Biologia reprodutiva de *Vanilla bahiana* Hoehne (Orchidaceae)

Ariane Mendonça dos Anjos[1]
Felipe Fajardo Villela Antolin Barberena[2]
Camila Magalhães Pigozzo[1]

Resumo: Estudos sobre a ecologia da polinização de espécies do gênero *Vanilla* Mill. são dificultados por diversas características florais e redução populacional. A biologia floral e reprodutiva de *V. bahiana* Hoehne, uma espécie endêmica do Brasil, foi estudada ao longo de duas épocas de floração (2014/2015 e 2015/2016) em uma área de restinga na zona tropical. *Vanilla bahiana* é autocompatível, mas depende de polinizadores para a reprodução. *Eulaema* sp. é o polinizador efetivo de *V. bahiana*, porém com baixa taxa de visitação. Cada racemo produz até 31 flores inodoras, com duração de poucas horas e antese floral de madrugada.

Palavras-chave: Biologia floral, conservação, sistema reprodutivo

Abstract: *(Reproductive Biology of Vanilla bahiana Hoehne (Orchidaceae))*. Studies on pollination ecology of *Vanilla* Mill. species are hampered by many floral features and population depletion. Floral and reproductive biology was studied in *V. bahiana* Hoehne, a Brazilian endemic species, throughout two flowering seasons (2014/2015 and 2015/2016) in a restinga area in the tropical zone. *Vanilla bahiana* is a self-compatible species, but depends on pollinators for reproduction. *Eulaema* sp. is the effective pollinator, but *V. bahiana* has a low visitation rate. Each raceme produces up to 31 odorless flowers that last a few hours, with anthesis at dawn.

Key words: breeding system, conservation, floral biology

Introdução

Vanilla Mill. é provavelmente o gênero mais conhecido de Orchidaceae no mundo devido à importância econômica de *Vanilla pompona* Schiede, e principalmente *Vanilla* × *tahitensis* J.W. Moore e *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrew (Correll 1953; Ramachandra & Ravishankar 2000; Lubinsky *et al.* 2008). Os frutos destes três táxons são fontes naturais de vanilina, o principal constituinte da baunilha, com um longo histórico de uso em diferentes culinárias, além de aplicações medicinais (Childers & Cibes 1948; Bythrow 2005; Havkin-Frenkel & Belanger 2011).

[1]*Centro Universitário Jorge Amado. Av. Luís Viana 6775, Paralela, CEP 41745-130, Salvador, BA, Brasil.*
[2]*Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia. Rua Barão de Jeremoabo s/n, Ondina, CEP 40170-115, Salvador, BA, Brasil.*

O gênero é composto por 105 espécies, com a maior diversidade concentrada nos biomas brasileiros (Pansarin 2010; Chase *et al.* 2015). *Vanilla* é monofilético e está dividido nos subgêneros *Vanilla* e *Xanata*; este último compreende ca. 90% das espécies, posicionadas em 18 morfogrupos informais (Soto Arenas & Cribb 2010; Pansarin *et al.* 2012). O grupo *V. planifolia* é o maior, com 16 táxons, e inclui *V. planifolia* e *V.* × *tahitensis* (Soto Arenas & Cribb 2010). De acordo com esses autores, o grupo é caracterizado pelas flores esverdeadas, com labelo côncavo e pequenas papilas na região apical; as espécies sul-americanas também apresentam um calo penicilado na porção mediana do labelo.

A taxonomia complexa de *Vanilla* tem sido observada por muitos autores (ex: Rolfe 1896; Portères 1954; Soto Arenas 2003) e estudos sobre biologia reprodutiva têm sido considerados uma importante ferramenta em direção a uma revisão taxonômica e para uma melhor compreensão da diversidade genética populacional (Gigant *et al.* 2011). Entretanto, estudos sobre a ecologia da polinização de espécies brasileiras de *Vanilla* são incipientes e apenas um incluiu espécies do grupo *V. planifolia* (Reis *et al.* 2011; Pansarin & Pansarin 2014; Pansarin *et al.* 2014). Essa situação é explicada principalmente pela floração irregular, flores de curta duração, baixa taxa de visitação de polinizadores e redução populacional de várias espécies de *Vanilla* (Soto Arenas 2003; Soto Arenas & Cribb 2010; Reis *et al.* 2011).

Os polinizadores da maioria das espécies do grupo *V. planifolia* permanecem desconhecidos. É o caso de *V. bahiana* Hoehne, uma espécie endêmica do Brasil e filogeneticamente próxima de *V. planifolia* (Bouetard *et al.* 2010; Householder *et al.* 2010; Gigant *et al.* 2011; BFG 2015). O presente estudo, portanto, objetivou caracterizar a biologia reprodutiva de *V. bahiana* por meio da investigação da identidade do polinizador e da descrição da fenologia, morfologia floral e sistema de reprodução da espécie em uma área de restinga na zona tropical do Brasil.

Material e Métodos

Área de estudo

Os estudos de biologia floral e reprodutiva de *V. bahiana* foram realizados na Área de Proteção Ambiental das Lagoas e Dunas do Abaeté (APA Lagoas e Dunas do Abaeté), município de Salvador (12° 55'S, 38° 19'W), no estado da Bahia, Nordeste do Brasil. O clima local é "Af" (tropical úmido, sem estação seca), de acordo com a classificação de Köppen (Köppen 1948). A temperatura média anual é de 25,3 °C e a precipitação anual é de 2.100 mm, com umidade relativa do ar acima de 70-80% durante a maior parte do ano (Viana & Kleinert 2005). A população de *V. bahiana* estudada ocorre em restinga arbórea e restinga arbustiva. As definições das fitofisionomias de restinga seguem MMA (2009).

Morfologia Reprodutiva, Fenologia e Biologia Floral

Os segmentos florais de 10 flores frescas (uma flor por indivíduo) e 10 frutos maduros (cerca de quatro meses após a polinização) foram observados sob um estereomicroscópio binocular, descritos e medidos com o auxílio de um paquímetro, para incluir possíveis variações intraespecíficas. Os valores médios são fornecidos seguidos do desvio padrão. A presença de nectário floral foi investigada através da dissecção das mesmas 10 flores e do exame detalhado da morfologia, especialmente da base do labelo (Silva-Pereira *et al.* 2007). Adicionalmente, a presença de guias de néctar foi avaliada através do teste do hidróxido de amônio; as flores frescas foram colocadas em placas de Petri de vidro cobertas e expostas a hidróxido de amônio durante 5 min (Scogin *et al.* 1977). Um material-testemunho de *V. bahiana* (*F.F.V.A. Barberena & L.V. Aguiar 334*) foi depositado no herbário da Universidade Federal da Bahia (ALCB).

Os dados sobre a fenologia de *V. bahiana* foram coletados durante duas épocas de floração consecutivas (2014/2015 e 2015/2016). A receptividade estigmática foi determinada visualmente através do teste do peróxido de hidrogênio (Zeisler 1938). Os estigmas foram imersos em uma solução de peróxido de hidrogênio a 3% por 3 min e foram considerados receptivos se a região liberasse bolhas de oxigênio. A viabilidade dos grãos de pólen foi avaliada por imersão em vermelho neutro aquoso a 0,1% (p/v) durante 20 min (Dafni *et al.* 2005). Ambos os tratamentos foram realizados em duas fases: botão floral (um dia antes da antese) e flor totalmente aberta. Para cada teste químico, cinco flores (ou botões florais) foram coletadas de diferentes indivíduos, e os resultados foram analisados com a ajuda de um microscópio de luz.

Biologia reprodutiva e visitantes florais

O sistema reprodutivo de *V. bahiana* foi investigado de novembro de 2014 a maio de 2015 e de abril de 2016 a maio de 2016 através de quatro experimentos de polinização: (a) polinização aberta; (b) autopolinização espontânea; (c) autopolinização manual; e (d) polinização cruzada manual. Na polinização aberta, as flores (n = 765) foram mantidas expostas aos polinizadores. Nos outros tratamentos, os botões florais foram ensacados com tecido voil 24-48 h antes da antese para excluir potenciais polinizadores bióticos (45 a 63 flores por experimento). Os tratamentos (c) e (d) foram realizados entre às 07:00 e às 09:00 h, utilizando todo o pólen das flores. Foram utilizadas fitas de diferentes cores para cada teste (Dafni *et al.* 2005). Os tratamentos foram comparados através de um teste qui-quadrado ($\alpha = 0,05$) (Sokal & Rohlf 1969). A formação de frutos foi registrada uma semana após a polinização (frutos imaturos, Nissar *et al.* 2006).

Para investigar a identidade do polinizador, foi amostrada uma flor por semana. As flores foram observadas principalmente das 05:00 às 12:00 h, em dias ensolarados (137 horas de observação), mas também de madrugada, das 24:00 às 05:00 h (14 horas de observação), durante a época de floração 2014-2015. Na época de floração seguinte (2015-2016), foram feitas observações adicionais

sob as mesmas condições, totalizando mais 40h (10h durante a madrugada). Observações detalhadas do comportamento dos visitantes florais e seu tipo de interação com a flor foram obtidas *in situ*. O número e a duração das visitas às flores foram registrados somente para herbívoros florais ou visitantes que tocaram na antera, e foram determinados por meio de inspeções visuais (Peter & Johnson 2009). Os visitantes florais foram coletados com o auxílio de uma rede entomológica e mortos em acetato de etila (Sakagami *et al.* 1967). Posteriormente, no laboratório, os espécimes foram identificados e depositados na coleção do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia. Visitantes florais e flores foram fotografadas com uma câmera digital (Nikon P600).

Resultados

Morfologia Reprodutiva, Fenologia e Biologia Floral

Vanila bahiana é uma erva hemiepífita, com sépalas e pétalas verdes, oblanceoladas e de ápice agudo (Figura 1). O labelo é alvo, obovado, inteiro, em forma de funil e parcialmente adnado à coluna, com listras amarelas longitudinais e uma margem amarelo-esverdeada a amarela (Figuras 2 e 3). Os segmentos florais têm as seguintes medidas: sépalas $6,51 \pm 0,42 \times 1,29 \pm 0,11$ cm, pétalas $6,32 \pm 0,19 \times 0,88 \pm 0,13$ cm e labelo estendido $3,84 \pm 0,11$ x $3,71 \pm 0,07$ cm.

O capuz da antera é alvo e os grãos de pólen são amarelos. O estigma é alvo com tricomas amarelo-pálidos. Se a polinização não ocorrer, a flor torna-se acastanhada e completamente seca no dia seguinte após a antese, além de emitir um odor semelhante à urina. O pedicelo se destaca 2-3 dias após a antese. Os frutos medem $10,75 \pm 0,56 \times 1,11 \pm 0,19$ cm, são verdes e oblongo-lineares (Figura 4). As sementes são marrom-escuras, úmidas e ficam totalmente expostas após a deiscência do fruto.

A floração se estende ao longo de oito meses (novembro a junho), com um pico em abril. Frutos podem ser observados durante todo o ano. Cada racemo lateral produz até 31 flores ressupinadas ($18,1 \pm 4$, $n = 30$), inodoras, que duram apenas um dia, mas se abrem sucessivamente, em intervalos irregulares de um a oito dias. As flores começam a abrir de madrugada, em torno de 01:00 h, mas as flores estão completamente abertas somente por volta das 7-8h da manhã (Figura 5). A senescência floral começa a partir de 10 h, porém, como na antese, ocorre de forma assíncrona. A longevidade floral varia entre nove e dez horas.

A viabilidade do pólen de *V. bahiana* foi constatada tanto em botões quanto na flor em antese. De forma similar, observou-se efervescência em todas as amostras do estigma. Embora as anteras estejam viáveis desde o estádio de botão, pelo menos 24 horas antes da abertura floral, a antera e o estigma estão espacialmente separados por um rostelo inteiro, mostrando hercogamia. Estes experimentos provaram que *V. bahiana* não usa dicogamia (separação temporal na maturação dos órgãos reprodutivos) para evitar a autopolinização.

Fig.1. Habitat de *Vanilla bahiana* Hoehne. (Foto: F.F.V.A. Barberena).

Fig.2. Flor intacta de *Vanilla bahiana* Hoehne, com besouros (Curculionidae) dentro do labelo. (Foto: F.F.V.A. Barberena).

Fig.3. Flor de *Vanilla bahiana* Hoehne, perfurada por vários besouros (Curculionidae). (Foto: F.F.V.A. Barberena).

Fig.4. Fruto imaturo de *Vanilla bahiana* Hoehne. (Foto: F.F.V.A. Barberena).

Adicionalmente, as flores expostas ao hidróxido de amônio mudaram de cor. A antera, o estigma e o labelo tornaram-se amarelos e parte do labelo ficou corado de laranja (Figura 6), indicando a presença de guias de néctar. O resultado deste teste, juntamente com a análise da morfologia floral, especialmente a cor e o formato do labelo (em funil), indica melitofilia (flores com adaptações à polinização por abelhas). No entanto, através do exame da morfologia floral de *V. bahiana*, principalmente da base do labelo, não foi possível detectar a presença de néctar. Assim, pressupõe-se que a polinização em *V. bahiana* ocorra por engodo.

Fig.5. Labelo de *Vanilla bahiana* Hoehne, após exposição ao hidróxido de amônio (NH4OH); guias de nectar em evidência. (Foto: A.M. dos Anjos).

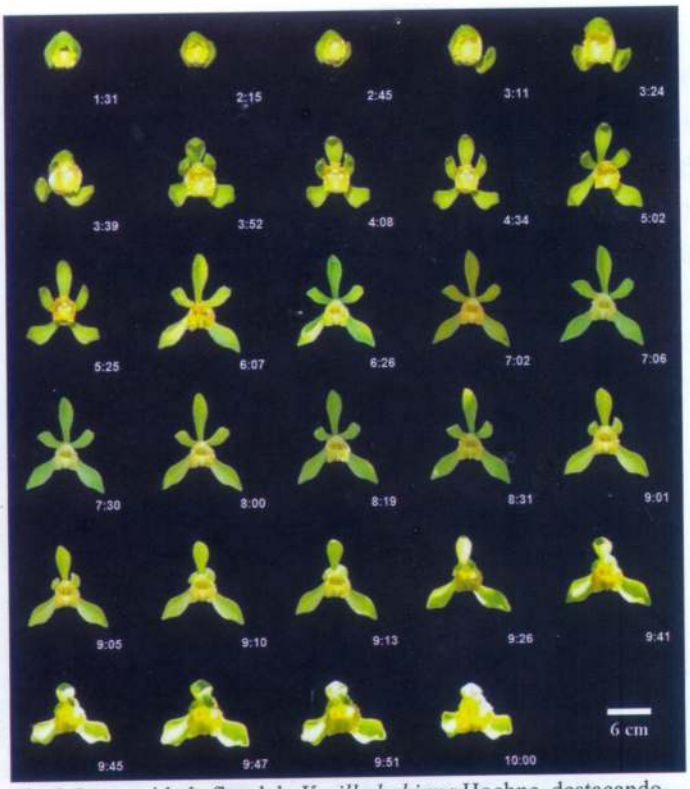

Fig.6. Longevidade floral de *Vanilla bahiana* Hoehne, destacando-se os horários em que as fotografias foram tiradas. A antese inicia-se de madrugada e a senescência floral ocorre no mesmo dia. (Foto: A.M. dos Anjos).

Biologia reprodutiva e visitantes florais

Na polinização aberta, o sucesso foi de 2,35% (18 de 765 flores, Tabela 1). Embora nenhum fruto tenha sido formado por autopolinização espontânea, vários frutos foram observados tanto na autopolinização manual (11,11-71,43%, Tabela 1) quanto na polinização cruzada manual (24,44-83,33%, Tabela 1). A formação de frutos não diferiu significativamente entre os tratamentos de autopolinização e de polinização cruzada em *V. bahiana* ($\chi 2 = 3,44$, d.f. = 1, P = 0,06, Tabela 1), demonstrando que a espécie é autocompatível e dependente de polinizadores.

Tratamento	Período de Estudo	*Vanilla bahiana*
Polinização Aberta	Nov 2014-Maio 2015	2,35 (18/765)
Autopolinização espontânea	Nov 2014-Maio 2015	0 (0/45)
Autopolinização manual	Nov 2014-Maio 2015	11,11 (5/45)
Autopolinização manual	Abril-Maio 2016	71,43 (10/14)
Polinização cruzada manual	Nov 2014-Maio 2015	24,44 (11/45)
Polinização cruzada manual	Abril-Maio 2016	83,33 (15/18)

Tabela I. Porcentagem do sucesso de frutificação de *Vanilla bahiana* Hoehne por tratamento. Os números entre parênteses representam o número de frutos obtidos sobre o número de flores utilizadas em cada tratamento. Valor do Qui-quadrado (autopolinização x polinização

A maioria dos visitantes florais não é pilhador ou potencial polinizador. Eles comumente apenas contactam a face dorsal dos segmentos florais. Este comportamento foi observado para várias espécies de insetos, incluídas em cinco ordens: Diptera (duas espécies), Hemiptera (uma espécie), Thysanoptera (uma espécie), Lepidoptera (uma espécie) e Hymenoptera (seis espécies da família Formicidae), além de uma espécie de aranha. Por outro lado, Coleoptera (uma espécie de Curculionidae) e Orthoptera (uma espécie) são herbívoros florais, danificando sépalas, pétalas e, principalmente, o labelo. Ortópteros também foram observados danificando botões florais e frutos. Apenas indivíduos de coleópteros foram registrados no interior do labelo, embora sem tocar nas estruturas reprodutivas (Figura 3). Coleoptera e Orthoptera visitaram a flor em períodos semelhantes, mas não simultaneamente (Tabela 2). As formigas alimentam-se frequentemente de exsudados açucarados em botões imaturos. Além disso, em algumas observações, as formigas mostraram um comportamento de "proteção" das flores, perseguindo outros insetos e impedindo-os de permanecer em contato com as flores. Foram presenciadas expulsões de dípteros, coleópteros e ortóptero.

Visitante	No. visitas	Duração média (s)	Intervalo (s)	Período de visitação
Coleoptera	6	2180 (N=3)	240-3600	05h10-12h02
Orthoptera	11	523 (N= 8)	45-1740	05h15-12h04
Eulaema sp.	1	5-10 (N=1)	5-10	06h30

Tabela II. Polinizador efetivo (*Eulaema* sp.) e herbívoros florais (Coleoptera e Orthoptera) de *Vanilla bahiana* Hoehne registrados na Área de Proteção Ambiental das Lagoas e Dunas do Abaeté, no Nordeste do Brasil, nas épocas de floração 2014/2015 e 2015/2016. O número de visitas (No. visitas), a duração média das visitas florais e o intervalo de duração das visitas florais, em segundos (s), e horários de visitação são apresentados para cada táxon.

Somente uma visita legítima de *Eulaema* sp. foi registrada (Figura 7). A visita foi curta (5-10 segundos) e ocorreu às 06h30min em um dia ensolarado. A abelha pousou no labelo e entrou no tubo, sem antes tocar em outras partes da flor marcada. Não foi possível observar os mecanismos de polinização em detalhes ou capturar o inseto, dada as dificuldades de acesso à planta dentro da restinga arbórea. No entanto, a flor foi imediatamente reensacada e acompanhada durante uma semana. A visita da abelha resultou na formação de fruto, e, portanto, *Eulaema* sp. é um potencial polinizador de *V. bahiana*.

Fig.7. Visita de *Euglossa* sp. a uma flor de *Vanilla bahiana* Hoehne.

Discussão

O período de floração de *V. bahiana* é aparentemente mais longo nas áreas de restinga (presente estudo), onde se estende de novembro a junho, em comparação com uma área de Cerrado (setembro e outubro; Batista *et al.* 2005) e outra área de Floresta Atlântica (novembro; Pansarin & Pansarin 2008). Estes diferentes períodos de floração podem estar associados às condições climáticas específicas dos habitats (Barberena *et al.* 2016). Embora os fatores abióticos (ex. a temperatura) possam influenciar o processo de antese e senescência floral em *Vanilla*, ou estendendo o período de exibição dos órgãos reprodutivos florais (*display*) ou acelerando o início do murchamento floral (Reis *et al.* 2011), a influência ambiental não foi acentuada em *V. bahiana*. As flores de *V. bahiana* são efêmeras, mas sua longevidade é relativamente constante (nove a 10 horas), com a antese começando de madrugada. Similarmente, Childers & Cibes (1948) observaram que *V. planifolia* floresce de janeiro a junho em Porto Rico, com pico em março, e que de uma a três flores por racemo se abrem a cada dia e cada flor permanece aberta por cerca de um dia. Soto Arenas (1999) comentou que *V. planifolia* floresce de forma sincronizada e as flores permanecem abertas por cerca de oito horas, das 07:00 às 15:00 h, enquanto Nissar *et al.* (2006) indicaram que a baunilha é polinizada entre 06:00 e 12:00 h. No entanto, o número de flores por racemo no gênero é bastante variável; *V. bahiana* porta até sete vezes mais flores do que outras espécies (até 31 flores por inflorescência *versus* 4 a 24 flores por inflorescência; Childers & Cibes 1948; Reis *et al.* 2011; Pansarin *et al.* 2014).

Apenas indivíduos de *V. bahiana* situados nas áreas de borda floresceram na APA Lagoas e Dunas do Abaeté. Pessoa *et al.* (2012) observaram indivíduos da espécie florescendo principalmente no dossel. Portanto, a luminosidade é certamente um fator importante para promover a floração de *V. bahiana*. De forma contrária, a porção vegetativa das plantas é severamente afetada pela luminosidade excessiva: as partes expostas ao sol e crescendo no solo são queimadas pela intensa luz solar ou elevada temperatura do solo e tendem a morrer. Estas observações concordam com as de Childers & Cibes (1948), de que as plantações de baunilha crescem e também frutificam melhor à sombra.

A maioria das orquídeas é polinizada por abelhas, e *V. bahiana* tem várias características de melitofilia, como a antese diurna, flores com uma plataforma de pouso proeminente, um labelo alvo e guias de néctar (van der Pijl & Dodson 1966). Contudo, até o momento não há registros de espécies de *Vanilla* que apresentam néctar como recompensa floral (Gigant *et al.* 2011). As abelhas Euglossine são polinizadores efetivos do grupo *V. planifolia* em um sistema de polinização por engodo, embora outros grupos de abelhas, beija-flores e morcegos tenham sido sugeridos ou relatados como polinizadores de *Vanilla* (Bouriquet 1954; Soto Arenas 1999; Lubinsky *et al.* 2006; Fleming *et al.* 2009; Soto Arenas & Dressler 2010; Pansarin & Pansarin 2014; Pansarin *et al.* 2014). Viana *et al.* (2002) registraram a ocorrência de quatro espécies de *Eulaema* na APA Lagoas e Dunas do Abaeté e intensa atividade de forrageamento entre às 08:00 e às 10:00h, e também coletaram três machos de *Eulaema nigrita* Lepeletier, 1841, portadores de polínias de *Catasetum* sp. Considerando que *El. nigrita* é um polinizador reconhecido de *Vanilla* (Pansarin & Pansarin 2014) e ocorre na área, especulamos que esta espécie de abelha seja o polinizador de *V. bahiana*.

A escassez de eventos de polinização em membros do grupo *V. planifolia* tem sido relatada para muitas espécies de *Vanilla* (Soto Arenas 1999; Reis *et al.* 2011; Pansarin & Pansarin 2014; Petersson 2015). As baixas taxas de visitação de *V. bahiana* estão possivelmente associadas não apenas à ausência de recompensas florais e à curta duração da flor, mas também ao número de flores abertas por inflorescência (uma única flor por dia) e intervalos irregulares de floração (mais de uma semana sem flores abertas, poucas flores abertas simultaneamente na população). Consequentemente, as taxas de frutificação natural tendem a ser baixas. Ainda assim, a baixa taxa de visitação em *V. bahiana* é possivelmente compensada pelo período de floração prolongado na APA Lagoas e Dunas do Abaeté.

A morfologia floral de *V. bahiana* é semelhante à *V. dubia* Hoehne, principalmente a cor, as dimensões dos segmentos florais e as faixas longitudinais no labelo. Contudo, *V. bahiana* distingue-se de *V. dubia* principalmente pelas flores inodoras, abertura floral ao amanhecer, rostelo inteiro e ausência de uma crista longitudinal na parte mediana do labelo. Ambas as espécies são polinizadas por *Eulaema* e a duração das visitas das abelhas não excede 10 segundos. Portanto, presumimos que os mecanismos de polinização de *V. bahiana* sejam semelhantes aos observados em *V. dubia* por Pansarin & Pansarin (2014), mas aparentemente sem envolver a coleta de fragrâncias. Em *V. bahiana*, a atração da abelha parece ser essencialmente visual, dirigida por guias de néctar, como evidenciado pelo teste com hidróxido de amônio.

O comportamento de alimentação de formigas foi previamente relatado para membros do grupo *V. planifolia*, assim como seu comportamento protetor (Peakall 1994; Householder *et al.* 2010), mas aparentemente a proteção é pouco eficiente em

V. bahiana, uma vez que os danos causados às flores por herbívoros é facilmente perceptível, especialmente no labelo. O comportamento destrutivo dos besouros, que indiscriminadamente comem as partes florais das orquídeas, há muito é reconhecido (van der Pijl & Dodson 1966). Plank (1939) citou danos causados por *Diorymerellus* sp. (Curculionidae) a brotos e folhas, enquanto Corell (1953) afirmou que *Cratopus punctum* Fabr., 1798 (Curculionidae) faz buracos nas flores. Recentemente, Petersson (2015) mencionou observações pontuais de duas espécies de Caelifera que se alimentavam do tecido de pétalas e labelo de flores de *Vanilla bosseri* Allorge, uma espécie endêmica de Madagascar, excluindo a possibilidade de que seja uma espécie polinizadora, embora a polinização mediada por ortópteros tenha sido registrada em Orchidaceae (Micheneau *et al.* 2010).

A maioria das variedades e espécies do grupo *V. planifolia* são autocompatíveis, com autopolinização estimada entre 4-20% (Soto Arenas 1999; 2003) e taxas relativamente baixas de frutificação natural (0.1-6.6%; Soto Arenas 1999; Weiss 2002; Householder *et al.* 2010). Da mesma forma, *V. bahiana* é autocompatível e dependente de polinizadores para formar frutos. A formação de frutos através de polinização natural em *V. bahiana* (2,35%) concorda com outros valores registrados para o grupo, embora a autopolinização natural não tenha ocorrido na espécie. O percentual de frutos em *V. bahiana* resultante da autopolinização manual e da polinização cruzada manual variou nas duas épocas de floração e pode ser considerado intrigante. Considerando o longo período de viabilidade do pólen e do estigma e a quantidade e a qualidade do pólen utilizado nos tratamentos, sugerimos duas hipóteses, não mutuamente exclusivas, para explicar as baixas percentagens de frutos formados na época floral 2014/2015: (1) altas temperaturas (>25ºC) podem influenciar a germinação do pólen e o alongamento do tubo (Nissar *et al.* 2006) ou (2) estar relacionada com a alocação de recursos combinada com as restrições de história de vida (Montalvo & Ackerman 1987; Ackerman 1989; Zimmerman & Aide 1999). Nós não dispomos de dados atrelados à produção de flores e frutos da época floral anterior (ou seja, 2013/2014), e os custos de uma possível floração (e/ou frutificação) intensa podem ter surgido na época seguinte (2014/2015).

Considerações finais

Vanilla bahiana é indicadora da vegetação clímax do componente herbáceo e subarbustivo e dos estádios primário e avançado de regeneração nas fitofisionomias restinga arbustiva e arbórea no estado da Bahia (MMA 2012). Contudo, a fragmentação do habitat é uma preocupação em áreas próximas à APA Lagoas e Dunas do Abaeté e também em inúmeras áreas desprotegidas da Bahia e do Brasil, podendo resultar em uma rápida redução da população de *V. bahiana*.

V. bahiana, uma vez que os danos causados às flores por herbívoros é facilmente perceptível, especialmente no labelo. O comportamento destrutivo dos besouros, que indiscriminadamente comem as partes florais das orquídeas, há muito é reconhecido (van der Pijl & Dodson 1966). Plank (1939) citou danos causados por *Diorymerellus* sp. (Curculionidae) a brotos e folhas, enquanto Corell (1953) afirmou que *Cratopus punctum* Fabr., 1798 (Curculionidae) faz buracos nas flores. Recentemente, Petersson (2015) mencionou observações pontuais de duas espécies de Caelifera que se alimentavam do tecido de pétalas e labelo de flores de *Vanilla bosseri* Allorge, uma espécie endêmica de Madagascar, excluindo a possibilidade de que seja uma espécie polinizadora, embora a polinização mediada por ortópteros tenha sido registrada em Orchidaceae (Micheneau *et al.* 2010).

A maioria das variedades e espécies do grupo *V. planifolia* são autocompatíveis, com autopolinização estimada entre 4-20% (Soto Arenas 1999; 2003) e taxas relativamente baixas de frutificação natural (0.1-6.6%; Soto Arenas 1999; Weiss 2002; Householder *et al.* 2010). Da mesma forma, *V. bahiana* é autocompatível e dependente de polinizadores para formar frutos. A formação de frutos através de polinização natural em *V. bahiana* (2,35%) concorda com outros valores registrados para o grupo, embora a autopolinização natural não tenha ocorrido na espécie. O percentual de frutos em *V. bahiana* resultante da autopolinização manual e da polinização cruzada manual variou nas duas épocas de floração e pode ser considerado intrigante. Considerando o longo período de viabilidade do pólen e do estigma e a quantidade e a qualidade do pólen utilizado nos tratamentos, sugerimos duas hipóteses, não mutuamente exclusivas, para explicar as baixas percentagens de frutos formados na época floral 2014/2015: (1) altas temperaturas (>25ºC) podem influenciar a germinação do pólen e o alongamento do tubo (Nissar *et al.* 2006) ou (2) estar relacionada com a alocação de recursos combinada com as restrições de história de vida (Montalvo & Ackerman 1987; Ackerman 1989; Zimmerman & Aide 1999). Nós não dispomos de dados atrelados à produção de flores e frutos da época floral anterior (ou seja, 2013/2014), e os custos de uma possível floração (e/ou frutificação) intensa podem ter surgido na época seguinte (2014/2015).

Considerações finais

Vanilla bahiana é indicadora da vegetação clímax do componente herbáceo e subarbustivo e dos estádios primário e avançado de regeneração nas fitofisionomias restinga arbustiva e arbórea no estado da Bahia (MMA 2012). Contudo, a fragmentação do habitat é uma preocupação em áreas próximas à APA Lagoas e Dunas do Abaeté e também em inúmeras áreas desprotegidas da Bahia e do Brasil, podendo resultar em uma rápida redução da população de *V. bahiana*.

A biologia reprodutiva de outras espécies do grupo *V. planifolia* deve ser investigada, particularmente as endêmicas do Brasil e sob forte ou iminente pressão antrópica, uma vez que os estudos em ecologia da polinização podem ser usados para estabelecer diretrizes específicas para a conservação desse grupo, incluindo ações de manejo.

Agradecimentos

À Jorge Santana por ter concedido permissão para o trabalho de campo; à Romero Nazaré pela identificação dos insetos; e ao Centro Universitário Jorge Amado pela infraestrutura, equipamentos e materiais cedidos, e a toda a equipe técnica dos laboratórios da instituição.

Referências

Ackerman, J.D. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Systematic Botany* 14: 101-109.

Barberena, F.F.V.A.; Baumgratz, J.F.A. & Barros, F. 2016. Unveiling the enigmatic Pabst and Dungs's *Promenaea rollissonii* alliance (Orchidaceae). *Novon* 24: 325-332.

Batista, J.A.N.; Bianchetti, L.B. & Pellizzaro, K.F. 2005. Orchidaceae da Reserva Ecológica do Guará, DF, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 19: 221-232.

BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66:1085-1113.

Bouetard, A.; Lefeuvre, P.; Gigant, R.; Bory, S.; Pignal, M.; Besse, P. & Grisoni, M. 2010. Evidence of transoceanic dispersion of the genus *Vanilla* based on plastid DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 55: 621-630.

Bouriquet, G. 1954. Culture. *In*: Bouriquet G. (ed.) Le vanillier et la vanille dans le monde. Paris, Paul Lechevalier. p. 430-458.

Bythrow, J.D. 2005. *Vanilla* as a medicinal plant. *Seminars in Integrative Medicine* 3: 129-131.

Chase, M.W.; Cameron, K.M.; Freudenstein, J.V.; Pridgeon, A.M.; Salazar, G.; van den Berg, C. & Schuiteman, A. 2015. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177: 155-174.

Childers, N.F. & Cibes, H.R. 1948. Vanilla culture in Puerto Rico. Federal experiment station in Puerto Rico. Circular nº 28. United States Department of Agriculture. Mayaguez, United States Department of Agriculture.

Correll, D.S. 1953. *Vanilla* – its botany, history, cultivation and economic import. *Economic Botany* 7: 291-358.

Dafni, A.; Kevan, P.G. & Husband, B.C. 2005. Practical pollination biology. Cambridge, Enviroquest.

Fleming, T.H.; Geiselman, C. & Kress, W.J. 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany* 104: 1017-1043.

Gigant, R.; Bory, S.; Grisoni, M. & Besse, P. 2011. Biodiversity and evolution in the *Vanilla*. *In*: Grillo, O. & Venora, G. (eds.) The dynamical processes of biodiversity: case studies of evolution and spatial distribution. Rijeka, InTech. p. 1-26.

Havkin-frenkel, D. & Belanger F. 2011. Handbook of Vanilla Science and Technology. Chichester, Wiley-Blackwell.

Householder, E.; Janovec, J.; Mozambite, A.B.; Maceda, J.H.; Wells, J. & Valega, R. 2010. Diversity, natural history, and conservation of *Vanilla* (Orchidaceae) in amazonian wetlands of Madre de Dios, Peru. *Botanical Research Institute of Texas* 4: 227-243.

Köppen, W. 1948. Climatologia: com um estúdio de los climas de la tierra. México, Fondo de Cultura Económica.

Lubinsky, P.; van Dam, M.H. & van Dam, A.R. 2006. Pollination of *Vanilla* and evolution in Orchidaceae. *Lindleyana* 75: 926-929.

Lubinsky, P.; Bory, S.; Hernández, J.H.; Kim, S-C. & Gómez-Pompa, A. 2008. Origins and dispersal of cultivated vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. [Orchidaceae]). *Economic Botany* 62: 127-138.

Micheneau, C.; Fournel, J. & Warren, B.H.; Hugel, S.; Gauvin-Bialecki, A.; Pailler, T.; Strasberg, D. & Chase, M.W. 2010. Orthoptera, a new order of pollinator. *Annals of Botany* 105: 355-364.

MMA – Ministério do Meio Ambiente do Brasil. 2009. Resolução Conama nº 417, de 23 de novembro de 2009. http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=617/. Acessado em 25 de Janeiro de 2016.

MMA – Ministério do Meio Ambiente do Brasil. 2012. Resolução Conama nº 437, de 30 de dezembro de 2011. http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res12/Resol437.pdf/. Acessado em 25 de Janeiro de 2016.

Montalvo, A.M. & Ackerman, J.D. 1987. Limitations to fruit production in *lonopsis utricularioides* (Orchidaceae). *Biotropica* 19: 24-31.

Nissar, V.A.M.; Hrideek, T.K.; Kuruvilla, K.M.; Madhusoodanan, K.J. & Thomas, J. 2006. Studies on pollination, inter specific hybridization and fruit development in vanilla. *Journal of Plant Crops* 34: 167-170.

Pansarin, E.R. 2010. *Vanilla dietschiana*, returns from *Dictyophyllaria*. *Orchids (West Palm Beach)* 79: 106-109.

Pansarin, E.R. & Pansarin, L.M. 2008. A família Orchidaceae na Serra do Japi, São Paulo, Brasil. Rodriguésia 59: 99-111.

Pansarin, E.R & Pansarin, L.M. 2014. Floral biology of two Vanilloideae (Orchidaceae) primarily adapted to pollination by euglossinae bees. Plant Species Biology 16: 1104-1113.

Pansarin, E.R.; Aguiar J.M.R.B.V. & Ludmila, M.P. 2014. Floral biology and histochemical analysis of Vanilla edwallii Hoehne (Orchidaceae: Vanilloideae): an orchid pollinated by Epichiaris (Apidae: Centridini). Plant Species Biology 29: 242-252.Pansarin, E.R.; Salatino, A.; Pansarin, L.M. & Sazima, M. 2012. Pollination systems in Pogonieae (Orchidaceae: Vanilloideae): a hypothesis of evolution among reward and rewardless flowers. *Flora* 207: 849-861.

Peakall, R. 1994. Interactions between orchids and ants. *In*: Arditti J. (ed.) Orchid Biology: Reviews and perspective VI. New York, John Wiley & Sons. p. 103–134.

Pessoa, E. & Alves, M. 2012. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Orchidaceae. *Rodriguésia* 62: 341-356.

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: 573-581.

Petersson, L. 2015. Pollination biology of the endemic orchid *Vanilla bosseri* in Madagascar. Sweden, Uppsala University.
Plank, H.K.; Pennington, C.F. & Kevorkian, A.G. 1939. Insects attacking vanilla: survey of vanilla pests revealed four insects causing limited damage. *In*: Jardixe, J.T. (ed.) Report of the Puerto Rico Experiment Station: 1938. Mayaguez, United States Department of Agriculture. p. 118-121.
Portères, R. 1954. Le genre *Vanilla* et ses espèces. *In*: Bouriquet, G. (ed.) Le vanillier et la vanille dans le monde. Paris, Paul Lechevalier. p. 94–290.
Ramachandra, Rao S. & Ravishankar, G.A. 2000. *Vanilla* flavour: production by conventional and biotechnological routes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 289-304.
Reis, C.A.M.; Brondani, G.E. & De Almeida, M. 2011. Biologia floral e propagação vegetativa de baunilha. *Scientia Agraria Paranaensis* 10: 69-82.
Rolfe, R.A. 1896. A revision of the genus *Vanilla*. *Journal of the Linnean Society* 32: 439-478.
Sakagami, S.F.; Laroca, S. & Moure, J.S. 1967. Wild bee biocenotics in São José dos Pinhais (PR), South Brazil. Preliminary report. *Journal of Faculty of Sciences, Hokkaido University, Zoology* 19: 190-250.
Scogin, R.; Young, D.A. & Jones, C.E. 1977. Anthochlor pigments and pollination biology: II. The ultraviolet patterns of *Coreopsis gigantea* (Asteraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 104: 155-159.
Silva-Pereira, V.; Smidt, E.C. & Borba, E.L. 2007. Isolation mechanisms between two sympatric *Sophronitis* (Orchidaceae) species endemic to Northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 269: 171-182.
Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1969. Biometry: The principles of statistic in biological research. San Francisco, W. H. Freeman & Company.
Soto Arenas, M.A. 1999. Filogeografía y recursos genéticos de las vanillas de México. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. J101. Yucatán, Instituto Chinoin AC.
Soto Arenas, M.A. 2003. *Vanilla*. *In*: Pridgeon, A.M.; Cribb, P.J.; Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. (eds.) Genera Orchidacearum, vol. 3, Orchidoideae. New York, Oxford University Press. p. 321–334.
Soto Arenas, M.A. & Cribb, P. 2010. A new infrageneric classification and synopsis of the genus *Vanilla* Plum. ex Mill. (Orchidaceae: Vanillinae). *Lankesteriana* 9: 355-398.
Soto Arenas, M.A. & Dressler, R.L. 2010. A revision of the mexican and central american species of *Vanilla* Plumier ex Miller with a characterization of their ITS region of the nuclear ribosomal DNA. *Lankesteriana* 9: 285–354.
van der Pijl, L. & Dodson, C.H. 1966. Orchid flowers, their pollination and evolution. Flórida, University of Miami Press.
Viana, B.F. & Kleinert, A.M.P. 2005. A community of flower-visiting bees (Hymenoptera: Apoidea) in the coastal sand dunes of Northeastern Brazil. *Biota Neotropica* 5: 1-13.
Viana, B.F.; Kleinert, A.M.P. & Neves, E.L. 2002. Comunidade de Euglossini (Hymenoptera, Apidae) das dunas litorâneas do Abaeté, Salvador, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia* 46: 539-545.
Weiss, E.A. 2002. Spice Crops. Wallington, CABI publishing.
Zeisler, M. 1938. Über *die Abgrenzung der eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. Beihefte zum Botanisches Zentralblatta* 58: 308-318.
Zimmerman, J.K. & Aide, M. 1989. Patterns of fruit production in a neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *American Journal of Botany* 76: 67-73.

Pág. 71.

Legenda da Tabela 1. Porcentagem do sucesso de frutificação de *Vanilla bahiana* Hoehne por tratamento. Os números entre parênteses representam o número de frutos obtidos sobre o número de flores utilizadas em cada tratamento. Valor do Qui-quadrado (autopolinização x polinização cruzada) = 3,44. (Não significativo, P = 0,06).