Orchidaceae no município de Morro do Chapéu, Bahia, Brasil**. 2011. 46f. Tese (Mestrado)- Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, 2011.
- BORBA, E. L.; SEMIR, J. **Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: a multiple population approach**. *Annals of Botany*, 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* 88: 89±99, 2001.

- BORBA, L. E. **Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal.** *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo. v.26 n.4, 2003.
- BULLOCK, S. H. **Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest.** *Biotropica* 17:287 -301, 1985.
- BUGGS, R. J. A.; SOLTIS, P. S. & SOLTIS, D.E. **Biosystematic relationships and the formation of polyploids.** *Taxon* 60: 324–332, 2011.
- COGNI, R.; FREITAS, A.V. L.; OLIVEIRA, P. S. **Inter habitat differences in ant activity on plant foliage: ants at extrafloral nectaries of *Hibiscus pernambucensis* in sandy and mangrove forests.** *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 107: 125–131, 2003.
- COZZOLINO, S., F. P.; SCHIESTL, A.; MULLER, O.; CASTRO, A. M.; NARDELLA, A.; WIDNER, A. **Evidence for pollinator sharing in Mediterranean nectar-mimic orchids: absence of premating barriers?** *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272:1271– 1278, 2005.
- COZZOLINO, S. & WIDNER, A. **Orchid diversity: An evolutionary consequence of deception?** *Trends Ecol. Evol.* 20: 487–494, 2005.
- CRUDEN, R. W.; HERMANN-PARKER, S. M. **Butterfly pollination of *Caesalpinia pulcherrima* with observations on a psychophilous syndrome.** *Journal of Ecology*, 1979.
- DAFNI, A. **Mimicry and deception in pollination.** *Annual Review of Ecology and Systematics*. 15:259–278, 1984.
- DARWIN, C. R. **On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilised by insects, and on the good effects of intercrossing.** *J. Murray*, London, 1862.
- DRESSLER, R. L. **The orchids: Natural history and classification.** *Cambridge: Harvard University Press*, 1981.
- DRESSLER, R. L. **Orchids-natural history and classification.** *Cambridge, Harvard University Press*, 1990.
- DRESSLER, R. L. **Phylogeny and classification of the orchid family.** *Cambridge University Press*, Melbourne, 1993.
- DELBONE, C. A. C.; ARAÚJO, R. R. **Estratégias morfo-anatômicas e fisiológicas nas espécies epífitas da família orchidaceae.** In: XII CONGRESSO DE EDUCAÇÃO DO NORTE PIONEIRO Jacarezinho. 2012. Anais... UENP- Universidade Estadual do Norte

do Paraná- Centro de Ciências Humanas e da Educação e Centro de Letras Comunicação e Artes. Jacarezinho. ISSN- 18083579. p. 292- 301, 2012.

DELABIE, J.H.C. **Formigas associadas aos nectários extraflorais de *Epidendrum cinnabarium* Salzm. (Orchidaceae) numa área de restinga da Bahia.** *Ann. Soc. Entomol. Brasil* 24: 479–487, 1995.

DÁTTILO, W.; MARQUES, E. C.; FALCÃO, J. C.; MOREIRA, D. D. O. **Interações Mutualísticas Entre Formigas e Plantas.** *EntomoBrasilis*. 2 (2): 32-36, 2009.

ENDRESS P. K.; **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers.** Cambridge: Cambridge University Press, 1994.

FAEGRI, K.; PIJL, V. D. **The principles of pollination ecology.** *Pergamon Press*, Oxford, UK, 127, 1979.

FAVATO, A. A. L.; **Produção didático-pedagógica material multimídia: Polinização.** PDE, 2009.

FERNÁNDEZ, F. **Introducción a las Hormigas de la región Neotropical.** *Bogotá*, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 398p, 2003.

FUHRO D. A. M. & IRGANG, B. E. **Are there evidences of a complex mimicry system among *Asclepias curassavica* (Apocynaceae), *Epidendrum fulgens* (Orchidaceae), and *Lantana camara* (Verbenaceae) in Southern Brazil?** *Revista Brasileira de Botânica* 33: 589–598, 2010.

GARCIA, M. B.; ANTOR, R. J. ESPADALER, X. **Ant pollination of the palaeo endemic dioecious *Borderea pyrenaica* (Dioscoriaceae).** *Plant Systematics and Evolution*, 198: 17-27, 1995.

GÓMEZ, J.M.; ZAMORA, R. **Pollination by ants: consequences of the quantitative effects on a mutualistic system.** *Oecologia*, 91: 410-418, 1992.

GOTTSBERGER, G.; GOTTSBERGER, S. I. **Dispersal and distribution in the cerrado vegetation of Brazil.** *Sonderbd. Naturwis. Ver. Hamburg*. 7: 315-352, 1983.

GUEDES JUNIOR, V. L. **Especialização em sistemas planta-polinizador: características florais e oferta de recursos alimentares.** Tese (Mestrado em Ecologia de Biomas Tropicais) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2011.

GUMBERT, A. KUNZE, J. **Colour similarity to rewarding model affects pollination in a food deceptive orchid, *Orchids boryi*.** *Biological Journal of the Linnean Society*, 2001.

GUSTAVSON, P. C.; SAKA, M. N.; PESSOA, E. M.; SILVA, C. P.; PINHEIRO, F. **Unidirectional transitions in nectar gain and loss suggest food deception is a stable evolutionary strategy in *Epidendrum* (Orchidaceae): insights from anatomical and molecular evidence.** *BMC Plant Biology*, 18:179, 2018.

HÁGSTER, E. & SOTO-ARENAS, M. A. *Epidendrum* L. Pp. 236–251 in: Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. (eds.), *Genera Orchidacearum*, vol. 4. Oxford: Oxford University Press, 2005.

HERRERA, C. M.; **Components of pollination “quality”: comparative analysis of a diverse insect assemblage.** *Oikos*, 1987.

HERRERA, C. M.; **Floral traits and plant adaptation to insect pollinators: a devil’sadvocate approach.** *Floral biology*. New York, pp. 65-87, 1996.

HOBBHAN, N.; JOHNSON, S. D.; BYTEBIER, B. YEUNG, E. C. HARDER, L. D. **The evolution of floral nectaries in *Disa* (Orchidaceae: Disinae): recapitulation or diversifying innovation?** *Annals of Botany* 112: 1303–1319, 2013

KEVAN, P. G.; BAKER, H. G. **Insects as flowers visitors and pollinators.** *Ann. Rev. Entomol.* 28: 407-453, 1983.

JERSÁKOVÁ, J.; JOHNSON, S.D.; JÜRGENS, A. **Deceptive behaviour in plants II. Food deception by plants: from generalized systems to specialized floral mimicry.** In F. Baluska (ed). *Plant-Environment Interactions, Signaling and Communication in Plants, From Sensory Plant Biology to Active Plant Behavior*. Berlin, Springer-Verlag. 2009.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique.** New York: McGraw-Hill Book, 1940.

JOHNSON, S. D. **Evidence for Batesian mimicry in a butterfly pollinated orchid.** *Biological journal of the Linnean Society*, 1994.

LEAL, T. S; MORAES, C. P.; **Fenologia reprodutiva e distribuição espacial de *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl. (Orchidaceae) em Cerrado do município de Mogi Guaçu, São Paulo, Brasil.** *Iheringia Serie Botanica*. Porto Alegre: Fundacao Zoobotanica Rio Grande Sul, Museu Ciencias Naturais, v. 69, n. 2, p. 405-416, 2014.

LIMA, C. Flores e insetos: **A origem da entomofilia e o sucesso das angiospermas.** Tese (Graduação em Ciências Biológicas). Centro Universitário de Brasília- Faculdade de Ciências da Saúde, 2000.

LINARES, M. J.; FRANCO, J. G. G.; PALACIOS, A. F. GONZÁLEZ J. E.V.; ROSAS, M.; CASTELAZO, C. D. **Orchid seed removal by ants in Neotropical ant-gardens.** *Plant Biology*. ISSN 1435-8603, 2018.

LIMA, R. B.; **Biologia e Sistemática das Plantas Vasculares**, 2010.

MCEVOY, P. B. **Adaptive significance of clumped dispersion in a treehopper, *Publilia concava* (Homoptera: Membracidae).** Dissertation. Cornell University, Ithaca, New York, USA, 1977.

MARQUES, E. C. **Dispersão de sementes de *Buchenavia capitata* Eichl. (Combretaceae) no Parque Estadual de Dois Irmãos, Recife-PE.** Tese (Bacharelado

em Ciências Ambientais) - Centro de Ciências Biológicas. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 63p, 2006.

MARQUES, I.; DRAPER, D. **Pollination activity affects selection on floral longevity in the autumnal-flowering plant, *Narcissus serotinus* L.** Botany, Vol. 90, 2012.

MACHADO, I. C.; LOPES, A. V. **A polinização em ecossistemas de Pernambuco: uma revisão do estado atual do conhecimento.** In: M. Tabarelli; J.M.C. Silva (orgs.). Diagnóstico da Biodiversidade de Pernambuco. Recife: Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio-Ambiente, Fundação Joaquim Nabuco e Editora Massangana. p. 583-596, 2002.

MCDADE, L. A.; **Pollinator relationships, biogeography, and phylo genetics.** *Bio Science* 42: 21-26, 1992.

MCEVOY, P. B. **Adaptive significant clumped dispersion in a treehopper, *Publilia concava* (Homoptera: Membracidae).** Dissertation. Cornell University, Ithaca, New York, USA, 1977.

MITTERMEIER, R. A.; WERNER, T.; AYRES, J. M.; FONSECA, G. A. B. **O país da megadiversidade.** *Ciência Hoje*, 14 (81): 20-27, 1992.

MMA/IBAMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE/INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Plano de manejo da Reserva Biológica Guaribas.** Brasília: CHESF, MRS Estudos Ambientais, 520 p, 2003.

MOREIRA, A. S. F. P.; FUHRO, D.; ISAIAS, R. M. S. **Anatomia floral de *Epidendrum fulgens* Brongn. (Orchidaceae - Epidendroideae) com ênfase no nectário e sua funcionalidade.** *Rev. Biol. Neotrop.* 5(1): 23-29, 2008.

NEWSTROM, L.E., FRANKIE, G.W. & BAKER, H.G. **A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica.** *Biotropica* 26:141-159, 1994.

NEILAND, M. R. M. & WILCOCK, C. C. **Fruit set, néctar reward, and rarity in the Orchidaceae.** *Am. J. Bot.*, 85: 1657-1671, 1998.

NILSSON, L. A. **Orchid pollination biology.** *Trends in Ecology & Evolution* 7:255–259, 1992.

OBERMULLE, E. A.; NASCIMENTO, G. B.; GAVA, H. Z.; RIBEIRO, L. F.; SILVA, A. G. **O contraste entre síndromes de polinização e sistemas efetivos de polinização e suas perspectivas para ecossistemas associados à Mata Atlântica.** *Natureza online* 6 (1): 42-47, 2008.

OLIVEIRA, P. E. & GIBBS P. E. **Reproductive biology of wood plants in cerrado Community of Central Brazil.** *Floran.* 195:311-329, 2000.

ORMOND, W.T.; PINHEIRO, M.C.B.; De LIMA, H.A.; CORREIA, M.C.R.; PIMENTA, M.L. **Estudo das recompensas florais das plantas da restinga de Maricá – Itaipuaçu, RJ. I – Nectaríferas.** *Bradea*. 6: 179-195, 1993.

OLLERTON, J. **Reconciling ecological process with phylogenetic patterns: the apparent paradox of plant-pollinator systems.** *Journal of Ecology*, 84: 767-769, 1996.

OLIVEIRA, P. S. V.; RICO-GRAY, C. CASTELAZO, D.; GUEVARA, C. **Interaction between ants, extrafloral nectaries, and insect herbivores in Neotropical coastal sand dunes: herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae).** *Functional Ecology* 13: 623 – 631, 1999.

OLIVEIRA, P.E.; GIBBS, P.E. **Reproductive biology of wood plants in a cerrado community of Central Brazil.** *Flora*. 195: 311-329, 2000.

PALMER, T. M.; ALISON, K. B. **Mutualism as reciprocal exploitation: African plant-ants defend foliar but not reproductive structures.** *Ecology* 88: 3004 – 3011, 2007.

PANSARIN, E. R. **Biologia reprodutiva e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (Orchidaceae).** *Revista Brasileira de Botânica*. 26: 203–211, 2003.

PANSARIN, E. R. & AMARAL, M. C. E. **Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization?** *Plant Biology* 10: 211–219, 2008.

PANSARIN, L. M.; PANSARIN, E. R. SAZIMA, M. **Reproductive biology of *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae): a Cyrtopodiinae pollinated by deceit.** *Plant Biology*, 2008.

PANSARIN, E. R.; PANSARIN, L. M. **Reproductive biology of *Epidendrum tridactylum* (Orchidaceae: Epidendroideae): a reward-producing species and its deceptive flowers.** *Plant Syst. Evol.* 300, 321–328, 2014.

PANSARIN, E. & PANSARIN, L. M. **Crane flies and microlepidoptera also function as pollinators in *Epidendrum* (Orchidaceae: Laeliinae): the reproductive biology of *E. avicula*.** *Plant Species Biology*. 32, 200–209, 2017.

PEAKALL, R.; HANDEL, S. N.; BEATTIE, A. J. **The evidence for, and importance of, ant pollination.** In: Huxley, C.R. & D.F. Cutler (Ed). *Ant-plant interactions*. Oxford University Press, *Oxford*, 421-428p, 1991.

PEAKALL, R. **Interactions between orchids and ants.** In J. Arditti [ed.], *Orchid biology: reviews and perspectives VI*, 103 – 134. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, 1994.

PELLMYR, O. **Pollination by animals.** Pages 157–184 in C. M. Herrera and O. Pellmyr, eds. *Plant-animal interactions: an evolutionary approach*. *Blackwell Science*. Oxford, 2002.

- PINHEIRO, F.; BARROS, F. ***Epidendrum puniceoluteum*, uma nova espécie de Orchidaceae do litoral brasileiro.** *Revista Hoehnea*, São Paulo, v.33, n.2: p. 247-250, 2006.
- PINHEIRO, F.; COZZOLINO, S. ***Epidendrum* (Orchidaceae) as a model system for ecological and evolutionary studies in the Neotropics.** *Taxon* 62 (1), 2013.
- PRIMACK, R. B. **Longevity of individual flowers.** *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 16 (1): 15–37, 1985.
- PUTERBAUGH, M. N. **The roles of ants as flower visitors: experimental analysis in three alpine plant species.** *Oikos*, 83: 36-46, 1998.
- RAMIREZ, N.; GIL, C.; HOKCHE, O.; SERES, A.; BRITO, Y. **Biologia floral de uma comunidade arbustiva tropical em la Guayana Venezolana.** *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 77: 383-397, 1990.
- RASHBROOK, V. K.; COMPTON, S. G.; LAWTON, J. H. **Ant –herbivore interactions —reasons for the absence of benefits to a fern with foliar nectaries.** *Ecology*. 73: 2167 – 2174, 1992.
- RASMUSSEN, H. **Terrestrial orchids, from seed to mycotrophic plant.** *Cambridge University Press*, 55, 1995.
- RATHCKE, B. J. **Floral longevity and reproductive assurance: seasonal patterns and an experimental test with *Kalmia latifolia* (Ericaceae).** *Am. J. Bot.* 90 (9): 1328 –1332, 2003.
- RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. **Biologia da Polinização.** Revisora editorial Ceres Belchior- Rio de Janeiro: Projeto Cultural. 527 p.: il. Color, 2014.
- ROCHA, A. C. P.; **VARIAÇÕES DE CORES E PERFUMES ALTERAM A VISITAÇÃO POR HIMENÓPTEROS NAS QUARESMEIRAS?** 2008. 31f. Tese (Mestrado em Ecologia da Conservação) Setor de Ciências Biológicas Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- RUDGERS, J. A. **Enemies of herbivores can shape plant traits: selection in a facultative ant-plant mutualism.** *Ecology* 85: 192 – 205, 2004.
- SCHOEN, D. J.; ASHMAN, T. L. **The evolution of floral longevity: resource-allocation to maintenance versus construction of repeated parts in modular organisms.** *Evolution*, 49 (1): 131- 139, 1995.
- SCHIEST, F. P. **On the success of a swindle: pollination by deception in orchids.** *Naturwissenschaften*, 2005.
- SOLTIS, P.S. & SOLTIS, D.E. **The role of hybridization in plant speciation.** *Annual Rev. Pl. Biol.* 60: 561–588, 2009.

STPICZYNSKA, M.; KAMINSKA, M.; DAVIES, K.; PANSARIN, E. **Nectar-Secreting and Nectarless Epidendrum: Structure of the Inner Floral Spur.** *Frontiers in Plant Science*, 2018.

SUBEDI, A.; CHAUDHARY, R. P.; ACHTERBERG, C.; HEIJERMAN, T.; LENS, F.; DOOREN, J. M. V.; GRAVENDEEL, B. **Pollination and Protection against herbivory of Nepalese Coelogyninae (Orchidaaceae).** *American Journal of Botany*. 98(7): 1095–1103, 2011.

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.** *Biol.J. Linn. Soc.* 84: 1–54, 2005.

VAN der CINGEL, N. A. **An atlas of orchid pollination: European orchids.** *Balkema, Rotterdam*, 1955.

VAN der PIJL, L. & DODSON, C.H.; **Orchid flowers: Their pollination and evolution.** *Coral Gables: University of Miami Press*, 1966.

VAN der NIET, T. HANSEN, D. M. JOHNSON, S. D. **Carrin mimicry in a South African orchid: flowers attract a narrow subset of the assemblage on animal carcasses.** *Annals of Botany*, 2011.

VEGA, Y.; MARQUES, I. **Both biotic and abiotic factors influence floral longevity in three species of *Epidendrum* (Orchidaceae).** *Plant Species Biology*. 30, 184–192, 2015.

VILLALOBOS, C. M. L. **Morfologia floral, biologia da polinização e sucesso reprodutivo em quatro espécies de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae: Laeliinae) no sul do Brasil.** 2015. 78f. Tese (Mestrado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2001.

WASER, N. M.; **A comparison of the distance flown by different visitors to a flower of the same species.** *Oecologia*, 1982.

WASER, N. M.; CHITTKA, L.; PRICE, M. V.; WILIANS, N. M.; OLLERTON, J. **Generalization in pollination systems, and why it matters.** *Ecology*, 77: 1043-1060, 1996.

WASSERRTHAL, L. T.; **The pollinators of the Malagasy star orchids *Angraecum sesquipedale*, *A. sororium* and *A. compactum* and the evolution of extremely long spurs by pollinator shift.** *Botanica Acta*, 1997.

WHALEN, M. A.; MACKAY, D. A. **Patterns of ant and herbivore activity on five understory euphorbiaceous saplings in sub-montane Papua New Guinea.** *Biotropica* 20: 294 – 300, 1988.

WIKLUND, C.; ERIKSSON, T.; LUNDBERG, H. **The wood White butterfly *Leptidea sinapsis* and its néctar plants: a case of mutualismo or parasitism?** *Oikos*, 1979.

WITTMANN, M. T.S.; AGNOL, M. D. **Auto-incompatibilidade em plantas.** *Ciência Rural*, Santa Maria, v.32, n.6, p.1083-1090, 2002.

WILLMER, P. **Pollination and floral ecology.** *New Jersey*, Princenton University Press, 2011.