



**UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DO  
MARANHÃO**  
CENTRO DE ESTUDOS  
SUPERIORES DE CAXIAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM BIODIVERSIDADE,  
AMBIENTE E SAÚDE

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO – UEMA**  
**CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE CAXIAS - CESC**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE, AMBIENTE E**  
**SAÚDE - PPGBAS**

**DEBORAH MACIEL CAMARA**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Galendra blanchetii* E.S. RAND**  
**(ORCHIDACEAE, CATASETINAE)**

Caxias – MA  
2024

**DEBORAH MACIEL CAMARA**

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Galendra blanchetii* E.S. RAND  
(ORCHIDACEAE, CATASETINAE)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde – PPGBAS/CESC/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

**Orientador:** Prof. Dr. Edlley Max Pessoa da Silva – UFMT.

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dra. Isabel Cristina Machado – UFPE.

C173b Camara, Deborah Maciel

Biologia reprodutiva de *Galendra blanchetii* E.S. Rand  
(Orchidaceae, Catasetinae) / Deborah Maciel Camara. \_\_Caxias: Campus  
Caxias, 2024.

106f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Maranhão –  
Campus Caxias, Curso de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e  
Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Edlley Max Pessoa da Silva.  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Isabel Cristina Machado

I. Título.  
1. Polinização; 2. Osmóforos; 3. Perfume - Flores. 4. Euglossini.

CDU 582.594

**DEBORAH MACIAL CAMARA**


**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE GALEANDRA BLANCHETII E.S.  
RAND(ORCHIDACEAE, CATASETINAE)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde – PPGBAS/CESC/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade, Ambiente e Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Edlley Max Pessoa da Silva


Aprovada em 28/03/2024

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **EDLLEY MAX PESSOA DA SILVA**  
Data: 25/03/2024 17:29:39-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

**Prof. Dr. Edlley Max Pessoa da Silva (Orientador)**  
**Universidade Estadual do Maranhão – UEMA/PPGBAS**

Documento assinado digitalmente  
 **ANDRE RODRIGO RECH**  
Data: 26/03/2024 20:36:11-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. André Rodrigo Rech**  
**(1º Examinador)**  
**Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri**

Documento assinado digitalmente  
 **PEDRO JOAQUIM BERGAMO**  
Data: 28/03/2024 09:51:20-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Pedro Bergamo**  
**(2º Examinador)**  
**Universidade Estadual de São Paulo**

*Dedico este trabalho à minha família, especialmente à minha mãe, Euzilene, por me trazer a este mundo e me incentivar a alcançar meus objetivos. E a Juracy, minha avó de coração, por todo apoio carinho e apoio ao longo desse percurso.*

*“This job is a great scientific adventure. But it's also a great human adventure. Mankind has made giant steps forward. However, what we know is really very, very little compared to what we still have to know.”*

Fabiola Gianotti, Higgs Boson physicist.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que contribuíram para essa jornada de conhecimento e amadurecimento, bem como às críticas, apoio e ao carinho durante os dois anos do mestrado.

A princípio, eu sou grata a Deus, que é a fonte da minha fé. Suas palavras sempre incentivam-me a nunca desistir, apesar das adversidades.

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Edlley Max Pessoa, pela excelente orientação ao longo desses dois anos. Seu apoio, indagações, críticas, ensinamentos e paciência (especialmente com os meus erros ao longo do processo), foram fundamentais para o meu desenvolvimento. Gostaria de expressar a minha gratidão também pela recepção calorosa em Cuiabá. Os nossos diálogos me proporcionaram valiosas percepções sobre questões profissionais e sobre a vida.

A minha co-orientadora, Dra. Isabel Cristina Machado, sua parceria foi fundamental e um sonho realizado. Agradeço as críticas, as sugestões, as explicações, as indagações que sempre geravam mais dez em sequência, a paciência, pela sua preocupação comigo ao longo desta trajetória. Sempre profissional, amorosa e pontual. Agradeço por ter despertado o desejo de fazer ciência em mim desde 2018, quando li um dos seus trabalhos de polinização.

Ao professor Alessandro Wagner, que me acompanhou desde a iniciação científica até este momento. O responsável por me apresentar o gênero “*Galeandra*”, despertando o interesse em mim em estudar a polinização de uma das espécies. Obrigada por compartilhar as ideias do universo da polinização comigo, pela paciência e orientação ao longo desses anos. Além disso, por me auxiliar diversas vezes em campo e contribuir para o desenvolvimento deste trabalho. Tenho plena consciência que não estaria hoje aqui se não fosse o seu incentivo e ajuda dos seus familiares para me instalar em Caxias durante o mestrado. Obrigada por ter sido além de orientador, um grande amigo.

Como diria Carl Sagan: “Para pequenas criaturas como nós, a vastidão só é suportável através do amor”, sendo assim, não poderia deixar de agradecer aqueles que despertam esse sentimento em mim.

À minha mãe, Euzilene Maciel (Ziza), ao meu Pai, Ildebrando Camara (Ildo), as minhas irmãs: Aline e Nathália, por terem me apoiado durante todas as fases da minha vida, pelo carinho e incentivo. Meu amor por vocês é inestimável. Ter a oportunidade de seguirmos os nossos objetivos e de desfrutar novas experiências é gratificante, mas

não existe sensação melhor do que saber que tenho para onde retornar quando precisar e com quem contar nas dificuldades. Destaco especialmente minha mãe e Aline, que foram minhas parceiras de campo em diversos momentos.

A minha avó Deusamin, a minha tia Tereza e Edner (in memória) e a minha prima Ana, pelo apoio e por trazem alegria a minha vida.

A querida Juracy e a Raquel que me receberam com todo cuidado e carinho em Caxias. A convivência com vocês me proporcionou memórias alegres e carinhosas. Se tornando uma amizade que levarei por toda a vida.

Aos amigos Bruno, Cindy, Ericles, Gabriela, Isabele, Letícia, Marina, Mariana, Maycon, Mitiele, Rafaela, Raissa, Rayssa, Samara e Witychel. Em especial a Bruno e a Maycon, por sempre serem solícitos e me ajudarem em algumas das observações em campo.

A todos os integrantes do Laboratório de Estudos Integrados de Plantas (LEIP), especialmente a professora Ana Paula Caetano, pela paciência em ensinar e me auxiliar nas análises histoquímicas florais.

Aos professores Arthur Domingos e Paulo Milet por auxiliarem nas análises de perfume floral, além de me ajudarem a sanar dúvidas e a conhecer mais sobre a composição química das flores.

Aos membros do Laboratório de Estudos sobre Abelhas (LEA), ao Dr. Denilson Costa Martins e Dr. José Manuel Macário Rebelo (Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Biologia, UFMA) pela identificação taxonômica das abelhas. A Dra. Patrícia Maia Correia de Albuquerque por disponibilizar o Laboratório de Estudos de Abelhas (LEA) da Universidade Federal do Maranhão e ao Me. Luciano André Chaves Ferreira pelo suporte técnico com as fotos das abelhas e ao Dr. David Barros Muniz pelo auxílio nas montagens dos insetos e aconselhamentos nas medidas das abelhas (Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Laboratório de Ecologia e Sistemática de Insetos Polinizadores e Predadores, LESPP). Ao Dr. Lucas Pereira Martins pela identificação taxonômica de Lepidoptera (Universidade de Canterbury, Nova Zelândia).

Ao Laboratório de Estudos sobre orquídeas (LEO) por fornecer local para os estudos da parte do sistema reprodutivo e ao auxílio do Ricardo Mendes e técnicos como a Santana, do Laboratório de Genética (LABGEN) para utilizar o equipamento de banho maria sempre que preciso.

Aos meus companheiros do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde (PPGBAS) pela convivência divertida que permitiu aproveitar o

mestrado e pela amizade que se desenvolveu dentro e fora da universidade. Em especial a André, Ednaldo, Flávio, Jesineide, Luis, Renata e Victor. E a toda equipe de secretário, coordenadores e professores do PPGBAS.

A coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro – Código de Financiamento 001.

## RESUMO

*Galeandra* (Catasetinae) abrange 18 espécies, das quais 14 ocorrem no Brasil. Embora amplamente distribuído na região Neotropical, nenhuma espécie do gênero teve o sistema de reprodução estudado. Tendo isto em vista, este estudo teve como objetivo investigar a biologia floral e reprodutiva de *G. blanchetii* E.S. Rand, uma orquídea epífita endêmica do Brasil. As observações de campo foram realizadas em duas populações em áreas remanescentes de Floresta Amazônica no Nordeste do Brasil. Foram feitas observações de março a julho de 2018 a 2023, totalizando 715 horas. Também realizamos acompanhamento fenológico mensal e tratamentos de biologia reprodutiva, os tratamentos foram: (i) emasculação, (ii) polinização manual, (iii) polinização cruzada manual, (iv) autopolinização espontânea, além da formação natural de frutos, as sementes foram avaliadas através do tetrazólio 1%. Os recursos florais foram avaliados com base em morfologia e testes histoquímicos. Além disso, caracterizamos o perfume floral e avaliamos seu papel na atração de polinizadores. A floração de *G. blanchetii* é anual, com as flores abrindo pela manhã. Os tratamentos experimentais mostraram que é autocompatível, mas necessita de vetores bióticos para formar frutos. A viabilidade das sementes nos tratamentos na polinização cruzada manual e natural (controle) foi significativamente maior em comparação com flores autopolinizadas, as quais apresentaram mais sementes abortadas ou sem embrião. A glândula produtora de perfume floral (osmóforo) foi identificada na superfície externa e interna do labelo, com epiderme adaxial e tricomas unicelulares com conteúdo reagente ao NADI, indicando a produção de terpenos. Embora haja um cálc, não foi constatada a presença de néctar. A maioria das visitas foi realizada por abelhas Apidae. Os únicos polinizadores efetivos foram machos Euglossini (*Euglossa securigera* e *E. cordata*) e uma Centridini (*Epicharis* sp.). A maior parte da fragrância floral de *G. blanchetii* é constituída por benzenóides, sendo salicilato de metila e benzoato de metila os majoritários, representando 83,3% do perfume da espécie. Nossos dados revelam que *G. blanchetii* atrai seus polinizadores por um mecanismo duplo que combina perfumes como recurso, e engano alimentar, atraindo tanto fêmeas quanto machos de *Euglossa* em busca de néctar. Apesar desses machos buscarem perfumes, a simples escovação do labelo não garante a polinização efetiva, sendo necessário que a abelha seja enganada e entre no cálc em busca de néctar, tendo assim contato com o polinário.

**Palavra-chave:** polinização; osmóforos; flores de perfume; Euglossini

## ABSTRACT

*Galeandra* (Catasetinae) comprises 18 species, of which 14 occur in Brazil. Although widely distributed in the Neotropical region, no species in the genus has had its reproductive system studied. With this in mind, this study aimed to investigate the floral and reproductive biology of *G. blanchetii* E.S. Rand, an epiphytic orchid endemic to Brazil. Field observations were carried out in two populations in remaining areas of the Amazon Forest in Northeastern Brazil. Observations were made from March to July 2018 to 2023, totaling 715 hours. We also carried out monthly phenological monitoring and reproductive biology treatments, the treatments were: (i) emasculation, (ii) manual pollination, (iii) manual cross-pollination, (iv) spontaneous self-pollination, in addition to natural fruit formation, the seeds were evaluated through 1% tetrazolium. Floral resources were evaluated based on morphology and histochemical tests. Furthermore, we characterized the floral scent and evaluated its role in attracting pollinators. The flowering of *G. blanchetii* is annual, with the flowers opening in the morning. Experimental treatments have shown that it is self-compatible but requires biotic vectors to form fruits. Seed viability in manual and natural cross-pollination treatments (control) was significantly higher compared to self-pollinated flowers, which had more aborted seeds or no embryos. The floral perfume-producing gland (osmophore) was identified on the external and internal surface of the lip, with adaxial epidermis and unicellular trichomes with NADI-reactive content, indicating the production of terpenes. Although there is a calcar, the presence of nectar was not found. The majority of visits were made by Apidae bees. The only effective pollinators were male Euglossini (*Euglossa securigera* and *E. chordata*) and a Centridini (*Epicharis* sp.). The majority of the floral fragrance of *G. blanchetii* is made up of benzenoids, with methyl salicylate and methyl benzoate being the majority, representing 83.3% of the species' perfume. Our data reveal that *G. blanchetii* attracts its pollinators through a double mechanism that combines scent as a resource, and food deception, attracting both females and males of *Euglossa* in search of nectar. Although these males seek perfumes, simply brushing the labellum does not guarantee effective pollination, making it necessary for the bee to be deceived and enter the calcar in search of nectar, thus having contact with the pollinaria.

**Keywords:** pollination; osmophores; perfume flowers; Euglossini

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Filogenia da família Orchidaceae, com seus respectivos gêneros, subtribos, tribos e subfamílias indicados para cada espaço da esquerda para a direita..... **21**
- Figura 2. Características morfológicas de Orchidaceae apontadas em *Galeandra blanchetii* Lindl. (A) Hábito epífita, pseudobulbo e crescimento simpodial; (B) Inflorescência; (C) Perianto trímero; (D) Coluna ou ginostêmio; (E) Polínea; (F) Fruto capsular deiscente. .... **22**
- Figura 3. Exemplos de estratégias de polinização de orquídeas. (A) Abelha *Euglossa* sp coletando fragrância e polinizando uma espécie de *Gongora*. (B) Engodo sexual em *Caladenia crebra* polinizada por engano sexual por vespa *Campylothynnus flavopictus*. (C) *Rediviva brunnea* coletando óleo em flor de *Corycium nigrescens*. (D) *Drakaea glyptodon* é polinizada por engano sexual da vespa *Zaspilothynnus trilobatus* com imitação de uma mistura de feromônios sexuais de pirazina. (E) Coletora de néctar mariposa em *Disa crassicornis*. (F) Mimetismo de local de ovoposição em *Gastrodia similis* por moscas *Scaptodrosophila*. Fonte: Adaptado por Phillips & Peakall (2020). Autorias das fotografias: (A) Santiago Ramirez. (B): Rod Peakall. (C) Michael Whitehead, (D) Rod Peakall, (E) Michael Whitehead., (F) Fotografia: David Caron. .. **28**
- Figura 4. Filogenia de Catasetinae. As vicariância (quadrados pretos) e dispersão (quadrados verdes). Apresenta a reconstrução dos estados ancestrais da deposição do polinário nos gêneros..... **32**
- Figura 5. Morfologia geral das espécies de *Galeandra*. A. Pseudobulbo fusiforme (*G. baueri* Lindl). B. Pseudobulbo cônico-ovóide (*G. blanchetii* E.S.Rand). C: Pseudobulbo ovóide (*G. montana* Barb.Rodr). D: Espécie de hábito terrestre (H. Inflorescências (*G.styllomisantha* (Vell.) Hoehne), E: hábito terrestre (*G.beyrichii* Rchb.f ), F: hábito terrestre (*G.baueri* Lindl). .... **34**
- Figura 6. Características morfológicas reprodutivas das Orchidaceae, exemplificadas na *Galeandra*..... **35**
- Figura 7: Detalhes das carenas e dos tricomas. A: Tricomas unicelulares sobre as carenas (*G. cristata* Lindl). B: Detalhe do tricoma unicelular (*G. cristata* Lindl). D: Carena claviforme (*G. santarenensis* (S.H.N.Monteiro & J.B.F.Silva). .... **35**

## CAPÍTULO 1

Figura.1. Hábito epífita de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) (A); Inflorescência racemosa com flores de labelo vináceo vista frontal (B); formato tuular da flor, Lb: Labelo, Po: Polinário; (C); Fruto imaturo capsular. .... **90**

Figura. 2. Fenologia reprodutiva de *Galeandra blanchetii* ..... **91**

Figura. 3. Viabilidade das sementes de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae), tendo no eixo x os tratamentos de AU (Autopolinização Manual, n=20), PN (Polinização Natural, n=20), PCM (Polinização Cruzada Manual, n=20) e no eixo y temos os dados percentuais. Medianas mostradas (linha horizontal central) com primeiro e terceiro quartis, com limites de valores máximos. Letras diferentes indicam diferenças significativas de acordo com ao teste de Dunn em  $p < 0,05$ . .... **91**

Figura. 4. Corte longitudinal da flor de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae). (sem coloração) (A); Testes positivo com vermelho neutro no labelo, evidenciando os tricomas labelares (osmóforos). Detalhe do cálcx com tricomas com coloração translúcida e amarelada (sem coloração) (C). Após o reagente os únicos tricomas que não coraram foram os do cálcx (D). Seções cortadas à mão através do labelo de *G. blanchetii*: epiderme unisseriada com Lugol positivo indicando que o amido está presente somente na epiderme da superfície adaxial (E) e alguns grãos nos tricomas (F). Testes positivo de Sudan IV mostrando gotas de óleo nas células epidérmicas cubóides (G), com as células do parênquima cubóides e isodiamétricas não reagentes, (H) e com tricomas unicelulares com conteúdo lipofílico (I). O reagente Nadi testou positivo para epiderme adaxial (J) e para os tricomas unicelulares evidenciaram a presença também de terpenos no conteúdo interno (k). .... **92**

Figura.5. Abelha *Euglossa* visitando flor de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) em busca de néctar. Observar o alinhamento entre a região dorsal da abelha e a coluna (A). Machos de *Euglossa* capturados com polinário de *G. blanchetii*: *Euglossa cordata*, evidenciando o polinário na região apical do escutelo (B). *Euglossa securigera* com polinário aderido também na região apical do escutelo (C). .... **93**

Figura 6. Comparação das alturas de mesossoma (mm) de *Euglossa* spp. com as características morfológicas das flores “An” (mm) e “Cn” (mm) de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae). Os potenciais polinizadores são espécies de *Euglossa* com uma altura de mesossoma que se encaixa na lacuna “An-Cn” e uma largura de mesossoma menor que a largura do tubo do labelo. Os polinizadores efetivos de *Euglossa* são mostradas em roxo,

com uma fotografia de *Euglossa securigera* com encaixe para contato com a coluna em *G. blanchetii*. Barra escala B-C: 5mm..... **93**

Figura.S1. Mapa do Estado do Maranhão com ampliação para o município de São Luís, onde foi realizado o estudo. Com a figura (A) mostrando o fragmento da Universidade Federal do Maranhão e as áreas onde foram feitas as observações de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) e (B) representando o fragmento da Área de Proteção Ambiental do Itapiracó. .... **97**

Figura.S2. Normais climáticas para precipitação e temperatura em São Luís, MA durante os anos de 1991 e 2020 (Estação convencional, COD: 82280, INMET). .... **98**

Figura.S4. Desenvolvimento da cápsula de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) após a polinização manual (dia 3) até a deiscência (150 dias); ..... **98**

Figura. S5. Frequência total de visitação e período de visitação nas flores de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) (época de floração 2018 a 2023) em fragmentos de floresta amazônica, nordeste do Brasil. .... **99**

Figura.S6. Abelha *Eulaema nigrita* em busca de néctar em flor de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) (A); Abelha *Trigona* saindo da flor tubular (B); Lepidoptera *Saliana saladin catha* realizando uma visita (D); Formiga *Crematogaster* na inserção de sépalas e pétalas (E). .... **99**

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tecidos secretores e polinizadores em orquídeas Catasetinae. *= Polinizador desconhecido. ....	30
--	----

### CAPÍTULO 1

Tabela 1. Visitantes e polinizadores registrados em <i>Galeandra blanchetii</i> (Orchidaceae) em populações naturais em São Luís, no estado Maranhão, Brasil., nos anos de 2018 a 2023. ....	88
--	----

Tabela 2. Compostos voláteis encontrados nas flores de <i>Galeandra blanchetii</i> (Orchidaceae) com base na análise de oito amostras. Os COVs são ordenados por área (%). IR = Índice de Retenção de Kovats; TR = Tempo de Retenção; SD .....	89
--	----

Tabela. S2. Análise estatística circular e testes (r e p) para ocorrência de sazonalidade das fenofases reprodutivas de <i>Galeandra blanchetii</i> (Orchidaceae) em populações no Maranhão, Brasil. ....	94
---	----

Tabela S3. Resultado da formação de frutos de <i>Galendra blanchetii</i> (Orchidaceae) de acordo com os tratamentos experimentais e em condições naturais, em plantas de dois locais de estudo em São Luís, no estado do Maranhão, Brasil.....	94
--	----

Tabela S5. Análise histoquímica das flores de <i>Galeandra blanchetii</i> (Orchidaceae). ...	95
--	----

Tabela S6. Porcentagem de abelhas <i>Euglossa</i> observadas (incluindo as não coletadas) com relação ao frequência de busca por néctar ou fragrância observadas em <i>Galeandra blanchetii</i> (Orchidaceae) em São Luís, Maranhão, Brasil.....	95
--	----

Tabelas S7. Mensurações realizadas em flores de <i>Galeandra blanchetii</i> (Orchidaceae) (N=30). AN: Altura do labelo até a região média da antera; CN: Altura do labelo até a aba rostela; LT: Largura do tubo floral e CC: Comprimento do cálc. ....	96
---	----

Tabela S8. Mensurações realizadas nas abelhas coletadas em flores de <i>Galeandra blanchetii</i> (Orchidaceae), em populações naturais no Maranhão, Brasil. ....	96
--	----

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>19</b>
2.1. Interação Planta-Polinizador .....	19
2.2. Caracterização da Família Orchidaceae .....	21
2.3. Recursos florais em orquídeas: recompensa ou engodo?.....	25
2.4. Mecanismo de Polinização da Subtribo Catasetinae.....	29
<b>2.5. O gênero <i>Galeandra</i>.....</b>	<b>33</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
3.1. Objetivo Geral: .....	37
3.2. Objetivos Específicos .....	37
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>37</b>
<b>5. CAPÍTULO 1: MANUSCRITO A SER ENVIADO AO PERIÓDICO PLANT BIOLOGY - Perfumes, engodo, ou ambos? Desvendando o enigma do mecanismo de polinização de <i>Galeandra blanchetii</i> E.S. Rand (Orchidaceae) .....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXO. NORMAS DE SUBMISSÃO PARA O PERIÓDICO PLANT BIOLOGY.....</b>	<b>100</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As flores exibem características que servem como atrativos, sinalizando a presença de algum recurso como: cor (Raine & Chittka, 2007; Reverté *et al.*, 2016; Santana *et al.*, 2022), guias de néctar (Carvalho & Machado, 2006; Hansen; Van Der Niet; Johnson, 2012), fragrâncias (Nunes *et al.*, 2016), morfologia e tamanho das flores (Rech *et al.*, 2014; Bauer; Clayton; Brunet, 2017; Tsuji & Ohgushi, 2018). Os recursos que as flores podem oferecer são geralmente classificados em nutritivos (pólen, néctar, lipídeos e tecidos florais) e não-nutritivos (resinas, óleos, ceras e perfumes), que são utilizados para construção de ninhos, atração sexual (Rech *et al.*, 2014), ou até locais de abrigos (Seymour, White & Gibernau, 2003)

Na Subtribo Catasetinae (Epidendroideae) a maioria dos seus representantes oferecem perfume como recurso, como ocorre em *Catasetum* Rich. ex Kunth (Dressler, 1982; Carvalho & Machado, 2002; Milet-Pinheiro *et al.*, 2015), *Cycnoches* Lindl (Cancino & Damon, 2007; Anton; Kaminska; Stpiczynska, 2012), *Dressleria* Dodson (Dodson, 1975) e *Mormodes* Lindl (Dodson, 1962), com espécies sendo polinizadas por machos de abelhas Euglossini que são atraídas pela emissão de voláteis produzidas pelas flores, estes utilizam as combinações de óleos voláteis na atração de fêmeas (Ayasse, 2023; Henske *et al.*, 2023). Outras fontes de recompensa são tricomas alimentares, em *Cyanaeorchis* Barb. Rodrig e óleos, como registrado em *Grobya* Lindl (Pansarin; Castro; Sazima, 2009, Pansarin & Maciel, 2017).

Embora a polinização seja considerada uma relação benéfica para as espécies envolvidas, existem casos de orquídeas que utilizam atrativos florais para simular algum tipo de recurso que não existe, “enganando” o polinizador, sendo esse tipo de estratégia classificada como polinização por engano ou engodo (Ackerman, 1986; Schiestl, 2005; Jersáková & Johnson, 2006). Os mecanismos mais comuns de polinização por engodo são por “engano alimentar” (flores que atraem visitantes simulando a presença de um recurso alimentar inexistente) e “engano sexual” (flores que simulam parceiros sexuais ou sítios de ovoposição podendo ocorrer também através do mimetismo batesiano). Dentre essas diferentes estratégias, a primeira é caracterizada pela atração de polinizadores mais generalistas, enquanto a segunda está mais relacionada a especificidade de polinizadores (Ackerman *et al.*, 2023).

Acredita-se que espécies do gênero Neotropical *Galeandra* Lindl. (Epidendroideae: Catasetinae) sejam polinizadas por engano alimentar (Monteiro, 2007). O gênero possui 18 espécies distribuídas na América Central e do Sul até o norte da

Argentina (Monteiro, 2007), porém a maior diversidade é encontrada no Brasil onde ocorrem 14 espécies (Monteiro, 2024). A maior parte dos estudos para o gênero concentra-se na taxonomia, levantamento de espécies, biogeografia e análise filogenética (Monteiro, 2007; Monteiro, Silva e Secco, 2009; Bochner, Monteiro e Smidt, 2015; Martins *et al.*, 2018; Santos e Silva, 2020 e Romero-González *et al.*, 2021). Por outro lado são raros os estudos sobre sua ecologia da polinização. O único trabalho que caracterizou a biologia reprodutiva do grupo é o de Monteiro (2007), que evidenciou a necessidade de um agente biótico para polinização efetiva das espécies de *Galeandra*, já que não foi observada a ocorrência de polinização espontânea (autopolinização) na maioria das espécies (exceto *G. beyrichii* Rchb. f.). Nessa pesquisa, observou-se que metade das espécies não produziam néctar, embora tivessem características melitófilas, como a presença de nectário calcarado, aroma e guias de néctar (*G. baueri* Lindl, *G. beyrichii* Rchb. f., *G. blanchetii* E. S. Rand, *G. cristata* Lindl, *G. santarenensis* S.H.N.Monteiro & J.B.F.Silva e *G. stylloisantha* (Vell) Hoehne). Com base nessa constatação, Monteiro (2007) hipotetizou que as espécies de *Galeandra* seriam polinizadas por engano, por abelhas. Estudos realizados por Ramírez *et al.* (2002, 2011) levantaram uma hipótese alternativa de que as flores de *Galeandra* poderiam ser flores que ofertam perfume como recompensa floral. Eles registraram visitas de abelhas do gênero *Euglossa* spp. em flores de *Galeandra*, além de captura de machos de Euglossini com polinários de *Galeandra* spp. aderidos ao tórax por meio de armadilhas de cheiro. Porém, até o momento nenhum estudo comprovou a polinização de *Galeandra* por abelhas *Euglossa*.

Observações preliminares sobre biologia floral de *G. blanchetii* em áreas da Amazônia Maranhense indicaram que machos e fêmeas de abelhas *Euglossa* sejam os polinizadores, uma vez que são os mais compatíveis morfologicamente com as flores dessa orquídea. Portanto decidimos testar a seguinte hipótese: O ajuste mecânico e as características melitófilas (fragrância, formato tubular, guias de néctar, labelo vináceo e calcar proeminente) e ausência de néctar, garantem a *Galeandra blanchetii* um sistema de polinização por engodo alimentar combinado com a presença de perfumes como recompensa. Para isto, fornecemos um estudo detalhado com registros da fenologia, sistema reprodutivo, morfologia, anatomia floral, comportamento dos visitantes florais e ajuste mecânico da flor aos potenciais polinizadores, bem como a análise da fragrância floral.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1. Interação Planta-Polinizador

A interação entre plantas e animais possibilita uma das mais importantes funções ecossistêmicas, a polinização, que influencia na composição genética e abundância da maior parte das espécies vegetais com flores, sendo fundamental para a manutenção da biodiversidade (Kevan & Viana, 2003; Klein, 2007; Waser & Ollerton, 2006). Esta fascinante interação mutualística instigou hipóteses de que plantas e polinizadores teriam coevoluído, gerando assim interações especializadas (Rech *et al.*, 2014). Nesse sentido, conjuntos de traços florais estariam associados às ordens específicas de polinizadores (por exemplo, melitofilia relacionada a abelhas e cantarofilia a besouros), sendo essa a base da teoria das síndromes de polinização (Faegri & Van Der Pijl, 1979; Fenster *et al.*, 2004).

Um dos exemplos mais conhecidos da previsão de polinizadores foi realizado por Darwin (1872) que, a partir de observações dos longos esporões da orquídea *Angraecum sesquipedale* Thouars, inferiu que uma mariposa de probóscide longa correspondente ao tamanho do esporão, seria o polinizador. Tal hipótese foi confirmada mais de um século depois (Arditti *et al.*, 2012). No entanto, esses mecanismos de especialização das síndromes ainda geram debates, visto que, nem sempre se confirmam, além disso, não são suficientemente eficientes para descrever a grande diversidade de fenótipos existentes ou prever os polinizadores (Brosi, 2016; Fenster *et al.*, 2004; Memmott; Waser; Price, 2004; Waser *et al.*, 1996; Ollerton *et al.* 2009). Pesquisas evidenciaram que cores semelhantes de flores não atraem as mesmas assembleias de polinizadores (Reverté *et al.*, 2016), ou seja, nem sempre conjuntos de características compartilhadas podem inferir o polinizador, por isso é imprescindível que o foco não seja a categorização em generalista ou especialista, mas que o processo seja visto de maneira dinâmica, possibilitando auxiliar em novas compreensões das interações planta-polinizador (Bascompte; Jordano & Olesen., 2006; Memmott; Waser & Price, 2004).

Nesse sentido, alguns critérios são utilizados para classificar um visitante como polinizador de uma espécie: 1. possuir ajuste morfológico com a flor visitada; 2. ter frequência de visitas legítimas e; 3. realizar a transferência de pólen para o estigma (Alves-dos-Santos, 2016). Diante da diversidade de angiospermas disponíveis no ambiente, animais forrageadores precisam escolher quais espécies visitar. Nesse ponto, a flor desempenha o papel de estimular o aparato sensorial e a cognição dos polinizadores, por meio dos atrativos florais, que sinalizam a presença de algum recurso, como cor, guias

de néctar, fragrâncias, morfologia, tamanhos das flores e em casos específicos através de sinais acústicos e até mesmo campos eletromagnéticos (Clegg, Hecht & Macintyre, 2000; Chicas-Mosier *et al.*, 2020; Gonzalez-Terrazas *et al.*, 2016; Muchhala, 2007; Schäffler *et al.*, 2015; Shrestha *et al.*, 2013; Sprengel, 1793).

Os sinais florais não servem como recompensa, exceto nas ditas “flores de perfume” (Vogel, 1966), nas quais as fragrâncias florais são utilizadas por abelhas euglossine machos, nas exibições durante o acasalamento (Bisrat & Jung, 2022; Brandt *et al.*, 2021; Dressler, 1968; Etlz, 2003; Milet-Pinheiro *et al.*, 2021; Pokorny *et al.*, 2017; Teichert *et al.*, 2009). As recompensas ou recursos florais são todo e qualquer componente da flor que é utilizado por animais, e, em função disso, asseguram frequências de visitas repetidas que podem levar à polinização e otimizar a fecundação (Johnson *et al.*, 2003; Makino & Ohashi, 2017). Os recursos que as flores podem oferecer são geralmente classificados em nutritivos (pólen, néctar, lipídeos e tecidos florais) e não-nutritivos (resinas, ceras e fragrâncias), que são utilizados para construção de ninhos, locais de abrigo ou para a atração sexual (Rech *et al.*, 2014; Seymour, White & Gibernau, 2003).

O néctar e o pólen são os tipos de recursos mais predominantes na natureza utilizados por uma diversidade de animais (Patiny, 2011; Percival, 2013; Rouston & Cane, 2000). As interações com os polinizadores são influenciadas não apenas pela quantidade do néctar, mas também pela sua acessibilidade (Brzosko & Mirski, 2021). A presença dele aumenta a frequência de visitas dos polinizadores e a sua eficiência (Ackerman *et al.*, 1994; Jersáková & Johnson, 2006; Jersáková *et al.*, 2008). Embora a polinização seja considerada uma relação benéfica para as espécies envolvidas, existem casos em que os atrativos são utilizados para “enganar” o polinizador, atraindo-os para flores sem recursos, sendo essa relação classificada como polinização por engodo ou engano (Ackerman, 1986; Borba & Braga, 2003; Jersáková; Johnson & Kindlmann, 2006; Nunes *et al.*, 2017; Proctor & Lack, 1996; Van der Kooi *et al.*, 2021).

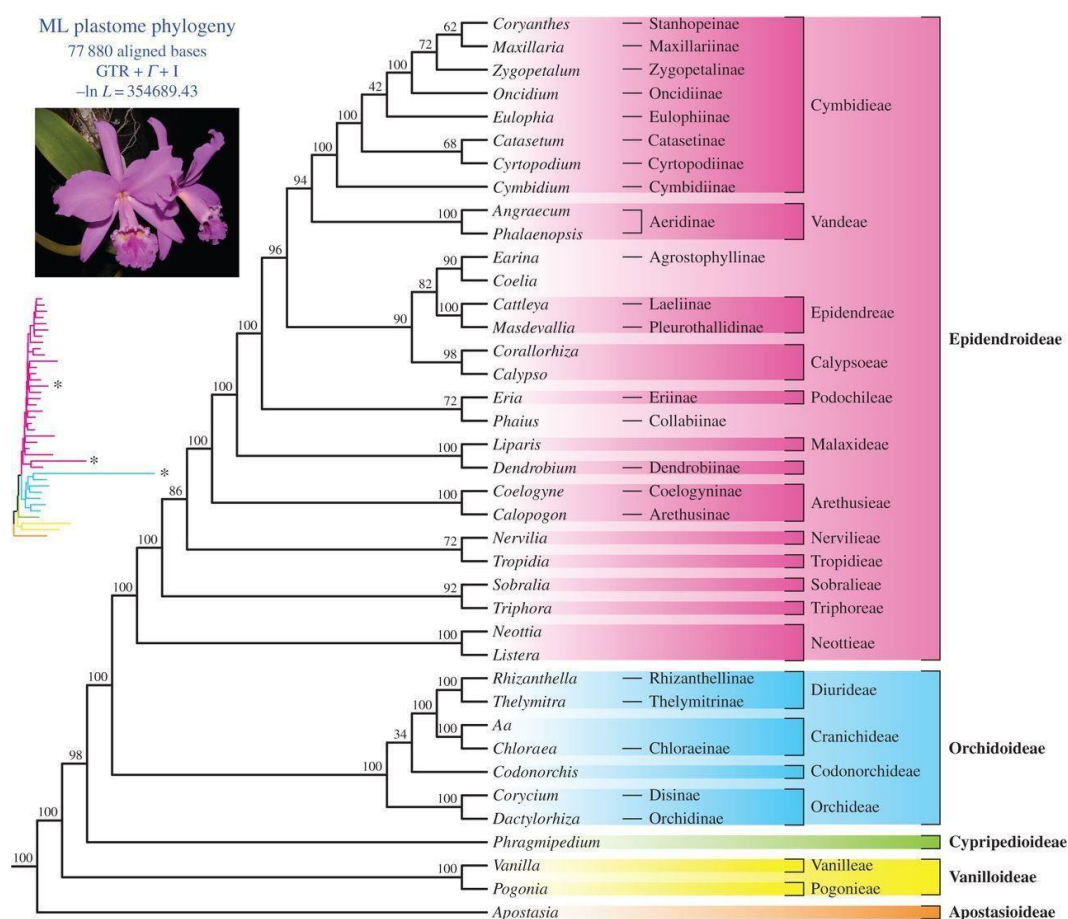
Estudos que integrem a fenologia, a biologia floral e da polinização são essenciais para uma melhor compreensão das estratégias reprodutiva das plantas, visto que diversos fatores ambientais podem interferir nesse processo (Rech *et al.*, 2014). A fenologia, por exemplo, é influenciada especialmente por fatores abióticos (Cortés-Flores *et al.*, 2017), os quais podem afetar os sinais florais e as recompensas, podendo comprometer o sucesso reprodutivo das plantas e o suprimento de alimento para os polinizadores (Descamps; Quinet & Jacquemart., 2021; Kudo; Ida & Tani, 2008; Newstrom, Frankie & Baker, 1994;

Rech *et al.*, 2014), sendo seu estudo cada vez mais importante no cenário de mudanças climáticas globais.

## 2.2. Caracterização da Família Orchidaceae

A família Orchidaceae pertence à ordem Asparagales, a maior entre as Liliopsida (Chase *et al.*, 2015), com mais de 28.000 espécies (WFO, 2024), distribuídas nas subfamílias: Apostasioideae, Cyripedioideae, Orchidoideae, Vanilloideae e Epidendroideae (Fig. 1), sendo esta última a maior e mais diversificada, com mais de 500 gêneros (Lu; Liu & Lan, 2019; Stevens, P. F, 2024).

**Figura 1.** Filogenia da família Orchidaceae, com seus respectivos gêneros, subtribos, tribos e subfamílias indicados para cada espaço da esquerda para a direita



Fonte: Givinish *et al.*, 2015

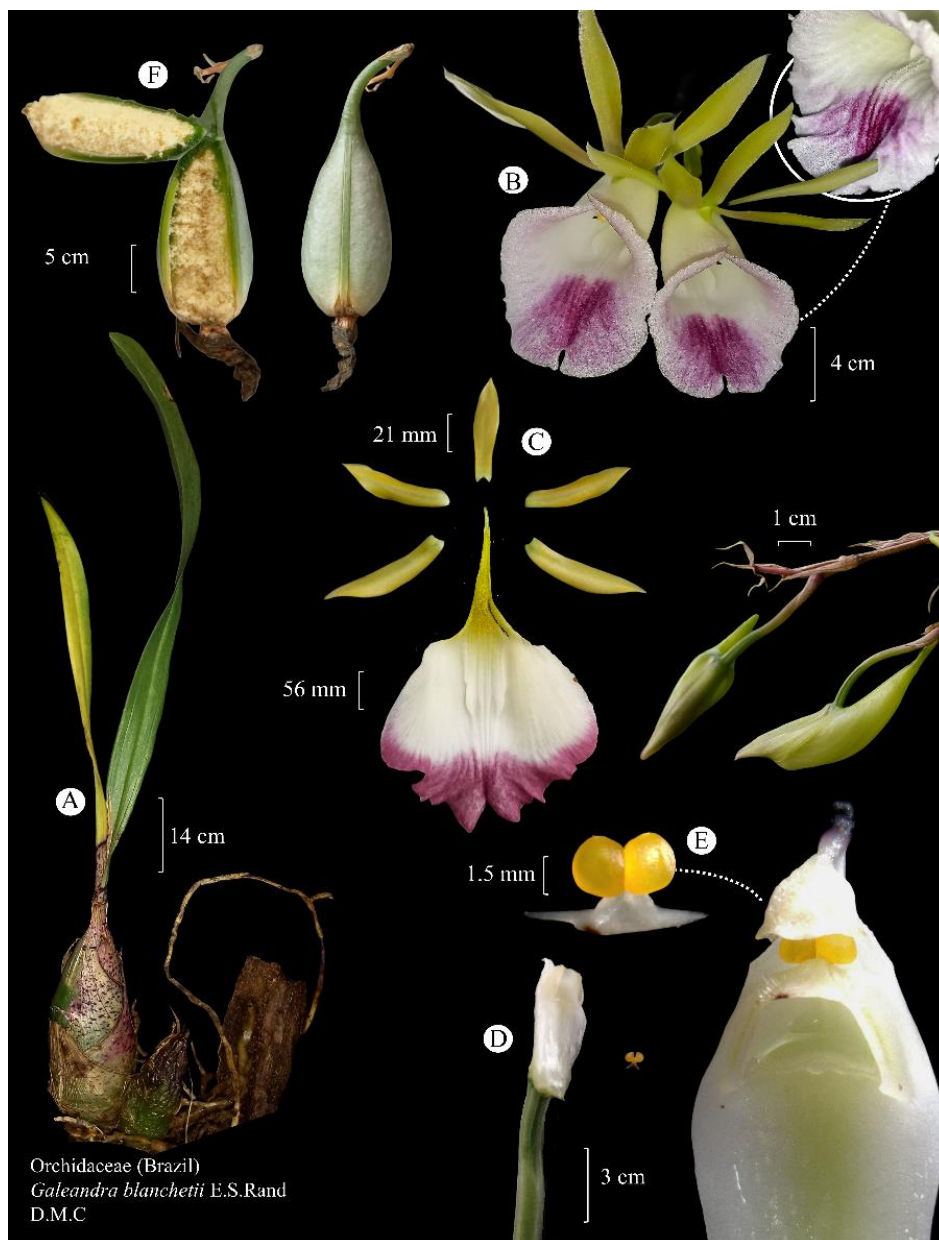
As orquídeas podem ser encontradas em todos os continentes e nos principais grupos de ilhas continentais e oceânicas (Taylor *et al.*, 2021), estando ausentes apenas nas regiões polares e desérticas (Chase, 2005). No entanto, a maior parte das espécies

tende a ter distribuições restritas e pequenos tamanhos populacionais (Dressler, 1981; Otero; Bayman & Ackerman., 2005).

Devido ao esplendor de suas flores, as orquídeas são utilizadas amplamente na ornamentação (Hinsley *et al.*, 2018). Além disso, por conter uma gama de metabólitos secundários, possuem uso medicinal e na indústria alimentícia (Barragán-Zarate *et al.*, 2020; Bulpitt *et al.*, 2007; Misra *et al.*, 2023; Paudel *et al.*, 2016; Sut & Dall'Acqua, 2017). Considerando a ampla distribuição do grupo, uma série de estratégias adaptativas na morfologia e fisiologia possibilitaram a ocupação em diferentes habitats (Chase *et al.*, 2005; Dressler, 1981; Dressler, 1993). As raízes das orquídeas são secundárias ou adventícias (Dressler, 1993; Stern, 2014), desempenham função de ancoragem ao substrato e absorção de nutrientes, e, algumas espécies (principalmente epífitas) possuem o velame, composto por um tecido esponjoso formado por células mortas que auxiliam na absorção de água (Pridgeon, 1987; Zotz & Winkler, 2013 ). Estudos recentes apontam que esta estrutura também pode funcionar como protetor UV-B para as raízes (Chomicki *et al.*, 2015).

A maior parte das espécies da família (ca.69%) são epífitas (Zotz, 2013), porém também apresentama outras formas de vida como terrestre, hemiepífita, rupícolas e micohetetróficas (Flora e Funga do Brasil, 2024). Podem apresentar o crescimento monopodial (a partir de uma mesma gema apical) ou simpodial (decorrido da substituição da gema ao longo do tempo). Em espécies monopodiais, o caule é uma estrutura alongada com folhas e nas simpodiais comumente é subdividida em rizoma e caule secundário (Dressler, 1993), sendo este, muitas vezes constituído de um órgão de reserva denominado pseudobulbo (Fig. 2. A) (Goh & Kluge, 1989; Yong & Hew, 1995).

**Figura 2.** Características morfológicas de Orchidaceae apontadas em *Galeandra blanchetii* Lindl. (A) Hábito epífita, pseudobulbo e crescimento simpodial; (B) Inflorescência; (C) Perianto trímero; (D) Coluna ou ginostêmio; (E) Polínea; (F) Fruto capsular deiscente.



Os pseudobulbos podem ser heteroblásticos, quando possuem entrenós com tamanhos diferentes, sendo um mais desenvolvido que os demais, (ex. *Cattleya* Lindl.) ou homoblásticos, quando compostos por entrenós de comprimentos semelhantes (ex. *Dendrobium* Sw.) (Dressler, 1981). Além dos pseudobulbos, algumas espécies podem apresentar as folhas mais crassas, bem como o metabolismo ácido das crassuláceas ou CAM que auxilia na redução da perda de água (Lüttge, 2004; Motomura *et al.*, 2008; Ng & Hew, 2000). As folhas podem ser alternas espiraladas ou dísticas (Dressler, 1960; Dressler 1993). As orquídeas possuem inflorescência terminal ou lateral, sendo principalmente dos tipos racemo ou panícula, embora diversas outras organizações das flores também existam e em alguns casos a inflorescência pode ser reduzida a apenas uma flor (Fig. 2. B) (Dressler, 1960; Dressler 1993; Schultes, 2013).

As flores são diclamídeas, zigomorfas e com perianto trímero (três pétalas e três sépalas), sendo uma pétala modificada denominada de labelo (Fig. 2. C) (Dressler, 1993; Mondragón-Palomino & Theißen, 2009). Na maioria das vezes são hermafroditas, tendo o gineceu e o androceu fusionados em uma estrutura conhecida como coluna ou ginostêmio (Fig. 2. D) (Dressler, 1993; Rudall & Bateman, 2002). Exceções existem nas subtribos Eulophiinae, Catasetinae e Satyriinae que apresentam flores, que embora possuam colunas, apenas um dos sexos é viável (Huang *et al.*, 2009; Pannell, 2009; Suetsugu, 2020). O pólen geralmente é aglutinado em políneas que são retiradas pelos polinizadores (Fig. 2. E).

No que diz respeito ao sistema reprodutivo, as orquídeas possuem mecanismos que favorecem a alogamia (polinização cruzada), como o rostelo bem desenvolvido, formando uma barreira física impedindo a deposição do polinário na mesma flor (Gamisch *et al.*, 2014). Outro mecanismo conhecido é a protandria, no qual as flores recém abertas funcionam primeiro como doadores de pólen e o estigma apresenta-se não receptivo por determinado tempo, com exemplos registrados na subtribo Spiranthinae (Singer, 2002) e Satyriinae (Jersáková & Johnson, 2007). Quando o contrário acontece é chamado de protoginia, observada em algumas espécies de Oncidiinae (Singer & Koehler, 2003). Ainda pode ocorrer a auto-incompatibilidade devido a fatores genéticos, sendo esses mais raros (Tremblay *et al.*, 2005).

Apesar de ca. 76% ser dependente de polinizadores, a maior parte das orquídeas são autocompatíveis (e autógamas), ou seja, podem ser fecundadas por seu próprio pólen (Ackerman *et al.*, 2023). Esses casos podem ocorrer através de fatores abióticos, como exemplo em *Cyrtopodium flavum* Link & Otto ex Rchb.f., na qual gotas de chuvas entram em contato com a substância adesiva do estigma, tornando-as viscosas e através da evaporação inflam as anteras resultando na movimentação do polinário para a superfície estigmática (Pansarin; Pansarin & Sazima, 2008). A fecundação da flor também pode ocorrer sem auxílio dos fatores abióticos e bióticos, como em *Holcoglossum amesianum* (Rchb.f.) Christenson., na qual a rotação da flor posiciona a antera contra a gravidade em 360° para inserir o pólen em seu próprio estigma (Liu *et al.*, 2006), ou ainda com a redução da membrana do rostelo possibilitando o maior contato entre o fluido estigmático e as políneas (Suetsugu, 2013), e em outros casos pode ocorrer mesmo tendo o rostelo, como em *Vanilla palmarum* (Salzm. ex Lindl.) Lindl. (Pansarin & Ferreira, 2022).

Os frutos também podem ser formados por uma via menos comum, a apomixia (assexuada), a partir de óvulos não fertilizados. Essa estratégia geralmente ocorre por via

facultativa quando a polinização é limitada, como ocorre em *Satyrium ciliatum* Lindl. (Huang *et al.*, 2009) e em *Zygopetalum mackayi* (Kunth) Garay (Campacci *et al.*, 2017). No entanto, existem relatos raros como apomixia obrigatória ocorrendo nos gêneros *Corunastylis* Fitzg. (Sorensen *et al.*, 2009), *Zeuxine* Lindl. e *Rhomboda* Lindl (Xiao *et al.*, 2021), sendo a principal estratégia reprodutiva dessas plantas.

### 2.3. Recursos florais em orquídeas: recompensa ou engodo?

Dentre as recompensas que as flores das orquídeas oferecem, o néctar é a mais comum (Ackerman *et al.*, 2023), sendo secretado em glândulas chamadas de nectários. Estas estruturas podem ocorrer em toda a parte aérea da planta (Roy *et al.*, 2017), e o néctar é constituído de uma solução aquosa composta principalmente por sacarose, glicose e frutose (Percival, 1961), podendo conter também metabólitos secundários (Stevenson; Nicolson & Wright, 2017), aminoácidos (Baker & Baker, 1986) e sais (Hiebert & Calder, 1983). Os nectários podem ser extraflorais, quando não estão localizados nas flores, e florais quando ocorrem nas flores. Estes últimos podem ser divididos com relação à função, sendo os nupciais aqueles relacionados com a polinização e extranupciais os que não são relacionados com a polinização (Tölke *et al.*, 2020). Os nectários florais geralmente compreendem uma epiderme, um parênquima nectário e um parênquima subnectário (Tölke *et al.*, 2020). Nas orquídeas são encontrados frequentemente no labelo, além das pétalas e sépalas (Dressler, 1993). Os nectários extraflorais e extranupciais são constantemente relatados com associação facultativa com formigas na defesa da herbivoria (Almeida & Figueredo, 2003; Fisher, 1992; Martins, 2009).

Os principais agentes polinizadores em orquídeas nectaríferas são mariposas noturnas da família Nymphalidae, Noctuidae, Sphingidae e Erebidae (Figura 3.E) (Johnson, 1997; Luyt & Johnson, 2001; Koopowitz & Marchant, 1998; Nilsson *et al.*, 1992; Nilsson & Rabakonandrianina, 1988; Peter *et al.*, 2009; Singer *et al.*, 2007; Steen, 2012), borboletas da família Nymphalidae, Hesperiidae e Pieridae (Aguiar *et al.*, 2012; Balducci, 2019), abelhas do gênero *Bombus* (Latreille, 1802), *Centris* (Fabricius, 1804), *Eulaema* (Lepeletier, 1841), *Euglossa* (Latreille, 1802) e *Xylocopa* (Latreille, 1802), que forrageiam o néctar e polinizam as flores (Adit *et al.*, 2022; Albuquerque *et al.*, 2021; Buzzatto *et al.*, 2022; Jürgens *et al.*, 2009; Watteyn *et al.*, 2023). Existe também o registro de aves, como por exemplo beija-flores (Neubig *et al.*, 2015, Pansarin & Ferreira, 2022). O estudo recente realizado por Brzosko & Mirsky (2021) apontou que as maiores

concentração de açúcares é encontrada em orquídeas polinizadas por abelhas, enquanto as polinizadas por pássaros e mariposas possuem concentração menor.

O pólen também é registrado como recompensa, como em *Psilochilus* Barb.Rodr. (Pansarin & Amaral, 2008). Em algumas espécies os tricomas podem conter corpos proteicos com amido e formar pseudopólen, como ocorre em *Maxillaria* Ruiz & Pav e *Polystachya* Hook., que são coletados por abelhas como recompensa nutritiva (Davies & Turner, 2004), enquanto outras podem apresentar óleos comestíveis como ocorre em *Grobya* Lindl (Pansarin *et al.*, 2009). Assim como néctar, óleos, tricomas e pólen, as orquídeas podem oferecer substâncias não nutritivas como recompensas. Como exemplo podemos citar as resinas encontradas principalmente em membros do subtribo Maxillariinae (Blanco *et al.*, 2007; Davies & Stpiczyńska, 2006; Flach *et al.*, 2004; Krahll *et al.*, 2019; Singer *et al.*, 2004). Abelhas podem utilizar essas resinas para construção de ninhos, uma vez que tem ação hidrofóbica e também podem conter compostos antimicrobianos (Armbruster, 1984; Lokvam & Braddock, 1999). Outro exemplo são os óleos, como demonstrado em membros de Oncidiinae polinizados por abelhas solitárias (Castro & Singer *et al.*, 2019; Pansarin & Pansarin, 2011; Pansarin *et al.*, 2021; Stpiczynska & Davies, 2008; Whitten, Williams & Chase, 2000) e no gênero *Pterygodium* (Figura 3. C), polinizado por fêmeas de abelhas que coletam óleo no apêndice labial (Pauw, 2006).

Por fim, outro recurso não nutritivo são as fragrâncias florais, que são uma mistura de moléculas orgânicas voláteis de baixo peso molecular e altamente lipofílicos (Tholl *et al.*, 2006). Estas fragrâncias são produzidas em glândulas denominadas osmóforos (Vogel, 1963). O corante vermelho neutro é frequentemente utilizado para identificar osmóforos (Arévalo-Rodrigues *et al.*, 2021; Kettler *et al.*, 2019; Kowalkowska *et al.*, 2018; Stpiczyńska, 2001), no entanto, Paiva *et al.* (2019) sugere o uso desse corante em combinação com outros complementares, visto que, este pode acabar detectando outras células ativas e resultar em falsas suposições da localização dos osmóforos. Além disso, a presença de uma cutícula cerosa pode impedir a penetração do reagente, como ocorre em *Gongorra bufonia* Lindl. (Adachi; Machado & Guimarães, 2015). Uma alternativa é utilizar o reagente NADI (David & Carde, 1964; Reposi *et al.*, 2021) para detecção de terpenos, que são uns dos componentes de compostos voláteis. No entanto, para verificar a presença dos demais componentes químicos com precisão é recomendável a cromatografia gasosa – espectrometria de massa (CG-MS) (Durareva & Pichersky, 2006).

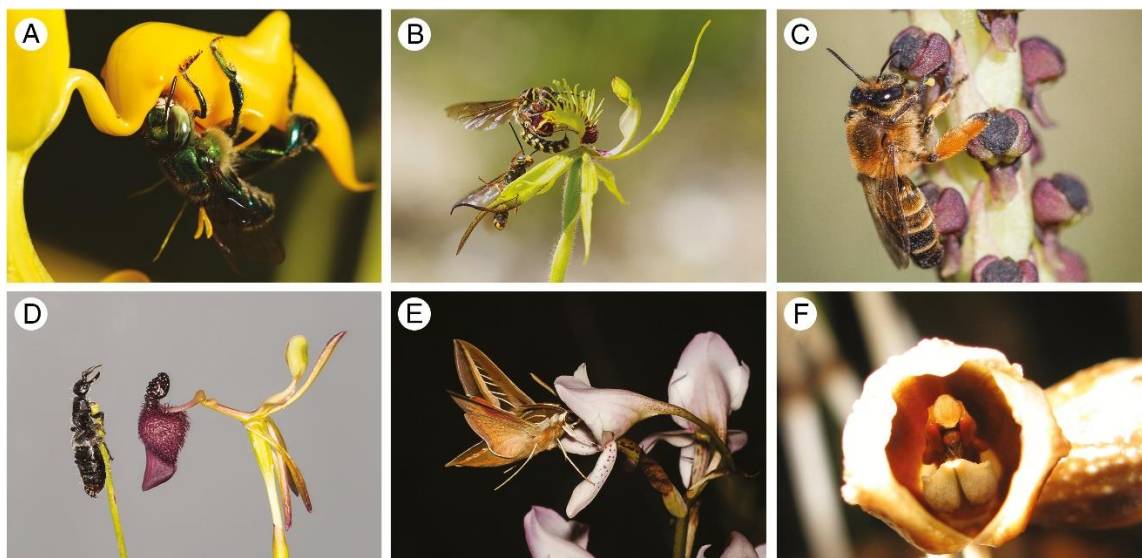
Os osmóforos geralmente são encontrados no labelo, mas podem ocorrer nas

pétalas, sépalas, tricomas secretores e epitélio glabro, bem como em outras partes das flores (Vogel, 1963; Effmert *et al.*, 2006; Płachno, *et al.*, 2016). Possuem células com citoplasma denso, com presença de amido e alto número de mitocôndrias, características relacionadas com tecido de atividade metabólica alta (Fahn, 2000). Podem também ser formados por apenas uma camada de células epidérmicas, com tricomas uni ou multicelulares, ou ainda com várias camadas de células (Vogel, 1990).

A caracterização da fragância floral é feita predominantemente a partir de métodos de headspace dinâmico com filtros adsorventes para reter os compostos orgânicos voláteis (Knudsen & Tollsten, 1993; McGee & Purzycki, 2001), que posteriormente são extraídos para análise por meio de cromatografia gasosa e identificados por meio de espectrometria de massa (Brandt *et al.*, 2020; Pichersky; Dudareva, 2020). É importante também a verificação das taxas de emissão de odor ao longo do dia para compreender a interação destes com o polinizador (Chapurlat *et al.*, 2018). Nas orquídeas são encontrados terpenóides, monoterpenos, sesquiterpenos, ácidos graxos, alifáticos, ésteres, éteres, aromáticos e fenilpropanóides (Brandt *et al.*, 2020; Edens-Meier & Bernhardt, 2019; Mus *et al.*, 2020; Tholl *et al.*, 2006). A abundância de compostos varia a depender do táxon, como por exemplo em *Gongora Ruiz & Pavon* são encontrados mais de 80 voláteis (Casique *et al.*, 2021), e em *Phalaenopsis bellina* Rchb.f. mais de 60 compostos voláteis foram detectados (Mus *et al.*, 2020). Além disso, as fragrâncias florais podem variar entre flores estaminadas e pistiladas, como ocorre em *Catasetum arietinum*, F. E. L. Miranda & K. G. Lacerda na qual as flores pistiladas emitem mais voláteis (Brandt *et al.*, 2020).

Os machos de abelhas euglossine (Euglossini: Apidae) são conhecidos por coletar perfumes florais. Para isso fazem uso de estruturas especializada em suas pernas, com pelos densos nas pernas anteriores que escovam a superfície onde o perfume é produzido. Posteriormente, estes perfumes são transferidos para o basitarso médio, e por fim, os óleos voláteis são armazenados em bolsas tibiais posteriores (Dressler, 1982; Kimsey, 1984; Etlz *et al.*, 1999; Etlz; Sager & Lunau., 2005). Esses voláteis são utilizados pelos machos durante as exhibições, atraindo outros do mesmo sexo e facilitando a localização de sítios de acasalamento. Além disso, machos com odores mais complexos têm maior chance de copular com as fêmeas, influenciando assim na seleção sexual (Henske *et al.*, 2023). Os estudos dessa relação são feitos a partir de investigações de respostas eletrofisiológicas das antenas das abelhas para constatar quais compostos desencadeiam a despolarização, inferindo assim o potencial de atratividade (Brandt *et al.*, 2020; Pokorny *et al.*, 2017; Zimmerman *et al.*, 2006).

**Figura 3.** Exemplos de estratégias de polinização de orquídeas. (A) Abelha *Euglossa* sp coletando fragrância e polinizando uma espécie de *Gongora*. (B) Engodo sexual em *Caladenia crebra* polinizada por engano sexual por vespa *Campylothynnus flavopictus*. (C) *Rediviva brunnea* coletando óleo em flor de *Corycium nigrescens*. (D) *Drakaea glyptodon* é polinizada por engano sexual da vespa *Zaspilothynnus trilobatus* com imitação de uma mistura de feromônios sexuais de pirazina. (E) Coletora de néctar mariposa em *Disa crassicornis*. (F) Mimetismo de local de ovoposição em *Gastrodia similis* por moscas *Scaptodrosophila*.



**Fonte:** Adaptado por Phillips, Reiter & Peakall (2020). Autorias das fotografias: (A) Santiago Ramirez. (B): Rod Peakall. (C) Michael Whitehead, (D) Rod Peakall, (E) Michael Whitehead., (F) Fotografia: David Caron.

A maior parte dos exemplos de perfumes como recompensa em Orchidaceae são encontrados na subtribo Catasetinae (Carvalho & Machado, 2002; Nunes *et al.*, 2017; Williams & Dodson, 1972). Ao contrário das orquídeas perfumadas, que dependem exclusivamente das abelhas macho para polinização, as abelhas não dependem exclusivamente das orquídeas, pois podem coletar perfume em flores de muitas outras famílias e em várias fontes naturais, como folhas, resinas, cascas de árvores, fungos e até mesmo fezes (Dressler, 1982 ; Whitten *et al.*, 1993 ; Zimmerman *et al.*, 2009).

A polinização por engodo é comum em Orchidaceae e pode variar desde o alimentar, sexual ou generalizado. Um exemplo intrigante de engodo alimentar é o mimetismo de *Dracula lafleurii* Luer & Dalström, que possui o labelo semelhante a um cogumelo e têm composto volátil que está associado a fungos; o conjunto desses caracteres visuais e olfativos garantem a polinização por moscas drosófilas (Policha *et al.*, 2016). O mimetismo de flores melitófilas ocorre em *Pseudolaelia* Porto & Brade e *Cyrtopodium* R. Br, que mimetizam flores amarelas produtoras de óleo e pólen (Borba &

Braga, 2003; Pansarin; Pansarin, Sazima., 2008). Existe também o engodo sexual, como é comum no gênero de orquídeas européias *Ophrys* L., que possui fragrâncias similares aos feromônios sexuais de fêmeas virgens de abelhas solitárias (Schiestl *et al.*, 2000), e *Drakaea glyptodon* Fitzg que contém misturas que mimetizam feromônios de vespas Thynnine machos (Figura 3. D), que estimulam o pouso e a tentativa de cópula por parte dos machos co-específicos. Esse mecanismo também é observado no gênero *Caladenia* R.Br com semioquímicos (Figura 3. B) e em *Disa forficaria* Bolus com besouros atraídos por composto que ocasiona o comportamento copulatório (Bohman *et al.*, 2018; Cohen *et al.*, 2021; Peakall, 1990).

Há exemplos de engodo por morfologia similar aos locais de oviposição, como na orquídea *Gastrodia similis* Bosser (Figura 3. F), que possui perfume semelhante a frutas podres, atraindo espécie de mosca drosófila (Martos *et al.*, 2015) e locais de abrigo, como ocorre no gênero *Serapias* L, que atraem abelhas dos gêneros *Eucera* (Scopoli, 1970) *Andrena* (Fabricius, 1775), *Osmia* (Panzer, 1806) e *Tetralonia* (Spinola, 1838), principalmente em dias nublados (Dafni *et al.*, 1981), podendo aumentar a chance de polinização. Apesar do fenômeno ser generalizado na família é necessário cautela, pois a estimativa de que um terço das espécies possuam polinização por engodo pode levar a inferências errôneas, uma vez que investigações vêm demonstrando presença de recursos em espécies previamente consideradas com flores de engodo (Reiter *et al.*, 2019; Shrestha *et al.*, 2020).

#### **2.4. Mecanismo de Polinização da Subtribo Catasetinae**

A subtribo Catasetinae possui distribuição na América tropical e subtropical (Chase *et al.*, 2015; Dressler, 1993; Martins *et al.*, 2018; Pérez-Escobar *et al.*, 2017), porém com maior diversidade na América Central e Amazônia (Pridgeon *et al.*, 2009), integrando oito gêneros: *Catasetum* Rich ex Kunth, *Clowesia* Lindl., *Cyanaeorchis* Barb.Rodr., *Cynoches* Lindl., *Dressleria* Dodson, *Galeandra* Lindl., *Grobya* Lindl. e *Mormodes* Lindl. (Batista *et al.*, 2014, Romero & Pridgeon 2009). Devido a diversidade de mecanismos reprodutivos na subtribo, esta é apontada como excelente modelo para estudos de evolução dos sistemas sexuais e síndromes de polinização (Pansarin & Maciel, 2017; Pérez-Escobar *et al.*, 2017).

Apesar do recurso mais comum nas orquídeas ser néctar e pólen, nas Catasetinae o mais comum é a oferta de perfumes (Tabela 1), sendo o principal recurso e meio de

interação com o polinizador, auxiliando no seu sucesso reprodutivo mesmo em espécies com baixa densidade populacional (Mitko *et al.*, 2016). A maioria dos seus membros são polinizadas por abelhas da tribo Euglossini (Apidae) (Dodson, 1962; Dodson 1975; Dressler, 1981; Williams; Whitten, 1983; Gerlach & Schill, 1991; Hills, 2012). Os perfumes são coletados por abelhas Euglossini machos (Van Der Pijl & Dodson, 1966), sendo estes os polinizadores mais importantes (Carvalho & Machado, 2002; Dressler, 1982; Nunes *et al.*, 2017; Williams & Whitten, 1983), embora existam registros de polinização por abelhas das tribos Tapinotaspidini (Mickeliunas; Pansarin & Sazima, 2006), Exomalopsini, Xylocopini, Augochlorinae, Anthidiini e Megachilini. (Pansarin & Maciel, 2017) e até besouros curculionídeos (Pansarin & Maciel, 2017). Os machos de abelhas Euglossini, escovam na área onde a fragrância é produzida usando os tarsos frontais e assim lançam-se no ar e transferem a fragrância floral coletada para as tíbias posteriores (Dressler, 1982). As bolsas tibiais posteriores especializadas possibilitam o armazenamento de substâncias voláteis por longos períodos acumulando misturas complexas de perfumes (Bisrat & Jung, 2022; Eltz *et al.*, 2005; Zimmermann *et al.*, 2009).

As primeiras observações envolvendo esse sistema de polinização por fragrâncias das Catasetinae (Tabela 1) são relatos publicados para *Catasetum*, *Mormodes* (Darwin, 1877) e *Cynoches* (Allen, 1952). No entanto, espécies de *Catasetum* são as mais investigadas quanto a sua história natural, tendo relatos de polinização geralmente envolvendo poucas (2-3) espécies de Euglossini (Dodson, 1962; Hills, Williams & Dodson, 1972; Hills, 2012; Milet-Pinheiro *et al.*, 2018; Nunes *et al.*, 2017) e por machos efetuando coleta nas flores de ambos os sexos (Milet-Pinheiro *et al.*, 2015; Murren, 2002). Nesse gênero encontra-se um curioso caso do acionamento de um mecanismo similar a uma “catapulta” nas flores masculinas, que ocasiona a fixação do polinário ao corpo da abelha. Quando a mesma, posteriormente, entra no labelo de uma flor feminina para coletar perfume o polinário é inserido na fenda estigmática, resultando na polinização (Romero & Nelson, 1986; Williams & Dodson, 1972).

**Tabela 1.** Tecidos secretores e polinizadores em orquídeas Catasetinae. \*= Polinizador desconhecido.

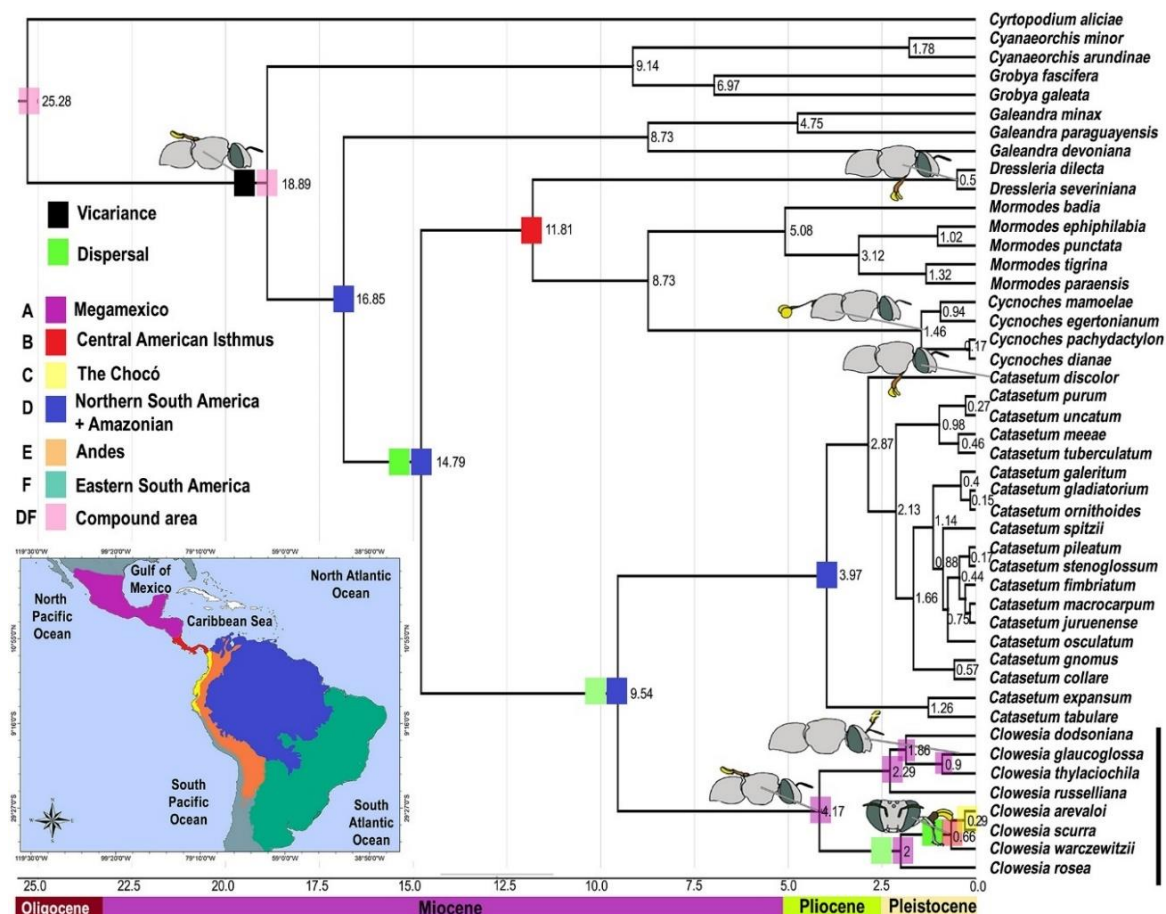
Estruturas	Espécie	Polinizadores	Referência
------------	---------	---------------	------------

secretoras			
	<i>Mormodes lineata</i> Bateman ex Lindl.	<i>Euglossa viridissima</i> (Friese, 1899)	Damon & Roblero (2007).
Osmóforos	<i>Catasetum uncatum</i> Rolfe	<i>Euglossa nanomelanotricha</i> (Nemésio, 2009)	Milet-Pinheiro <i>et al.</i> (2015)
	<i>C._cernuum</i> (Lindl.) Rchb.f.	<i>Eufriesa violacea</i> (Blanchard, 1840)	Nunes <i>et al.</i> (2017)
	<i>Catasetum arietinum</i> F.E.L.Miranda & K.G.Lacerda	<i>Euglossa nanomelanotricha</i> (Nemésio, 2009) e <i>Euglossa securigera</i> (Dressler, 1982)	Brandt <i>et al.</i> (2020)
	<i>Cynoches chlorochilon</i> Klotzsch	*	Van Der Cingel (2001)
Osmóforos e tricomas comestíveis	<i>Cyanaeorchis arundinae</i> (Rchb.f.) Barb.Rodr	<i>Ceratina (Crewella)</i> sp (Cockerell, 1903), <i>Augochloropsis</i> sp (Cockerell, 1897), <i>Anthodioctes</i> sp (Holmberg, 1903), <i>Megachile</i> sp (Latreille, 1802), <i>Exomalopsis</i> <i>fulvofasciata</i> (Smith, 1879)	Pansarin & Maciel (2017)
Elaióforos e osmóforos	<i>Grobya amherstiae</i> Lindl	<i>Paratetrapedia fervida</i> (Smith, 1879), <i>Montella</i> sp (Bondar, 1948)	Mickeliunas <i>et al</i> (2006) e Pansarin <i>et al.</i> (2009)

Outro tipo de mecanismo incomum é a “*bees-knees pollination*” durante coleta de compostos voláteis em *Clowesia* encontradas no México e América Central, onde espécies de *Eulaema* empurram as pernas dianteiras nas cavidades do lábio da flor e deslocam o polinário com o fêmur da perna dianteira, ficando o víscido então preso acima dessa articulação (Aguirre-León, 1979; Dodson, 1975). Do mesmo modo, perfumes florais relacionados com atratividade de abelhas são identificados em *Cynoches* e *Dressleria*. Por exemplo, *Cynoches aerum* é polinizada por *Eulaema nigrita* (Lepeletier, 1841) (Dressler, 1968) que é atraída geralmente pelos compostos terpenóides, cineol e linalol (Williams & Dodson, 1972). Em *Dressleria* existem relatos de polinização também por *Euglossa* e presença de fragrância agradável (Dodson, 1975; Hills, 2012).

Por outro lado, algumas espécies oferecem outro recurso além da fragrância, como ocorre na espécie *Cyanaeorchis arundinae* (Rchb.f.) Barb.Rodr, que possui pelos alimentares como recompensa (Tab.1), sendo polinizada por abelhas que coletam os tricomas comestíveis (Pansarin & Maciel, 2017) e em *Grobya amhertiae* polinizada por besouros do gênero *Montella* (G.Bondar, 1948) (Mickeliunas *et al.*, 2006) e por fêmeas de abelhas *Paratetrapedia fervida* (Smith, 1879) (Anthophoridae), que coletam óleos produzidos em estruturas denominadas por Vogel (1988) de elaióforos (Tab. 1). Tal secreção pode ocorrer no epitélio (conjunto de células epidérmicas glandulares com fina cutícula), em tricomas (glandulares), ou ainda de ambas as formas (Pansarin; Mickeliunas & Sazima, 2009). Os elaióforos nessa espécie não produzem apenas ácidos graxos, mas também mucilagem ácida que, adicionada ao óleo, torna a secreção fluida e facilita a coleta pelas abelhas (Pansarin; Mickeliunas & Sazima, 2009). Até o momento, estudos relacionados com a deposição do polinário em Catasetinae indicam que a condição ancestral era de adesão a porção dorsal do tórax do polinizador (Fig. 4), como observado nos gêneros *Cyanaeorchis*, *Grobya*, *Galeandra* e *Mormodes*. No entanto, essa característica foi perdida cinco vezes na evolução do grupo em *Catasetum* (para a região ventral do tórax), *Clowesia* (aderido à região da cabeça ou ocorrendo nas pernas dianteiras), *Cynoches* (no ápice do abdômen) e em *Dressleria* (para a região ventral do tórax) (Tamayo *et al.*, 2022). Dentre os gêneros de Catasetinae, os mais carentes de estudos de biologia reprodutiva são *Mormodes*, *Cynoches* e *Galeandra*, nesse último observações do sistema de polinização são ainda mais escassas, com apenas estudos pontuais que sugerem que o engano de néctar está envolvido (Whitten; Neubig & Williams, 2013).

**Figura 4.** Filogenia de Catasetinae. As vicariância (quadrados pretos) e dispersão (quadrados verdes). Apresenta a reconstrução dos estados ancestrais da deposição do polinário nos gêneros.

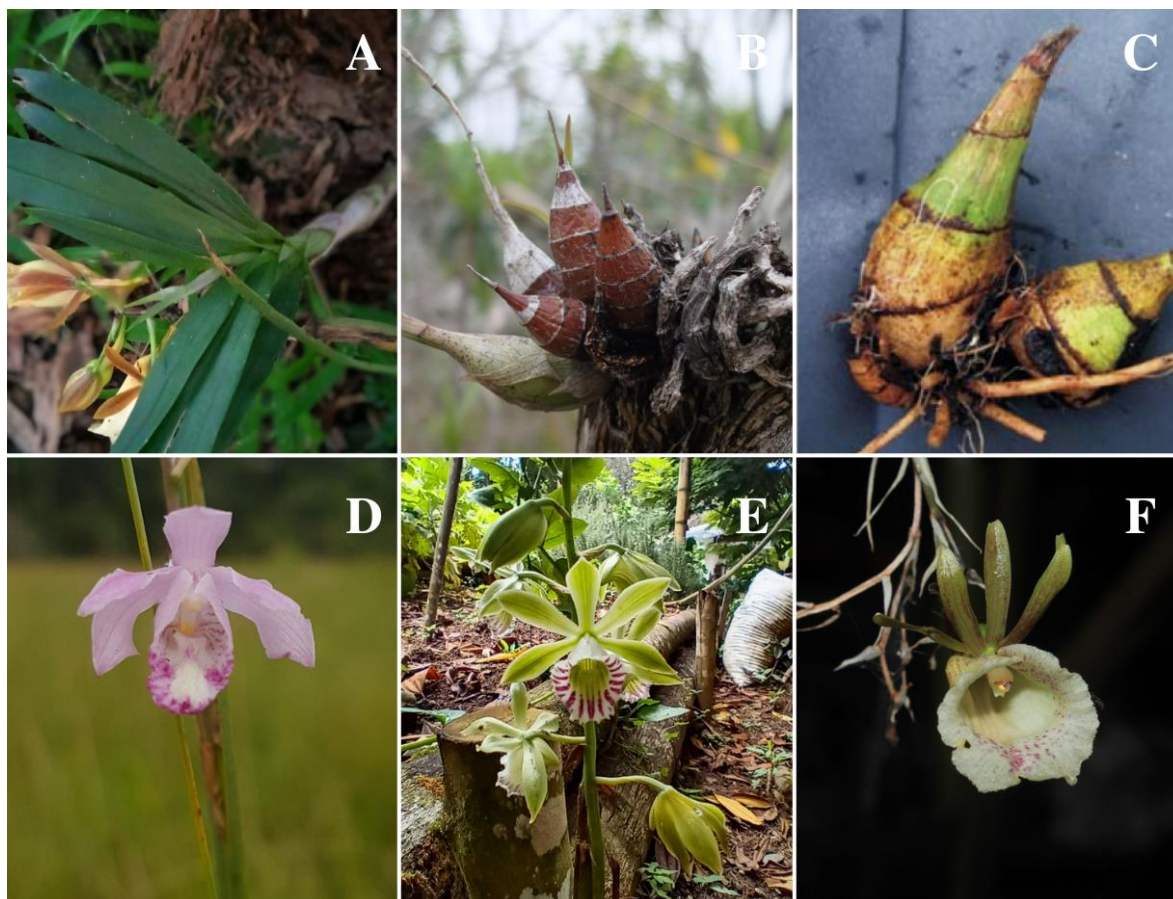


Fonte: Tamayo-Cen *et al.*, 2022.

## 2.5. O gênero *Galeandra*

*Galeandra* foi proposto por Lindley (1832) com base em uma planta coletada em Caiena na Guiana Francesa. A espécie foi nomeada com base em duas características morfológicas do formato da antera, sendo o nome do gênero composto por “galea” que significa parte da casa e “andro” a casa dos homens (Monteiro, 2007). Pertence a subfamília Epidendroideae e subtribo Catasetinae, e inclui 18 espécies terrícolas e/ou epífitas (Batista *et al.*, 2014; Monteiro *et al.*, 2010). A maior parte de suas espécies é encontrada na América Central e na América do Sul (Tropicos, 2024). Porém, o Brasil é o centro de diversidade, com 14 espécies, das quais três são endêmicas (Monteiro, 2007; Monteiro, 2024). Ocorre nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pampa (Monteiro, 2024). As epífitas são encontradas geralmente em matas ciliares, frequentemente crescendo em forófitos da família Arecaceae e as terrestres encontram-se em solos arenosos e úmidos do domínio Cerrado (Fig. 5, A-B-C) (Monteiro; Silva & Secco, 2009).

**Figura 5.** Morfologia geral das espécies de *Galeandra*. A. Pseudobulbo fusiforme (*G. baueri* Lindl). B. Pseudobulbo cônico-ovóide (*G. blanchetii* E.S.Rand). C: Pseudobulbo ovóide (*G. montana* Barb.Rodr). D: Espécie de hábito terrestre (H. Inflorescências (*G.styllomisantha* (Vell.) Hoehne), E: hábito terrestre (*G.beyrichii* Rchb.f ), F: hábito terrestre (*G.baueri* Lindl).



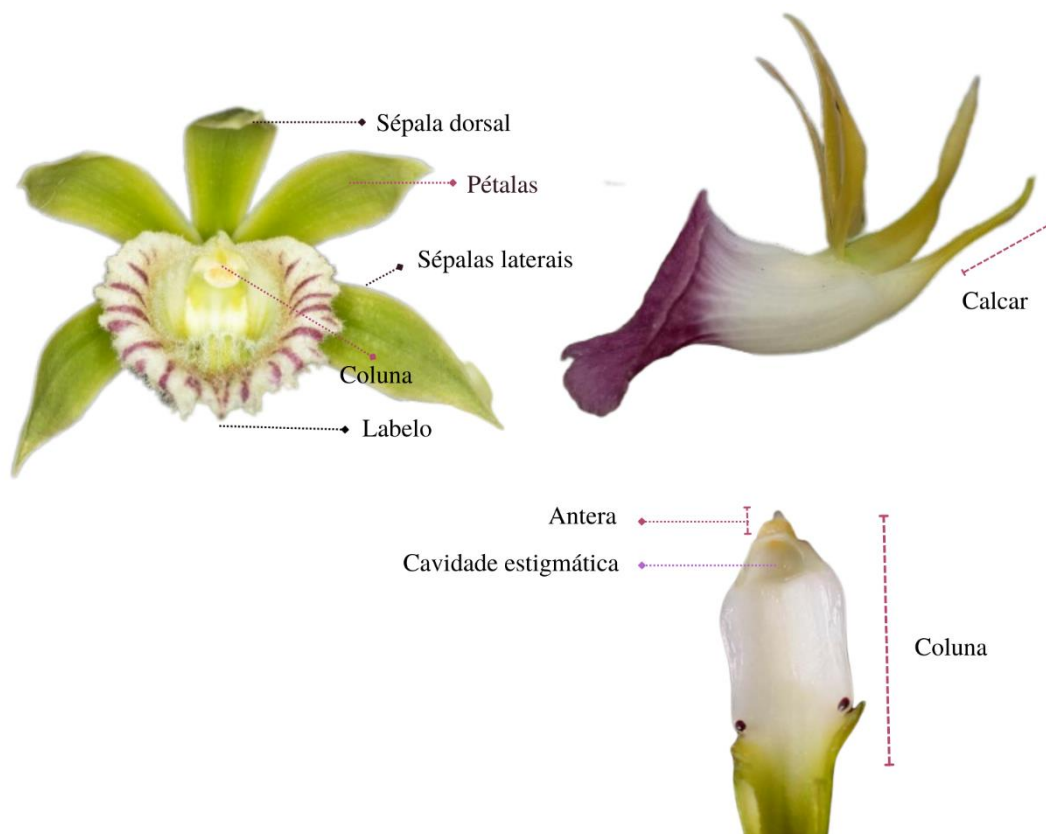
**Fonte:** Fotografia de Danna Lizeth Guevara Prieto (A); Fotografia de M.Pignal (B); Fotografia de Julien Piolain (D); Fotografia de Ismael Cortés Casanova (E); Fotografia de Apipa (GBIF, 2024); (C) Monteiro (2007);

As folhas são dispostas disticamente ao longo do pseudobulbo, são simples, cartáceas, paralelinérveas, lineares ou oblanceoladas, com margens inteiras, superfícies glabras, ápice agudo, com bainhas invaginantes. Nas plantas epífitas há uma articulação entre a base da lâmina e a bainha que está ausente nas espécies terrestres, e está relacionada com a queda foliar. Os pseudobulbos das espécies epífitas possuem formato fusiforme, alongado e as terrestres possuem pseudobulbos ovóides e curtos (Monteiro, 2007).

As inflorescências são terminais, geralmente racemos, raramente panículas. Podem conter de uma a várias flores, com pedúnculo coberto por brácteas (Fig. 5, D-EF). As flores de *Galeandra* são hermafroditas, as pétalas são mais largas que as sépalas, apesar de geralmente apresentarem a mesma coloração (Monteiro, 2007). O labelo é

distinto das outras pétalas pela coloração e morfologia, e possui cálcio proeminente (Fig. 6, em destaque).

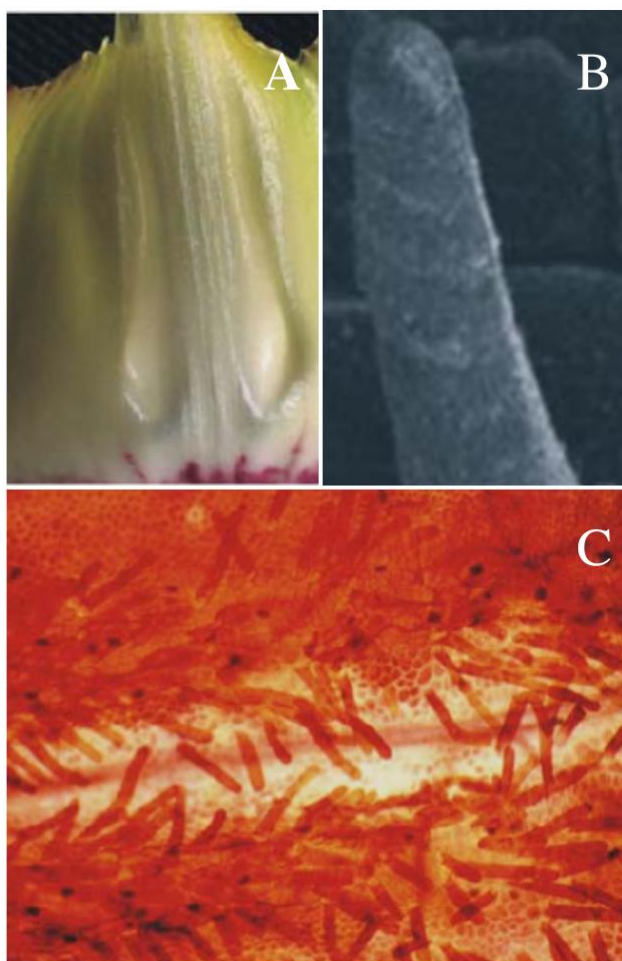
**Figura 6.** Características morfológicas reprodutivas das Orchidaceae, exemplificadas na *Galeandra*.



**Fonte:** Fotografias de Ísis Meri Medri (GBIF, 2024); Autora e Monteiro (2007).

As flores apresentam indumento formado por tricomas simples, unicelulares, curtos e/ou longos (Figura 7, B-C). As flores podem variar de brancas, amarelas, verdes, rosadas e vináceas. O centro do labelo é composto de duas a quatro carenas (Figura 7, A), (Monteiro, 2007). A coluna é envolvida pelo labelo e assemelha-se a uma clava, ereta ou semi-encurvada. Na maioria das espécies a coluna é completamente branca, mas também pode apresentar projeções basais, que são pequenos círculos vináceos proeminentes ou reduzidos.

**Figura 7:** Detalhes das carenas e dos tricomas. A: Tricomas unicelulares sobre as carenas (*G. cristata* Lindl). B: Detalhe do tricoma unicelular (*G. cristata* Lindl). D: Carena claviforme (*G. santarenensis* (S.H.N.Monteiro & J.B.F.Silva).



**Fonte:** Adaptado de Monteiro (2007)

Os polinizadores envolvidos com a reprodução são desconhecidos, apenas algumas observações pontuais de polinários no corpo de abelhas Euglossini que são na maioria das vezes coletoras de fragrâncias florais (Pearson & Dressler, 1985; Ramírez; Dressler & Ospina, 2002; Ramírez *et al.*, 2011) e abelhas Anthophoridae provavelmente em busca de néctar (Chase & Hills, 1992, Romero-Gonzalez & Warford, 1995). No entanto, estudos preliminares não detectaram a presença de nenhuma substância açucarada no cálcio (Monteiro, 2007).

De fato, o modo como as espécie de *Galeandra* atraem os polinizadores ainda é um enigma a ser solucionado, frequentemente supõe-se o mecanismo de engodo (Monteiro, 2007; Whitten *et al.*, 2013; Martins *et al.*, 2018). Embora existam relatos de fragrâncias suaves em algumas representantes do gênero (Monteiro, 2007), apenas um único estudo da fragrância foi realizado até o momento, em *Galeandra minax* Rchb.f, revelando compostos atrativos associados às abelhas machos Euglossini (Gerlach & Schill, 1991), contudo nenhum avaliou se tais perfumes podem ser puramente atrativos,

ou um recurso floral. . Até o momento, não existem evidências da ausência de recurso em *Galeandra*.

Visto que, até o momento, não existe nenhum estudo completo sobre a biologia floral e reprodutiva de um representante desse gênero, estudos voltados à história natural dessas espécies podem fornecer informações valiosas para compreender a evolução das características florais e de recompensas tanto no gênero *Galeandra*, quanto na subtribo Catasetinae (Pansarin & Amaral, 2017), além de serem úteis para criação de estratégias de conservação (Ackerman *et al.*, 2023).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral:

- Investigar a biologia floral e reprodutiva de *Galeandra blanchetii*.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- Investigar a presença ou ausência de sazonalidade nos eventos fenológicos, com ênfase no padrão de floração;
- Verificar o sistema reprodutivo de *G. blanchetii*;
- Verificar quais são as recompensas/recursos florais em *G. blanchetii* com base em análises da anatomia floral (morfologia, histoquímica) para a detecção de atividade secretora;
- Identificar seus visitantes florais e potenciais polinizadores, bem como observar os seus comportamentos nas flores de *G. blanchetii*;
- Comparar o ajuste das medidas morfológicas da flor e dos visitantes florais para determinar outras espécies potenciais de polinizadores;
- Caracterizar quimicamente o perfume floral e avaliar seu papel na atração de potenciais polinizadores.

### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKERMAN, James D. Coping with the epiphytic existence: pollination strategies. *Selbyana*, p. 52-60, 1986.
- ACKERMAN, James D. et al. Beyond the various contrivances by which orchids are pollinated: global patterns in orchid pollination biology. *Botanical Journal of the*

- Linnean Society**, v. 202, n. 3, p. 295-324, 2023.
- ACKERMAN, James D.; RODRIGUEZ-ROBLES, Javier A.; MELENDEZ, Elvia J. A meager nectar offering by an epiphytic orchid is better than nothing. **Biotropica**, p. 44-49, 1994.
- ADACHI, Sérgio Akira; MACHADO, Silvia Rodrigues; GUIMARÃES, Elza. Structural and ultrastructural characterization of the floral lip in *Gongora bufonia* (Orchidaceae): understanding the slip-and-fall pollination mechanism. **Botany**, v. 93, n. 11, p. 759-768, 2015.
- ADIT, Arjun et al. Breeding system and response of the pollinator to floral larceny and florivory define the reproductive success in *Aerides odorata*. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 767725, 2022.
- AGUIAR, Joao MRBV et al. Biotic versus abiotic pollination in *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl. (Orchidaceae). **Plant Species Biology**, v. 27, n. 1, p. 86-95, 2012.
- AGUIRRE-LEÓN, Ernesto. Ecología de la polinización en el género *Clowesia* (Orchidaceae) en México. Tese de Doutorado. **BSc Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México**, 1979.
- ALBUQUERQUE, Nayara. S. L. et al. Pollination of the strongly scented *Sarcoglottis acaulis* (Orchidaceae) by male orchid bees: nectar as resource instead of perfume. **Plant Biology**, v. 23, n. 5, p. 719-727, 2021.
- ALLEN, Paul H. **The Swan Orchids: A Revision of the genus *Cycnoches*; I-IV**. 1952.
- ALMEIDA, Adriana. M.; FIGUEIREDO, Rodolfo. A. Ants visit nectaries of *Epidendrum denticulatum* (Orchidaceae) in a Brazilian rainforest: effects on herbivory and pollination. **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, p. 551-558, 2003.
- ALVES-DOS-SANTOS, Isabel et al. Quando um visitante floral é um polinizador?. **Rodriguésia**, v. 67, p. 295-307, 2016.
- ANTON, S.; KAMINSKA, M.; STPICZYNSKA, M. Comparative structure of the osmophores in the flower of *Stanhopea graveolens* Lindley and *Cycnoches chlorochilon* Klotzsch (Orchidaceae). **Acta Agrobotanica**, v. 65, n. 2, 2012.
- ARDITTI, Joseph et al. ‘Good Heavens what insect can suck it’—Charles Darwin, *Angraecum sesquipedale* and *Xanthopan morganii* praedicta. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 3, p. 403-432, 2012.
- ARÉVALO-RODRIGUES, Gustavo et al. Floral glands in myophilous and sapromyophilous species of Pleurothallidinae (Epidendroideae, Orchidaceae) — osmophores, nectaries, and a unique sticky gland. **Protoplasma**, p. 1-16, 2021.

- ARMBRUSTER, W. Scott. The role of resin in angiosperm pollination: ecological and chemical considerations. **American Journal of Botany**, v. 71, n. 8, p. 1149-1160, 1984.
- AYASSE, Manfred. Chemical ecology: Male orchid bees attract females with environmental-derived perfumes in courtship display. **Current Biology**, v. 33, n. 10, p. R405-R407, 2023.
- BAKER, H. G.; BAKER, I. The occurrence and significance of amino acids in floral nectar. **Plant systematics and evolution**, v. 151, p. 175-186, 1986.
- BALDUCCI, Marco. G.; VAN DER NIET, Timotheüs; JOHNSON, Steven. D. Butterfly pollination of *Bonatea cassidea* (Orchidaceae): Solving a puzzle from the Darwin era. **South African Journal of Botany**, v. 123, p. 308-316, 2019.
- BARRAGÁN-ZARATE, Gabriela Soledad et al. *Prosthechea karwinskii*, an orchid used as traditional medicine, exerts anti-inflammatory activity and inhibits ROS. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 253, p. 112632, 2020.
- BASCOMPTE, Jordi; JORDANO, Pedro; OLESEN, Jens M. Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. **Science**, v. 312, n. 5772, p. 431-433, 2006..
- BATISTA, Joao Aguiar Nogueira et al. Molecular phylogenetics of Neotropical *Cyanaeorchis* (Cymbidieae, Epidendroideae, Orchidaceae): geographical rather than morphological similarities plus a new species. **Phytotaxa**, v. 156, n. 5, p. 251–272-251– 272, 2014.
- BAUER, Austin A.; CLAYTON, Murray K.; BRUNET, Johanne. Floral traits influencing plant attractiveness to three bee species: consequences for plant reproductive success. **American Journal of Botany**, v. 104, n. 5, p. 772-781, 2017.
- BISRAT, Daniel; JUNG, Chuleui. Roles of flower scent in bee–flower mediations: a review. **Journal of Ecology and Environment**, v. 46, 2022.
- BLANCO, Mario A. et al. Generic realignments in Maxillariinae (Orchidaceae). **Lankesteriana International Journal on Orchidology**, v. 7, n. 3, p. 514- 537, 2007
- BOCHORNY, Thuane; MONTEIRO, Silvana Helena Nascimento; SMIDT, Érico de Camargo. O gênero *Galeandra* (Orchidaceae: Catasetinae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia** , v. 66, p. 221-227, 2015.
- BOHMAN, Björn et al. (Methylthio) phenol semiochemicals are exploited by deceptive orchids as sexual attractants for *Campylothylnus thynnine* wasps. **Fitoterapia**, v. 126, p. 78-82, 2018.

- BORBA, Eduardo L.; BRAGA, Pedro Ivo S. Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. **Brazilian Journal of Botany**, v. 26, n. 4, p. 541-549, 2003.
- BRANDT, Katharina et al. Sexual dimorphism in floral scents of the Neotropical orchid *Catasetum arietinum* and its possible ecological and evolutionary significance. **AoB Plants**, v. 12, n. 4, p. plaa030, 2020.
- BRANDT, Katharina et al. Unravelling the olfactory biases of male euglossine bees: Species-specific antennal responses and their evolutionary significance for perfume flowers. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 9, Article 727471, 2021.
- BROSI, Berry J. Pollinator specialization: from the individual to the community. **New Phytologist**, v. 210, n. 4, p. 1190-1194, 2016.
- BRZOSKO, Emilia; MIRSKI, Paweł. Floral nectar chemistry in orchids: A short review and meta-analysis. **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2315, 2021.
- BULPITT, Christopher J. et al. The use of orchids in Chinese medicine. **Journal of the royal society of medicine**, v. 100, n. 12, p. 558-563, 2007.
- BUZATTO, Cristiano Roberto et al. Efficient pollination and high reproductive success in two Brazilian Spiranthinae orchids: Insights on the evolutionary history of pollination within the *Pelexia* clade. **Plant Species Biology**, v. 37, n. 2, p. 182-196, 2022.
- CAMPACCI, Thiago Vinicius Silva et al. Effects of pollen origin on apomixis in *Zygopetalum mackayi* orchids. **Flora**, v. 226, p. 96-103, 2017.
- CANCINO, A. Del Mazo; DAMON, Anne. Fragrance analysis of euglossine bee pollinated orchids from Soconusco, south-east Mexico. **Plant Species Biol**, v. 22, p. 127-132, 2007.
- CARVALHO, Raquel; MACHADO, Isabel C. Pollination of *Catasetum macrocarpum* (Orchidaceae) by *Eulaema bombiformis* (Euglossini). **Lindleyana**, v. 17, n. 2, p. 85-90, 2002.
- CARVALHO, Raquel; MACHADO, Isabel C. *Rodriguezia bahiensis* Rchb. f.: biologia floral, polinizadores e primeiro registro de polinização por moscas Acroceridae em Orchidaceae. **Brazilian Journal of Botany** v. 29, p. 461-470, 2006.
- CASIQUE, Jorgeane V. et al. Novelty in the secretory structures of three species of *Gongora* (Orchidaceae: Stanhopeinae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 195, n. 4, p. 650-670, 2021
- CASTRO, Jonas B.; SINGER, Rodrigo B. A literature review of the pollination strategies

- and breeding systems in Oncidiinae orchids. **Acta Botanica Brasilica**, v. 33, p. 618-643, 2019.
- CHAPURLAT, Elodie et al. Diel pattern of floral scent emission matches the relative importance of diurnal and nocturnal pollinators in populations of *Gymnadenia conopsea*. **Annals of Botany**, v. 121, n. 4, p. 711-721, 2018.
- CHASE, Mark W. Classification of Orchidaceae in the age of DNA data. **Curtis's Botanical Magazine**, v. 22, n. 1, p. 2-7, 2005.
- CHASE, Mark W. et al. An updated classification of Orchidaceae. **Botanical journal of the Linnean Society**, v. 177, n. 2, p. 151-174, 2015.
- CHASE, Mark W.; HILLS, Harold G. Orchid phylogeny, flower sexuality, and fragrance seeking. **BioScience**, v. 42, n. 1, p. 43-49, 1992.
- CHICAS-MOSIER, Ana M. et al. Low strength magnetic fields serve as a cue for foraging honey bees but prior experience is more indicative of choice. **Bioelectromagnetics**, v. 41, n. 6, p. 458-470, 2020.
- CHOMICKI, Guillaume et al. The velamen protects photosynthetic orchid roots against UV-B damage, and a large dated phylogeny implies multiple gains and losses of this function during the Cenozoic. **New Phytologist**, v. 205, n. 3, p. 1330-1341, 2015.
- CLEGG, Michael T.; HECHT, Max K.; MACINTYRE, Ross J. (Ed.). **Evolutionary Biology: Limits to Knowledge in Evolutionary Genetics**. Springer Science & Business Media, 2000.
- COHEN, Callan et al. Sexual deception of a beetle pollinator through floral mimicry. **Current Biology**, v. 31, n. 9, p. 1962-1969. e6, 2021.
- CORTÉS-FLORES, Jorge et al. Flowering phenology, growth forms, and pollination syndromes in tropical dry forest species: Influence of phylogeny and abiotic factors. **American Journal of Botany**, v. 104, n. 1, p. 39-49, 2017.
- DAFNI, Amots; IVRI, Yariv; BRANTJES, N. B. M. Pollination of *Serapias vomeracea* Briq.(Orchidaceae) by imitation of holes for sleeping solitary male bees (Hymenoptera). **Acta Botanica Neerlandica**, v. 30, n. 1-2, p. 69-73, 1981.
- DAMON, Anne; ROBLERO, Pedro Salas. A survey of pollination in remnant orchid populations in Soconusco Chiapas, Mexico. **Tropical Ecology**, v. 48, n. 1, p. 1-14, 2007
- DARWIN, Charles. The various contrivances by which orchids are fertilised by insects. **Reino Unido: John Murray**, 1877
- DARWIN, Charles; DARWIN, Charles-Robert. **Der Ausdruck der Gemüthsbewegung**

- bei dem Menschen und den Thieren.** E. Schweizer, 1872.
- DAVID, R.; CARDE, J. P. Histochemie-coloration differentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du pin maritime au moyen du reactif NADI. **Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences**, v. 258, n. 4, p. 1338-&, 1964.
- DAVIES, K. L.; TURNER, M. P. Pseudopollen in *Dendrobium unicum* Seidenf. (Orchidaceae): reward or deception?. **Annals of Botany**, v. 94, n. 1, p. 129-132, 2004
- DAVIES, Kevin. L.; STPICZYŃSKA, M. Labellar micromorphology of Bifrenariinae Dressler (Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 98, n. 6, p. 1215-1231, 2006
- DESCAMPS, Charlotte; QUINET, Muriel; JACQUEMART, Anne-Laure. The effects of drought on plant–pollinator interactions: What to expect?. **Environmental and Experimental Botany**, v. 182, p. 104297, 2021.
- DODSON, C. H. *Dressleria* and *Clowesia*: a new genus and an old one revived in the Catasetinae (Orchidaceae). **Selbyana**, v. 1, n. 2, p. 130-137, 1975.
- DODSON, C. H. *Dressleria* and *Clowesia*: a new genus and an old one revived in the Catasetinae (Orchidaceae). **Selbyana**, v. 1, n. 2, p. 130-137, 1975.
- DODSON, Calaway H. The importance of pollination in the evolution of the orchids of tropical America. **American Orchid Society Bulletin**, v. 31, p. 525-534, 1962.
- DRESSLER, Robert L. Biology of the orchid bees (Euglossini). **Annual review of ecology and systematics**, v. 13, n. 1, p. 373-394, 1982.
- DRESSLER, Robert L. Phylogeny and classification of the orchid family. **Cambridge University Press**, 1993.
- DRESSLER, Robert L. Pollination by euglossine bees. **Evolution**, p. 202-210, 1968.
- DRESSLER, Robert L. The Orchids: natural history and classification. **Harvard University Press**, 322 p, 1981.
- DRESSLER, Robert L.; DODSON, Calaway H. Classification and phylogeny in the Orchidaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, p. 25-68, 1960.
- DUDAREVA, Natalia; PICHERSKY, Eran (Ed.). **Biology of floral scent**. CRC press, 2006.
- EDENS-MEIER, Retha; BERNHARDT, Peter (Ed.). Darwin's orchids: then and now. **University of Chicago Press**, 2019.
- EFFMERT, Uta et al. Localization of the synthesis and emission of scent compounds within the flower. **Biology of floral scent**, p. 105-124, 2006.
- ELTZ, T. et al. Fragrance collection, storage, and accumulation by individual male orchid

- bees. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, p. 157-176, 1999
- ELTZ, Thomas; SAGER, Andreas; LUNAU, Klaus. Juggling with volatiles: exposure of perfumes by displaying male orchid bees. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 191, p. 575-581, 2005
- FAEGRI, Knut; VAN DER PIJL, Leendert. Principles of pollination ecology. 2013.
- FAHN, A. Structure and function of secretory cells. **Advances in Botanical Research. Academic Press**, 2000
- FENSTER, Charles B. et al. Pollination syndromes and floral specialization. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 35, p. 375-403, 2004.
- FISHER, Brian L. Facultative ant association benefits a Neotropical orchid. **Journal of Tropical Ecology**, v. 8, n. 1, p. 109-114, 1992
- FLACH, Adriana et al. The chemistry of pollination in selected Brazilian Maxillariinae orchids: floral rewards and fragrance. **Journal of Chemical Ecology**, v. 30, p. 1045-1056, 2004.
- Galeandra* Lindl. in GBIF Secretariat (2024). **GBIF Backbone Taxonomy**. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org. . Acesso em: 13 jan. 2024.
- GAMISCH, Alexander; FISCHER, Gunter A.; COMES, Hans Peter. Recurrent polymorphic mating type variation in Madagascan *Bulbophyllum* species (Orchidaceae) exemplifies a high incidence of auto-pollination in tropical orchids. **Botanical journal of the Linnean Society**, v. 175, n. 2, p. 242-258, 2014.
- GERLACH, Günter; SCHILL, R. Composition of orchid scents attracting euglossine bees. **Botanica Acta**, v. 104, n. 5, p. 379-384, 1991.
- GIVNISH, Thomas J. et al. Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1814, p. 20151553, 2015.
- GIVNISH, Thomas J. et al. Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1814, p. 20151553, 2015.
- GOH, C. J.; KLUGE, M. Gas exchange and water relations in epiphytic orchids. **Vascular plants as epiphytes: evolution and ecophysiology**, p. 139-166, 1989.
- GONZALEZ-TERRAZAS, Tania P. et al. Finding flowers in the dark: nectar-feeding bats integrate olfaction and echolocation while foraging for nectar. **Royal Society**

- Open Science**, v. 3, n. 8, p. 160199, 2016.
- HANSEN, Dennis M.; VAN DER NIET, Timotheüs; JOHNSON, Steven D. Floral signposts: testing the significance of visual ‘nectar guides’ for pollinator behaviour and plant fitness. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 279, n. 1729, p. 634-639, 2012.
- HENSKE, Jonas et al. Function of environment-derived male perfumes in orchid bees. **Current Biology**, v. 33, n. 10, p. 2075-2080. e3, 2023.
- HIEBERT, Sara M.; CALDER, William A. Sodium, potassium, and chloride in floral nectars: energy-free contributions to refractive index and salt balance. **Ecology**, v. 64, n. 2, p. 399-402, 1983.
- HILLS, HAROLD G. Taxonomic revision of *Dressleria* (Orchidaceae, Catasetinae). **Phytoneuron**, v. 48, p. 1-28, 2012
- HILLS, Harold G.; WILLIAMS, Norris H.; DODSON, Calaway H. Floral fragrances and isolating mechanisms in the genus *Catasetum* (Orchidaceae). **Biotropica**, p. 61-76, 1972.
- HINSLEY, Amy et al. A review of the trade in orchids and its implications for conservation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 186, n. 4, p. 435-455, 2018.
- HUANG, Shuang-Quan et al. Parthenogenesis maintains male sterility in a gynodioecious orchid. **The American Naturalist**, v. 174, n. 4, p. 578-584, 2009.
- JERSAKOVA, J.; JOHNSON, S. D. Protandry promotes male pollination success in a moth-pollinated orchid. **Functional Ecology**, v. 21, n. 3, p. 496-504, 2007
- JERSAKOVA, Jana et al. Effect of nectar supplementation on male and female components of pollination success in the deceptive orchid *Dactylorhiza sambucina*. **Acta Oecologica**, v. 33, n. 3, p. 300-306, 2008.
- JERSAKOVA, Jana; JOHNSON, Steven D. Lack of floral nectar reduces self-pollination in a fly-pollinated orchid. **Oecologia**, v. 147, p. 60-68, 2006.
- JERSÁKOVÁ, Jana; JOHNSON, Steven D.; KINDLMANN, Pavel. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. **Biological reviews**, v. 81, n. 2, p. 219-235, 2006.
- JOHNSON, Steven D. et al. Pollination success in a deceptive orchid is enhanced by co-occurring rewarding magnet plants. **Ecology**, v. 84, n. 11, p. 2919-2927, 2003.
- JOHNSON, Stevens. D. Pollination ecotypes of *Satyrium hallackii* (Orchidaceae) in South Africa. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 123, n. 3, p. 225-235,

1997

- JÜRGENS, Andreas et al. Pollination biology of *Eulophia alta* (Orchidaceae) in Amazonia: effects of pollinator composition on reproductive success in different populations. **Annals of Botany**, v. 104, n. 5, p. 897-912, 2009
- KETTLER, Belén Araceli; SOLÍS, Stella Maris; FERRUCCI, María Silvia. Comparative survey of secretory structures and floral anatomy of *Cohniella cepula* and *Cohniella jonesiana* (Orchidaceae: Oncidiinae). New evidences of nectaries and osmophores in the genus. **Protoplasma**, v. 256, p. 703-720, 2019.
- KEVAN, Peter G.; VIANA, Blandina F. The global decline of pollination services. **Biodiversity**, v. 4, n. 4, p. 3-8, 2003.
- KIMSEY, Lynn Siri. The behavioural and structural aspects of grooming and related activities in euglossine bees (Hymenoptera: Apidae). **Journal of Zoology**, v. 204, n. 4, p. 541-550, 1984.
- KLEIN, Alexandra-Maria et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the royal society B: biological sciences**, v. 274, n. 1608, p. 303-313, 2007.
- KNUDSEN, Jette T.; TOLLSTEN, Lars. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 113, n. 3, p. 263-284, 1993.
- KOOPOWITZ, Harold; MARCHANT, T. Alejandro. Postpollination nectar reabsorption in the African epiphyte *Aerangis verdickii* (Orchidaceae). **American Journal of Botany**, v. 85, n. 4, p. 508-512, 1998
- KOWALKOWSKA, Agnieszka K. et al. Floral nectary and osmophore of *Epipactis helleborine* (L.) Crantz (Orchidaceae). **Protoplasma**, v. 255, p. 1811-1825, 2018
- KRAHL, Amauri H. et al. Study of the reproductive biology of an Amazonian *Heterotaxis* (Orchidaceae) demonstrates the collection of resin-like material by stingless bees. **Plant Systematics and Evolution**, v. 305, p. 281-291, 2019.
- KUDO, Gaku; IDA, Takashi Y.; TANI, Tomokazu. Linkages between phenology, pollination, photosynthesis, and reproduction in deciduous forest understory plants. **Ecology**, v. 89, n. 2, p. 321-331, 2008.
- LIU, Ke-Wei et al. Self-fertilization strategy in an orchid. **Nature**, v. 441, n. 7096, p. 945-946, 2006.
- LOKVAM, John; BRADDOCK, Joan F. Anti-bacterial function in the sexually dimorphic pollinator rewards of *Clusia grandiflora* (Clusiaceae). **Oecologia**, v. 119,

p. 534-540, 1999

- LU, Hsiangchia; LIU, Zhongjian; LAN, Siren. Genome sequencing reveals the role of MADS-box gene families in the floral morphology evolution of orchids. **Horticultural Plant Journal**, v. 5, n. 6, p. 247-254, 2019.
- LÜTTGE, Ulrich. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). **Annals of botany**, v. 93, n. 6, p. 629-652, 2004.
- LUYT, R.; JOHNSON, S. D. Hawkmoth pollination of the African epiphytic orchid *Mystacidium venosum*, with special reference to flower and pollen longevity. **Plant Systematics and Evolution**, v. 228, p. 49-62, 2001.
- MAKINO, Takashi T.; OHASHI, Kazuharu. Honest signals to maintain a long-lasting relationship: floral colour change prevents plant-level avoidance by experienced pollinators. **Functional Ecology**, v. 31, n. 4, p. 831-837, 2017.
- MARTINS, Aline C. et al. From tree tops to the ground: reversals to terrestrial habit in *Galeandra* orchids (Epidendroideae: Catasetinae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 127, p. 952-960, 2018.
- MARTINS, Dino J. Pollination and facultative ant-association in the African Leopard Orchid *Ansellia africana*. **Journal of East African Natural History**, v. 98, n. 1, p. 67- 77, 2009.
- MARTOS, Florent et al. Chemical and morphological filters in a specialized floral mimicry system. **New Phytologist**, v. 207, n. 1, p. 225-234, 2015.
- MCGEE, Thomas; PURZYCKI, Kenneth L. Headspace techniques for the reconstitution of flower scents and identification of new aroma chemicals. **Flavor, fragrance, and odor analysis. Marcel Dekker, Inc., New York & Basel**, p. 249-276, 2001.
- MEMMOTT, Jane; WASER, Nickolas M.; PRICE, Mary V. Tolerance of pollination networks to species extinctions. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 271, n. 1557, p. 2605-2611, 2004.
- MICKELIUNAS, Ludmila; PANSARIN, Emerson R.; SAZIMA, Marlies. Biologia floral, melitofilia e influência de besouros Curculionidae no sucesso reprodutivo de *Grobya amherstiae* Lindl.(Orchidaceae: Cyrtopodiinae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, p. 251-258, 2006.
- MILET-PINHEIRO, Paulo et al. Notes on pollination ecology and floral scent chemistry of the rare Neotropical orchid *Catasetum galeritum* R chb. f. **Plant Species Biology**, v. 33, n. 2, p. 158-163, 2018.
- MILET-PINHEIRO, Paulo et al. Pollination biology in the dioecious orchid *Catasetum*

- uncatum*: how does floral scent influence the behaviour of pollinators?. **Phytochemistry**, v. 116, p. 149-161, 2015.
- MISRA, Ankita et al. Nutritional potential of an edible terrestrial orchid *Eulophia nuda* LINDL and validation of its traditional claim in arthritis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 306, p. 116123, 2023
- MITKO, Lukasz et al. Olfactory specialization for perfume collection in male orchid bees. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, n. 10, p. 1467-1475, 2016.
- MONDRAGÓN-PALOMINO, Mariana; THEIßEN, Günter. Why are orchid flowers so diverse? Reduction of evolutionary constraints by paralogues of class B floral homeotic genes. **Annals of Botany**, v. 104, n. 3, p. 583-594, 2009.
- Monteiro, S.H.N. *Galeandra* in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB11597>>. Acesso em: 13 jan. 2024.
- MONTEIRO, Silvana Helena N. et al. Molecular phylogenetics of *Galeandra* (Orchidaceae: Catasetinae) based on plastid and nuclear DNA sequences. **Systematic Botany**, v. 35, n. 3, p. 476-486, 2010.
- MONTEIRO, Silvana Helena N.; SILVA, Manoela Ferreira Fernandes da; SECCO, Ricardo de Souza. O gênero *Galeandra* (Orchidaceae) na Amazônia Brasileira. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 21-33, 2009.
- MONTEIRO, Silvana Helena Nascimento (2007). Revisão taxonômica e filogenia do gênero *Galeandra* Lindl. (Orchidaceae: Catasetinae). **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana. 178 p, 2007.
- MOTOMURA, H. et al. Carbon isotope ratios and the variation in the diurnal pattern of malate accumulation in aerial roots of CAM species of *Phalaenopsis* (Orchidaceae). **Photosynthetica**, v. 46, p. 531-536, 2008.
- MUCHHALA, Nathan. Adaptive trade-off in floral morphology mediates specialization for flowers pollinated by bats and hummingbirds. **The American Naturalist**, v. 169, n. 4, p. 494-504, 2007.
- MURREN, Courtney J. Effects of habitat fragmentation on pollination: pollinators, pollinia viability and reproductive success. **Journal of Ecology**, v. 90, n. 1, p. 100-107, 2002
- MUS, Ahmad Asnawi et al. The variation of volatile compounds emitted from aromatic orchid (*Phalaenopsis bellina*) at different timing and flowering stages. **Plant Omics**, v. 13, n. 2, p. 78-85, 2020.

- NEUBIG, Kurt M. et al. Nectary structure and nectar in *Sobralia* and *Elleanthus* (Sobralieae: Orchidaceae). **Lankesteriana**, v. 15, n. 2, p. 113-127, 2015.
- NEWSTROM, Linda E.; FRANKIE, Gordon W.; BAKER, Herbert George. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, p. 141-159, 1994.
- NG, Carl Khee Yew; HEW, Choy Sin. Orchid pseudobulbs–false'bulbs with a genuine importance in orchid growth and survival!. **Scientia Horticulturae**, v. 83, n. 3-4, p. 165-172, 2000.
- NG, Carl Khee Yew; HEW, Choy Sin. Orchid pseudobulbs–false'bulbs with a genuine importance in orchid growth and survival!. **Scientia Horticulturae**, v. 83, n. 3-4, p. 165- 172, 2000.
- NILSSON, L Anders et al. Long pollinia on eyes: hawk-moth pollination of *Cynorkis uniflora* Lindley (Orchidaceae) in Madagascar. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 109, n. 1, p. 145-160, 1992.
- NILSSON, L. Anders; RABAKONANDRIANINA, Elisabeth. Hawk-moth scale analysis and pollination specialization in the epilithic Malagasy endemic *Aerangis ellisii* (Reichenb. fil.) Schltr.(Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 97, n. 1, p. 49-61, 1988.
- NUNES, Carlos EP et al. More than euglossines: the diverse pollinators and floral scents of Zygopetalinae orchids. **The Science of Nature**, v. 104, p. 1-17, 2017.
- OLLERTON, Jeff et al. A global test of the pollination syndrome hypothesis. **Annals of botany**, v. 103, n. 9, p. 1471-1480, 2009.
- Orchidaceae in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB179>>. Acesso em: 13 jan. 2024
- OTERO, J. Tupac; BAYMAN, Paul; ACKERMAN, James D. Variation in mycorrhizal performance in the epiphytic orchid *Tolumnia variegata* in vitro: the potential for natural selection. **Evolutionary Ecology**, v. 19, p. 29-43, 2005.
- PAIVA, Elder Antônio Sousa et al. Osmophores of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae): a particular structure of the androecium that releases an unusual scent. **Protoplasma**, v. 256, p. 971-981, 2019.
- PANNELL, John R. On the problems of a closed marriage: celebrating Darwin 200. **Biology Letters**, v. 5, n. 3, p. 332-335, 2009.
- PANSARIN, E. R.; FERREIRA, A. W. C. Evolutionary disruption in the pollination system of *Vanilla* (Orchidaceae). **Plant Biology**, v. 24, n. 1, p. 157-167, 2022.

- PANSARIN, Emerson R.; MACIEL, Artur A. Evolution of pollination systems involving edible trichomes in orchids. **AoB Plants**, v. 9, n. 4, p. plx033, 2017.
- PANSARIN, Emerson Ricardo; DO AMARAL, Maria do Carmo Estanislau. Pollen and nectar as a reward in the basal epidendroid *Psilochilus modestus* (Orchidaceae: Triphoreae): A study of floral morphology, reproductive biology and pollination strategy. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 203, n. 6, p. 474-483, 2008.
- PANSARIN, Emerson Ricardo; PANSARIN, L. M. Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated by oil-collecting bees. **Plant biology**, v. 13, n. 4, p. 576-581, 2011.
- PANSARIN, Ludmila Mickeliunas; DE MORAES CASTRO, MARILIA; SAZIMA, Marlies. Osmophore and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 159, n. 3, p. 408-415, 2009.
- PANSARIN, Ludmila. M. et al. So small and so rich: diversity of floral resources in miniature Oncidiinae (Orchidaceae) and their relation to pollinators. **Plant Biology**, v. 23, n. 2, p. 259-266, 2021.
- PANSARIN, Ludmila. M.; PANSARIN, Emerson Ricardo; SAZIMA, Marlies. Reproductive biology of *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae): a Cyrtopodiinae pollinated by deceit. **Plant Biology**, v. 10, n. 5, p. 650-659, 2008.
- PATINY, Sébastien (Ed.). **Evolution of plant-pollinator relationships**. Cambridge University Press, 2011.
- PAUDEL, Mukti R. et al. Cytotoxic activity of antioxidant-riched *Dendrobium longicornu*. **Pharmacognosy Journal**, v. 9, n. 4, 2017.
- PAUW, Anton. Floral syndromes accurately predict pollination by a specialized oil-collecting bee (*Rediviva peringueyi*, Melittidae) in a guild of South African orchids (Coryciinae). **American Journal of Botany**, v. 93, n. 6, p. 917-926, 2006.
- PEAKALL, Rod. Responses of male *Zaspilothynnus trilobatus* Turner wasps to females and the sexually deceptive orchid it pollinates. **Functional Ecology**, p. 159-167, 1990.
- PEARSON, David L.; DRESSLER, Robert L. Two-year study of male orchid bee (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) attraction to chemical baits in lowland south-eastern Peru. **Journal of Tropical Ecology**, v. 1, n. 1, p. 37-54, 1985.
- PERCIVAL, Mary S. Types of nectar in angiosperms. **New Phytologist**, p. 235-281,

1961.

PERCIVAL, Mary. Floral biology. Elsevier, 2013.

PÉREZ-ESCOBAR, Oscar Alejandro et al. Multiple geographical origins of environmental sex determination enhanced the diversification of Darwin's favourite orchids. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 12878, 2017

PETER, C. I. et al. Confirmation of hawkmoth pollination in *Habenaria epipactidea*: leg placement of pollinaria and crepuscular scent emission. **South African Journal of Botany**, v. 75, n. 4, p. 744-750, 2009

PHILLIPS, Ryan D.; REITER, Noushka; PEAKALL, Rod. Orchid conservation: from theory to practice. **Annals of Botany**, v. 126, n. 3, p. 345-362, 2020.

PICHERSKY, Eran; DUDAREVA, Natalia (Ed.). **Biology of plant volatiles**. CRC Press, 2020.

PŁACHNO, Bartosz J. et al. Floral micromorphology of the Australian carnivorous bladderwort *Utricularia dunlopiae*, a putative

POKORNY, Tamara et al. Blown by the wind: the ecology of male courtship display behavior in orchid bees. **Ecology**, v. 98, n. 4, p. 1140-1152, 2017.

POLICHA, Tobias et al. Disentangling visual and olfactory signals in mushroom-mimicking *Dracula* orchids using realistic three-dimensional printed flowers. **New Phytologist**, v. 210, n. 3, p. 1058-1071, 2016

PRIDGEON, A. M., CRIBB, P. J., CHASE, M. W. & RASMUSSEN, F. N. **Genera Orchidacearum: Vol. 5. Epidendroideae (part two)**. (Oxford University Press, 2009). PRIDGEON, Alec M. The velamen and exodermis of orchid roots. *Orchid biology: reviews and perspectives*, v. 4, p. 141-192, 1987.

PRIDGEON, A. M., CRIBB, P. J., CHASE, M. W. & RASMUSSEN, F. N. **Genera Orchidacearum: Vol. 5. Epidendroideae (part two)**. (Oxford University Press, 2009).

PROCTOR, Michael et al. **The natural history of pollination**. HarperCollins Publishers, 1996.

RAINE, Nigel E.; CHITTKA, Lars. The adaptive significance of sensory bias in a foraging context: floral colour preferences in the bumblebee *Bombus terrestris*. **PLoS One**, v. 2, n. 6, p. e556, 2007.

RAMÍREZ, Santiago R. et al. Asynchronous diversification in a specialized plant-pollinator mutualism. **Science**, v. 333, n. 6050, p. 1742-1746, 2011.

RAMÍREZ, Santiago; DRESSLER, Robert L.; OSPINA, Mónica. Abejas euglosinas

- (Hymenoptera: Apidae) de la Región Neotropical: Listado de especies con notassobre su biología. **Biota colombiana**, v. 3, n. 1, p. 7-118, 2002.
- RECH, André Rodrigo et al. (Ed.). *Biologia da polinização*. Rio de Janeiro: **Projecto Cultural**, 2014.
- REITER, Noushka et al. Pollination of an endangered *Caladenia* species (Orchidaceae) by nectar-foraging behaviour of a widespread species of colletid bee. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 189, n. 1, p. 83-98, 2019.
- REPOSI, Sofía Daniela; GOTELLI, Marina María; TORRETTA, Juan Pablo. Anatomy and ultrastructure floral osmophores of *Catasetum fimbriatum* (Orchidaceae). **Protoplasma**, p. 1-12, 2021.
- REVERTÉ, Sara et al. Pollinators show flower colour preferences but flowers with similar colours do not attract similar pollinators. **Annals of Botany**, v. 118, n. 2, p. 249-257, 2016.
- ROMERO, G.; PRIDGEON, A. Subtribes Catasetinae. **Genera orchidacearum**, v. 5, p. 11-12, 2009.
- ROMERO, Gustavo A.; NELSON, Craig E. Sexual dimorphism in *Catasetum* orchids: forcible pollen emplacement and male flower competition. **Science**, v. 232, n. 4757, p. 1538-1540, 1986.
- ROMERO-GONZALEZ, G. A.; WARFORD, N. Three new *Galeandra* (Orchidaceae: Cyrtopodiniinae). **Lindleyana**, v. 10, p. 75-91, 1995.
- ROMERO-GONZÁLEZ, Gustavo A. et al. New Reports of *Galeandra* (Orchidaceae) from Mexico. **Harvard Papers in Botany**, v. 26, n. 2, p. 371-401, 2021.
- ROULSTON, T.'ai H.; CANE, James H. Pollen nutritional content and digestibility for animals. **Plant systematics and Evolution**, v. 222, p. 187-209, 2000. polenn
- ROULSTON, T.'ai H.; CANE, James H.; BUCHMANN, Stephen L. What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen–pistil interactions, or phylogeny?. **Ecological monographs**, v. 70, n. 4, p. 617-643, 2000.pseudocopulatory species. **Protoplasma**, v. 253, p. 1463-1473, 2016.
- ROY, Rahul et al. Nectar biology: from molecules to ecosystems. **Plant Science**, v. 262, p. 148-164, 2017.
- RUDALL, Paula J.; BATEMAN, Richard M. Roles of synorganisation, zygomorphy and heterotopy in floral evolution: the gynostemium and labellum of orchids and other lilioid monocots. **Biological Reviews**, v. 77, n. 3, p. 403-441, 2002.
- SANTANA, Pamela Cristina et al. Retention of colour-changed flowers increases

- pollinator attraction to *Lantana undulata* inflorescences. **Flora**, v. 296, p. 152152, 2022.
- SANTOS, Igor Soares dos; SILVA, Marcos José da. O gênero *Galeandra* Lindl. (Orchidaceae, Epidendroideae) no Distrito Federal e no Estado de Goiás, Brasil. **Hoehnea**, v. 47, 2020.
- SCHÄFFLER, Irmgard et al. Diacetin, a reliable cue and private communication channel in a specialized pollination system. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 12779, 2015.
- SCHIELSTL, Florian P. et al. Sex pheromone mimicry in the early spider orchid (*Ophrys sphegodes*): patterns of hydrocarbons as the key mechanism for pollination by sexual deception. **Journal of Comparative Physiology A**, v. 186, p. 567-574, 2000
- SCHIELSTL, Florian P. On the success of a swindle: pollination by deception in orchids. **Naturwissenschaften**, v. 92, p. 255-264, 2005.
- SCHULTES, Richard Evans. **Native Orchids of Trinidad and Tobago: International Series of Monographs on Pure and Applied Biology**. Elsevier, 2013.
- SEYMOUR, Roger S.; WHITE, Craig R.; GIBERNAU, Marc. Heat reward for insect pollinators. **Nature**, v. 426, n. 6964, p. 243-244, 2003.
- SHRESTHA, Mani et al. Rewardlessness in orchids: how frequent and how rewardless?. **Plant Biology**, v. 22, n. 4, p. 555-561, 2020.
- SHRESTHA, Mani et al. Shades of red: bird-pollinated flowers target the specific colour discrimination abilities of avian vision. **New Phytologist**, v. 198, n. 1, p. 301-310, 2013.
- SINGER, Rodrigo B. et al. Sexual mimicry in *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae: Maxillariinae). **Annals of Botany**, v. 93, n. 6, p. 755-762, 2004.
- SINGER, Rodrigo B. et al. The pollination mechanism of *Habenaria pleiophylla* Hoehne & Schlechter (Orchidaceae: Orchidinae). **Functional Ecosystems and Communities**, v. 1, n. 1, p. 10-14, 2007
- SINGER, RODRIGO B. The pollination biology of *Sauroglossum elatum* Lindl. (Orchidaceae: Spiranthinae): moth-pollination and protandry in Neotropical Spiranthinae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 138, n. 1, p. 9-16, 2002.
- SINGER, Rodrigo B.; KOEHLER, Samantha. Notes on the pollination biology of *Notylia nemorosa* (Orchidaceae): do pollinators necessarily promote cross pollination?. **Journal of Plant Research**, v. 116, p. 19-25, 2003.
- SORENSEN, Anna-Marie et al. Description of a fertilization-independent obligate apomictic species: *Corunastylis apostasioides* Fitzg. **Sexual Plant Reproduction**, v.

- 22, p. 153-165, 2009.
- SPRENGEL, Christian Konrad. **Das entdeckte Geheimniss der Natur im Bau und in der Befruchtung der Blumen.** bei Friedreich Vieweg dem aeltern, 1793.
- STEEN, Ronny. Pollination of *Platanthera chlorantha* (Orchidaceae): new video registration of a hawkmoth (Sphingidae). **Nordic Journal of Botany**, v. 30, n. 5, p. 623- 626, 2012.
- STERN, William Louis. **Anatomy of the monocotyledons volume X: Orchidaceae.** OUP Oxford, 2014.
- STEVENS, P. F. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website.** Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]." will do. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Accessed on: 01 Jan 2024.
- STEVENSON, Philip C.; NICOLSON, Susan W.; WRIGHT, Geraldine A. Plant secondary metabolites in nectar: impacts on pollinators and ecological functions. **Functional Ecology**, v. 31, n. 1, p. 65-75, 2017.
- STPICZYŃSKA, Małgorzata. Osmophores of the fragrant orchid *Gymnadenia conopsea* L. (Orchidaceae). **Acta Societatis Botanicorum Poloniae**, v. 70, n. 2, p. 91-96, 2001.
- STPICZYŃSKA, Małgorzata; DAVIES, Kevin L. Elaiophore structure and oil secretion in flowers of *Oncidium trulliferum* Lindl. and *Ornithophora radicans* (Rchb. f.) Garay & Pabst (Oncidiinae: Orchidaceae). **Annals of Botany**, v. 101, n. 3, p. 375-384, 2008
- SUETSUGU, Kenji. Autogamous fruit set in a mycoheterotrophic orchid *Cyrtosia septentrionalis*. **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, p. 481-486, 2013.
- SUETSUGU, Kenji. Gynomonoecy in a mycoheterotrophic orchid *Eulophia zollingeri* with autonomous selfing hermaphroditic flowers and putatively outcrossing female flowers. **PeerJ**, v. 8, p. e10272, 2020
- SUT, Stefania; MAGGI, Filippo; DALL'ACQUA, Stefano. Bioactive secondary metabolites from orchids (Orchidaceae). **Chemistry & biodiversity**, v. 14, n. 11, p. e1700172, 2017.
- TAMAYO-CEN, Iván et al. From Megamexico to the Amazon: Phylogeny, systematics and macroevolution of *Clowesia* (Orchidaceae: Catasetinae). **TAXON**, v. 71, n. 4, p. 758- 795, 2022.
- TAYLOR, Amanda et al. Functional traits are key to understanding orchid diversity on islands. **Ecography**, v. 44, n. 5, p. 703-714, 2021.
- TEICHERT, Holger et al. Perfume-collecting male euglossine bees as pollinators of a

- basal angiosperm: the case of *Unonopsis stipitata* (Annonaceae). **Plant Biology**, v. 11, n. 1, p. 29-37, 2009.
- THOLL, Dorothea. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. **Current opinion in plant biology**, v. 9, n. 3, p. 297-304, 2006.
- TÖLKE, Elisabeth Dantas et al. Diversity of floral glands and their secretions in pollinator attraction. **Co-evolution of secondary metabolites**, p. 709-754, 2020.
- TREMBLAY, Raymond L. et al. Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 84, n. 1, p. 1-54, 2005.
- Tropicos.org. (2024) **Missouri Botanical Garden**. Accessed: <https://tropicos.org/name/42000388>. Acesso em: 13 jan. 2024.
- TSUJI, Kaoru; OHGUSHI, Takayuki. Florivory indirectly decreases the plant reproductive output through changes in pollinator attraction. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 5, p. 2993-3001, 2018.
- VAN DER CINGEL, Nelis A. An atlas of orchid pollination: European orchids. **CRC Press**, 2001.
- VAN DER KOOI, Casper J.; VALLEJO-MARÍN, Mario; LEONHARDT, Sara D. Mutualisms and (a) symmetry in plant–pollinator interactions. **Current Biology**, v. 31, n. 2, p. R91-R99, 2021.
- VAN DER PIJL, L. & DODSON, C.H Orchid flowers, their pollination and evolution. **University of Miami Press**, Coral Gables, 1966.
- VOGEL, Stefan. Die Ölblumensymbiosen–Parallelismus and andere Aspekte ihrer Entwicklung in Raum and Zeit<sup>1</sup>, 2. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 26, n. 5, p. 341-362, 1988.
- VOGEL, Stefan. Parfümsammelnde Bienen als Bestäuber von Orchidaceen und *Gloxinia*. **Österreichische Botanische Zeitschrift** v. 113, p. 302–361, 1966.
- VOGEL, Stefan. **The role of scent glands in pollination**, 1st edn. Smithsonian Institution, Washington, D.C, USA, 1990.
- VOGEL, Stefan. **Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung: über Bau und Funktion der Osmophoren**. Akademie der Wissenschaften und der Literatur, 1963.
- WASER, Nickolas M.; OLLERTON, Jeff (Ed.). **Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization**. University of Chicago Press, 2006.
- WASER, Nikolas M. et al. Generalization in pollination systems, and why it

- matters. **Ecology**, v. 77, n. 4, p. 1043-1060, 1996.
- WATTEYN, Charlotte et al. Sweet as *Vanilla hartii*: Evidence for a nectar-rewarding pollination mechanism in *Vanilla* (Orchidaceae) flowers. **Flora**, v. 303, p. 152294, 2023.
- WFO (2024): Orchidaceae Juss. Published on the Internet; <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-70000000429>. Accessed on: 01 Jan 2024.
- WHITTEN, W. Mark; NEUBIG, Kurt M.; WILLIAMS, Norris H. Generic and subtribal relationships in Neotropical Cymbidieae (Orchidaceae) based on matK/ycf1 plastid data. **Lankesteriana International Journal on Orchidology**, v. 13, n. 3, p. 375-392, 2013.
- WHITTEN, W. Mark; WILLIAMS, Norris H.; CHASE, Mark W. Subtribal and generic relationships of Maxillarieae (Orchidaceae) with emphasis on Stanhopeinae: combined molecular evidence. **American Journal of Botany**, v. 87, n. 12, p. 1842-1856, 2000.
- WHITTEN, W. Mark; YOUNG, Allen M.; STERN, David L. Nonfloral sources of chemicals that attract male euglossine bees (Apidae: Euglossini). **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, p. 3017-3027, 1993.
- WILLIAMS, Norris H.; DODSON, Calaway H. Selective attraction of male euglossine bees to orchid floral fragrances and its importance in long distance pollen flow. **Evolution**, p. 84-95, 1972.
- WILLIAMS, Norris H.; WHITTEN, W. Mark. Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. **The Biological Bulletin**, v. 164, n. 3, p. 355-395, 1983.
- XIAO, Hanwen et al. High fruit setting rate without male participation: A case study of obligate apomixis in *Rhomboda tokioi* (Orchidaceae). **Flora**, v. 283, p. 151920, 2021.
- YONG, J. W. H.; HEW, C. S. The importance of photoassimilate contribution from the current shoot and connected back shoots to inflorescence size in the thin-leaved sympodial orchid *Oncidium goldiana*. **International Journal of Plant Sciences**, v. 156, n. 4, p. 450-459, 1995.
- ZIMMERMANN, Yvonne; RAMÍREZ, Santiago R.; ELTZ, Thomas. Chemical niche differentiation among sympatric species of orchid bees. **Ecology**, v. 90, n. 11, p. 2994-3008, 2009.
- ZIMMERMANN, Yvonne; ROUBIK, David W.; ELTZ, Thomas. Species-specific

attraction to pheromonal analogues in orchid bees. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 60, p. 833-843, 2006.

ZOTZ, Gerhard. The systematic distribution of vascular epiphytes—a critical update.

**Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, n. 3, p. 453-481, 2013.

ZOTZ, Gerhard; WINKLER, Uwe. Aerial roots of epiphytic orchids: the velamen radicum and its role in water and nutrient uptake. **Oecologia**, v. 171, p. 733-741, 2013

## **CAPÍTULO 1**

### **PERFUME, ENGODO OU AMBOS? DESVENDANDO O ENIGMA DO MECANISMO DE POLINIZAÇÃO DE *Galeandra blanchetii* E.S. RAND (ORCHIDACEAE)**

**Manuscrito a ser submetido a revista Plant Biology**

**Perfumes, engodo, ou ambos? Desvendando o enigma do mecanismo de  
polinização de *Galeandra blanchetii* E.S. Rand (Orchidaceae)**

Deborah Maciel Camara<sup>(a,\*)</sup>; Alessandro Wagner Coelho Ferreira<sup>(b)</sup>; Ana Paula Souza Caetano<sup>(c)</sup>; Arthur Domingos-Melo<sup>(d)</sup>; Paulo Milet-Pinheiro<sup>(e)</sup>; Isabel Cristina Machado<sup>(f)</sup>; Edlley Max Pessoa<sup>(c)</sup>.

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde. Universidade Estadual do Maranhão, Caxias, Brasil.

<sup>b</sup> Departamento de Biologia, Laboratório de Estudos de Orquídeas, Cidade Universitária Dom Delgado, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil

<sup>c</sup> Departamento de Botânica e Ecologia, Laboratório de Estudos Integrados de Plantas, Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, Brazil.

<sup>d</sup> Departamento de Biociências, Laboratório de Biologia Floral e Ecologia da Polinização, Universidade Federal de Sergipe, Itabaiana, Brazil.

<sup>e</sup> Colegiado de Biologia, Laboratório de Interações Ecológicas e Semioquímicos, Universidade de Pernambuco, Petrolina, Brasil.

<sup>f</sup> Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil.

\*Autor correspondente: [deborahmacielcamara@gmail.com](mailto:deborahmacielcamara@gmail.com)

## RESUMO

- As flores de algumas espécies de *Galeandra* Lindl. emitem perfumes florais e possuem características melitófilas. Porém, informações sobre a história natural, bem como os mecanismos envolvidos na atração de seus polinizadores são escassas.
- Analisamos a biologia floral e reprodutiva de *Galeandra blanchetii*, uma orquídea endêmica do Brasil. Além disso, caracterizamos o perfume floral e avaliamos seu papel na atração de polinizadores.
- Apesar de autocompatível, necessita de vetor biótico para a reprodução. Não há produção de néctar, em contrapartida, há emissão de perfume floral. A avaliação histológica evidenciou a presença de osmóforos epidérmicos e tricomas glandulares unicelulares no labelo. O perfume de *G. blanchetii* consiste em 34 compostos. Salicilato de metila e benzoato de metila sendo os principais. Apesar de atrair fêmeas e machos de abelhas Euglossini, os únicos polinizadores efetivos foram abelhas macho, sendo duas espécies de Euglossini (*Euglossa securigera* e *E. cordata*) e uma de Centridini (*Epicharis* sp.).
- A atração dos polinizadores se dá por um mecanismo duplo, que combina perfumes como recurso e engano alimentar (engodo), atraindo tanto fêmeas quanto machos em busca de néctar sem sucesso. Embora os machos busquem perfume, a simples escovação do labelo para coleta de odor não garante a polinização, sendo necessário que a abelha entre até o cálcio em busca de néctar para contactar o polinário. Concluimos que, embora *Galeandra blanchetii* apresente semelhanças com o sistema de polinização das demais Catasetinae, mantém características melitófitas incomuns para o grupo e que representa um modelo para entender a origem das flores de perfume em Orchidaceae.

**Palavra-chave:** Catasetinae; Euglossini; polinização; osmóforos, perfumes florais.

## Introdução

A polinização biótica é quase sempre uma interação mutualística, envolvendo a transferência de pólen das anteras para estigmas, geralmente com recompensa para os polinizadores (Waser & Ollerton 2006). Ao longo do processo evolutivo, as flores desenvolveram uma diversidade de atrativos que sinalizam a presença de recursos aos possíveis polinizadores (Raguso 2004; Van der Kooi *et al.* 2022). Estes sinais abarcam desde a morfologia floral (Muchhala 2007; Brunet *et al.* 2021; Ortiz *et al.* 2021), número de inflorescências (Boff *et al.* 2021), guias de néctar (Hansen *et al.* 2012; Schlindwein *et al.* 2014), cores (Shrestha *et al.* 2013; Reverté *et al.* 2016; Whitehead *et al.* 2019; Garcia *et al.* 2022) fragrâncias (Raguso 2004; Milet-Pinheiro *et al.* 2013; Shrestha *et al.* 2014; Schäffler *et al.* 2015; Vasas *et al.* 2017; Garcia *et al.* 2021) e, em casos específicos através de sinais acústicos (Gonzalez-Terrazas *et al.* 2016) e até mesmo campos eletromagnéticos (Chicas-Mosier *et al.* 2020). Já os recursos podem envolver todo e qualquer componente da flor, utilizados pelos animais, proporcionando frequência de visitas, que podem induzir a polinização e otimizar a fertilização (Johnson *et al.* 2003; Blaauw & Isaacs 2014; Makino & Ohashi 2017).

Um dos casos mais emblemáticos de diversidade de sinais e recompensas florais ocorre na família Orchidaceae, com espécies que fornecem recompensas alimentares como néctar, pólen, tricomas (pêlos alimentares, pseudopólen) (Ackerman *et al.* 2023) e não nutritivas, como óleos, ceras, resinas e fragrâncias (Davies & Turner 2003; Davies & Turner 2004; Gomiz *et al.* 2017; Phillips *et al.* 2020; Reposi *et al.* 2021; Milet-Pinheiro *et al.* 2022). Por outro lado, estimativas indicam que 46% das orquídeas, utilizam um conjunto de atrativos para enganar o polinizador, atraindo-os para flores sem recompensa (Ackerman *et al.* 2023). Tal mecanismo pode ocorrer por meio do engano alimentar generalizado, com presença de pistas visuais semelhantes aos de espécies recompensadoras (Peter & Johnson 2013), ou ainda, através do mimetismo batesiano, como ocorre na orquídea saprófita *Danxiaorchis yangii* Bo Y. Yang e Bo Li, que tem sinais florais similares aos de *Lysimachia alfredi* Hance, que oferece pólen como recompensa ao polinizador (Luo *et al.* 2021). E, em alguns casos, as características são tão singulares, que incluem um mimetismo morfológico semelhante ao formato do corpo da fêmea do grupo de insetos (Jager & Peakall 2016) e de fragrâncias semelhantes aos feromônios sexuais de fêmeas virgens de abelhas, vespas e besouros, que atraem machos co-específicos em busca de cópula, um mecanismo conhecido como engodo sexual (Dafni 1984; Peakall 1990; Bohman *et al.* 2018; Cohen *et al.* 2021).

Em Orchidaceae Neotropicais, observa-se um dos mecanismos de polinização mais peculiares das Angiospermas. Cerca de 271 espécies ofertam perfumes florais como única recompensa para polinizadores especializados (Ackerman *et al.* 2023), os machos de abelhas Euglossini (Apidae) (Dressler 1982; Nunes *et al.* 2017), que ao manipularem as flores para coletar perfumes, ocasionalmente realizam a polinização (Vogel 1966; Dressler 1982). Embora as flores de perfume tenham sido definidas inicialmente por conterem apenas os perfumes como recompensa, evidências recentes indicam que algumas flores, podem também ofertar néctar (Pansarin 2023). As flores de perfume (Vogel 1990) são encontrada em alguns grupos de orquídeas, como Stanhopeinae, Coeliopsidinae e clados dentro de Oncidiinae e Catasetinae (Pansarin *et al.* 2018), com esta última tendo a maioria dos gêneros contendo as fragrâncias florais como recompensa (por exemplo, Hills *et al.* 1972; Franken *et al.* 2016; Nunes *et al.* 2017; Pansarin & Maciel 2017), embora óleos e tricomas comestíveis tenham sido registrados mais recentemente (Pansarin *et al.* 2019; Pansarin & Maciel 2017).

Dentro das Catasetinae, um caso que permanece enigmático até os dias atuais é a estratégia de polinização do gênero *Galeandra* Lindl. *Galeandra* é um gênero com distribuição Neotropical, que inclui 18 espécies terrestres e epífitas, com maior diversidade no Brasil (Monteiro *et al.* 2010; Martins *et al.* 2018; Monteiro 2024). Filogeneticamente é o grupo irmão do clado que inclui *Dressleria*, *Mormodes* e *Cynoches*, cujas espécies produzem perfumes florais como recompensa e são polinizadas exclusivamente por machos de abelhas Euglossini (Pansarin & Maciel 2017). As espécies epífitas de *Galeandra* tendem a ter distribuições mais restritas quando comparadas as terrestres, provavelmente devido aos seus sistemas de polinização. Nas epífitas, por exemplo, a presença de cálcio prolongado é um indicativo que já pode ter ocorrido a produção de néctar nas espécies primitivas com associação a polinização por abelhas de língua longa (Martins *et al.* 2018).

Porém, os poucos estudos que tratam da biologia reprodutiva de *Galeandra* se limitam a observações pontuais de polinários aderidos no corpo de machos de abelhas Euglossini (Pearson *et al.* 1985; Ramírez *et al.* 2011) e abelhas Anthophoridae, coletoras de néctar (Chase & Hills 1992; Romero-Gonzalez & Warford 1995). Estudos preliminares para espécies do gênero não observaram a presença de néctar no cálcio (Monteiro 2007), porém há emissão de fragrâncias adocicadas ou fétidas nas espécies (Monteiro 2007; Romero-González & Gómez 2014), inclusive com registro de compostos atrativos para abelhas Euglossini encontrados em *Galeandra minax* Rchb.f (Gerlach &

Schill 1991). Apesar dessas publicações, faltam evidências sobre o mecanismo de atração de polinizadores assim como uma evidência da presença ou ausência de recursos em flores de *Galeandra*.

Neste estudo, apresentamos um conjunto de experimentos que investigam a biologia floral e reprodutiva *G. blanchetii* E.S. Rand, uma Catantopodinae epífita endêmica do Brasil. Realizamos as seguintes perguntas: (1) A espécie depende de vetor biótico para a reprodução? (2) Quem são os polinizadores? (3) As abelhas Euglossini são os visitantes mais abundantes de *G. blanchetii*? (3) A resposta da senescência floral está associada a deposição do pólen? (4) Quais são os recursos que ela oferta? (5) Os odores, indicam a possibilidade da recompensa por perfumes? Além disso, registramos a fenologia e caracterizamos quimicamente a fragrância floral de *G. blanchetii*. Discutimos possíveis impactos no entendimento sobre a origem das flores de perfume à partir de flores de engodo, visto que as características florais de transição e o posicionamento filogenético de *Galeandra* a indicam como um bom modelo para compreender essa questão.

## Material e métodos

### *Espécie e local de estudo*

*Galeandra blanchetii* E.S. Rand (Subtribo Cyrtopodiinae, sinônimos: *Galeandra chapadensis* Campacci e *Galeandra camptoceras* Schrltr) é uma erva epífita (Fig.1-A), endêmica do Brasil, encontrada nos domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga e Cerrado, possui crescimento simpodial, flores tubulares dispostas individualmente ou em inflorescência terminal racemosa (Fig.1-B), sépalas e pétalas verdes amareladas ou verdes pardacentas, labelo de ápice vináceo com calcar cônico voltado para cima (Fig.1-C) e frutos fusiformes (Fig.1-D) (Monteiro et al., 2010; Santos e Silva, 2020). Um espécime (A.W.C. Ferreira 20-08-2019) foi depositado no herbário da Universidade Estadual do Maranhão (SLUI) para servir como material testemunho.

O trabalho de campo sobre a biologia floral e reprodutiva de *Galeandra blanchetii* foi realizado mensalmente, de janeiro de 2018 a setembro de 2023 em duas populações naturais em duas áreas de Floresta Amazônica no município de São Luís, estado do Maranhão, Nordeste do Brasil. O primeiro local foi na Universidade Federal do Maranhão (UFMA), campus Dom Delgado (aprox. 2°33'32, 44°18'35''W), com 100 hectares (Neto et al. 2012), tendo cinco fragmentos florestais urbanizados (Costa & Almeida Jr. 2020) e áreas de jardins adjacentes a esses fragmentos (Costa et al. 2017). Indivíduos de *G. blanchetii* foram encontradas apenas em três gêneros de palmeira (Arecaceae): *Attalea speciosa* Mart. ex Kunth. (espécie nativa), *Syagrus cocoides* Mart., *Phoenix* L. (palmeira

exótica, utilizada no paisagismo de jardins).

O segundo encontra-se a cerca de 16 km de distância do primeiro local, na Área de Proteção Ambiental do Itapiracó (APA Itapiracó) ( $2^{\circ}31'37.48''\text{S}$ ) e ( $44^{\circ}12'46.3''\text{W}$ ), onde foram repetidas as observações. Com aproximadamente 200 hectares, com vegetação de floresta ombrófila e matas de galeria, com *G. blanchetii* encontrada apenas em forófito de *S. cocoides* (Ver Figura Suplementar S1). As duas populações totalizaram 30 indivíduos, sendo marcados 15 em cada área. O clima da região é do tipo Aw (Köppen, 1948), caracterizado pela sazonalidade, com estação chuvosa de janeiro a junho, e outra seca entre julho e dezembro (Ver Figura de Material Suplementar S2). A precipitação média anual é de 2.117 mm. A temperatura média é de  $26,7^{\circ}\text{C}$  (Normais Climatológicas fornecido pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET – [www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br): “Dados Meteorológicos: Estações Convencionais”) (Ver Figura em Material Suplementar S2). -

#### *Fenologia e longevidade floral*

Foram escolhidos aleatoriamente 20 indivíduos de *G. blanchetii* em idade reprodutiva, que foram avaliados quanto a fase de rebrota, presença de flores e frutos nas duas áreas de estudo e foram monitorados mensalmente *in situ* de janeiro de 2021 a dezembro de 2022. O padrão de floração foi avaliado segundo Newstrom *et al.* (1994) e os dados fenológicos foram analisados por meio de estatística circular (Morellato *et al.* 2010) utilizando o índice de atividade baseado no número de indivíduos que apresentam determinada fenofase.

Para calcular os parâmetros estatísticos circulares convertimos os meses em intervalos de  $30^{\circ}$  em torno do círculo, com o ano somando  $360^{\circ}$ . O ponto médio de cada intervalo representa o mês em que foi observada a floração ou frutificação: janeiro sendo  $15^{\circ}$  e assim sucessivamente. Os seguintes parâmetros foram calculados: ângulo médio ( $u$ ) que indica a data média de cada fenofase, o vetor médio ( $r$ ) que possibilita observar a concentração de uma fenofase em torno do ângulo médio, sendo consideradas agregadas ou sazonais as fenofases com valores superiores a 0,5 (Morellato *et al.* 2010).

Para testar a significância do ângulo médio do vetor foi aplicado o teste de Rayleigh (Z), que avalia se os dados estão distribuídos uniformemente ao longo ano (hipótese nula), caso não significativo consideramos o padrão sazonal (Morellato *et al.* 2010). Todas as análises foram feitas com R Studio (v. 2022), com o pacote “circular” (Agostinelli & Lund 2022).

### *Biologia floral*

A antese floral foi observada desde o início da abertura das peças florais até a senescência apenas em flores intactas (N=30, 10 indivíduos). A receptividade do estigma foi aferida em cinco flores com polinários, de cinco indivíduos diferentes, no primeiro dia de antese aplicando uma gota de peróxido de hidrogênio (3%) na superfície estigmática (Kearns & Inouye 1993).

### *Sistema reprodutivo*

Os tratamentos para investigação do sistema reprodutivo de *G. blanchetii* foram realizados em dez plantas adultas durante as florações de 2021 e 2022. Estas foram envasadas individualmente com substrato composto por fibra de coco, carvão vegetal e casca de pinus e cultivadas na casa de vegetação da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), no município de São Luís (aprox. 2°33'09.1"S 44°18'22.0"W). Conduzimos os seguintes tratamentos em flores intactas (ensacadas): (1) emasculação: flores tinham polinários retirados e posteriormente eram encobertas com sacos de tule para verificar a formação de frutos através de agamospermia (n=30); (2) polinização cruzada manual: flores polinizadas manualmente utilizando polinário de outra planta (n=30); (3) autopolinização manual: flores polinizadas manualmente com o polinário da mesma flor (n=30); (4) autopolinização espontânea: flores não manejadas mantidas em sacos de tule (n=30). Um polinário inteiro foi utilizado em cada evento de polinização manual (autopolinização manual e polinização cruzada). No total foram utilizadas 120 flores (período de floração de 2021 e 2022) de 10 plantas (30 inflorescências). A frutificação em condições naturais (tratamento controle) foi quantificada a partir de 42 flores, 10 inflorescência e 20 indivíduos em 2021 e em 48 flores, 10 inflorescências e 20 indivíduos em 2022.

Frutos obtidos nos diferentes tratamentos (autopolinização manual, polinização cruzada manual, polinização natural) foram coletados para avaliar a viabilidade das sementes formadas. Para isso, as sementes foram colocadas em solução de 2,3,5-trifenil tetrazólio a 1% em frasco de vidro de 40 ml cada. Em seguida, a solução foi tampada e revestida com papel de alumínio para evitar interferência da luz, sendo incubadas no escuro por 24 h em banho-maria a 38°C (Vudala & Ribas 2017). Após a incubação, a solução de tetrazólio foi descartada e o restante da solução e as sementes foram lavadas três vezes com água destilada e deionizada por 3 min (Magrini *et al.* 2019). Por fruto foram avaliadas 200 sementes por tratamento em estereomicroscópio, a viabilidade relativa (porcentagem) foi estimada dividindo o número de sementes rosadas/vermelhas

(viáveis) pelo total de embriões contados.

A diferença na viabilidade entre os tratamentos (autopolinização, polinização cruzada e polinização natural) foi investigada por meio do teste de Kruskal Wallis para dados não distribuídos normalmente, seguidos pelos testes de Dunn com ajuste de p-valor de Benjamini- Hochberg, com limite de significância de 0,05. Todos os gráficos foram elaborados por meio pacote “ggplot” (Wickham 2016). Os resultados dos testes reprodutivos foram comparados através de gráficos boxplot.

### *Morfologia e Testes histoquímicos*

Características morfológicas foram observadas em 30 flores de dez indivíduos sob estereomicroscópio binocular. As medições foram feitas diretamente nas estruturas florais utilizando um paquímetro digital (MTX-316119). Para o estudo morfológico, foram registrados o formato e o tamanho das partes florais (sépalas, pétalas, labelo, coluna, capa da antera e polinários).

Flores frescas (n=10, N= 5 indivíduos) foram imersas em 0,1% (p/v) vermelho neutro aquoso por 20 min para localizar áreas metabolicamente ativas, como osmóforos. Após a coloração, as flores foram lavadas em água corrente e examinadas. Para caracterizar a estrutura anatômica das áreas secretoras, as flores foram seccionadas manualmente. Em seguida os procedimentos histoquímicos foram realizados para identificar as principais classes de compostos químicos presentes nas flores: Vermelho de Rutênio para detectar mucilagem (Gregory & Baas 1989); Sudan IV para verificar a presença de lipídios totais (Pearse 1980); Cloreto Férrico para detectar compostos fenólicos (Johansen 1940); Lugol para detectar amido (Jensen 1962), Reagente Nadi para detectar terpenos (David & Carde 1964); azul brilhante de Coomassie para detectar proteínas (Fisher 1968); e reação do ácido periódico de Schiff (PAS) para detectar polissacarídeos insolúveis em água (Feder & O'Brien 1968). Cortes histológicos controles foram preparados simultaneamente aos testes histoquímicos (seções montadas em apenas glicerina ou água), para verificar o aspecto natural da coloração da secreção ou tecido não tratado (Pansarin *et al.* 2009). As seções foram examinadas e fotografadas após cada reação em um microscópio Olympus BX51 equipado com uma câmera digital Olympus DP71. As edições de imagens foram feitas no Adobe Photoshop Express 3.12 e as montagens de pranchas no Microsoft Power Point (Versão 2312).

### *Visitantes florais e mecanismo de polinização*

As observações de campo foram realizadas durante o dia (06h00-17h00) nos meses de floração de 2018-2023, para analisar o processo de polinização, frequência de visitação e capturar visitantes florais para posterior identificação. Fotografias e filmagens foram realizadas utilizando uma câmera digital Cannon® TI5 ZOOM 300mm e câmera Samsung® 48 MP + 8MP + 2MP + 2MP, localizadas a uma distância de 2 metros das flores. A espécie foi observada em duas populações por 70 dias, totalizando 515 horas (para ver detalhes de observação de campo, ver tabela de Material Suplementar S1). Para excluir a possibilidade de polinização noturna, foram observadas flores de *G. blanchetii* (n=20, dez indivíduos, 30 dias) com políneas intactas e sem políneas depositadas, as quais foram marcadas no final da tarde (17h00) e examinadas no início da manhã por volta das 07:00h.

Em geral, as fotografias e os vídeos permitiram distinguir entre visitantes florais e potenciais polinizadores com base em seus comportamentos. Os visitantes florais foram classificados como polinizadores apenas quando observados removendo e/ou depositando o polinário (Ackerman *et al.* 2023). Aqueles que apenas removeram o polinário, mas não foram observados depositando-o no estigma, foram considerados como potenciais polinizadores (Kephart 1983). Os demais agentes bióticos observados nas flores sem qualquer ação direta nos polinários e estigmas foram considerados apenas visitantes florais.

Os insetos foram capturados com pote entomológico e posteriormente sacrificados por congelamento por 24 h. Os visitantes florais de Euglossini que entraram no tubo floral foram identificados pelo sexo com auxílio de literatura especializada e especialistas do do Laboratório de Estudos de Abelhas (L.E.A.), da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Brasil. Todas as abelhas e demais insetos coletados foram armazenados na coleção entomológica e de polinizadores do L.E.A. As imagens dos visitantes florais foram feitas com o auxílio do Software AxioVision 58 SE64 Rel.4.9.1, através da AxiCam ICc 1 acoplada ao microscópio estereoscópio Zeiss Discovery V.8.

#### *Mensurações das flores e polinizadores*

Para avaliar as características dos potenciais polinizadores foram feitas medidas nas abelhas do comprimento total do corpo, da altura e largura do mesossoma e do comprimento da probóscide (glossa). Em flores tubulares a distância entre a coluna e o labelo desempenham um papel importante no ajuste ao polinizador (Watteyn *et al.* 2022, 2023). Portanto, foram avaliadas em 30 flores de *G. blanchetii* (N=15, por população), a

altura do labelo até a aba rostelar (“CN”) e altura do labelo até a região média da antera (“AN”) (Fig. S3). Para avaliar as características dos potenciais polinizadores foram medidas nas abelhas o comprimento total do corpo, a altura e largura do mesossoma e o comprimento da probóscide (glossa). As mensurações das abelhas e as características da estrutura reprodutiva da flor foram comparadas através de gráficos boxplot.

#### *Coleta de perfumes florais*

Amostras de perfumes florais de *G. blanchetii* foram coletadas usando métodos dinâmicos de *headspace* (Milet-Pinheiro et al., 2015; Brandt *et al.* 2020), com o objetivo de caracterizar quimicamente o buquê aromático. Flores solitárias ou de inflorescências (34 flores, N=18 indivíduos) foram envolvidas juntas em sacos de polietileno para estufa. Após a acumulação dos voláteis por 20 min, o ar perfumado foi sugado por 20 min através de um filtro adsorvente [microfrascos de quartzo ChromatoProbe; 15 mm × 2 mm di; contendo 1,5 mg de Tenax-TA (mesh 60–80, Supelco, Bellefonte, PA, EUA) e 1,5 mg de Carbotrap (malha 20–40, Supelco, Bellefonte, PA, EUA), conectado a uma bomba de membrana (G12/01 EB, Rietschle Thomas, Puchheim, Alemanha) com o uso de tubos de silicone. A bomba funcionou a uma vazão constante de 200 mL/min. Todas as amostras (n=8) foram coletadas no período da manhã, das 09h00 às 11h00, período de maior emissão de perfumes percebidos pelo nariz humano. Para detectar contaminantes ambientais, amostras controle (sacos vazios) foram coletadas simultaneamente a uma distância de ca. 2 m da inflorescência alvo usando os mesmos métodos descritos acima (n = 4 amostras) e os mesmos protocolos descritos para estruturas florais. Este procedimento permitiu excluir contaminantes ambientais.

#### *Análise químicas dos perfumes florais*

As amostras de *headspace* do perfume floral de *G. blanchetii* foram analisadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa (GC-MS; cromatógrafo a gás Agilent 7890A, espectrômetro de massa Agilent 5975C, série MSD; Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) equipado com uma coluna não polar HP-5MS (Agilent JW; 30 m × 0,25 mm, id 0,25 µm de espessura de filme) e uma sonda de separação térmica (TSP, Agilent Technologies). As amostras TD foram carregadas no TSP, que foi então inserido no injetor GC modificado. O injetor trabalhou em modo split (1:1) com temperatura de 250°C. A temperatura do forno do GC foi fixada em 40 °C por 2 min, em seguida, aumentada a uma taxa de 4 °C por min até atingir a temperatura final

de 230 °C, a qual foi mantida por 5 min. O controle de fluxo eletrônico foi empregado para manter um fluxo de gás de arraste de hélio constante de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. As temperaturas da fonte MS e do quadrupolo foram fixadas em 230 °C e 150 °C, respectivamente. Os espectros de massa foram obtidos a 70 eV (no modo de ionização eletrônica) com uma velocidade de varredura de 1,0 varredura – de m/z 35–350. Os compostos foram identificados por comparação dos seus espectros de massa e índices de retenção com os disponíveis na literatura (MassFinder 4, NIST11 e Wiley Registry 9th Edition, Adams, 2007), integrados no software Agilent MSD Productivity Chem Station (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA). Sempre que possível, a identidade dos compostos foi verificada usando tempos de retenção e espectros de massa de padrões autênticos. As áreas de pico nos cromatogramas foram integradas para obter o sinal de corrente iônica total, que foi usado para determinar as porcentagens relativas de cada composto. Os compostos encontrados nas amostras de estruturas no ambiente circundante foram excluídos da lista de VOCs florais (compostos orgânicos voláteis).

## Resultados

### *Fenologia e longevidade floral*

A fase de rebrota de *G. blanchetii* ocorreu em janeiro de cada ano, início do período chuvoso na região de estudo, que vai de janeiro a junho. A emissão de botões florais e floração também iniciaram durante a estação chuvosa, se estendendo de fevereiro a outubro. Os indivíduos apresentavam de uma até seis flores abertas ao mesmo tempo. Cada inflorescência, após senescência das flores, repetiu florações até três vezes. Os maiores picos de floração nas populações ocorreram entre março e maio. O padrão de floração de *G. blanchetii* é anual se estendendo de fevereiro até outubro (nove meses), com características sazonal e síncrona ( $r = 0.61$ ;  $P < 0,05$  em 2021 e 2022), com ângulo médio em maio (Tab. S2) na estação chuvosa (Fig. 2). Cada flor durou em média 10 dias (+ ou – 1 dia) ( $n=30$  flores, 10 indivíduos). A remoção ou deposição dos polinários desencadeou a senescência floral. A antese é diurna com pico de abertura entre 06h00 e 07h00 ( $n=30$ , 10 indivíduos). O estigma permanece receptivo durante toda a vida floral, enquanto não ocorrer a remoção do polinário ou a polinização. Cerca de três dias após a fecundação foi possível observar o início da formação do fruto pelo entumescimento do ovário. O pico de frutificação foi baixo ( $r=0,37$ ;  $r=0,34$ , respectivamente para os dois anos de estudo), mas foi a segunda fenofase mais síncrona (Rayleigh Z,  $P < 0,05$ , Tabela S1). Os frutos capsulares levaram cerca de 5-6 meses para amadurecer ( $n=46$ , 16 indivíduos),

com a coloração na parte apical do fruto (próximo da coluna) mudando de verde para amarelada. Em seguida, surgiam três fendas longitudinais que evidenciavam o início da deiscência do fruto, quando as sementes começaram a ser liberadas (Fig. S4). A liberação das sementes coincide com o final do período seco, em dezembro, antes das chuvas.

### *Sistema reprodutivo*

*Galeandra blanchetii* é autocompatível, no entanto nenhum fruto foi formado por autopolinização espontânea ou por tratamentos de emasculação (agamospermia). A taxa de frutificação natural foi 19% em 2021 (n=42 flores) e 17% em 2022 (n=46 flores) (Tab. S3). Os tratamentos de autopolinização manual e polinização cruzada manual resultaram em 100% de frutos formados, e, em ambos os casos com pelo menos 60% de sementes viáveis (mediada pela proporção de sementes com embrião colorido). A maioria das sementes apresentava embriões bem desenvolvidos, no entanto, a viabilidade das sementes dos tratamentos de autopolinização manual, cruzada e controle foram significativamente diferentes ( $X^2_{kw} = 49.815$ ,  $df=2$ ,  $p<0,05$ ). Mais sementes testaram positivo para viabilidade embrionária em flores polinizadas de forma cruzada e por polinização natural por insetos em comparação com flores autopolinizadas, as quais apresentaram mais sementes abortadas ou sem embrião (DunnTest com correção de Benjamin-Hochberg,  $p<0.05$ ) (Fig. 3). Não houve diferença entre os tratamentos de polinização manual cruzada e polinização natural (controle) (Dunn's test,  $P = 1.00$ ).

### *Morfologia e Testes histoquímicos*

A inflorescência de *Galeandra blanchetii* é racemosa com uma a seis flores, cada um acompanhada por uma bráctea longo triangular. As flores são ressupinadas com até 6.5 cm de comprimento e com perfume levemente adocicado. As sépalas são livres e oblanceoladas com ápice agudo (Ver Tabela do Material Suplementar S4). As pétalas são oblongo-espatuladas, com ápice agudo. O labelo é a estrutura mais proeminente da flor, possui a margem ondulada, com a região completamente ou parcialmente de coloração vinácea ou rosada, com tricomas em sua extensão. O disco do labelo possui duas carenas brancas longitudinais (que direcionam o visitante até o cálcio). O cálcio é ascendente alongado, com tricomas unicelulares conspícuos, mais longos que os da margem do labelo, sem secreção de néctar. A coluna é claviforme, com tricomas translúcidos próximos ao estigma, sua base possui duas projeções arredondadas vináceas. As duas políneas são circulares, amarelas e com disco adesivo em formato falciforme.

Secções transversais do labelo das flores de *G. blanchetii* revelaram uma superfície adaxial com epiderme unisseriada com cutícula fina, sem poros visíveis, cobertas por células epidérmicas cúbicas com tricomas unicelulares dispostos em linhas longitudinais atuando como guias de néctar (Fig.4, B), desde a margem até o cálc, com essa região tendo tricomas unicelulares mais alongados (Fig.4, C). O parênquima compreendia células anisodiamétricas com poucos espaços intercelulares, os feixes vasculares eram colaterais. A superfície abaxial do labelo é composta por células cúbicas achatadas e glabras. Os testes com vermelho neutro revelaram alta atividade metabólica na região do labelo, especialmente a superfície adaxial e nos tricomas unicelulares, exceto aqueles do cálc, indicando ausência de osmóforos funcionais (Fig. 4, D). O tratamento com solução de Lugol evidenciou grãos de amido ocorrendo nas células da superfície adaxial do labelo (Fig. 4, E), nos tricomas (Fig. 4, F) e próximos dos feixes vasculares, não sendo encontrados em qualquer outro lugar do parênquima subjacente. Nenhum composto proteico, fenólico ou de mucilagem foi detectado. O Sudan IV corou principalmente os lipídeos cuticulares do labelo (Fig. 4, G), as células epidérmicas adaxiais e os tricomas (Fig. 4. H, I), sem secreção lipofílica no parênquima subepidérmico. Secreções ricas em terpeno corada em azul ou violeta foram reveladas com o reagente Nadi, foram observadas nas células epidérmicas adaxiais com presença de gotículas lipídicas (Fig. 4, J) nos tricomas da margem e do tubo do labelo (Fig. 4. K). O teste com o ácido periódico de Schiff (PAS) (Ver tabela de Material Suplementar S5), realizados no cálc e em partes do labelo mostraram resultados negativos para açúcares (polissacarídeos).

#### *Visitantes florais e mecanismo de polinização*

Dos 48 visitantes florais observados nas flores de *G. blanchetii*, 42 (87.5%) eram abelhas (Apidae). Especificamente 34 (80.9%) eram abelhas Euglossini pertencentes aos gêneros *Euglossa* (33 indivíduos, 97%) e *Eulaema* (1 indivíduo, 3%), e destas 19 eram machos e 14 fêmeas. O restante eram Meliponini (5 indivíduos, 12%), Ceratinini (2 indivíduos, 4.7%) e uma abelha da subtribo Centridini (1 indivíduo, 2.4%). Além de abelhas, outros visitantes foram borboletas da família Hesperíidae (2 indivíduos, 4.1%) e formigas (4 indivíduos, 8.4%) (Tab. 1) (Fig. 6). A maior parte das visitas ocorreu pela manhã, das 09:00 às 11:00h (Fig. S5). Nenhum polinário foi removido das flores marcadas durante a noite (das 18:00 às 06:30 h).

Os comportamentos de visita foram: i) busca por néctar; ii) coleta de perfume (com comportamento de raspagem); iii) acesso ao cálcio de forma externa; iv) remoção do polinário durante a visita. Os visitantes mais frequentes foram espécies de *Euglossa*, que representaram 80,9% das visitas. A maioria dos indivíduos (machos e fêmeas) desempenhou comportamento de busca por néctar (Ver Material Suplementar Tabela S6), que foi evidenciado pelo fato dos indivíduos apresentarem a probóscide estendida ao entrar ou ao sair da flor, além de entrarem diretamente no tubo floral em direção ao cálcio (vídeo S1). As rápidas visitas de fêmeas e seu comportamento também sugerem a busca por néctar. No caso dos machos, foi observado comportamento de raspagem do labelo, indicando a coleta de fragrância floral (Vídeo S2).. Alguns machos posteriormente entravam nas flores na tentativa de coleta néctar. O polinário só é removido quando as abelhas saíam das flores, uma vez que o final do vísco é curvado para a entrada do tubo floral, e, ao saírem de “macha ré”, as abelhas esbarravam na coluna permitindo assim a adesão do polinário ao final do escutelo da abelha.

Dos 33 visitantes de *Euglossa* que sondaram as flores, apenas 22 indivíduos, dos quais 10 machos e 12 fêmeas, entraram completamente no labelo em busca de néctar (Fig. 5, A). Apenas um macho foi observado removendo o polinário e o outro chegando na flor com políneas aderidas ao escutelo, sendo eles, respectivamente, *Euglossa securigera* (Dressler, 1982) e *E. cordata* (Linnaeus, 1758) (Fig. 5. B, C). O polinário foi fixado ao escutelo do tórax da abelha pela cola não removível do vísco. *Euglossa amazonica* apenas desempenhou o comportamento de buscar por néctar. O tempo médio ( $\pm$  DP) que os indivíduos buscavam néctar dentro da flor foi de  $0.11 \pm 0.06$  s ( $n=30$ ), enquanto a duração da coleta de perfume foi de  $0.57 \pm 0.51$  s ( $N=3$ ).

As abelhas Meliponini ( $n=5$ ) desempenharam comportamento de sondagem, tocando a superfície do labelo, sépalas e pétalas com sua probóscide e antenas. Em algumas visitas se dirigiam até o cálcio em busca de néctar e realizavam perfurações no labelo (Vídeo S3). Observamos ainda uma única visita de *Epicharis* sp., que removeu o polinário (Vídeo S4). Não foi observada remoção do polinário nas visitas de *Eulaema nigrita* (Lepeletier, 1841) nem nas visitas de Meliponini ou Ceratinini (Fig. S6)

#### *Mensurações das flores e polinizadores*

Através da avaliação morfométrica das flores de *G. blanchetii*, todas as espécies de abelhas, com exceção de *Eulaema nigrita* (Lepeletier, 1841), possuem largura do mesossoma menor (2.06-5.03) que a distância entre a porção adaxial do tubo do labelo e

o estigma da coluna ( $7.4 \pm 1.40$  mm) (Tab. S7). Entretanto, apenas *Euglossa amazonica*, *E. cordata*, *E. securigera* e *Euglossa* sp.1 possuem altura corporal de mesossoma ( $\pm$  DP; Tab. S8) consistente com a altura da região média da antera (An) e a do tubo floral medido na altura do assoalho do labelo, na região do par de carenas abaixo da aba rostelar (Cn) (Fig. 6).

Todas as abelhas machos e fêmeas de *Euglossa* possuíram comprimento da glossa igual ou menor (Tab. S8) que o comprimento do cálcio ( $12.9 \pm 1.77$  mm) das flores de *G. blanchetii* (Tab. S7). Portanto, essas espécies de *Euglossa* precisaram entrar no labelo para alcançar o cálcio. Por outro lado, o macho de *Eulaema nigrita* teve probóscide maior (11.23 mm) do que as das espécies de *Euglossa*. Embora compatível com o tamanho do cálcio da *G. blanchetii* e teoricamente não sendo necessário essa abelha entrar totalmente no tubo floral, uma vez que a altura do tórax (7,6mm) foi maior do que a altura entre o estigma da coluna e a superfície adaxial do tubo do labelo (4,6 mm), não permitindo a entrada total no tubo floral e nem a remoção do polinário. O tempo de permanência de *Eulaema nigrita* na flor de *G. blanchetii* foi de cerca de um segundo. Durante todo período de observação em campo, observamos a presença de *E. nigrita* em apenas três ocasiões, sempre no período da manhã

#### *Composição química do perfume floral de G. blanchetii*

As análises químicas das amostras de headspace de flores de *G. blanchetii* revelaram 34 compostos, dos quais 28 foram identificados (Tab.2). A classe de compostos com o maior número foi a de benzenóides (12), seguido de monoterpenos (7), sesquiterpenos (7), alifáticos (1), derivados não terpenos (1) (Tab. 2). Os benzenóides salicilato de metila e benzoato de metila foram os compostos majoritários do perfume floral, com 55% ( $\pm 12,91$ , N=8) e 28,20% ( $\pm 22,50$ , N=8) da carga total de perfume emitido, respectivamente.

#### **Discussão**

*G. blanchetii* possui um longo período de floração, a maioria dos indivíduos florescem no final da estação chuvosa, semelhante ao registrado para outras espécies de orquídeas amazônicas (Braga 1977; Pansarin *et al.* 2018; Krahel *et al.* 2019). Esta fenofase coincide com o período de maior abundância das abelhas Euglossinae (Ferreira *et al.* 2019). A longa vida útil das flores, aliada à receptividade do estigma em um cenário de escassez de polinizadores possibilita maior tempo de oportunidades de visitação (Spigler

2017). No entanto, o alto custo energético associado à manutenção das flores é compensado pela rápida senescência das flores de *G. blanchetii* após a deposição do pólen no estigma, tal mecanismo também é observado em outras orquídeas [e.g, *Mystacidium venosum* Harv. Ex Rolfe (Luyt & Johnson 2001); *Myrmecophila christinae* Carnevali & Gómez- Juárez (Parra-taola *et al.* 2009); *Acrolophia cochlearis* (Lindl.) Schltr. & Bolus (Peter & Johnson 2009); *Cohniella ascendens* (Lindl.) Christenson (Abdala-Roberts *et al.* 2007); *Catasetum uncatum* Rolfe (Milet-Pinheiro *et al.* 2015); *Cymbidium dayanum* Rchb.f., Gard. Chron (Matsuda & Sigiura 2019)]. O período de frutificação tem distribuição menos agregada durante o ano, e isso pode ter sido ocasionado devido ao tempo longo de maturação dos frutos (entre cinco e seis meses). A deiscência dos frutos de *G. blanchetii* ocorreu na estação seca (entre outubro e dezembro), coincidindo com os resultados encontrados em outras espécies de orquídeas epífitas (Madison 1977) uma vez que isso favorece a dessecação dos frutos e a dispersão das sementes pelo vento (Arditti & Ghani 2000).

Como as flores não frutificaram nos tratamentos de agamospermia e autopolinização espontânea, concluímos que vetores bióticos são necessários para a produção de frutos e sementes, consistentes com as observações de Monteiro (2007) em outras espécies de *Galeandra* (*G. cristata* Lindl. *G. santarenensis* S.H.N. Monteiro & J.B.F.Silva, *G. stangeana* Rchb.f. e *G. stylomisantha* (Vell.) Hoehne). A taxa de frutificação natural de *G. blanchetii* é baixa, algo comum em orquídeas tropicais (Krahl *et al.* 2019; Albuquerque *et al.* 2020; Reyes *et al.* 2021). No entanto, ao observamos a frutificação natural em espécies que são flores de engano (Pellegrino *et al.*, 2005; Pansarin *et al.*, 2008; Suetsugu *et al.*, 2015; Caballero-Villalobos *et al.*, 2017; Aguiar & Pansarin, 2019) e em espécies com flores que produzem perfumes, como nos gêneros *Dichaea* Lindl. (Nunes *et al.* 2016), *Catasetum* Rich. ex Kunth (Milet *et al.* 2015; Brandt *et al.* 2020), *Gongora* Ruiz & Pav. (Martini *et al.* 2003) e *Zygopetalum* Hook (Nunes *et al.* 2017), a taxa de *G. blanchetii* foi notoriamente superior, isto pode está relacionado a presença do mecanismo de atração de buca por néctar e também do perfume, ocasionando maiores chances de visitas que podem resultar na polinização.

Representantes de *Galeandra* são associadas a orquídeas polinizadas por engano alimentar (Ackerman 1986; Nilsson 1988; Jersáková *et al.* 2006; Pansarin & Maciel 2017), pelo fato de possuir cálcio sem presença de néctar visível. Porém nossos resultados da biologia floral não apoiam que ocorre unicamente o engano alimentar, visto que as flores de *G. blanchetii* também produzem perfumes florais que servem como recurso para

machos de abelhas Euglossini. Os osmóforos tendem a estar dispostos adaxialmente em orquídeas, nas sépalas, pétalas, labelo ou na coluna (Bernhardt & Burns-Balogh 1986; Vogel 1990; Dressler 1993). Em *G. blanchetii* o local mais difundido de emissão de perfume foi o labelo tendo osmóforos epidérmicos com tricomas glandulares unicelulares, ambos com acúmulo de substâncias lipídicas e terpenóides, que são os constituintes dos perfumes (Williams & Whitten 1983).

Além disso, considerando a disposição dos tricomas serem em linhas longitudinais, estes podem servir como guias de recurso, conforme relatado para espécies de *Vanilla* (Pansarin 2022; Pansarin & Ferreira 2022), incentivando os visitantes seguirem até a região do cálcio. No entanto, o parênquima de *G. blanchetii* não é secretor, diferente do observado em espécies de *Catasetum* (Franken *et al.* 2016; Reposi *et al.* 2021) e *Stanhopea* (Anton *et al.* 2012). A volatilização em *G. blanchetii* ocorre por meio de uma cutícula fina, visto que, não foram observados estômatos ou poros, algo comum em espécies polinizadas por machos de abelhas Euglossini (Dudareva & Pichersky 2006; Anton *et al.* 2012; Pansarin *et al.* 2014). O amido encontrado na epiderme secretora, nos tricomas e próximo aos feixes vasculares não foi observado em nenhum outro lugar do parênquima subjacente. A presença de amido próximo em regiões de osmóforos é comum, como encontrado em *Stanhopea*, *Cycnoches* e *Vanilla* (Anton *et al.* 2012; Pansarin 2022). Esse amido está associado ao suprimento de energia para a produção volátil (Vogel 1963; Stern *et al.* 1987; Dudareva & Pichersky, 2006).

O perfume floral é um importante atrativo para sistemas de polinização que envolvem machos de abelhas Euglossini (Dressler 1982; Sazima *et al.* 1993). Pesquisas mostram que uma gama cada vez mais diversificada de componentes podem mediar tais interações (Dressler 1982; Nunes *et al.* 2016; Brandt *et al.* 2020; Opedal *et al.* 2020). Os principais compostos responsáveis pelo perfume de *G. blanchetii* são o salicilato de metila e benzoato de metila, ambos considerados atrativos para diversas espécies de Orchidaceae polinizadas por machos de abelhas Euglossini (e.g. Hills *et al.* 1972; Gerlach & Schill 1991; Hetherington-Rauth & Ramírez 2016; Nunes *et al.* 2016; Milet-Pinheiro *et al.* 2018, 2022), inclusive com registro de iscas de salicilato de metila atraindo abelhas *Euglossa securigera* (Dressler, 1982) (Martins *et al.* 2018) e *Eulaema nigrita* (Lepeletier, 1841) (Brandt *et al.* 2021) e benzoato de metila sendo forte atrativo para *Euglossa cordata* (Linnaeus, 1758) (Brand *et al.* 2021). Por outro lado, o composto volátil nonanal, que esteve presente em poucas amostras de *G. blanchetii*, está associado a sinalização de recompensa de néctar para abelhas, como foi apontado por Liu *et al.* (2022) em doze

espécies de angiospermas. Portanto, a presença sutil de nonanal seria mais um fator de reforço da polinização por engodo em *G. blanchetii*. Em *Galeandra minax* Rchb.f., Gerlach & Schill (1991) identificaram os componentes voláteis acetato de benzila e 1,8-cineol. Nesse estudo sobre *G. blanchetii* registramos, em comum com *G. minax*, apenas acetato de benzila, indicando que a variação da fitoquímica dos perfumes florais pode ter importância taxonômica e implicações evolutivas.

A confirmação dos perfumes florais atuando como recurso para polinizadores em *G. blanchetii* foi comprovada pela observação de um macho de *Euglossa securigera* coletando os óleos voláteis da superfície do labelo (Video 1). Esse processo de raspagem para retirada do perfume é realizado com o par anterior de pernas dos machos de Euglossini (Dodson 1962; Dressler 1982), que posteriormente transferem esse recurso para o segundo par de pernas e desses para as tíbias dilatadas das pernas posterior (ou órgão tibial) (Vogel, 1963; Cruz-Landim 1965; Etlz *et al.* 1999). Esses perfumes são utilizados por machos de abelhas durante a exibição de corte às fêmeas aumentando a chance de acasalamento e de gerar mais descendentes (Henske *et al.* 2023). Porém, estas espécies não dependem apenas das orquídeas para adquirir perfumes, podendo coletá-los de outras famílias de angiospermas, ou ainda em fontes extraflorais, como em madeiras deterioradas, frutas, folhas e em cogumelos (Whitten *et al.* 1993; Pemberton & Wheeler 2006; Cappellari & Harter-Marques 2010; Karremans *et al.* 2023).

Do ponto de vista da reprodução da planta, para retirar o polinário a abelha necessita ir até o cálcio em busca de néctar removendo-o na saída da flor aderindo ao final do seu escutelo. Tanto machos como fêmeas foram observadas entrando no labelo em buscar de néctar com língua estendida, corroborando com o mecanismo de engodo alimentar já sugerido em outras espécies de *Galeandra* (Watteyn *et al.* 2023; Albuquerque *et al.* 2021). Nossos dados mostram que apenas duas espécies de *Euglossa* machos (*E. securigera* e *E. cordata*) estiveram envolvidas na transferência de pólen, o que reforça os achados de Pearson *et al.* (1985) e Ramírez *et al.* (2011), com polinários de *Galeandra* em espécies de *Euglossa*, sugerindo que algumas abelhas do gênero realmente atuam como polinizadores efetivos. A polinização por abelhas *Euglossa* machos parece ser específica e está associada principalmente a composição química e secundariamente aos tamanhos das abelhas com o comportamento apropriado para realizar a polinização na visita (Nunes *et al.* 2017; Watteyn *et al.* 2022,2023; Ackerman *et al.* 2023). Apesar das frequências de visitas de fêmeas, não observamos transporte de polinários, o que pode ser devido às medidas da “altura do tórax” ( $4.1 \pm 0.29$ ) encontradas

serem menores que a dos machos (Tab. S5), impossibilitando a remoção do pólen. Indivíduos de *Trigona* sondaram principalmente na região do labelo com tricomas tendo o comportamento de forrageamento, no entanto *G. blanchetii* não apresenta tricomas comestíveis (Krahl *et al.* 2019). Além disso, a frequência da busca por néctar foi maior do que a busca por fragrância, diferente do observado em *Vanilla* (Pansarin 2023).

Nossos resultados confirmam nossa hipótese inicial e apontam que o sistema de polinização de *G. blanchetii* tem semelhanças com as demais Catantidae, porém de forma distinta, mantém características melitófitas. Dado seu posicionamento filogenético como gênero irmão dos demais na subtribo que produzem compostos voláteis como recompensa e que são polinizados por abelhas machos Euglossini (Whitten *et al.* 2013; Pansarin & Maciel 2017), *Galeandra* surge como um modelo para compreender essa questão já que possui características florais de transição (Ollerton 2017), visto que, a morfologia do gênero sugere mudanças evolutivas associadas principalmente ao processo de polinização (Martins *et al.* 2018). Nossos resultados têm impactos importantes no entendimento sobre a origem das flores de perfume à partir de flores de engodo, uma questão pouco abordada na literatura (Fenster *et al.* 2004; Ramírez *et al.* 2011).

## Conclusão

*Galeandra blanchetii* apesar de ser autocompatível, depende exclusivamente de vetores bióticos para a reprodução. Embora estudos anteriores tenham especulado que as espécies de *Galeandra* atraíam seus polinizadores apenas por engodo, nossos dados revelam que *G. blanchetii* atrai seus polinizadores por um mecanismo duplo, que combina perfumes como atrativo floral, e por meio do engano alimentar. Esse engodo alimentar é tão eficiente que também é capaz de atrair fêmeas de *Euglossa*, que nunca visitam flores de outros gêneros de Catantidae em busca de néctar e muito menos devido às suas fragrâncias florais, procuradas apenas pelos machos. Os únicos polinizadores efetivos (ou seja, transportaram o polinário) foram machos de duas espécies de *Euglossa* (*Euglossa securigera* e *E. cordata*) e uma de Centridini (*Epicharis* sp.). Apesar dos machos de *Euglossa* buscarem perfume nos osmóforos do labelo de *G. blanchetii*, a simples escovação não garante a polinização efetiva, sendo necessário que eles também entrem nas flores até o calcar não funcional em busca de néctar. No retorno em marcha a ré, entram em contato com o polinário posicionado estrategicamente na região apical da coluna. Esse foi o primeiro registro do mecanismo de polinização por machos de *Euglossa* em flores de *Galeandra*. Os resultados das nossas investigações demonstram que *G.*

*blanchetii* tem semelhanças com o sistema de polinização das demais Catasetinae no aspecto de produzir e emitir fragrâncias que atraem Euglossini. Porém, mantém características melitófitas incomuns para o grupo. Estudos posteriores com outras espécies de *Galeandra* poderão auxiliar na busca de elementos específicos e comuns dentro de Catasetinae, contribuindo para um melhor entendimento das relações evolutivas em Catasetinae e Orchidaceae.

### **Agradecimentos**

Ao Dr. Denilson Costa Martins e Dr. José Manuel Macário Rebelo (Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Biologia, UFMA) pela identificação taxonômica das abelhas. A Dra. Patrícia Maia Correia de Albuquerque por disponibilizar o Laboratório de Estudos de Abelhas (LEA) da Universidade Federal do Maranhão e ao Me. Luciano André Chaves Ferreira pelo suporte técnico com as fotos das abelhas e ao Dr. David Barros Muniz pelo auxílio nas montagens dos insetos e aconselhamentos nas medidas das abelhas (Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Laboratório de Ecologia e Sistemática de Insetos Polinizadores e Predadores, LESPP). Ao Dr. Lucas Pereira Martins pela identificação taxonômica de Lepidoptera (Universidade de Canterbury, Nova Zelândia). EMP e ICM agradecem pelas bolsas de produtividade do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Processos nº 303556/2022-6 e 310508/2019-3, respectivamente). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Capes) – Código de Financiamento 001

## REFERÊNCIAS:

- Abdala-Roberts, L., Parra-Tabla, V., & Navarro, J. (2007). Is floral longevity influenced by reproductive costs and pollination success in *Cohniella ascendens* (Orchidaceae)? *Annals of Botany*, **100**(6), 1367-1371.
- Ackerman, J. D. (1986). Coping with the epiphytic existence: pollination strategies. *Selbyana*, 52-60.
- Ackerman, J. D., Phillips, R. D., Tremblay, R. L., Karremans, A., Reiter, N., Peter, C. I., ... & Liu, H. (2023). Beyond the various contrivances by which orchids are pollinated: global patterns in orchid pollination biology. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **202**(3), 295-324.
- Ackerman, J. D., Sabat, A., & Zimmerman, J. K. (1996). Seedling establishment in an epiphytic orchid: an experimental study of seed limitation. *Oecologia*, **106**, 192- 198.
- Agostinelli, C & Lund, U. (2022). R package 'circular': Circular Statistics (version 0.4-95). <https://r-forge.r-project.org/projects/circular/>. Accessed: 22 April 2023.
- Aguiar, J. M. R. B. V., & Pansarin, E. R. (2019). Deceptive pollination of *Ionopsis utricularioides* (Oncidiinae: Orchidaceae). *Flora*, **250**, 72-78.
- Aguiar, J. M. R. B. V., & Pansarin, E. R. (2019). Deceptive pollination of *Ionopsis utricularioides* (Oncidiinae: Orchidaceae). *Flora*, 250, 72-78.
- Albuquerque, N. S. L., Milet-Pinheiro, P., Cruz, D. D., Navarro, D. M. A. F., & Machado, I. C. (2021). Pollination of the strongly scented *Sarcoglottis acaulis* (Orchidaceae) by male orchid bees: nectar as resource instead of perfume. *Plant Biology*, **23**(5), 719-727.
- Anton, S., Kaminska, M., & Stpiczynska, M. (2012). Comparative structure of the osmophores in the flower of *Stanhopea graveolens* Lindley and *Cynoches chlorochilon* Klotzsch (Orchidaceae). *Acta Agrobotanica*, **65**(2).
- Arditti, J., & Ghani, A. K. A. (2000). Tansley Review No. 110. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *The New Phytologist*, **145**(3), 367-421.
- Baker, H. G. (1963). Evolutionary mechanisms in pollination biology: Origins and functions of floral systems are being elucidated by genetical and ecological studies. *Science*, **139**(3558), 877-883.
- Bernhardt, P., & Burns-Balogh, P. (1986). Observations of the floral biology of *Prasophyllum odoratum* (Orchidaceae, Spiranthoideae). *Plant Systematics and Evolution*, **153**, 65-76.
- Blaauw, B. R., & Isaacs, R. (2014). Larger patches of diverse floral resources increase

- insect pollinator density, diversity, and their pollination of native wildflowers. *Basic and Applied Ecology*, **15**(8), 701-711.
- Boff, S., Henrique, J. A., Friedel, A., & Raizer, J. (2021). Disentangling the path of pollinator attraction in temporarily colored flowers. *International Journal of Tropical Insect Science*, **41**, 1305-1311.
- Bohman, B., Karton, A., Flematti, G. R., Scaffidi, A., & Peakall, R. (2018). Structure-activity studies of semiochemicals from the spider orchid *Caladenia plicata* for sexual deception. *Journal of Chemical Ecology*, **44**, 436-443.
- Braga, P. I. S. (1977). Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. *Acta Amazonica*, **7**, 5-89.
- Brandt, K., Machado, I. C., Navarro, D. M. D. A. F., Dötterl, S., Ayasse, M., & Milet-Pinheiro, P. (2020). Sexual dimorphism in floral scents of the Neotropical orchid *Catasetum arietinum* and its possible ecological and evolutionary significance. *AoB Plants*, **12**(4), plaa030.
- Brunet, J., Flick, A. J., & Bauer, A. A. (2021). Phenotypic selection on flower color and floral display size by three bee species. *Frontiers in plant science*, **11**, 587528.
- Caballero-Villalobos, L., Silva-Arias, G. A., Buzatto, C. R., Nervo, M. H., & Singer, R. B. (2017). Generalized food-deceptive pollination in four *Cattleya* (Orchidaceae: Laeliinae) species from Southern Brazil. *Flora*, **234**, 195-206.
- Caballero-Villalobos, L., Silva-Arias, G. A., Buzatto, C. R., Nervo, M. H., & Singer, R. B. (2017). Generalized food-deceptive pollination in four *Cattleya* (Orchidaceae: Laeliinae) species from Southern Brazil. *Flora*, **234**, 195-206.
- Cappellari, S. C., & Harter-Marques, B. (2010). First report of scent collection by male orchid bees (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) from terrestrial mushrooms. *Journal of the Kansas Entomological Society*, **83**(3), 264-266.
- Chase, M. W., & Hills, H. G. (1992). Orchid phylogeny, flower sexuality, and fragrance-seeking. *BioScience*, **42**(1), 43-49.
- Chicas-Mosier, A. M., Radi, M., Lafferrandre, J., O'Hara, J. F., Vora, H. D., & Abramson, C. I. (2020). Low strength magnetic fields serve as a cue for foraging honey bees but prior experience is more indicative of choice. *Bioelectromagnetics*, **41**(6), 458-470.
- Cohen, C., Liltved, W. R., Colville, J. F., Shuttleworth, A., Weissflog, J., Svatoš, A., ... & Johnson, S. D. (2021). Sexual deception of a beetle pollinator through floral mimicry. *Current Biology*, **31**(9), 1962-1969.
- Costa, L. B. D. S., Pires, C. D. S., Anjos, J. S. D., Correia, B. E. F., & Almeida, E. B. D.

- (2017). Floristic survey of ornamental plants used in Dom Delgado University City at the Universidade Federal do Maranhão, São Luís, Maranhão State, Brazil. *Ornamental Horticulture*, **23**, 451-459.
- Da Cruz Landim, C., Stort, A. C., Da Costa Cruz, M. A., & Kitajima, E. W. (1965). Órgão Tibial Dos Machos De Euglossini. Estudo Ao Microscópio Óptico E Eletrônico. *Rev. Brasil. Biol.*, **25**(4), 323.
- da Silva Costa, L. B., & Almeida Jr, E. B. (2020). Checklist of phanerogamic flora and mapping of areas of urban forest fragments in São Luís, Maranhão. *Revista Ecuador*, **9**(3), 26-39.
- Dafni, A. (1984). Mimicry and deception in pollination. *Annual review of ecology and systematics*, **15**(1), 259-278.
- David, R., & Carde, J. P. (1964). Histochemie-coloration differentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du pin maritime au moyen du reactif NADI. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences*, **258**(4), 1338.
- Davies, K. L., & Turner, M. P. (2004). Pseudopollen in *Dendrobium unicum* Seidenf.(Orchidaceae): reward or deception?. *Annals of Botany*, **94**(1), 129-132.
- Davies, K. L., Turner, M. P., & Gregg, A. (2003). Lipoidal labellar secretions in *Maxillaria Ruiz & Pav.*(Orchidaceae). *Annals of Botany*, **91**(4), 439-446.
- de Jager, M. L., & Peakall, R. (2016). Does morphology matter? An explicit assessment of floral morphology in sexual deception. *Functional Ecology*, **30**(4), 537-546.
- Dodson, C. H. (1962). The importance of pollination in the evolution of the orchids of tropical America. *American Orchid Society Bulletin*, **31**, 525-534.
- Dressler, R. L. (1982). Biology of the orchid bees (Euglossini). *Annual review of ecology and systematics*, **13**(1), 373-394.
- Dressler, R. L. (1993). *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge University Press.
- Dudareva N, Pichersky E, editors. Biology of floral scent. CRC press; 2006 Mar 2.
- Eltz, T., Whitten, W. M., Roubik, D. W., & Linsenmair, K. E. (1999). Fragrance collection, storage, and accumulation by individual male orchid bees. *Journal of Chemical Ecology*, **25**, 157-176.
- Feder, N. E. D., & O'brien, T. P. (1968). Plant microtechnique: some principles and new methods. *American journal of Botany*, **55**(1), 123-142.
- Fenster, C. B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., & Thomson, J. D. (2004).

- Pollination syndromes and floral specialization. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **35**, 375-403.
- Ferreira, L. A. C., Martins, D. C., Rêgo, M. M. C., & Albuquerque, P. M. C. D. (2019). Richness of Wild Bees (Hymenoptera: Apidae) in a Forest Remnant in a Transition Region of Eastern Amazonia. *Psyche: A Journal of Entomology*, **2019**, 1-11
- Fisher, D. B. (1968). Protein staining of ribboned epon sections for light microscopy. *Histochemie*, **16**(1), 92-96.
- Franken, E. P., Pansarin, L. M., & Pansarin, E. R. (2016). Osmophore diversity in the *Catasetum cristatum* alliance (Orchidaceae: Catasetinae). *Lankesteriana*, **16**(3), 317-327.
- Garcia, J. E., Hannah, L., Shrestha, M., Burd, M., & Dyer, A. G. (2022). Fly pollination drives convergence of flower coloration. *New Phytologist*, **233**(1), 52-61.
- Gerlach, G., & Schill, R. (1991). Composition of orchid scents attracting euglossine bees. *Botanica Acta*, **104**(5), 379-384.
- Gonzalez-Terrazas, T. P., Martel, C., Milet-Pinheiro, P., Ayasse, M., Kalko, E. K., & Tschapka, M. (2016). Finding flowers in the dark: nectar-feeding bats integrate olfaction and echolocation while foraging for nectar. *Royal Society Open Science*, **3**(8), 160199.
- Gregory, M., & Baas, P. (1989). A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *israel Journal of Botany*, **38**(2-3), 125-174.
- Hansen, D. M., Van der Niet, T., & Johnson, S. D. (2012). Floral signposts: testing the significance of visual 'nectar guides' for pollinator behaviour and plant fitness. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**(1729), 634-639.
- Henske, J., Saleh, N. W., Chouvenc, T., Ramírez, S. R., & Eltz, T. (2023). Function of environment-derived male perfumes in orchid bees. *Current Biology*, **33**(10), 2075-2080.
- Hetherington-Rauth, M. C., & Ramírez, S. R. (2016). Evolution and diversity of floral scent chemistry in the euglossine bee-pollinated orchid genus *Gongora*. *Annals of botany*, **118**(1), 135-148.
- Hills, H. G., Williams, N. H., & Dodson, C. H. (1972). Floral fragrances and isolating mechanisms in the genus *Catasetum* (Orchidaceae). *Biotropica*, 61-76.
- INMET - **Instituto Nacional de Meteorologia**. 2024. Banco de dados meteorológicos para ensino e Pesquisa, BDMEP. <http://www.inmet.gov.br/portal> 01 Janr. 2023. » <http://www.inmet.gov.br/portal>
- Jensen, W. A. (1962). Botanical histochemistry. *WH Freeman, San Francisco*.
- Jersáková, J., Johnson, S. D., & Kindlmann, P. (2006). Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biological reviews*, **81**(2), 219-235.

- Johansen, D. A. (1940). Plant microtechnique. *Plant microtechnique.*, (First Ed).
- Johnson, S. D., Peter, C. I., Nilsson, L. A., & Ågren, J. (2003). Pollination success in a deceptive orchid is enhanced by co-occurring rewarding magnet plants. *Ecology*, **84**(11), 2919-2927.
- Karremans, A. P., Bogarín, D., Otárola, M. F., Sharma, J., Watteyn, C., Warner, J., ...& Whitworth, A. (2023). First evidence for multimodal animal seed dispersal in orchids. *Current Biology*, **33**(2), 364-371.
- Kearns, C. A., & Inouye, D. W. (1993). *Techniques for pollination biologists*. University press of Colorado.
- Kephart, S. R. (1983). The partitioning of pollinators among three species of *Asclepias*. *Ecology*, **64**(1), 120-133.
- KÖPPEN, W. (1948). Climatologia. México. *Fundo de Cultura Econômica*.
- Krahl, A. H., de Holanda, A. S., Krahl, D. R., Martucci, M. E., Gobbo-Neto, L., Webber, A. C., & Pansarin, E. R. (2019). Study of the reproductive biology of an Amazonian *Heterotaxis* (Orchidaceae) demonstrates the collection of resin-like material by stingless bees. *Plant Systematics and Evolution*, **305**, 281-291.
- Liu, Y. B., Zeng, Z. J., Barron, A. B., Ma, Y., He, Y. Z., Liu, J. F., ... & He, X. J. (2022). The involvement of a floral scent in plant-honeybee interaction. *The Science of Nature*, **109**(3), 30.
- Luo, H., Xiao, H., Liang, Y., Liu, N., Turner, C., Tan, S., ... & Yang, B. (2021). Batesian mimicry in the nonrewarding saprophytic orchid *Danxiaorchis yangii*. *Ecology and Evolution*, **11**(6), 2524-2534.
- Luyt, R., & Johnson, S. D. (2001). Hawkmoth pollination of the African epiphytic orchid *Mystacidium venosum*, with special reference to flower and pollen longevity. *Plant Systematics and Evolution*, **228**, 49-62.
- Madison, M. (1977). Vascular epiphytes: their systematic occurrence and salient features. *Selbyana*, **2**(1), 1-13.
- Magrini, S., Barreca, D., & Zucconi, L. (2019). A rapid double-staining technique to improve seed viability testing in terrestrial orchids. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, **153**(6), 877-882
- Makino, T. T., & Ohashi, K. (2017). Honest signals to maintain a long-lasting relationship: floral colour change prevents plant-level avoidance by experienced pollinators. *Functional Ecology*, **31**(4), 831-837.
- Martini, P., Schlindwein, C., & Montenegro, A. (2003). Pollination, flower longevity, and

- reproductive biology of *Gongora quinquenervis* Ruíz and Pavón (Orchidaceae) in an Atlantic forest fragment of Pernambuco, Brazil. *Plant Biology*, 5(05), 495-503.
- Martins, A. C., Bochner, T., Pérez-Escobar, O. A., Chomicki, G., Monteiro, S. H., & de Camargo Smidt, E. (2018). From tree tops to the ground: reversals to terrestrial habit in *Galeandra* orchids (Epidendroideae: Catasetinae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **127**, 952-960.
- Martins, D. C., de Albuquerque, P. M. C., Silva, F. S., & Rebêlo, J. M. M. (2018). Orchid bees (Apidae: Euglossini) in Cerrado remnants in northeast Brazil. *Journal of natural history*, **52**(11-12), 627-644.
- Matsuda, Y., & Sugiura, N. (2019). Specialized pollination by honeybees in *Cymbidium dayanum*, a fall–winter flowering orchid. *Plant Species Biology*, **34**(1), 19-26.
- Milet-Pinheiro, P., Domingos-Melo, A., Olivera, J. B., Albuquerque, N. S., Costa, A. C. G., Albuquerque-Lima, S., ... & Machado, I. C. (2021). A semivolatile floral scent marks the shift to a novel pollination system in Bromeliads. *Current Biology*, **31**(4), 860-868.
- Milet-Pinheiro, P., Navarro, D. M. D. A. F., Dötterl, S., Carvalho, A. T., Pinto, C. E., Ayasse, M., & Schlindwein, C. (2015). Pollination biology in the dioecious orchid *Catasetum uncatum*: how does floral scent influence the behaviour of pollinators?. *Phytochemistry*, **116**, 149-161.
- Milet-Pinheiro, P., Pinto, C. E., Navarro, D. M., Silva, J. B., Brandt, K., & Ayasse, M. (2022). Floral Scent Chemistry and Pollinators of a Sexually Dimorphic Neotropical Orchid. *Plants*, **12**(1), 17.
- Milet-Pinheiro, P., Silva, J. B. F., Navarro, D. M., Machado, I. C., & Gerlach, G. (2018). Notes on pollination ecology and floral scent chemistry of the rare Neotropical orchid *Catasetum galeritum* R chb. f. *Plant Species Biology*, **33**(2), 158-163.
- Monteiro, S.H.N. (2007). *Revisão taxonômica e filogenia do gênero Galeandra Lindl.* (Catasetinae: Orchidaceae). Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia.
- Monteiro, S. H. N., Selbach-Schnadelbach, A., de Oliveira, R. P., & van den Berg, C. (2010). Molecular phylogenetics of *Galeandra* (Orchidaceae: Catasetinae) based on plastid and nuclear DNA sequences. *Systematic Botany*, **35**(3), 476-486.
- Monteiro, S.H.N. *Galeandra in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB11597>>. Acesso em: 13 jan. 2024.
- Morellato, L. P. C., Alberti, L. F., & Hudson, I. L. (2010). *Applications of circular*

*statistics in plant phenology: a case studies approach* (pp. 339-359). Springer Netherlands.

Muchhala, N. (2007). Adaptive trade-off in floral morphology mediates specialization for flowers pollinated by bats and hummingbirds. *The American Naturalist*, **169**(4), 494-504.

Newstrom, L. E., Frankie, G. W., & Baker, H. G. (1994). A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at LaSelva, Costa Rica. *Biotropica*, 141-159.

Nilsson, L. A., & Rabakonandrianina, E. (1988). Hawk-moth scale analysis and pollination specialization in the epilithic Malagasy endemic *Aerangis ellisii* (Reichenb. fil.) Schltr. (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **97**(1), 49-61.

Nunes, C. E., Peñaflor, M. F. G., Bento, J. M. S., Salvador, M. J., & Sazima, M. (2016). The dilemma of being a fragrant flower: the major floral volatile attracts pollinators and florivores in the euglossine-pollinated orchid *Dichaea pendula*. *Oecologia*, **182**, 933-946.

Nunes, C. E., Wolowski, M., Pansarin, E. R., Gerlach, G., Aximoff, I., Vereecken, N. J., ... & Sazima, M. (2017). More than euglossines: the diverse pollinators and floral scents of Zygopetalinae orchids. *The Science of Nature*, **104**, 1-17.

Opedal, Ø. H., Martins, A. A., & Marjakangas, E. L. (2020). A database and synthesis of euglossine bee assemblages collected at fragrance baits. *Apidologie*, **51**, 519-530.

Ortiz, P. L., Fernández-Díaz, P., Pareja, D., Escudero, M., & Arista, M. (2021). Do visual traits honestly signal floral rewards at community level?. *Functional Ecology*, **35**(2), 369-383.

Pansarin, E. R. (2022). *Vanilla* flowers: much more than food-deception. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **198**(1), 57-73.

Pansarin, E. R., & Ferreira, A. W. C. (2022). Evolutionary disruption in the pollination system of *Vanilla* (Orchidaceae). *Plant Biology*, **24**(1), 157-167.

Pansarin, E. R., & Maciel, A. A. (2017). Evolution of pollination systems involving edible trichomes in orchids. *AoB Plants*, **9**(4), plx033.

Pansarin, E.R. (2023). Non-species-specific pollen transfer and double-reward production in euglossine-pollinated *Vanilla*. *Plant Biology*, **25**, 612-619.

Pansarin, L. M., de Moraes Castro, M. A. R. I. L. I. A., & Sazima, M. (2009). Osmophore and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catantopinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **159**(3), 408-415.

Pansarin, L. M., Pansarin, E. R., & Sazima, M. (2008). Reproductive biology of *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae): a Cyrtopodiinae pollinated by deceit. *Plant*

*Biology*, 10(5), 650-659.

Pansarin, L. M., Pansarin, E. R., & Sazima, M. (2014). Osmophore structure and phylogeny of *Cirrhaea* (Orchidaceae, Stanhopeinae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 176(3), 369-383.

Pansarin, L. M., Pansarin, E. R., Gerlach, G., & Sazima, M. (2018). The natural history of *Cirrhaea* and the pollination system of Stanhopeinae (Orchidaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 179(6), 436-449.

Parra-Tabla, V., Abdala-Roberts, L., Rojas, J. C., Navarro, J., & Salinas-Peba, L. (2009). Floral longevity and scent respond to pollen manipulation and resource status in the tropical orchid *Myrmecophila christinae*. *Plant Systematics and Evolution*, 282, 1-11.

Peakall, R. (1990). Responses of male *Zaspilothynnus trilobatus* Turner wasps to females and the sexually deceptive orchid it pollinates. *Functional Ecology*, 159-167.

Pearse, A. G. E. (1980). The chemistry and practice of fixation. *Histochemistry, Theoretical and Applied, Preparative and Optical Technology*, 1, 97-158.

Pearson, D. L., & Dressler, R. L. (1985). Two-year study of male orchid bee (Hymenoptera: Apidae: Euglossini) attraction to chemical baits in lowland south-eastern Peru. *Journal of Tropical Ecology*, 1(1), 37-54.

Pellegrino, G., Gargano, D., Noce, M. E., & Musacchio, A. (2005). Reproductive biology and pollinator limitation in a deceptive orchid, *Serapias vomeracea* (Orchidaceae). *Plant Species Biology*, 20(1), 33-39.

Pemberton, R. W., & Wheeler, G. S. (2006). Orchid bees don't need orchids: evidence from the naturalization of an orchid bee in Florida. *Ecology*, 87(8), 1995-2001.

Peter, C. I., & Johnson, S. D. (2009). Reproductive biology of *Acrolophia cochlearis* (Orchidaceae): estimating rates of cross-pollination in epidendroid orchids. *Annals of Botany*, 104(3), 573-581.

Phillips, R. D., Reiter, N., & Peakall, R. (2020). Orchid conservation: from theory to practice. *Annals of Botany*, 126(3), 345-362.

Raguso, R. A. (2004). Flowers as sensory billboards: progress towards an integrated understanding of floral advertisement. *Current opinion in plant biology*, 7(4), 434-440.

Ramírez, S. R., Eltz, T., Fujiwara, M. K., Gerlach, G., Goldman-Huertas, B., Tsutsui, N. D., & Pierce, N. E. (2011). Asynchronous diversification in a specialized plant-pollinator mutualism. *Science*, 333(6050), 1742-1746.

Reposi, S. D., Gotelli, M. M., & Torretta, J. P. (2021). Anatomy and ultrastructure floral osmophores of *Catasetum fimbriatum* (Orchidaceae). *Protoplasma*, 1-12.

- Reverté, S., Retana, J., Gómez, J. M., & Bosch, J. (2016). Pollinators show flower colour preferences but flowers with similar colours do not attract similar pollinators. *Annals of botany*, **118**(2), 249-257.
- Reyes, H. C., Draper, D., & Marques, I. (2021). Pollination in the rainforest: scarce visitors and low effective pollinators limit the fruiting success of tropical orchids. *Insects*, **12**(10), 856.
- Romero-González, G. A., & Gómez, C. (2014). Novelties in the Orchid Flora of Venezuela VII. Cymbidieae, Catasetinae. Notes on *Galeandra* (Orchidaceae), Including a New Species 1. *Harvard Papers in Botany*, **19**(2), 203-217.
- Romero-Gonzalez, G. A., & Warford, N. (1995). Three new *Galeandra* (Orchidaceae: Cyrtopodiniinae). *Lindleyana*, **10**, 75-91
- Santos, I. S. D., & Silva, M. J. D. (2020). The genus *Galeandra* Lindl.(Orchidaceae, Epidendroideae) in the Federal District and the State of Goiás, Brazil. *Hoehnea*, **47**.
- Sazima, M., Vogel, S., Cocucci, A., & Hausner, G. (1993). The perfume flowers of *Cyphomandra* (Solanaceae): pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores, and volatiles. *Plant Systematics and Evolution*, **187**, 51-88.
- Schäffler, I., Steiner, K. E., Haid, M., van Berkel, S. S., Gerlach, G., Johnson, S. D., ... & Dötterl, S. (2015). Diacetin, a reliable cue and private communication channel in a specialized pollination system. *Scientific Reports*, **5**(1), 12779.
- Schlindwein, C., Westerkamp, C., Carvalho, A. T., & Milet-Pinheiro, P. (2014). Visual signalling of nectar-offering flowers and specific morphological traits favour robust bee pollinators in the mass-flowering tree *Handroanthus impetiginosus* (Bignoniaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, **176**(3), 396-407.
- Shrestha, M., Dyer, A. G., Boyd-Gerny, S., Wong, B. B., & Burd, M. (2013). Shades of red: bird-pollinated flowers target the specific colour discrimination abilities of avian vision. *New Phytologist*, **198**(1), 301-310.
- Smidt, E. C., SILVA-PEREIRA, V. I. V. I. A. N. E., & Borba, E. L. (2006). Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north-eastern Brazil. *Plant Species Biology*, **21**(2), 85-91.
- Sonkoly, J., E. Vojtkó, A., Tökölyi, J., Török, P., Sramko, G., Illyes, Z., & MolnárV, A. (2016). Higher seed number compensates for lower fruit set in deceptive orchids. *Journal of Ecology*, **104**(2), 343-351.
- Spigler, R. B. (2017). Plasticity of floral longevity and floral display in the self-compatible biennial *Sabatia angularis* (Gentianaceae): untangling the role of multiple

- components of pollination. *Annals of Botany*, **119**(1), 167-176.
- Stern, W. L., Curry, K. J., & Pridgeon, A. M. (1987). Osmophores of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **74**(9), 1323-1331.
- Suetsugu, K., Naito, R. S., Fukushima, S., Kawakita, A., & Kato, M. (2015). Pollination system and the effect of inflorescence size on fruit set in the deceptive orchid *Cephalanthera falcata*. *Journal of Plant Research*, **128**, 585-594.
- Van der Kooi, C. J., Spaethe, J., & Leonhardt, S. D. (2022). Sensory ecology of plant-pollinator interactions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, **10**, 1202.
- Vasas, V., Hanley, D., Kevan, P. G., & Chittka, L. (2017). Multispectral images of flowers reveal the adaptive significance of using long-wavelength-sensitive receptors for edge detection in bees. *Journal of Comparative Physiology A*, **203**(4), 301-311.
- Vogel, S. (1963). *Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung: über Bau und Funktion der Osmophoren*. Akademie der Wissenschaften und der Literatur.
- Vogel, S. (1966). Parfümsammelnde bienen als bestäuber von orchidaceen und *Gloxinia*. *Österreichische Botanische Zeitschrift*, **113**(3/4), 302-361.
- Vogel, S., & Renner, S. S. (1990). The role of scent glands in pollination: on the structure and function of osmophores.
- Vudala, S. M., & Ribas, L. L. F. (2017). Seed storage and asymbiotic germination of *Hadrolaelia grandis* (Orchidaceae). *South African Journal of Botany*, **108**, 1-7.
- Waser, N. M., & Ollerton, J. (Eds.). (2006). *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization*. University of Chicago Press.
- Watteyn, C., Scaccabarozi, D., Muys, B., Reubens, B., Ackerman, JD, Otárola, MF, ... & Karremans, AP (2023). Doce como *Vanilla hartii*: Evidência de um mecanismo de polinização recompensador de néctar em flores de *Vanilla* (Orchidaceae). *Flora*, **303**, 152294.
- Watteyn, C., Scaccabarozi, D., Muys, B., Van Der Schueren, N., Van Meerbeek, K., Guizar Amador, M. F., ... & Karremans, A. P. (2022). Trick or treat? Pollinator attraction in *Vanilla pompona* (Orchidaceae). *Biotropica*, **54**(1), 268-274.
- Whitten, W. M., Neubig, K. M., & Williams, N. H. (2013). Generic and subtribal relationships in Neotropical Cymbidieae (Orchidaceae) based on matK/ycf1 plastid data. *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, **13**(3), 375-392.
- Whitten, W. M., Young, A. M., & Stern, D. L. (1993). Nonfloral sources of chemicals that attract male euglossine bees (Apidae: Euglossini). *Journal of Chemical Ecology*, **19**, 3017-3027.

Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York, 2016.

Williams, N. H., & Whitten, W. M. (1983). Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. *The Biological Bulletin*, **164**(3), 355-395.

## TABELAS

**Tabela 1.** Visitantes e polinizadores registrados em *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) em populações naturais em São Luís, no estado Maranhão, Brasil., nos anos de 2018 a 2023.

Família/Tribo/Espécie	Número de Visitas	Comportamento
<b>Apidae (CERATININI)</b>		
<i>Ceratina</i> sp	2	BN
<i>Epicharis</i> sp	1	BN*
<b>Apidae (EUGLOSSINI)</b>		
<i>Euglossa</i> sp (♀)	11	BN
<i>Euglossa amazonica</i> (Dressler, 1982) (♂)	1	BN
<i>Euglossa cordata</i> (Linnaeus, 1758) (♂)	3	BN/CP*
<i>Euglossa securigera</i> (Dressler, 1982) (♂)	6	BN/CP*
<i>Euglossa</i> sp (sex indet.)	11	BN
<i>Eulaema nigrata</i> (Lepeletier, 1841) (♂)	1	ED
<b>Apidae (MELIPONINI)</b>		
<i>Trigona fulviventrata</i> (Guérin-Méneville, 1844) (♀)	5	BN/CE
<b>Hesperiidae</b>		
<i>Saliana saladina catha</i> (Evans, 1955)	1	BN
Não identificado 1	1	AC

**Legenda:** Insetos do tipo visitante: entrou direto na flor na flor em buscar por néctar (BN); coletou perfume (CP); Acessou o cálcio de forma externa (CE); Com polinário (\*).

**Tabela 2.** Compostos voláteis encontrados nas flores de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) com base na análise de oito amostras. Os COVs são ordenados por área (%). IR = Índice de Retenção de Kovats; TR = Tempo de Retenção; SD = Desvio padrão.

	Compostos	RI	Abundância Relativa (% $\pm$ SD)
	<b>Alifáticos</b>		
1	Hexadecanal	1.817	0,18 $\pm$ 0,52
	<b>Benzenóides</b>		
2	Benzaldeído	959	2,73 $\pm$ 2,57
3	Limoneno	1.027	0,08 $\pm$ 0,23
4	Álcool benzílico	1.035	0,26 $\pm$ 0,52
5	Benzoato de metila	1.094	28,20 $\pm$ 22,50
6	Acetato de benzila	1.166	0,11 $\pm$ 0,24
7	Benzoato de etila	1.171	0,78 $\pm$ 1,29
8	Salicilato de Metila	1.195	55,00 $\pm$ 12,91
9	Acetato de 2-feniletila	1.259	0,67 $\pm$ 1,90
10	Benzoato <(3Z)-hexenil->	1.573	0,10 $\pm$ 0,28
11	Benzoato <hexil->	1.580	0,25 $\pm$ 0,70
12	Benzoato de benzila	1.767	0,46 $\pm$ 1,30
13	Álcool fenetílico	1.113	0,21 $\pm$ 0,45
	<b>Monoterpenos</b>		
14	Limoneno	1292	0,08 $\pm$ 0,23
15	Bergamal	1.058	0,31 $\pm$ 0,89
16	Nonanal	1.105	0,64 $\pm$ 1,32
17	Decanal	1.206	0,26 $\pm$ 0,74
18	Geranilacetona	1.454	0,74 $\pm$ 1,16
19	Farneseno <(E,E)-, alfa->	1.509	0,47 $\pm$ 1,04
20	Farnesoato de metila <10,11-diol>	1.788	2,17 $\pm$ 5,88

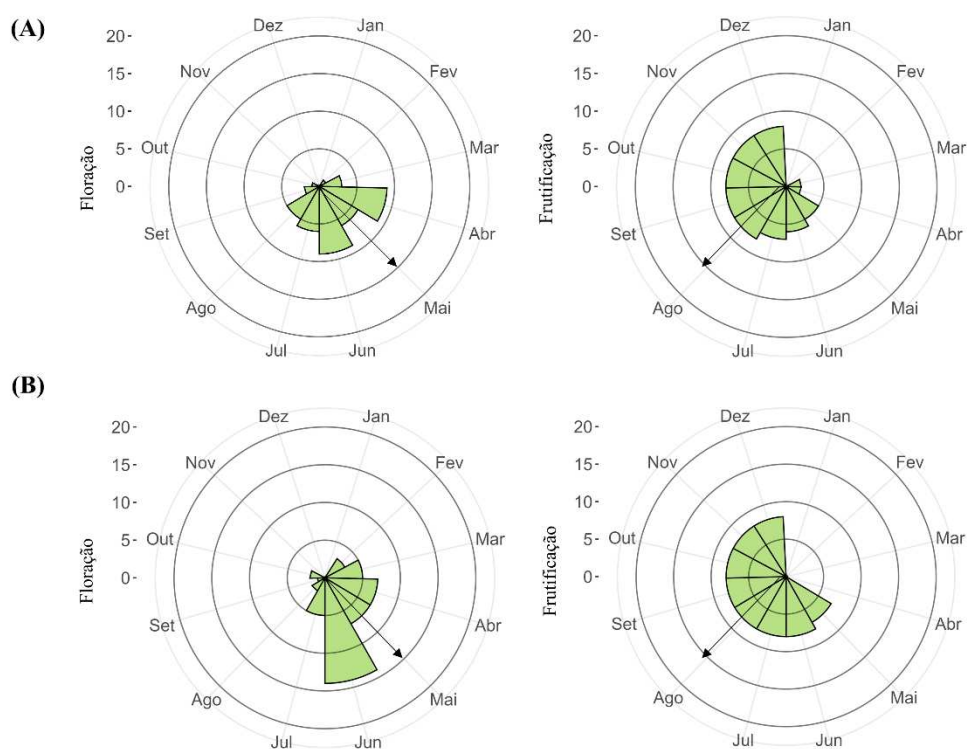
21	Acetato de 4-metoxifeniletila	1.511	$1,37 \pm 3,87$
<b>Sesquiterpenos</b>			
22	Elemene <delta->	1.335	$0,02 \pm 0,07$
23	Bourboneno <beta->	1.385	$0,13 \pm 0,37$
	Copaene <beta->	1.430	$0,12 \pm 0,33$
24	Elemene <beta->	1.393	$0,16 \pm 0,45$
25	Muurolo-4(14),5-dieno <cis->	1.464	$0,06 \pm 0,18$
26	Amorfenos <gama->	1.482	$0,61 \pm 1,26$
27	Nerolidol <(E)->	1.565	$0,30 \pm 0,84$
<b>Derivados não terpenos</b>			
28	6-metil-5-hepten-2-ona	988	$1,61 \pm 4,56$

## FIGURAS

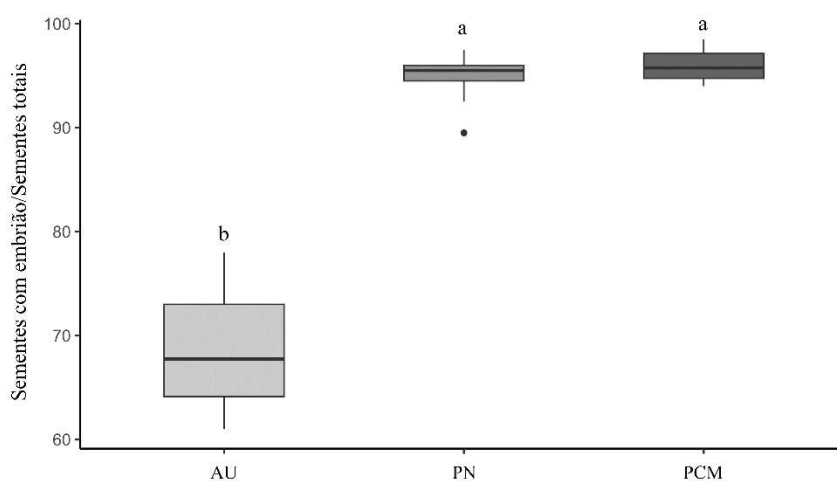


**Figura.1.** Hábito epífita de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) (A); Inflorescência racemosa com flores de labelo vináceo vista frontal (B); Lb: Labelo, Po: Polinário; Inflorescência em vista lateral, evidenciando o formato tubular da flor (C); Cc: cálcar; Fruto imaturo capsular (D).

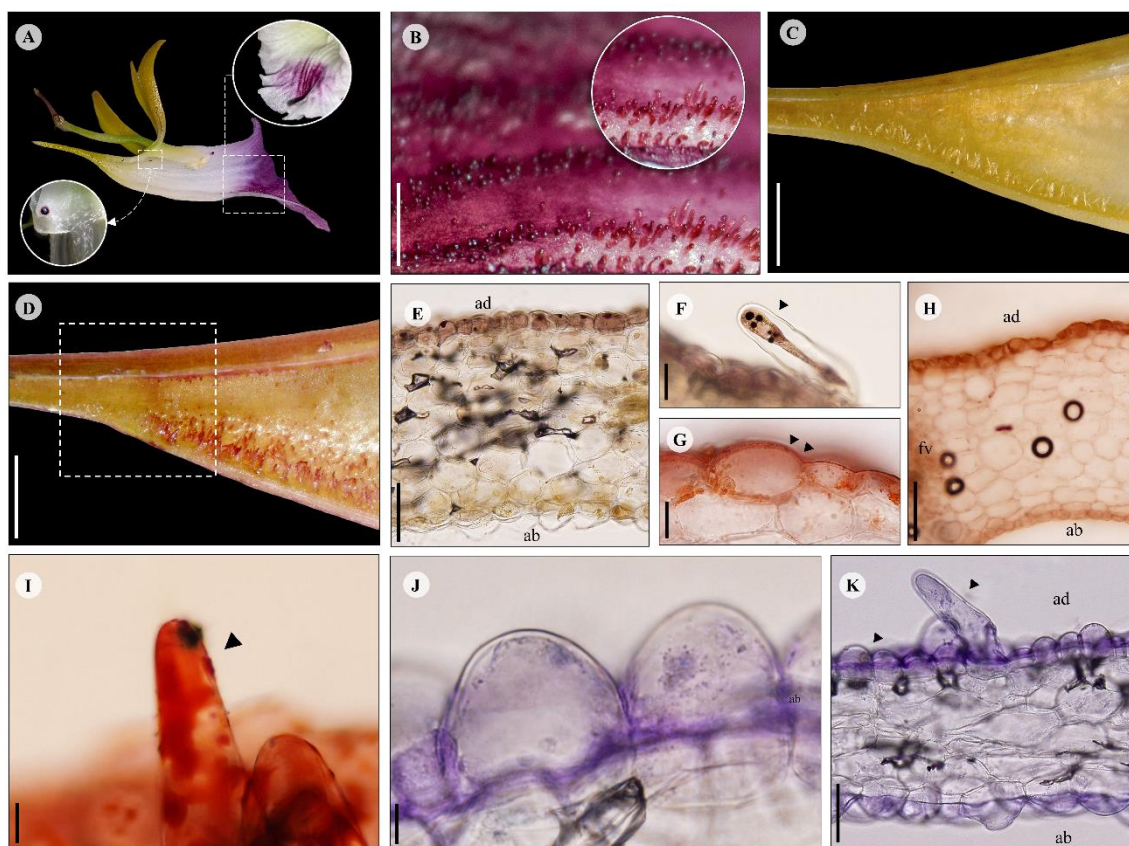
; Fruto imaturo capsular.



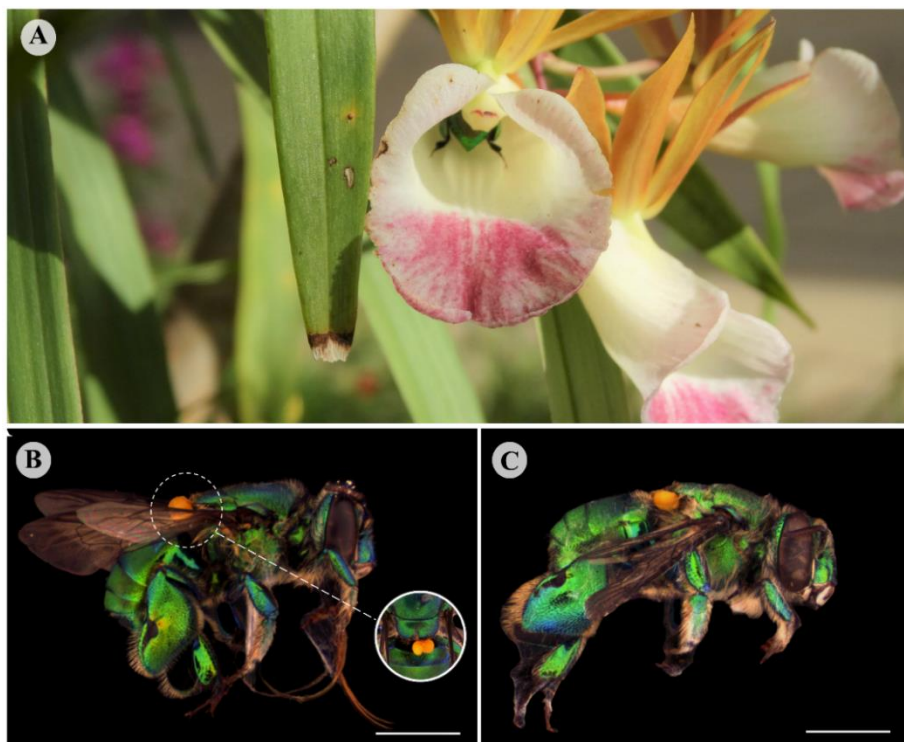
**Figura. 2.** Fenologia reprodutiva de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) de janeiro de 2021 a dezembro de 2022 (dois anos seguidos) em São Luís, Maranhão, Brasil. (A) fenofases em 2021; (B) fenofases em 2022. As setas indicam a data média do ângulo das fenofases.



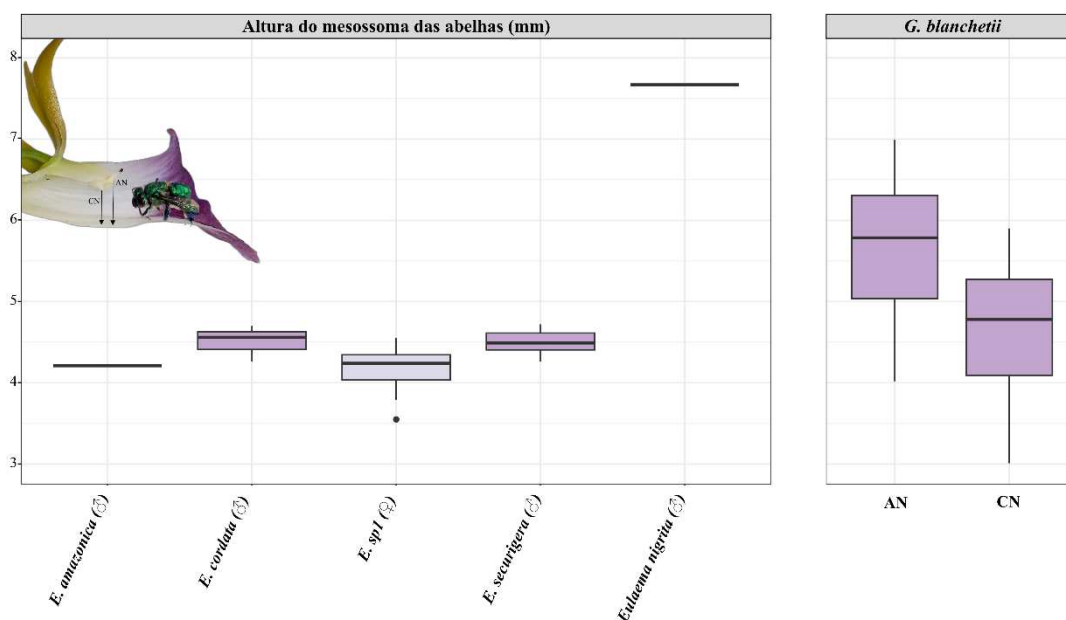
**Figura. 3.** Viabilidade das sementes de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae), tendo no eixo x os tratamentos de AU (Autopolinização Manual, n=20), PN (Polinização Natural, n=20), PCM (Polinização Cruzada Manual, n=20) e no eixo y temos os dados percentuais. Medianas mostradas (linha horizontal central) com primeiro e terceiro quartis, com limites de valores máximos. Letras diferentes indicam diferenças significativas de acordo com ao teste de Dunn em  $p < 0,05$ .



**Figura. 4.** Corte longitudinal da flor de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae). (sem coloração) (A); Testes positivo com vermelho neutro no labelo, evidenciando os tricomas labelares (osmóforos). Detalhe do cálcar com tricomas com coloração translúcida e amarelada (sem coloração) (C). Após o reagente os únicos tricomas que não coraram foram os do cálcar (D). Seções cortadas à mão através do labelo de *G. blanchetii*: epiderme unisseriada com Lugol positivo indicando que o amido está presente somente na epiderme da superfície adaxial (E) e alguns grãos nos tricomas (F). Testes positivo de Sudan IV mostrando gotas de óleo nas células epidérmicas cubóides (G), com as células do parênquima cubóides e isodiamétricas não reagentes, (H) e com tricomas unicelulares com conteúdo lipofílico (I). O reagente Nadi testou positivo para epiderme adaxial (J) e para os tricomas unicelulares evidenciaram a presença também de terpenos no conteúdo interno (K). Barras de escala: A= 4 cm; B-C-D= 1cm; E,H,K= 100 µm; F,G,I,J= 20 µm.



**Figura.5.** Abelha *Euglossa* visitando flor de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) em busca de néctar. Observar o alinhamento entre a região dorsal da abelha e a coluna (A). Machos de *Euglossa* capturados com polinário de *G. blanchetii*: *Euglossa cordata*, evidenciando o polinário na região apical do escutelo (B). *Euglossa securigera* com polinário aderido também na região apical do escutelo (C).



**Figura 6.** Comparação das alturas de mesossoma (mm) de *Euglossa* spp. com as características morfológicas das flores “An” (mm) e “Cn” (mm) de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae). Os potenciais polinizadores são espécies de *Euglossa* com uma altura de mesossoma que se encaixa na lacuna “An-Cn” e uma largura de mesossoma menor que a largura do tubo do labelo. Os polinizadores efetivos de *Euglossa* são mostradas em roxo, com uma fotografia de *Euglossa securigera* com encaixe para contato com a coluna em *G. blanchetii*. Barra escala B-C: 5mm.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

### TABELAS

**Tabelas. S1.** Resumo das observações de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) realizada em campo nas duas áreas de estudo em São Luís, Maranhão, Brasil.

Espécie	Data	Duração	Localização	Horas
<i>G. blanchetii</i>	23-25 Jun 2018	07h00–12h00	UFMA	15h
	01-15 Jul 2018	07h00–12h00	UFMA	75h
	03-05 Ago 2018	07h00–12h00	UFMA	15h
	03-09 Abr 2019	07h00–12h00	UFMA	35h
	01-05 Mai 2019	13h00–17h00	UFMA	20h
	23-25 Fev 2021	07h00–12h00	APA ITAPIRACÓ	15h
	13-15 Mai 2022	06h00–17h00	UFMA	30h
	06-08 Jun 2022	06h00–17h00	UFMA	30h
	10-24 Jul 2022	06h00–17h00	UFMA	150h
	06-08 Mar 2023	06h00–17h00	UFMA	30h
	13-17 Abr 2023	06h00–17h00	UFMA	50h
	09-13 Mai 2023	06h00–17h00	UFMA	50h
Total horas:				515 horas

\*UFMA: Universidade Federal do Maranhão; APA Itapiracó: Área de Proteção Ambiental do Itapiracó.

**Tabela. S2.** Análise estatística circular e testes ( $r$  e  $p$ ) para ocorrência de sazonalidade das fenofases reprodutivas de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) em populações no Maranhão, Brasil.

	Fenofases	Data média (mês)	Ângulo médio do vetor	Comprimento do vetor médio ( $r$ )	Desvio padrão angular	Teste de uniformidade de Rayleigh ( $p$ )
2021	Floração	Mai	140.02°	0.61	56.60°	<0.05
	Frutificação	Ago	233.91°	0.37	80.23°	<0.05
2022	Floração	Mai	128.87°	0.61	56.48°	<0.05
	Frutificação	Ago	227.04°	0.42	74.51°	<0.05

**Tabela S3.** Resultado da formação de frutos de *Galendra blanchetii* (Orchidaceae) de acordo com os tratamentos experimentais e em condições naturais, em plantas de dois locais de estudo em São Luís, no estado do Maranhão, Brasil.

Tratamento	Número de flores	Conjunto de frutos (%)	Viabilidade do embrião (%)
2021			
Esmasculação	30	—	—
Autopolinização espontânea	30	—	—
Polinização natural	42	8 (19,04%)	—
2022			
Autopolinização	30	30 (100%)	68,32% (6.000)
Polinização cruzada	30	30 (100%)	94,22% (6.000)
Polinização natural	46	8 (17,39%)	95.75% (1.600)

**Tabela S4.** Medidas morfológicas de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) em populações de São Luís, Maranhão, Brasil

<i>G. blanchetii</i>						
Sépala		Pétalas	Labelo	Cálcara	Coluna	Polinário
Dorsal	Lateral					
25–26×	25–27 ×	21–26.9	56–68×	10.07-	11–12 x	1.4–1.5 ×
5.1–5.5mm	5.2–5.3 mm	× 5.3–5.5 mm	13-15.7 mm	13.87mm	5-5.2 mm	1.6–1.7 mm

**Tabela S5.** Análise histoquímica das flores de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae).

Teste	Composto alvo	Referência	Resultado		
			LB <sub>ad</sub>	LB <sub>ab</sub>	CC
Vermelho de rutênio	Pectina/Mucilagem	Gregory e Baas, 1989.	—	—	—
Reagente lugol	Amido	Jensen 1962.	+	—	—
Sudan IV	Lipídeos totais	Pearse, 1980.	+	+	—
Reagente NADI	Terpenos	David e Carde, 1964	+	+	—
Azul brilhante de Coomassie	Proteínas	Fisher 1968	—	—	—
		Feder e			
Ácido periódico de Schiff (PAS)	Polissacarídeos (insolúveis)	O'Brien, 1968	—	—	—
Cloreto férrico	Compostos fenólicos	Johansen, 1940	—	—	—

(+) reação positiva; (-) reação negativa.

**Tabela S6.** Porcentagem de abelhas *Euglossa* observadas (incluindo as não coletadas) com relação ao frequência de busca por néctar ou fragrância observadas em *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) em São Luís, Maranhão, Brasil.

Comportamento	<i>Euglossa</i> spp. (macho)	<i>Euglossa</i> spp. (fêmea)
	(N = 19)	(N = 14)
Buscar fragrância	3 (15,78%)	-
Buscar nectar	16 (84,22%)	14 (100%)

### Tabelas

S7.

Mensurações realizadas em flores de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) (N=30). AN: Altura do labelo até a região média da antera; CN: Altura do labelo até a aba rostela; LT: Largura do tubo floral e CC: Comprimento do cálcar.

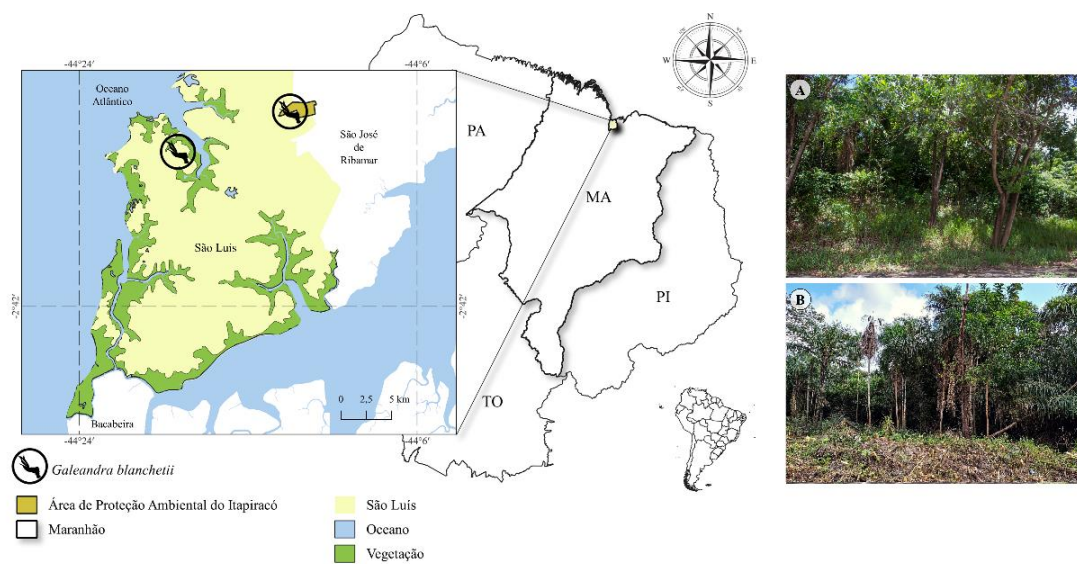
Espécie	Medidas			
	AN	CN	LT	CC
<i>G. blanchetii</i>	5.6 ± 0.86	4.6 ± 0.81	7.4 ± 1.40	12.9 ± 1.77

**Tabela S8.** Mensurações realizadas nas abelhas coletadas em flores de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae), em populações naturais no Maranhão, Brasil.

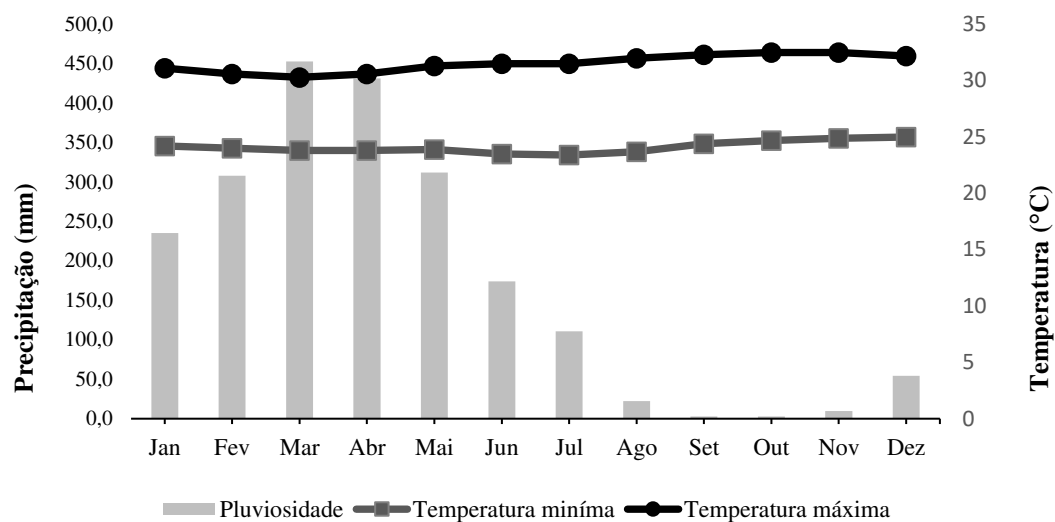
	Altura do tórax	Distância intertegular	Comprimento da glossa
	(mean ± SD)	(mean ± SD)	(mean ± SD)
<i>Euglossa sp1</i> (♀)	4.1 ± 0.29	4.4 ± 0.34	7.4 ± 0.59
<i>Euglossa amazonica</i>	4,21	4,29	8,68
<i>Euglossa cordata</i>	4.5 ± 0.22	4.6 ± 0.19	7.6 ± 0.78
<i>Euglossa securigera</i>	4.4 ± 0.16	4.6 ± 0.14	8.3 ± 1.06

<i>Eulaema nigríta</i>	7.6	7.2	11.23
<i>Ceratina</i>	1.9	2.1	3.2
<i>Trigona</i>	2.5	2.0	1.8

## FIGURAS



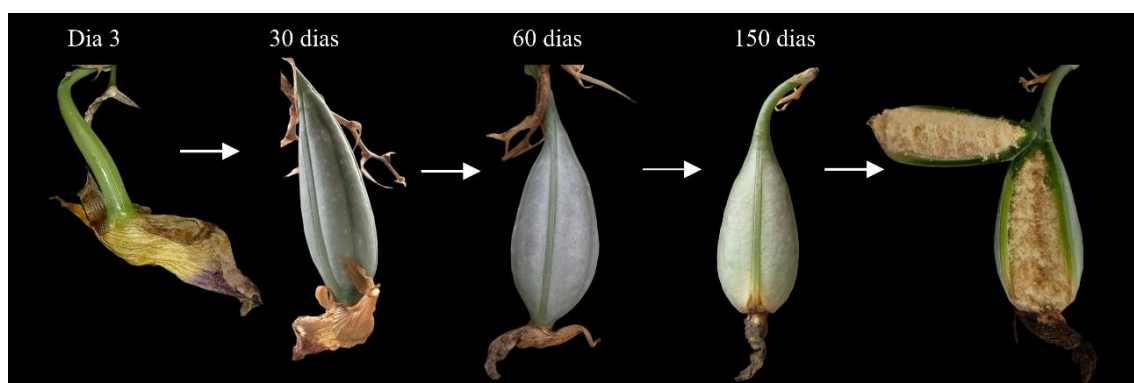
**Figura.S1.** Mapa do Estado do Maranhão com ampliação para o município de São Luís, onde foi realizado o estudo. Com a figura (A) mostrando o fragmento da Universidade Federal do Maranhão e as áreas onde foram feitas as observações de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) e (B) representando o fragmento da Área de Proteção Ambiental do Itaipiracó.



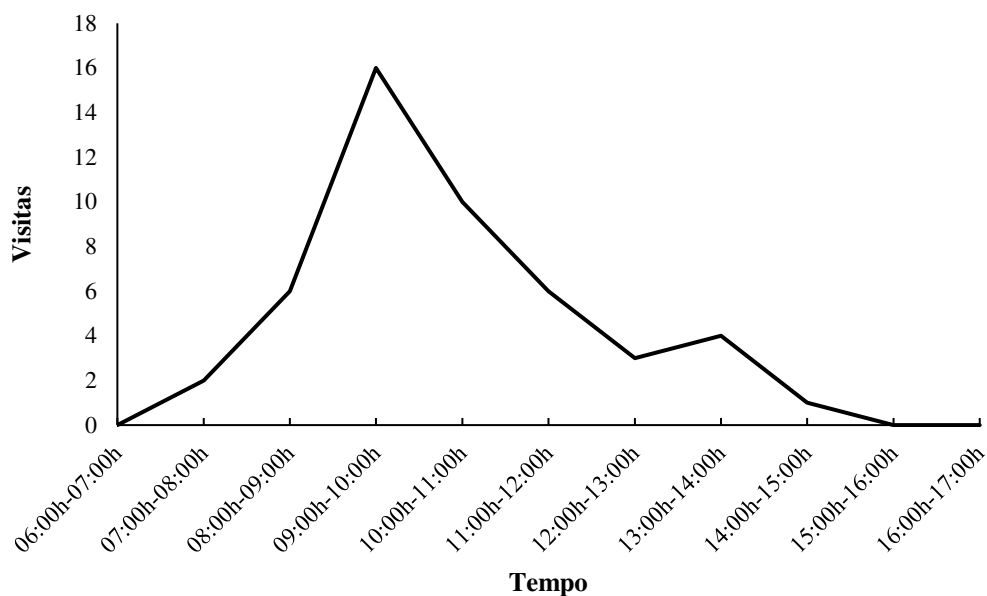
**Figura.S2.** Normais climáticas para precipitação e temperatura em São Luís, MA durante os anos de 1991 e 2020 (Estação convencional, COD: 82280, INMET).



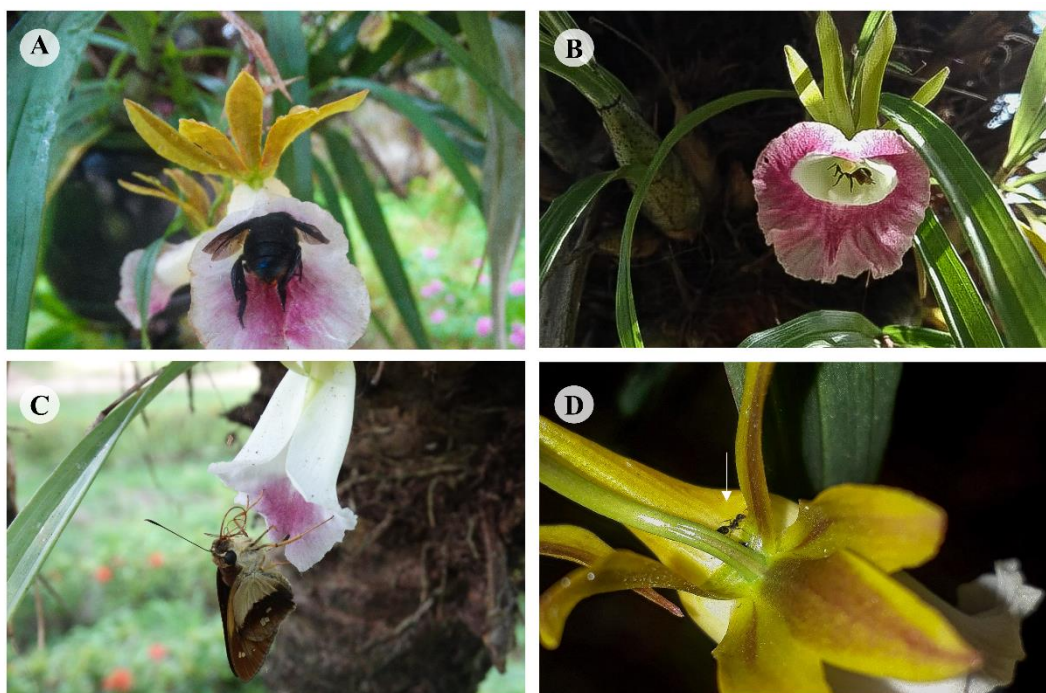
**Figura. S3.** Flor inteira de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) (A); Corte longitudinal da flor evidenciando as características florais medidas: CC: comprimento do cálcar, AL: Altura do labelo, CN: altura do labelo até a aba rosetelar, AN: altura do labelo até a região média da antera.



**Figura.S4.** Desenvolvimento da cápsula de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) após a polinização manual (dia 3) até a deiscência (150 dias);



**Figura. S5.** Frequência total de visitação e período de visitação nas flores de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) (época de floração 2018 a 2023) em fragmentos de floresta amazônica, nordeste do Brasil.



**Figura.S6.** Abelha *Eulaema nigrita* em busca de néctar em flor de *Galeandra blanchetii* (Orchidaceae) (A); Abelha *Trigona* saindo da flor tubular (B); Lepidoptera *Saliana saladina catha* realizando uma visita (D); Formiga *Crematogaster* na inserção de sépalas e pétalas (E).

## MATERIAL SUPLEMENTAR DE VÍDEIO

**Vídeo S1:** Visitas de fêmea de *Euglossa* em busca de néctar em flor de *Galeandra blanchetii* (1080 pixels).

Link:

<https://drive.google.com/file/d/1PAFmC6PMIWUSo6IkbtodZEnUnWD8sQfA/view>

**Vídeo S2:** Macho de *Euglossa* coletando fragrância em *Galeandra blanchetii*. (1080 pixels).

Link:

<https://drive.google.com/file/d/1z377l4naqI8tZvFuaeu04uukVVN6j3sI/view?usp=sharing>

**Vídeo S3:** Macho em busca de néctar em flor de *Galeandra blanchetii*:

Link: <https://drive.google.com/file/d/1SLyvOptC3gbYDlQx6eIvN5R6HjYV6VJt/view>

**Vídeo S4:** Visitas de *Trigona* em busca de néctar em flor de *Galeandra blanchetii* (1080 pixels)

Link: <https://drive.google.com/file/d/1Kf8SIJtulbZB49nuOX0ZYycFaP7k6tFO/view?usp=sharing>

**Vídeo S5:** Visitas de *Epicharis* em busca de néctar em flor de *Galeandra blanchetii* (1080 pixels, Resolução Baixa)

Link: <https://drive.google.com/file/d/1SFy4jvZSPLzfmpVb7RYiXaOCGSLVagkk/view?usp=sharing>

## ANEXO – NORMAS DE SUBMISSÃO PARA O PERÍODICO PLANT BIOLOGY

### AIM AND SCOPE

Plant Biology is an international journal of broad scope bringing together the different subdisciplines, such as physiology, molecular biology, cell biology, development, genetics, systematics, ecology, evolution, ecophysiology, plant-microbe interactions, and mycology. Plant Biology publishes original problem-oriented full-length research papers, short research papers, and review articles. Discussion of hot topics and provocative opinion articles are published under the heading Acute Views. From a multidisciplinary perspective, Plant Biology will provide a platform for publication, information and debate, encompassing all areas which fall within the scope of plant science. Plant Biology does not publish papers which focus on plant breeding, medicinal plants, or agricultural practices. A rigorous, independent peer-review system will guarantee that all work

appearing in *Plant Biology* will be of the highest standard and of great significance to plant biologists. In addition, the journal has a rapid review process, with online manuscript submission assisting to streamline the process. *Plant Biology* provides a platform for publication of information and debate, encompassing all areas of plant science.

#### EDITORIAL POLICY

*Plant Biology* publishes research results from all fields of plant science. Manuscripts must be of general interest, not only addressed to a specialized readership. The journal encourages publications with an interdisciplinary approach. *Plant Biology* accepts 1. Problem-oriented original research articles (maximum 9000 words) 2. Problem-oriented short research articles (maximum five typeset pages) 3. Concise review articles 4. Viewpoints, i.e., comments on actual problems and provocative opinion articles. 5. Short review articles (4,000 words excluding references and figures). Purely descriptive papers will not be accepted. The Editors welcome contributions from all over the world.

#### DATA SHARING AND DATA ACCESSIBILITY

*Plant Biology* encourages authors to share the data and other artefacts supporting the results in the paper by archiving them in an appropriate public repository. Authors should include a data accessibility statement, including a link to the repository they have used, in order that this statement can be published alongside their paper.

#### SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Please submit your manuscript online at ScholarOne Manuscripts. To submit a manuscript through ScholarOne Manuscripts, please follow these instructions: 1. If you do not yet have an account, go to <http://mc.manuscriptcentral.com/plabio> and click on 'Create Account'. You will then be sent a password by e-mail. If you already have an account, enter your user ID and password and click on 'Log In'. (Note: if necessary you can change your password under 'Edit My Account'.) 2. On the welcome page, click on 'Corresponding Author Center'. 3. You then reach the 'Author Center Dashboard', click on the star icon for manuscript submission. 4. Follow the steps 1-7 until manuscript submission is completed. The main document including title, abstract, key words (MS Word file), tables (MS Word files) and figures (\*.eps, \*.tif or \*.jpg files) are loaded onto the system as individual files. The text should be written double spaced and with line numbering. (Note: you may also interrupt the online submission and continue at a later time.) Authors are encouraged to provide additional information as Supporting Information that will be accessible online. 5. Fast-Track Publication: *Plant Biology* offers

special handling of manuscripts that have been rejected from very high-level journals. Authors are encouraged to enclose the original manuscript, the reviews plus the comments from the editor, and the revised manuscript of previously reviewed manuscripts to expedite their handling as your manuscript may be accepted based on the previous reviews. Please also include a letter with a point by point response to the concerns raised by the reviewer(s). You will receive a final decision from the Managing Editor within a few days of submitting manuscripts with reviews. 6. Authors should address the following points in their cover letter. 1. What are the aims and hypothesis of their paper?; 2. What new achievements or innovations do they present?; 3. What is the general significance of their paper and why is it timely? 7. Submission of your manuscript will be confirmed by an e-mail that will give you the 'Manuscript ID Number'. Please refer to this number in all correspondence with the editorial office. With your submission, you guarantee that all co-authors agree with the submission of the manuscript. Should you encounter difficulties submitting a manuscript to ScholarOne Manuscripts, please contact the editorial office by e-mail at [annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de](mailto:annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de). Help is also available on the introductory page of ScholarOne Manuscripts in the form of an 'Online User's Guide'. To access the guide, click on 'Get Help Now' in the top right-hand corner.

#### ONLINE PRODUCTION TRACKING IS NOW AVAILABLE FOR YOUR ARTICLE THROUGH WILEY'S AUTHOR SERVICES

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

#### CONDITIONS FOR PUBLICATION:

Research articles may be submitted that have not been published previously, even as a summary. Concise presentation is required. Although the non-specialist reader should be kept in mind when abstracts, introductions and discussions are written, lengthy review type introductions and speculative discussions should be avoided. Experimental methods should be explained in detail except for standard procedures. Diffuse and repetitive style

should be avoided. Illustrations and tables should be limited to the truly essential material. Plant Biology preferentially publishes short research articles (five typeset pages maximum) that will be reviewed with high priority. Concise review articles that synthesize the state of the art in an original way are highly desirable for this journal. Viewpoint contributions should contain brief comments on an actual problem (2-3 typeset pages). Short review articles should be 4,000 words in length excluding references and figures.

#### CROSSCHECK FOR PLAGIARISM:

All submissions will be run through CrossCheck to identify any plagiarism. If an author is found to have plagiarized all or parts of his or work, the author's institute will be notified of the breach of scientific conduct.

#### ARTICLE PREPARATION SUPPORT:

Wiley Editing Services offers expert help with English Language Editing, as well as translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design – so you can submit your manuscript with confidence. Also, check out our resources for Preparing Your Article for general guidance about writing and preparing your manuscript.

#### LENGTH OF PAPERS:

Papers should not exceed 8 printed pages. One typeset page in the journal (without figures and tables, with about 3 subheads and paragraphs) usually contains roughly 6200 characters. The number of figures plus tables should not exceed 9 (usually not more than 4 sub-figures) and should be factored into the page count, as should the reference list. Appendices will be published as Supporting Information rather than in the main text.

#### REFERENCES:

About 40 to 50 references usually fill one printed page.

#### SUPPORTING INFORMATION:

Authors are encouraged to provide additional materials as Supporting Information that will be accessible online. Please identify the Supporting Information as such and include appropriate figure and table captions at the end of the manuscript. Page Charges: Original research papers longer than the guidelines given above when in proof are subject to a page charge at a rate of €125 per page above the 8-page limit (first 8 pages are free of charge). An invoice will be sent to authors for these charges upon publication of their article in an issue. Review articles are excluded from this rule. Waiving of page charge will not be accepted.

**ARRANGEMENT:**

Research articles Title page: The first page of each paper should indicate: The title, the authors' names and affiliations, a short title for use as running head, the name, address, e-mail address, phone and fax number of the corresponding author, 3 to 7 keywords, and a one-sentence summary of the key message of the paper. Abbreviation: List with abbreviations where appropriate.

**ABSTRACT:**

The abstract must be usable as a stand-alone document and must not exceed 250 words. For all papers submitted from 2016 onwards, a structured abstract is required using four bullet points to indicate (1) the research conducted including its rationale, (2) central methods applied, (3) key results, and (4) main conclusions including key points of discussion. It should not contain citations of other papers. For reviews, bullet points do not apply. The following sections cover the usual contents: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References (see below), Tables (see below), Figure legends (see below), Illustrations (see below). In Materials and Methods, Results and Discussion subheadings are possible. If an author chooses to combine sections Results and Discussion, an additional section Conclusions can be added, but this must be brief. Concise review articles Choose subheadings as appropriate but do not use a numbering system. Title page, Key words, Abstract and other items as for full length papers.

**TABLES:**

Tables must be serially numbered in Arabic numerals and each must carry a brief descriptive heading. Tables reproduced from other publications must state their precise source. Only signs that can be typeset should be used in the tables and legends. Please provide Tables in Word and include them at the end of the manuscript after the References, each on a separate page. Refrain from using both tables and graphs to demonstrate the same results.

**FIGURES AND GRAPHICS ELECTRONIC ARTWORK:**

It is essential that all artwork is provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Post-script (EPS) format and bitmap files (e.g. half-tones) in Tagged Image Format (TIFF). Detailed information on our digital illustration standards is available at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>. Please do not embed any tables and/or figures in the text document. If you should encounter difficulties upon submitting figures and graphics, please contact the editorial office by e-

mail under [annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de](mailto:annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de) or by telephone under ++49/(0)761/203-8300.

## REFERENCES

The list of references must include all (but no additional) references quoted. A maximum of 100 references are allowed. Arrange references alphabetically according to author name, not chronologically. The name of the journals containing the cited papers should be given in full. Town/city and country names should be provided for non-journal refs. Each article reference should be given as in the following example: Alfano J.R., Collmer A. (2004) Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defence. *Annual Review Phytopathology*, 42, 385–414. Books or other non-serial publications which are quoted in the references must be cited as follows: Gage J.D., Tyler P.A. (1991) *Deep-sea Biology: A Natural History of Organisms at the Deep-sea Floor*. Cambridge University Press, Cambridge, UK: 504 pp. Lester R.N., Hasan S.M.Z. (1991) Origin and domestication of the brinjal eggplant, *Solanum melongena*, from *S. incanum*, in Africa and Asia. In: Hawkes J.G., Lester R.N., Nee M., Estrada N. (Eds), *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew; London, UK: 369-387. Articles not yet published may only be cited if they have definitely been accepted for publication. They must be denoted by the expression 'in press'. We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting. Data Citations In recognition of the significance of data as an output of research effort, Wiley has endorsed the FORCE11 Data Citation Principles and is implementing a mandatory data citation policy. Plant Biology requires data to be cited in the same way as article, book, and web citations and authors are required to include data citations as part of their reference list. Data citation is appropriate for data held within institutional, subject focused, or more general data repositories. It is not intended to take the place of community standards such as in-line citation of GenBank accession codes. When citing or making claims based on data, authors must refer to the data at the relevant place in the manuscript text and in addition provide a formal citation in the reference list. We recommend the format proposed by the Joint Declaration of Data Citation Principles: [dataset] Authors; Year; Dataset title; Data repository or archive; Version (if any); Persistent identifier (e.g. DOI) Graphical abstracts Plant Biology is excited to offer Graphical Abstracts to authors to introduce and expand on their research in a more visual and dynamic way. Upon acceptance of the manuscript, the authors should be prepared to submit a self-explanatory graphical abstract to the editorial office and to

deposit the original data in a data repository or archive and provide the persistent identifier (eg DOI). This is an essential requirement before the manuscript can be forwarded to production.

o Instructions on how to submit a Graphical Abstract: Immediately after acceptance of a manuscript, the authors should:

- prepare a .doc file which includes: - the article title; - the authors' names (corresponding author indicated by an asterisk); and - a 1-sentence summary (maximum 200 characters) summarizing the key findings presented in the paper.
- Submit a figure that: - best represents the scope of the paper; o is in .tiff or .eps file formats; o is within the dimensions of 50mm x 60mm; and o has a minimum resolution of 300 dpi.
- Avoid graphs and other figures with fine detail due to the relatively small size of this image.
- Entitle the .doc file and figure file 'Graphical Abstract' and upload to ScholarOne Manuscript (S1M) during the manuscript submission process. Without this information the manuscript will not be forwarded to production.

Units Plant Biology will follow the system of SI units (Système International d'Unités). Within a given paper chosen units must be uniform. Abbreviation Note that common abbreviations can be used without explanation. Others must be explained. In case of doubt always give an explanation. Use FW = fresh weight and DW = dry weight.

Scientific Names Scientific names should be cited in their complete form when first mentioned with genus - species - authority - cultivar (cv.) or subspecies (ssp.) where appropriate. Latin names should be underlined or typed in italics. Subsequently the generic names should be abbreviated, but avoid confusion: e.g. use *A. comosus* if the only genus with a first letter A in your paper is *Ananas*; but use unambiguous abbreviations if you have more than one genus with the same first letter, e.g. *Ananas comosus*, *Aechmea nudicaulis* = *A. comosus*, *Ae. nudicaulis*, etc. Common names of organisms must be accompanied by the correct scientific name when first mentioned. For rare or exotic genera it may be useful to give the name of the family and/or higher taxon in brackets when first mentioned.

Copyright Authors will be required to assign copyright of their paper to the German Society for Plant Sciences, Royal Botanical Society of the Netherlands and Wiley. Copyright assignment is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright should tick relevant box on the form). The publishers will not refuse any reasonable request by authors for permission to reproduce their contributions to the journal.

Reprints A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. The corresponding author will

be asked to provide up to seven email addresses for early distribution of a PDF offprint by the publisher. Paper offprints of the printed published article may be purchased if ordered via the method stipulated on the instructions that will accompany the proofs. Printed offprints are posted to the correspondence address given for the paper unless a different address is specified when ordered. Note that it is not uncommon for the printed offprints to take up to 8 weeks to arrive after publication of the journal. For further information please contact C.O.S. Printers PTe Ltd, 9 Kian Teck Crescent, Singapore 628875; Fax: +65 6265 9074; E-mail: [offprint@cosprinters.com](mailto:offprint@cosprinters.com). Author material archive policy Please note that unless specifically requested, the Publisher will dispose of all hardcopy or electronic material submitted 2 months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible after the final decision about publication. Production You will receive a proof of your article approximately 4 weeks after acceptance. The proof will contain instructions on how to return corrections and answers to the queries listed at the end of the proof. Article Promotion Support for Plant Biology Authors Wiley Editing Services offers professional video, design, and writing services to create shareable video abstracts, infographics, conference posters, lay summaries, and research news stories for your research – so you can help your research get the attention it deserves.

**As normas completas para publicação podem ser acessadas em:**

<<https://www.elsevier.com/journals/current-plant-biology/2214-6628/guide-for-authors>>