

UNICAMP – UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA - IB



**“ BIOLOGIA FLORAL E SISTEMAS DE REPRODUÇÃO EM
ESPÉCIES DE *BULBOPHYLLUM* (ORCHIDACEAE)
OCORRENTES EM MATA DE GALERIA, CAMPO
RUPESTRE E FLORESTA ESTACIONAL ”**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Christiano Franco Verola
e aprovada pela Comissão Julgadora.

CHRISTIANO FRANCO VEROLA

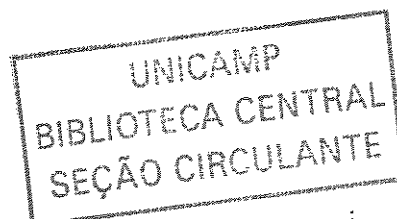
João Semir

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas-
UNICAMP como requisito parcial para
obtenção do Título de Mestre em
Ecologia

Orientador: Prof. Dr. João Semir

Campinas – São Paulo
2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL



UNIDADE BC
Nº CHAMADA T/UNICAMP
V599b
V EX
TOMBO BC/ 51148
PROC 16.837/02
C DX
PREÇO R\$ 11,00
DATA 01/10/02
Nº CPD _____

CM00174631-4

BIB ID 259914

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

V599b

Verola, Christiano Franco

Biologia floral e sistemas de reprodução em espécies de *Bulbophyllum* (Orchidaceae) ocorrentes em mata de galeria, campo rupestre e floresta estacional/Christiano Franco Verola. --
Campinas, SP:[s.n.], 2002

Orientador: João Semir

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia

1. Orchidaceae. 2. Mecanismo de polinização. 3. Sistemas de reprodução.
I. Semir, João. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto Biologia.
III. Título.

Campinas, 02 de julho de 2002

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Semir

João Semir

Dr. Fábio de Barros

Prof^a. Dr^a Marlies Sazima

Marlies Sazima

Prof^a. Dr^a Eliana Regina Forni-Martins

098918000

À memória de duas pessoas:

Minha amada avó Maria Franco, de quem herdei o interesse pela vida, a força e, principalmente, a perseverança.

Meu grande amigo Dante Galli, que me apresentou as orquídeas, que hoje, fazem parte do meu projeto de vida.

Aos meus pais e à minha namorada Juliana, por me agüentarem e apoiarem nos momentos mais difíceis, em que, por muitas vezes, me incentivaram a continuar tentando melhorar, sempre!

*“ De tudo ficaram três coisas...
A certeza de que estamos começando...
A certeza de que é preciso continuar...
A certeza de que podemos ser interrompidos
antes de terminar...
Façamos da interrupção um caminho novo...
Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro! ”*

Fernando Sabino

AGRADECIMENTOS

Especialmente ao Prof. João Semir pela orientação e, principalmente, pela confiança, incentivo e amizade durante a elaboração deste trabalho.

Ao Eduardo Leite Borba, sem o qual a elaboração deste projeto de tese não seria possível. Por suas colaborações e discussões, ajuda na elaboração do projeto, identificação e indicação da distribuição das espécies, viagens de coleta do material utilizado, pela hospedagem quando precisava vir a Campinas antes de me mudar definitivamente e, principalmente, por sua paciência, boa vontade e broncas que contribuíram, e muito, para o meu amadurecimento científico.

À Fapesp, pelo apoio financeiro.

Minha gratidão aos meus amigos: Mariana, Júlia, Andréa, Luiz Pedro e Leonardo, pela participação e convívio, senão todo, mas pelo menos por parte do período em que estou nesta instituição.

Ao Prof. Dalton Amorim (USP-Ribeirão Preto) e Celuta Paganelli, pela identificação e indicação de bibliografia sobre os Diptera, que muito contribuíram na elaboração do trabalho.

À todos os professores e funcionários do Departamento de Botânica e Zoologia da UNICAMP.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Botânica, especialmente Iara e Maria Lúcia.

À Silvinha da SCPG/UNICAMP, que por diversas vezes me ajudou quando estava desorientado com a quantidade de documentos para preencher e, principalmente, por me ajudar a conseguir um dia para defesa desta tese.

Aos Professores, Marlies e Ivan Sazima, pelas dicas e sugestões.

Ao Prof. José Roberto Trigo, por permitir a utilização dos laboratórios de Ecologia Química, Depto. de Zoologia da UNICAMP.

Agradeço especialmente à Julie Henriette Antoinette Dutilh, pelo fornecimento de material bibliográfico, ensinamentos valiosos, viagens a campo, discussões, participação na "pré" da pré-banca deste trabalho e, principalmente, pelo carinho e convivência.

Ao Prof. Cássio van den Berg, pelas dicas e ensinamentos sobre filogenia de Orchidaceae.

À Prof. Vera Nizaka Solferini, por permitir a utilização da Casa de Vegetação do Departamento de Genética e Evolução da UNICAMP.

Aos Professores, Fábio de Barros (Orquidário do Estado), Eliana Regina Forni-Martins e Marlies Sazima, pelas dicas e participação na pré-banca, que muito enriqueceram a versão final desta tese.

Ao Sr. Pedro, zelador da Casa de Vegetação, por cuidar e me ajudar no plantio dos *Bulbophyllum*.

À todas as pessoas, próximas, ausentes, participantes, "criticantes", que de alguma forma me ajudaram na elaboração e conclusão deste trabalho. Meu muito obrigado!!!!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. CAPÍTULO 1: “Biologia floral e mecanismos de polinização em espécies de <i>Bulbophyllum</i> Thouars (Orchidaceae): morfologia floral como caráter adaptativo a diferentes ambientes”.....	4
2.1 INTRODUÇÃO.....	6
2.2 METODOLOGIA.....	9
2.3 RESULTADOS.....	17
2.4 DISCUSSÃO.....	53
2.5 BIBLIOGRAFIA.....	65
3. CAPÍTULO 2: “Sistemas de reprodução em espécies de <i>Bulbophyllum</i> Thouars (Orchidaceae) ocorrentes em floresta estacional, mata de galeria e campos rupestres do Brasil.”.....	68
3.1 INTRODUÇÃO.....	70
3.2 METODOLOGIA.....	71
3.3 RESULTADOS.....	72
3.4 DISCUSSÃO.....	79
3.5 BIBLIOGRAFIA.....	82
4. CONCLUSÃO GERAL.....	85
5. BIBLIOGRAFIA GERAL.....	87

SUMÁRIO DAS TABELAS

1. CAPÍTULO 1: "BIOLOGIA FLORAL E MECANISMOS DE POLINIZAÇÃO EM ESPÉCIES DE *BULBOPHYLLUM* THOUARS (ORCHIDACEAE): MORFOLOGIA FLORAL COMO CARÁTER ADAPTATIVO A DIFERENTES AMBIENTES"

TABELA 1.....	15
TABELA 2.....	52

2. CAPÍTULO 2: " SISTEMAS DE REPRODUÇÃO EM ESPÉCIES DE *BULBOPHYLLUM* THOUARS (ORCHIDACEAE) OCORRENTES EM FLORESTA ESTACIONAL, MATA DE GALERIA E CAMPOS RUPESTRES DO BRASIL"

TABELA 1.....	73
TABELA 2.....	75

SUMÁRIO DAS FIGURAS

1. CAPÍTULO 1: “BIOLOGIA FLORAL E MECANISMOS DE POLINIZAÇÃO EM ESPÉCIES DE *BULBOPHYLLUM* THOUARS (ORCHIDACEAE): MORFOLOGIA FLORAL COMO CARÁTER ADAPTATIVO A DIFERENTES AMBIENTES”

FIGURA 1.....	11
FIGURA 2.....	12
FIGURA 3.....	16
FIGURA 4.....	23
FIGURA 5.....	24
FIGURA 6.....	25
FIGURA 7.....	26
FIGURA 8.....	27
FIGURA 9.....	28
FIGURA 10.....	29
FIGURA 11.....	31
FIGURA 11 cont.....	32
FIGURA 12.....	33
FIGURA 12 cont.....	34
FIGURA 13.....	48
FIGURA 14.....	49
FIGURA 15.....	50

2. CAPÍTULO 2: “SISTEMAS DE REPRODUÇÃO EM ESPÉCIES DE *BULBOPHYLLUM* THOUARS (ORCHIDACEAE), OCORRENTES EM FLORESTA ESTACIONAL, MATA DE GALERIA E CAMPOS RUPESTRES DO BRASIL”

FIGURA 1.....	77
FIGURA 1 cont.....	78

RESUMO

Foram estudados a biologia floral, mecanismos de polinização e sistemas de reprodução em espécies de *Bulbophyllum*, ocorrentes em diferentes ambientes, como floresta estacional, campo rupestre e mata de galeria nos estados de São Paulo e Minas Gerais, Brasil. As espécies estudadas são polinizadas por fêmeas de espécies de diferentes famílias de Diptera, com elevado grau de especificidade entre as espécies de *Bulbophyllum* e seus polinizadores. Os mecanismos de polinização destas espécies estão adaptados ao ambiente de suas áreas de ocorrência, maximizando a eficiência de polinização nestes locais, hipotetizando uma seqüência de adaptações morfológicas florais, de grupos anteriormente típicos de matas fechadas, irradiando até ocuparem outros ambientes como áreas abertas de campo rupestre. Todas as espécies apresentam mecanismo de auto-incompatibilidade homomórfico gametofítico. As espécies que apresentam sobreposição nas épocas de floração são inter-compatíveis, porém existe uma série de mecanismos que evitam a hibridização natural entre espécies.

ABSTRACT

The floral biology, pollination mechanisms and breeding systems in *Bulbophyllum* species, occurring in different vegetation types as in semideciduous forests, campo rupestre and gallery forest, in São Paulo and Minas Gerais states, Brazil, have been studied. These species are pollinated by females of species belonging to different Dipteran families, with a high degree of specificity between *Bulbophyllum* species and their pollinators. Their pollination mechanisms are adapted to the environment of the place where they occur, increasing pollination efficiency in those areas. I hypothesize an adaptive sequence in floral morphology from groups previously typical of forests to those groups in open areas such as the "campo rupestre". All species have homomorphic gametophytic self-incompatibility. Species with overlapped flowering time are inter-compatible, however there are several mechanisms that prevent hybridization between inter-fertile species.

INTRODUÇÃO GERAL

A família Orchidaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas, possuindo cerca de 25.000 espécies (Dressler, 1981, 1993; Pijl & Dodson, 1966). De distribuição pantropical, o gênero *Bulbophyllum* Thouars conta com aproximadamente 1.000 espécies, constituindo o segundo maior gênero em número de espécies na família (Pabst & Dungs, 1975).

O gênero *Bulbophyllum* e a subtribo Pleurothallidinae são os principais grupos miiófilos da família Orchidaceae (Pijl & Dodson, 1966), caracterizando um dos mais interessantes casos de convergência morfológica adaptados a sistemas similares de polinização (Dressler, 1981, 1993). Miiófilas são aquelas espécies polinizadas por moscas e, segundo estimativas, provavelmente 15% a 25% de todas as orquídeas existentes sejam polinizadas por moscas (Pijl & Dodson, 1966; Christensen, 1994). Apesar da miiofilia representar a segunda mais representativa síndrome de polinização dentro da família Orchidaceae, pouca atenção tem sido dada ao seu estudo, em parte devido à reputação dos Diptera de serem polinizadores ineficientes, irregulares e não confiáveis, devido à falta de constância e ao comportamento casual (Pijl & Dodson, 1966; Faegri & Pijl, 1979; Chase, 1985; Christensen, 1994; Proctor et al., 1996). No entanto, trabalhos recentes mostram que relações de especificidade entre orquídeas e seus polinizadores são possíveis, inclusive em espécies de *Bulbophyllum* de campo rupestre (Borba & Semir, 1998a; Silva et al., 1999), sendo outros exemplos fornecidos por Borba & Semir (2001).

Devido à complexidade, ampla distribuição e extrema plasticidade morfológica (Vermeulen, 1991), ocupando desde matas fechadas até campos abertos, o gênero *Bulbophyllum* forma um dos mais interessantes grupos para estudos evolutivos, principalmente aqueles relacionados aos mecanismos de polinização associados aos ambientes de ocorrência das espécies.

O mecanismo básico de polinização em *Bulbophyllum* foi descrito por Ridley (1890) em *B. macranthum*, uma espécie epífita de florestas tropicais do sudeste asiático. O labelo desta espécie apresenta grande mobilidade, devido a uma fina película que liga a base do labelo com o pé da coluna, formando um tipo de dobradiça. Quando o polinizador pousa na extremidade do labelo, seu peso faz com que este se desloque para baixo. O polinizador, então, caminha em direção à base do

labelo deslocando o ponto de equilíbrio, causando o retorno do labelo ao seu posicionamento inicial e pressionando a mosca contra a coluna da flor. Ao sair, a mosca remove o polinário da flor, que fica aderido ao dorso de seu tórax.

Sazima (1978) estudando *B. warmingianum*, uma espécie típica de áreas abertas de campo rupestre, demonstrou haver um segundo mecanismo de polinização em *Bulbophyllum*, onde uma corrente de vento é necessária para deslocar o labelo da flor, pressionando a mosca, que se alimenta, contra a coluna da flor no local. Este mecanismo de polinização foi, posteriormente, confirmado por Borba & Semir (1998a), em estudos envolvendo três espécies de *Bulbophyllum* ocorrentes em áreas abertas de campo rupestre.

Borba & Semir (1998a) sugeriram haver uma especificidade exclusiva entre as espécies de *Bulbophyllum* neotropicais e moscas da família Milichiidae, pois todas as espécies do gênero estudadas no Novo Mundo eram, até então, polinizadas por elas. Segundo Dressler (1981, 1993), sistemas similares de polinização tendem a influenciar a morfologia floral como resultado direto de interações entre as plantas e seus polinizadores.

Na família Orchidaceae, barreiras à auto-polinização e hibridização entre espécies ocorrem geralmente, por mecanismos pré-zigóticos, principalmente ao nível de polinização (Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1981, 1993), porém, barreiras genéticas têm sido demonstradas para algumas espécies (Johansen, 1990; Pedersen, 1995; Borba et al., 2001). Informações sobre auto-incompatibilidade em orquídeas são escassas (Calder et al., 1982; Ackerman & Oliver, 1985; Kjellson et al., 1985; Agnew, 1986; Kjellson & Rasmussen, 1987; Clifford, 1988; Borba et al., 2001). A limitação de informações sobre mecanismos de auto-incompatibilidade em Orchidaceae se deve, principalmente, ao longo período de desenvolvimento destes organismos e ao número limitado de indivíduos em coleções, onde há necessidade de elevado número de cruzamentos para gerar conhecimento genético suficiente à compreensão dos mecanismos de auto-incompatibilidade.

A capacidade de cruzamento entre espécies de orquídeas tem sido mencionada freqüentemente, como uma medida de relacionamento filogenético (Holtun, 1952; Sanford, 1964, 1967; Wilfret & Kamemoto, 1969). Hogenboom (1975) postulou uma teoria de incongruidade, onde barreiras genéticas inter-específicas intragenéricas ocorreriam entre espécies filogeneticamente

menos relacionadas, o que foi fortalecido por vários estudos (Sanford, 1964, 1967; Stort, 1972, 1986; Scacchi et al., 1990).

Alguns autores como Ornduff (1969, 1978) e Stoutamine (1969), reforçam a importância do conhecimento sobre os sistemas de reprodução em plantas, como auxílio em decisões taxonômicas.

As espécies de *Bulbophyllum* neotropicais apresentam grande variabilidade morfológica ocupando desde áreas abertas de campos rupestres até matas fechadas. As características morfológicas de diferentes espécies podem nos dizer muito sobre a história de vida destes organismos. Segundo Pijl & Dodson (1966) e Faegri & Pijl (1976) tais características surgem como resultado direto de adaptações morfológicas a polinizadores específicos. A variabilidade de características morfológicas, ampla distribuição e heterogeneidade dos ambientes ocupados pelas espécies de *Bulbophyllum* caracterizam este grupo como um dos mais interessantes para se investigar as relações de diferentes grupos morfológicos apresentados por este gênero associados aos ambientes de ocorrência, bem como na adaptação dos mecanismos de polinização a diferentes espécies de polinizadores.

O presente trabalho teve por objetivo estudar a biologia floral, mecanismos de polinização e sistemas de reprodução de *Bulbophyllum regnellii* Rchb. f. , *B. glutinosum* (Barb. Rodr.) Cogn., *B. plumosum* (Barb. Rodr.) Cogn., *B. bidentatum* (Barb. Rodr.) Cogn., *B. epiphytum* Barb. Rodr., *B. micranthum* Barb. Rodr., *B. insectiferum* Barb. Rodr. e *B. adiamantinum* Brade ocorrentes em diferentes áreas como: floresta estacional, matas de galeria e campos rupestres brasileiros, tendo como base a morfologia floral x mecanismos de polinização evoluídos em diferentes ambientes, o relacionamento entre Milichiidae x *Bulbophyllum* neotropicais e a potencialidade de hibridização entre espécies filogeneticamente próximas.

CAPÍTULO 1

Biologia floral e mecanismos de polinização em espécies de *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae): morfologia floral como caráter adaptativo a diferentes ambientes.

RESUMO

Foram estudadas a biologia floral e a polinização de *Bulbophyllum regnellii* na Reserva Municipal da Grotta Funda, em floresta estacional semidecidual montana no município de Atibaia-SP, *B. glutinosum* (Barb. Rodr.) Cogn., *B. plumosum* (Barb. Rodr.) Cogn., *B. bidentatum* (Barb. Rodr.) Cogn., *B. insectiferum* Barb. Rodr. e *B. epiphytum* Barb. Rodr., em campo rupestre e mata de galeria no município de Carrancas-MG, e *B. adiamantinum* Brade, em campo rupestre da Serra do Cabral, município de Joaquim Felício-MG. As espécies estudadas são polinizadas exclusivamente por fêmeas de espécies de diferentes famílias de Diptera como: Tachinidae, Chloropidae, Milichiidae e Sciaridae contrariando suposições anteriores que sugeriam haver uma especificidade exclusiva entre *Bulbophyllum* neotropicais e moscas da família Milichiidae. Foi observada uma especificidade relativamente alta entre as diferentes espécies de *Bulbophyllum* e seus polinizadores. Os mecanismos de polinização das espécies estudadas estão adaptados às suas áreas de ocorrência, maximizando a eficiência de polinização nas áreas de ocorrência das espécies estudadas. Gradações evidentes na morfologia floral, sugerem uma seqüência de adaptações morfológicas florais na transição de grupos anteriormente típicos de mata fechada, pois a maioria das espécies deste gênero, ocorrentes na Ásia, África e Oceania, são de mata e apresentam morfologia semelhante, irradiando até alcançarem outros ambientes como áreas abertas de campo rupestre. A taxa de remoção de polinários variou entre as espécies e a taxa de frutificação foi baixa, refletindo baixa constância dos polinizadores.

INTRODUÇÃO

As orquídeas compõem uma das maiores famílias de Angiospermas, contando com aproximadamente 25.000 espécies (Dressler, 1981, 1993; Pijl & Dodson, 1966), embora outras estimativas existam. De acordo com esses números, a família Orchidaceae é a maior entre as monocotiledôneas, representando 7% de todas as Angiospermas existentes (Pijl & Dodson, 1966).

O gênero *Bulbophyllum* Thouars é um dos maiores dentro de Orchidaceae e conta com aproximadamente 1.000 espécies. O gênero tem distribuição pantropical, embora a maioria de seus representantes estejam no velho mundo, principalmente na Ásia. Cerca de 55 espécies ocorrem no Brasil (Pabst & Dungs, 1975).

As espécies de *Bulbophyllum* e a subtribo Pleurothallidinae são os dois principais grupos miófilos da família Orchidaceae (Pijl & Dodson, 1966) e representam um dos mais interessantes casos de convergência morfológica adaptadas a sistemas similares de polinização na família Orchidaceae (Dressler, 1981, 1993). Adaptações morfológicas especiais a polinizadores específicos para assegurar a polinização predominantemente cruzada são considerados os fatores mais importantes no desenvolvimento e na manutenção do grande número de espécies na família Orchidaceae (Dodson, 1962).

Mesmo sabendo do impressionante número de espécies polinizadas por moscas entre as Orchidaceae, pouca atenção tem sido dada ao estudo da miofilia na família. Borba & Semir (2001) sugeriram que a falta de atenção no estudo da miofilia pode ser, em parte, consequência da reputação dos Diptera como polinizadores ineficientes, irregulares e não confiáveis, caracterizados pela falta de constância e comportamento casual (Pijl & Dodson, 1966; Faegri & Pijl, 1979; Chase, 1985; Christensen, 1994; Proctor et al., 1996).

Trabalhos recentes mostram que relações específicas entre orquídeas e seus polinizadores são possíveis, como no caso de *Bulbophyllum involutum*, *B. ipanemense* e *B. weddellii*, que são polinizados exclusivamente por Milichiidae do gênero *Pholeomyia*. *Bulbophyllum involutum* e *B. weddellii* são polinizados pelas mesmas duas espécies de Diptera, porém com frequência inversa, ou seja, o principal polinizador de *B. weddellii* é secundário para *B. involutum* e vice versa, e

B. ipanemense é polinizado por uma espécie diferente de *Pholeomyia* (Borba & Semir, 1998a). Tal especificidade é, provavelmente, conferida por classes de componentes presentes nas essências das espécies estudadas, que seguem um padrão químico relacionado ao polinizador. *Bulbophyllum weddellii* e *B. involutum* mostram grandes similaridades nos voláteis florais, que são diferentes dos compostos de *B. ipanemense* (Borba & Semir, 1998a; Silva et al., 1999). Borba & Semir (2001) fornecem outros exemplos de especificidade relacionada à polinização de *Pleurothallis fabiobarrosii* e *P. johannensis*, ambas polinizadas por uma espécie de *Tricimba* (Chloropidae), *P. teres* e *P. ochreatea* polinizados por espécies de *Megaselia* (Phoridae) e *P. adamantinensis*, por *Hippelates* sp. (Chloropidae). Em todos esses casos há especificidade entre as espécies de orquídeas e seus polinizadores, e essa especificidade é, provavelmente, conferida quimicamente.

Miiofilas são aquelas espécies vegetais polinizadas por moscas, incluindo todas as suas variações como, por exemplo, sapromiiofilia, representando a segunda grande síndrome de polinização dentro da família Orchidaceae. As estimativas sugerem que 15% (Pijl & Dodson, 1966) a 25% (Christensen, 1994) de todas as orquídeas existentes sejam polinizadas por moscas e que cerca de 20 famílias de Dipteras sejam polinizadores efetivos de Orchidaceae (Christensen, 1994). As principais famílias de Diptera conhecidos como polinizadores de orquídeas são representantes das famílias Mycetophilidae, Sciaridae, Syrphidae e Drosophilidae (Pijl & Dodson, 1966; Reeves & Reeves, 1984; Chase, 1985; Dafni & Calder, 1987; Christensen, 1994; Pedersen, 1995; Bänzinger, 1996), embora outras como Milichiidae, Chloropidae e Phoridae também estejam representadas (Borba & Semir, 1998a, 2001).

Por ser um grupo complexo e com extrema plasticidade morfológica (Vermeulen, 1991), ocupando desde matas fechadas até campos abertos, o gênero *Bulbophyllum* representa um importante grupo para estudos evolutivos, principalmente no que diz respeito aos mecanismos de polinização associados aos ambientes de ocorrência das espécies.

O mecanismo de polinização tido como básico para *Bulbophyllum* foi primeiramente descrito por Ridley (1890) em *B. macranthum*, uma espécie epífita de florestas tropicais do sudeste asiático, onde a mosca passa do ponto de equilíbrio do labelo, sendo pressionada contra coluna da flor. Este

mesmo mecanismo foi novamente relatado para outras espécies de *Bulbophyllum* de interior de matas tropicais (Pijl & Dodson, 1966; Jones & Gray, 1976; Braga, 1977).

Sazima (1978) demonstrou um segundo mecanismo de polinização em uma espécie de *Bulbophyllum* de campo rupestre, *B. warmingianum*, no qual correntes de vento movimentam o labelo e pressionam o polinizador contra a coluna da flor. Este mecanismo de polinização foi, posteriormente, confirmado por Borba & Semir (1998a) em *B. weddellii*, *B. ipanemense* e *B. involutum*, sendo todas estas espécies pertencentes a áreas abertas de campos rupestres brasileiros.

Sistemas similares de polinização tendem a influenciar a morfologia floral como resultado de interações específicas das plantas e seus polinizadores (Dressler, 1981, 1993). Borba & Semir (1998a) sugeriram haver uma especificidade entre as espécies de *Bulbophyllum* neotropicais e moscas da família Milichiidae.

Partindo das proposições acima citadas, foi estudada a biologia floral e a polinização de sete espécies de *Bulbophyllum* em diferentes áreas como: floresta estacional, mata de galeria e campo rupestre. *Bulbophyllum regnellii* Rchb. f. e *B. glutinosum* (Barb. Rodr.) Cogn. possuem morfologia floral semelhante e ocupam áreas de matas fechadas, assim como *B. bidentatum* (Barb. Rodr.) Cogn. e *B. plumosum* (Barb. Rodr.) Cogn. que ocupam áreas abertas ou parcialmente protegidas de campos rupestres, *B. insectiferum* Barb. Rodr. e *B. adiamantinum* Brade que ocupam áreas parcialmente protegidas de campos rupestres e *B. epiphytum* Barb. Rodr., espécie epífita de matas de galeria.

Este trabalho teve por objetivo estudar a biologia floral e os mecanismos de polinização de espécies de *Bulbophyllum* ocorrentes em ambientes variados como: floresta estacional semidecidual montana, matas de galeria e campo rupestre, tendo como base a morfologia x mecanismos de polinização evoluídos em diferentes ambientes e o relacionamento entre Milichiidae e *Bulbophyllum* neotropicais.

METODOLOGIA

Áreas de estudo

O presente trabalho foi conduzido em diferentes ambientes, como campo rupestre, mata de galeria e floresta estacional semidecidual montana, nas regiões centro-norte e centro-sul do estado de Minas Gerais e região leste de São Paulo. As populações de *Bulbophyllum insectiferum*, *B. plumosum*, *B. bidentatum*, *B. glutinosum*, *B. epiphytum* e *B. micranthum* estudadas estão localizadas na Pedreira do Guilherme e cachoeira da Vargem Grande no município de Carrancas, centro-sul do estado de Minas Gerais. A população estudada de *B. adiamantinum* está localizada na Serra do Cabral (contraforte da cadeia do Espinhaço) no município de Joaquim Felício, centro-norte de Minas Gerais. *Bulbophyllum regnellii* teve uma de suas populações estudada, localizada na reserva municipal da Grota Funda no município de Atibaia, leste do estado de São Paulo (Fig. 1).

Os municípios de Carrancas e Joaquim Felício apresentam um tipo de vegetação de transição entre campo rupestre e cerrado em mosaico, com predominância do primeiro, sendo recortada por rios e riachos com largura variável entre 5 e 50 metros, com vegetação característica de plantas arbóreas em suas margens o que permite a ocorrência de espécies epífitas, formando assim, matas de galeria que permitem a passagem do vento (Fig. 2G) dando origem a corredores de vento. Campos rupestre é um tipo de vegetação de altitude (acima de 900m) caracterizado por vegetação aberta, com plantas herbáceas crescendo em solos rasos, arenosos e pedregosos com ervas, subarbustos, arbustos e, raramente, árvores crescendo em ilhas de afloramentos rochosos de arenito (Fig. 2 A, C-F).

A floresta estacional semidecidual montana (Fig. 2B) representa o tipo predominante de vegetação do município de Atibaia. Trata-se de uma transição entre mata atlântica e floresta estacional, que se caracteriza pelo grande porte de suas árvores que formam dossel fechado perdendo parcialmente suas folhas durante a estação seca, sendo influenciadas pela altitude variável e pelo aparecimento de áreas de afloramentos rochosos formados por matacões e maciços de granito.

O clima das três regiões é do tipo mesotérmico com verões brandos e estação chuvosa durante o verão, onde a estação seca persiste por, aproximadamente, 4 meses e coincide com o inverno enquanto a estação úmida dura cerca de 8 meses, coincidindo com o verão, caracterizando um clima do tipo Cwb segundo a classificação de Köppen (1948).

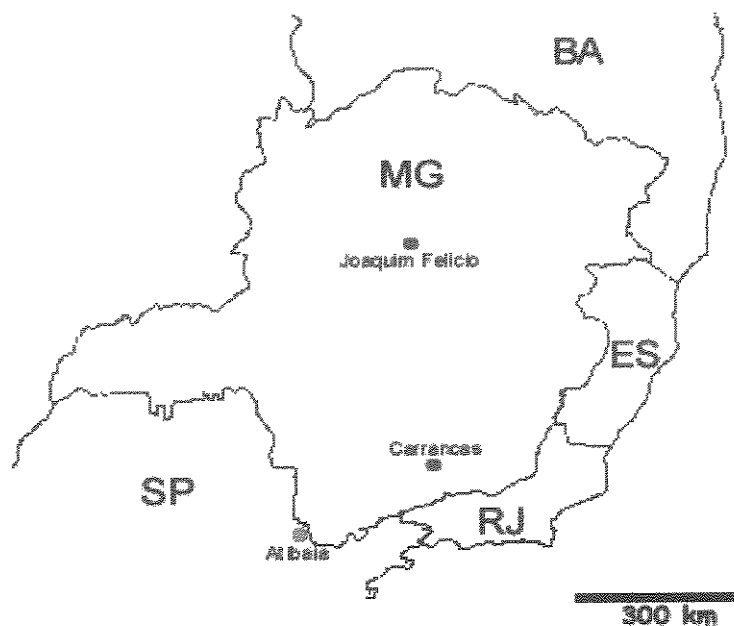


Figura 1 - Mapa com a localização das populações estudadas. ● Reserva Municipal da Grota Funda, Município de Atibaia-SP (*Bulbophyllum regenellii*), ● Cachoeira Vargem Grande e Pedreira do Guilherme, Município de Carrancas-MG (*B. glutinosum*, *B. insectiferum*, *B. epiphytum*, *B. plumosum* e *B. bidentatum*) e ● Serra do Cabral, Município de Joaquim Felício-MG (*B. adiamantinum*).

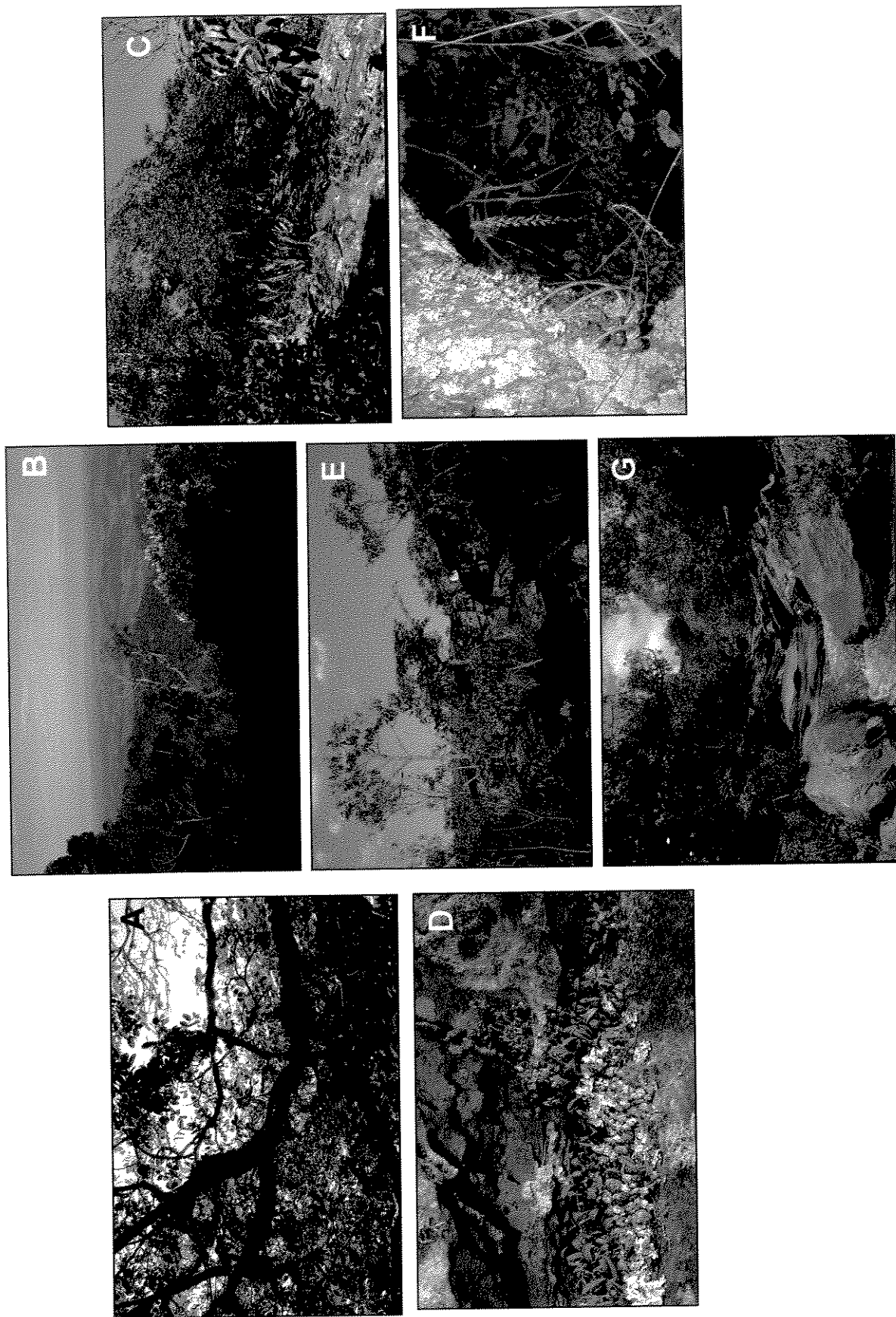


Figura 2 - Áreas de estudo das espécies de *Bulbophyllum*. (A) *B. plumosum* - mata de galeria - dentro; (B) *B. regnellii* - floresta estacional; (C) *B. plumosum* - campo rupestre - parcialmente protegido pela vegetação; (D) *B. bidentatum* - campo rupestre - área aberta; (E) *B. insectiferum* - campo rupestre - parcialmente protegido; (F) *B. adiamantinum* - campo rupestre - parcialmente protegido pela vegetação e afloramentos de rochas; (G) *B. epiphytum* - Mata de galeria - corredor.

Biologia floral

Dados sobre biologia floral e visitantes florais foram obtidos através de visitas esporádicas a populações naturais das sete espécies estudadas, nas localidades acima citadas durante os anos de 2000 e 2001 (Tab. 1). Foram feitas observações em uma população de cada espécie sendo: *B. glutinosum* dentro de mata de galeria (Fig. 3A); *B. regnellii* em floresta estacional (Fig. 3B); *B. plumosum* (Fig. 3C), *B. bidentatum* (Fig. 3D), *B. insectiferum* (Fig. 3E) e *B. adiamantinum* (Fig. 3F) em afloramentos rochosos de campo rupestre; e *B. epiphytum* (Fig. 3G) nas margens de mata de galeria (Tab. 1).

As observações de campo e atividade de visitantes florais foram realizadas, pelo menos a princípio, no intervalo entre as 7:00 e 17:00 horas e quando as visitas ocorriam fora do horário padrão, o intervalo foi mudado para adequar-se aos visitantes, como no caso de *B. glutinosum*, *B. plumosum*, *B. epiphytum*, onde as visitas começavam somente após as 8:00h, e o horário de observação ficou estabelecido entre 8:00 e 17:00h. No final de cada dia de observação, as flores do grupo de observação (indivíduo focal) foram marcadas e examinadas no outro dia para verificação de remoção ou deposição de polinário fora do período de observação.

Simultaneamente às observações dos visitantes florais em campo, foram realizadas medidas de temperatura, umidade relativa do ar e velocidade do vento como parâmetros comparativos com os mecanismos de polinização ocorrentes em áreas abertas (campo rupestre), intermediárias (mata de galeria) e fechadas (floresta estacional) e avaliação do efeito desses fatores ambientais sobre o comportamento dos visitantes. As medidas de temperatura e umidade relativa foram obtidas por meio de termômetro e higrômetro com fio sintético TFA e a velocidade do vento com o auxílio de um anemômetro de palheta, Veb Anemometerbau, Dresden, com precisão de 0,5 m/s.

As medidas de vento, temperatura e umidade relativa do ar foram tomadas a cada meia hora, o mais próximo possível dos indivíduos acompanhados. Juntamente com as medidas do vento foram feitas observações de modificações (movimento) nas flores das espécies estudadas de acordo com a velocidade do vento, possibilitando, dessa maneira, distinguir modificações florais causadas pelo vento e pelos visitantes florais.

Para as espécies que ocorrem em áreas abertas de campo rupestre (*B. bidentatum*, *B. adiamantinum*, *B. insectiferum* e *B. plumosum*), as medidas de temperatura, umidade relativa do ar e velocidade do vento foram tomadas somente no local de observação. Para aquelas que ocorrem em áreas fechadas de floresta estacional (*B. regnellii*), dentro de matas de galeria (*B. glutinosum*) ou áreas intermediárias como corredores de mata de galeria (*B. epiphytum*) que formam corredores de vento, as medidas foram feitas dentro e fora da mata para efeito comparativo (Fig. 2A-C, G).

A taxa de frutificação foi obtida por meio de contagem de cicatrizes florais e de frutos em desenvolvimento de cada inflorescência, em cada indivíduo encontrado em campo. A taxa de indivíduos florescendo foi obtida de maneira visual, sendo considerados todos os indivíduos presentes nos mesmos locais onde foram feitas observações dos polinizadores.

A taxa de remoção e deposição de polinários foi obtida por meio de flores fenescidas coletadas em campo, quando ainda estavam inseridas na raque, fixadas em FAA 50% e levadas ao laboratório para contagem do número de flores que tiveram o polinário removido, com o auxílio de estereomicroscópio. Tal estimativa só foi possível porque as flores de quase todas as espécies estudadas, exceto *B. bidentatum*, habitualmente retêm tanto a antera como o polinário após o fenescimento.

Todos os visitantes florais foram coletados e armazenados por via seca (montagem em triângulo de papel em alfinete entomológico) e fotografados, sendo enviados para identificação por especialistas. O material coletado se encontra em coleção particular do autor e será depositado no Museu de História Natural da UNICAMP (ZUEC).

Tabela 1 - Localização geográfica, número de horas de observação, datas de observação e populações estudadas de *B. glutinosum*, *B. regnellii*, *B. bidentatum*, *B. plumosum*, *B. insectiferum*, *B. adiamantinum* e *B. epiphytum*.

Espécie	População	Localização	Horas de observação	Data de observação	Material testemunho
<i>B. glutinosum</i>	Carrancas - MG	21°30'28"S- 44°36'00"W	72	25-28, 30- 31/03/2001 e 1- 2, 04/04/2001	<i>C. F. Verola, E. L. Borba & J. Semir s.n. (UEC 122.331)</i>
<i>B. regnellii</i>	Atibaia - SP	22°30'S-44°40'W	120	5-6, 8, 10, 12/04/2000 e 3, 5, 7, 12-14/03/2001	<i>C. F. Verola, E. L. Borba & J. Semir s.n. (UEC 122.330)</i>
<i>B. bidentatum</i>	Carrancas - MG	21°30'28"S- 44°36'00"W	50	4-8/01/2001	<i>C. F. Verola, E. L. Borba & J. Semir s.n. (UEC 122.328)</i>
<i>B. plumosum</i>	Carrancas - MG	21°30'28"S- 44°36'00"W	72	25-28, 30-31/03/2001 e 1-2, 4/04/2001	<i>C. F. Verola, E. L. Borba & J. Semir s.n. (UEC 122.329)</i>
<i>B. insectiferum</i>	Carrancas - MG	21°30'28"S- 44°36'00"W	60	19-21/09 e 11-13/11/2000	<i>C. F. Verola, E. L. Borba & J. Semir s.n. (UEC 122.334)</i>
<i>B. adiamantinum</i>	Joaquim Felício - MG	17°43'S- 44°17'W	90	6-15/09/2000	<i>C. F. Verola, E. L. Borba & J. Semir s.n. (UEC 122.332)</i>
<i>B. epiphytum</i>	Carrancas - MG	21°30'28"S- 44°36'00"W	81	8-10, 14-18, 20-21/11/2000	<i>C. F. Verola, E. L. Borba & J. Semir s.n. (UEC 122.327)</i>

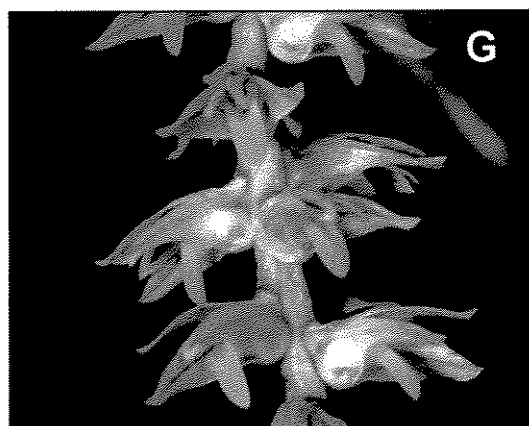
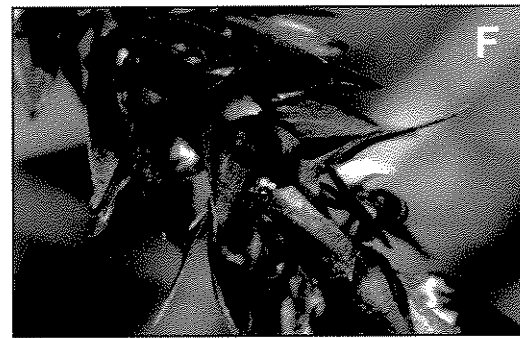
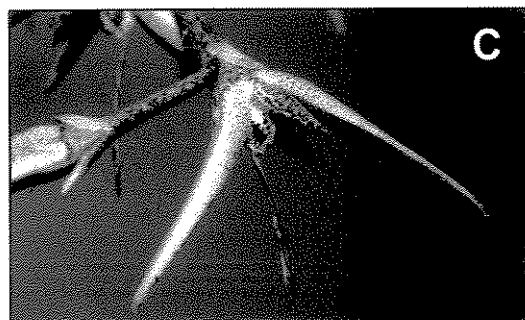
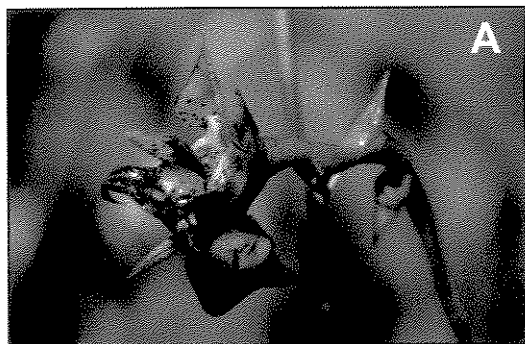


Figura 3- Flores das espécies estudadas, *B. glutinosum* (A), *B. regnellii* (B), *B. plumosum* (C), *B. bidentatum* (D), *B. adiamantinum* (E), *B. insectiferum* (F) e *B. epiphytum* (G).

RESULTADOS

BIOLOGIA FLORAL

Morfologia vegetativa e floral

Bulbophyllum glutinosum Barb. Rodr. (Fig. 4)

Ervas exclusivamente epífitas. Inflorescência lateral, em racemo, pedúnculo 16-23 cm comp., 0,7-0,9 mm diâm., ereto, rígido, verde, com 5-8 brácteas estéreis na base do pedúnculo, 6-10 mm comp., verdes, tornando-se, posteriormente paleáceas, ápice agudo; racemo 7-9 cm comp., 3-9 flores, rígida, raque verde-avermelhado, genuflexo. Brácteas florais 6,5-7,3x4,5-5 mm, largamente triangulares, persistentes, verdes tornando-se paleáceas na antese, ápice agudo. Pedicelo + ovário 2,5-2,8 mm comp. Flores ressupinadas pelo curvamento do raque; sépalas carnosas, cordadas, obliquamente caudadas, côncavas, face dorsal verde, face ventral verde com pontuações púrpuras; sépala dorsal 6-6,5x5-5,5 mm, ereta, verde com pontuações e manchas púrpuras; sépalas laterais 10-10,3x4,5-5 mm, patentes, roxo-púrpuras com manchas e pontuações verdes, ápice acuminado, margem lisa; pétalas 0,4-1 mm, levemente carnosas, truncadas, eretas, roxas com pontuações verdes e cremes, ápice truncado, margem papilosa. Labelo 5,4-5,8x2,4-2,5 mm, carnoso, ereto, genuflexo, em ângulo de 45° com a coluna, articulado com o pé de coluna, parte proximal com dois dentes longos e falcados; lobos laterais eretos, revolutos, falcados, atro-purpúreos com pontuações verdes; lobo mediano purpúreo, ápice obtuso a arredondado, margens revolutas, levemente papilosas; calo roxo-púrpura, oblongo, longitudinalmente sulcado. Coluna 6,5-6,8 mm comp., verde com pontuações róseas e roxas, com duas estelídeas, dois dentes longos e falcados na face ventral; antera, rósea, papilosa, dois pares de polínias. Fruto cápsula, com sulcos longitudinais delimitando os carpelos.

Bulbophyllum regnellii Reichb. f. (Fig. 5)

Ervas exclusivamente epífitas. Inflorescência lateral, em racemo, pedúnculo 5,5-10 cm comp., 0,2-0,5 mm diâm., curvado, laxa, verde, com 5-7 brácteas estéreis na base do escapo, 4,5-5,5 mm comp., verde-translúcidas, posteriormente paleáceas, ápice obtuso a agudo; racemo 13,5-35 mm comp., 1-5 flores, laxa, verde, curvada em direção vertical. Brácteas florais 3,5-4,5x2-2,5 mm, ovadas, persistentes, verde-translúcidas, tornando-se paleáceas na antese, ápice mucronado. Pedicelo + ovário 1,8-2,3 mm comp. Flores ressupinadas pelo curvamento do raque; sépalas sub-membranáceas, côncavas, face dorsal branco-translúcida, face ventral branco-translúcida com listras longitudinais variando de róseas a lilases; sépala dorsal 4,5-5,5x3,7-4,2 mm, ereta, cordada; sépalas laterais 6,5-7x5-6 mm, ereto-patentes, obliquamente ovadas, eretas, branco-translúcidas com listras róseas a lilases, ápice obtuso, margem papilosa; pétalas 1x0,65 mm, membranáceas, oblíquas, eretas, brancas com listras longitudinais lilases, ápice obtuso, margem lisa. Labelo 4,5-5,5x2-2,5 mm, carnoso, ereto, genuflexo, em ângulo de 15° com a coluna, articulado com o pé da coluna; lobos laterais eretos, levemente auriculares, levemente papilosos, brancos; lobo mediano listrado longitudinalmente de rosa, levemente convexo, base truncada, ápice emarginado, margens laterais involutas, lisas; calo discretamente côncavo, branco-rosáceo. Coluna 5,5-5,8 mm comp., branco-esverdeada, com duas estelídeas curtas e discretas, dois dentes falcados e curtos na face ventral; antera branco-amarelada, papilosa, dois pares de polínias. Fruto cápsula com estrias longitudinais delimitando os carpelos.

Bulbophyllum plumosum (Barb. Rodr.) Cogn. (Fig. 6)

Ervas epífitas, ocasionalmente rupícolas. Inflorescência lateral em racemo, pedúnculo 5,5 –17 cm comp., 0,5-1 mm diâm., curvado, rígido, verde-avermelhado, com 4-8 brácteas estéreis na base, 3-10 mm comp., verde-avermelhadas, tornando-se, posteriormente paleáceas, ápice obtuso; racemo 1,5-7,9 cm comp., 2-10 flores, laxo, raque púrpura-esverdeada, curvada em direção vertical. Brácteas florais 5,2-7,6x1,6-2 mm, ovadas, persistentes, verde-avermelhadas tornando-se paleáceas após o fenescimento floral, ápice agudo. Pedicelo + ovário 2-2,8 mm comp. Flores ressupinadas pelo curvamento da raque; sépalas carnosas, oblíquas, oblongas, fundidas, naviculadas, agudas, face

dorsal verde, face ventral verde, levemente arroxeadas; sépala dorsal 14-16,5x1,6-1,8 mm, ereta; sépalas laterais 14-16,5x1,6-1,8 mm; reflexas; pétalas 5,4-6,1x1,3-2,1 mm, membranáceas, obliquamente ovadas, eretas, cremes com manchas atro-púrpuras, ápice agudo a obtuso, piloso, margem ciliada. Labelo 13-16,2x1,6-2,3 mm, região proximal carnosa, distal membranácea, patente-pêndulo em ângulo de 80° com a coluna, articulado com o pé da coluna; lobos laterais eretos, auriculado-membranáceos, ciliados, purpúreo-vináceos; lobo mediano purpúreo-avermelhado, convexo, base cordada a truncada; calo vináceo-arroxeadado, oblongo, longitudinalmente sulcado-septado; coluna 3,5-4 mm comp., creme-esverdeada com pontuações púrpuras, com duas estelídias sinuosas, longas, dois dentes longos e levemente falcados na face ventral; antera papilosa, esverdeada, dois pares de polínias. Fruto cápsula com sulcos longitudinais.

Bulbophyllum bidentatum (Barb. Rodr.) Cogn. (Fig. 7)

Ervas exclusivamente rupícolas. Inflorescência lateral, em racemo, pedúnculo 3,8-7,5 cm comp., 0,5-0,8 mm diâm., ereto, rígido, castanho-púrpura, com 3-5 brácteas estéreis na base do pedúnculo, 3,5-7 mm comp., púrpuras, tornando-se paleáceas posteriormente, ápice acuminado. Pedicelo + ovário 1,4-2 mm comp. Flores ressupinadas pela torção do pedicelo; sépalas carnosas, oblongas, côncavas, naviculadas, agudas, face dorsal ocre com listras longitudinais vináceo-avermelhadas, face ventral esverdeado-avermelhada; sépala dorsal 4,3-7x1,3-1,8 mm, ereta; sépalas laterais 4,3-7x1,3-1,8 mm, unidas, eretas, oblíquas; pétalas 1,7-2,3x1,3-1,9 mm, membranáceas, obliquamente lanceoladas, eretas, creme com listras longitudinais vináceo-avermelhadas, ápice obtuso, margem densamente ciliada e levemente papilosa. Labelo 4,5-5x0,7-0,8 mm, carnoso, ereto-pêndulo em ângulo de aproximadamente 35° com a coluna, articulado com o pé da coluna; lobos laterais eretos, auriculados, papilosos, ciliados na região distal, púrpura-avermelhados; lobo mediano papiloso, púrpura, convexo, base emarginada, ápice arredondado; calo púrpura, oblongo, longitudinalmente sulcado. Coluna 1,28-1,5 mm comp., arroxeadado-púrpura clara, com duas estelídias bidenteadas na extremidade, dois dentes falcados na face ventral; antera verde-vinácea, papilosa, dois pares de polínias. Fruto cápsula, sulcado longitudinalmente, delimitando os carpelos.

Bulbophyllum insectiferum Barb. Rodr. (Fig. 8)

Ervas rupícolas ou epífitas. Inflorescência lateral em racemo, pedúnculo 12-17 cm comp., 0,6-0,9 mm diâm., ereto, rígido, púrpura-avermelhado, com 3-6 brácteas estéreis na base, 3,5-14,6 mm comp., roxo-avermelhadas, tornando-se paleáceas posteriormente, ápice obtuso; racemo 15-65 mm comp., 8-36 flores, laxa, raque púrpura, curvada em direção vertical. Brácteas florais 2,4-4,2x1,75-2,3 mm, deltóides, persistentes, púrpura-avermelhadas, tornando-se paleáceas posteriormente, ápice agudo. Pedicelo + ovário 1,5-1,6 mm comp. Flores ressupinadas pelo curvamento da raque; sépalas coriáceas, triangulares, côncavas, agudas, face ventral púrpura-arroxeadas com manchas e pontuações verdes, face dorsal púrpura; sépala dorsal 5-5,8x2-2,2 mm, ereta; sépalas laterais 5-6x3-3,4 mm, patentes a reflexas, oblíquas; pétalas 4,2-5,0 mm, membranáceas, cordado-ovalada, móveis, púrpuras com manchas creme, ápice agudo, levemente papiloso. Labelo 2-2,3x1,4-1,6 mm, carnoso, ereto, em ângulo de 15° com a coluna, articulado, pouco móvel com o pé da coluna; lobos laterais eretos, auriculares, papilosos, roxos; lobo mediano púrpura-arroxeadado, convexo, base retusa, ápice emarginado, margens laterais revolutas, papilosas; calo vináceo, metade proximal sulcada e distal com leves sulcos transversais. Coluna + ovário 2,5-2,6 mm comp., verde-limão, com duas longas estelídias em forma de asa; antera amarela, papilosa, dois pares de polínias. Fruto cápsula, com sulcos longitudinais.

Bulbophyllum adiamantinum Brade (Fig. 9)

Ervas rupícolas ou epífitas. Inflorescência lateral em racemo, escapo 9-30 cm comp., 0,5-1 mm diâm., ereto, rígido, verde com pontuações púrpuras, com 4-6 brácteas estéreis na base do escapo, 7-13 mm comp., translúcidas, tornando-se paleáceas posteriormente, ápice acuminado; racemo 35-120 mm comp., 6-30 flores, laxo, raque verde com pontuações púrpuras, curvada em direção vertical. Brácteas florais 3,5-4x1-1,8 mm, ovadas, persistentes, púrpuras tornando-se paleáceas após a antese, ápice acuminado. Pedicelo + ovário 2-2,3 mm comp. Flores ressupinadas pelo curvamento da raque; sépalas coriáceas, ovado-lanceoladas, côncavas, acuminadas, face dorsal púrpura-arroxeadas com pontuações mais escuras, face ventral púrpura com pontuações e manchas

verdes e vináceas; sépala dorsal 3,8-4x1,6-1,8 mm, ereta; sépalas laterais 3,8-4x2-2,2 mm, membranáceas, lanceoladas, eretas, púrpuras com manchas vináceas e pontos esverdeados, ápice agudo, margem lisa; pétalas 2x0,47 mm, membranáceas, oblanceoladas, eretas, púrpuras com pontuações verdes e cremes, ápice acuminado, margem levemente papilosa. Labelo 1,7-2x1-1,1 mm, carnosos, ereto em ângulo de 15° com a coluna, levemente auricular, papiloso, púrpura-vináceo; lobo mediano púrpuro, discreto, convexo, base retusa, ápice emarginado, margens laterais revolutas, papilosa; calo púrpura-avermelhado, oblongo, metade proximal sulcada, distal levemente sulcada. Coluna 1,2-1,4 mm comp., branco-esverdeada, com duas estelídeas curtas e dois dentes falcados e sinuosos na face ventral; antera amarelo-clara, papilosa, dois pares de polínias. Fruto cápsula, sulcado longitudinalmente, delimitando os carpelos.

Bulbophyllum epiphytum Barb.Rodr. (Fig. 10)

Ervas exclusivamente epífitas. Inflorescência lateral em racemo, pedúnculo 5-12 cm comp., 0,5-1 mm diâm., pendente, levemente rígida, verde, com 3-6 brácteas estéreis na base, 7-9,5 mm comp., oblongas, translúcidas, tornando-se paleáceas posteriormente, ápice obtuso; racemo 2-7,5 cm comp., 6-60 flores, laxo, raque verde, curvada em direção vertical. Brácteas florais 1,8-2x0,8-1 mm, lanceoladas, persistentes, branco-tranlúcidas, tornando-se paleáceas na antese, ápice acuminado. Pedicelo + ovário 0,8-1 mm comp. Flores ressupinadas pelo curvamento da raque; sépalas levemente coriáceas, oblongas a sub-triangulares, côncavas, agudas, brancas com listras róseo-acobreadas; sépala dorsal 3,8-4x0,6-0,7 mm, ereta; sépalas laterais 3,5-4-1,6-1,7 mm, eretas levemente patentes, parcialmente fundidas, brancas com listras longitudinais róseas, oblíquas; pétalas 2,7-2,9x0,6-0,7 mm, membranáceas, oblongas, eretas, brancas com listras róseas, ápice obtuso, margem lisa. Labelo 2,2-2,5x0,8-1 mm, carnosos, ereto, lobo terminal patente, em ângulo de 15° com a coluna, articulado com o pé da coluna; lobos laterais eretos margens revolutas, auriculado-falciformes, papilosos, esbranquiçados; lobo mediano amarelo-limão, convexo, base caniculada, ápice arredondado, margens laterais levemente revolutas, papilosas, calo amarelo, oblongo, longitudinalmente sulcado na metade proximal. Coluna 0,4-0,5 mm comp., branca, com duas

estelídias curtas e discretas, asas ventrais curtas; antera amarelo-pálido-esverdeada, papilosa, dois pares de polínias. Fruto cápsula, sulcado longitudinalmente delimitando os carpelos.

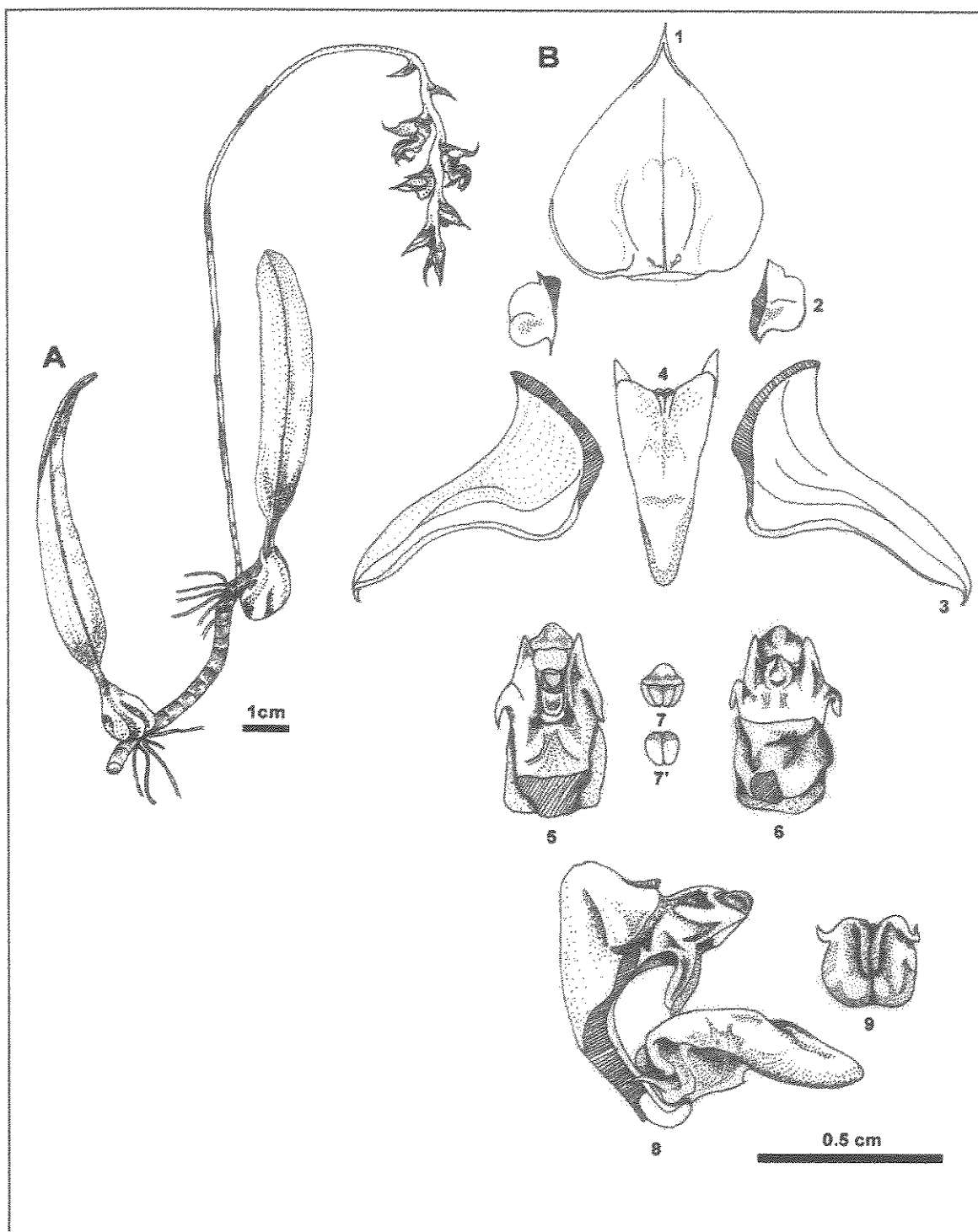


Figura 4- *Bulbophyllum glutinosum*. A-hábito, B-morfologia floral. 1-sépala dorsal; 2-pétala; 3-sépalas laterais; 4-labelo (vista frontal); 5-coluna (vista ventral); 6-coluna (vista dorsal); 7-antera; 7'-polinário; 8-posição normal do labelo em relação à coluna; 9-labelo (vista superior).

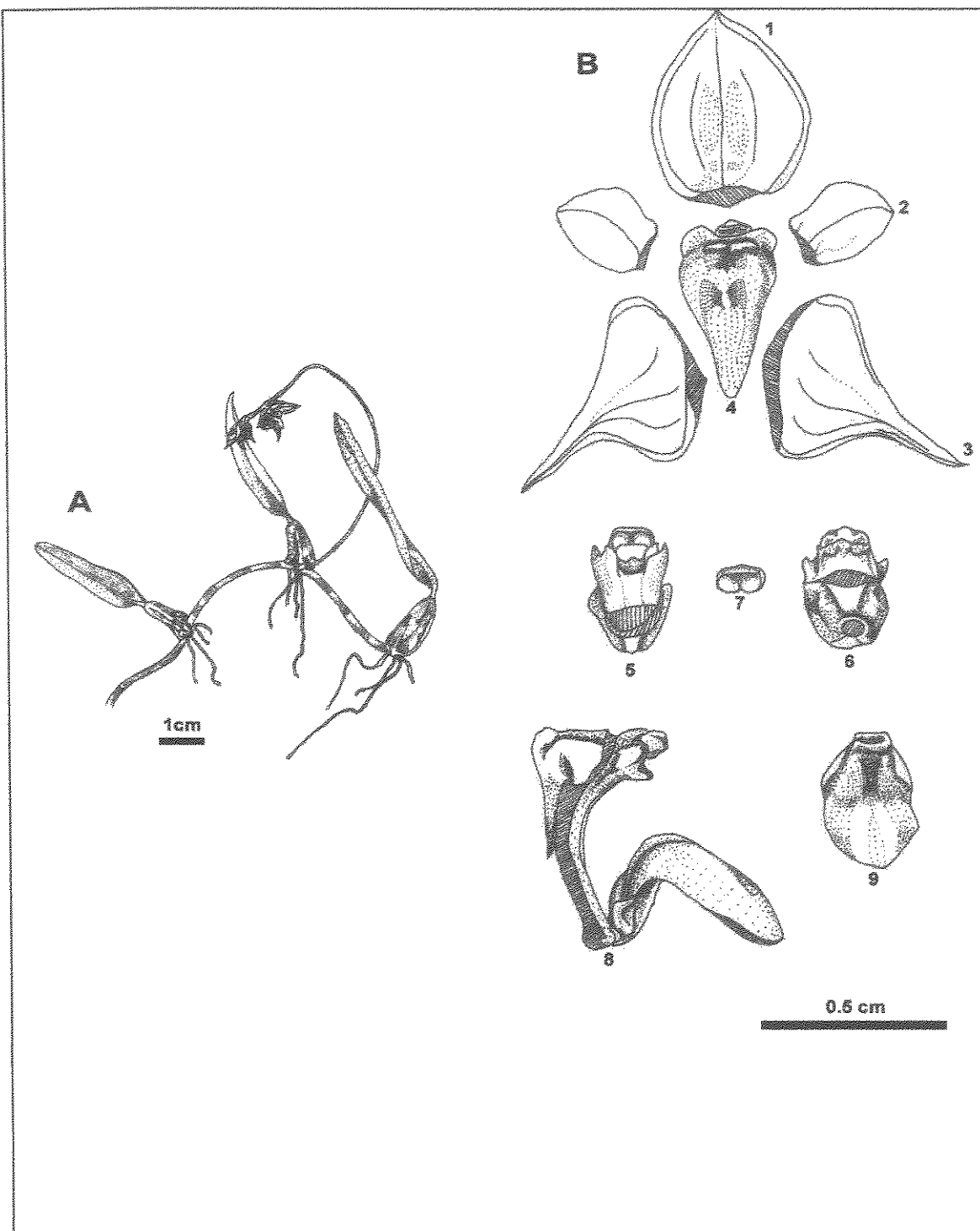


Figura 5- *Bulbophyllum regnellii*. A-hábito, B-morfologia floral. 1-sépala dorsal; 2-pétala; 3-sépalas laterais; 4-labelo (vista frontal); 5-coluna (vista ventral); 6-coluna (vista dorsal); 7-antera; 8-posição normal do labelo em relação à coluna; 9-labelo (vista superior).

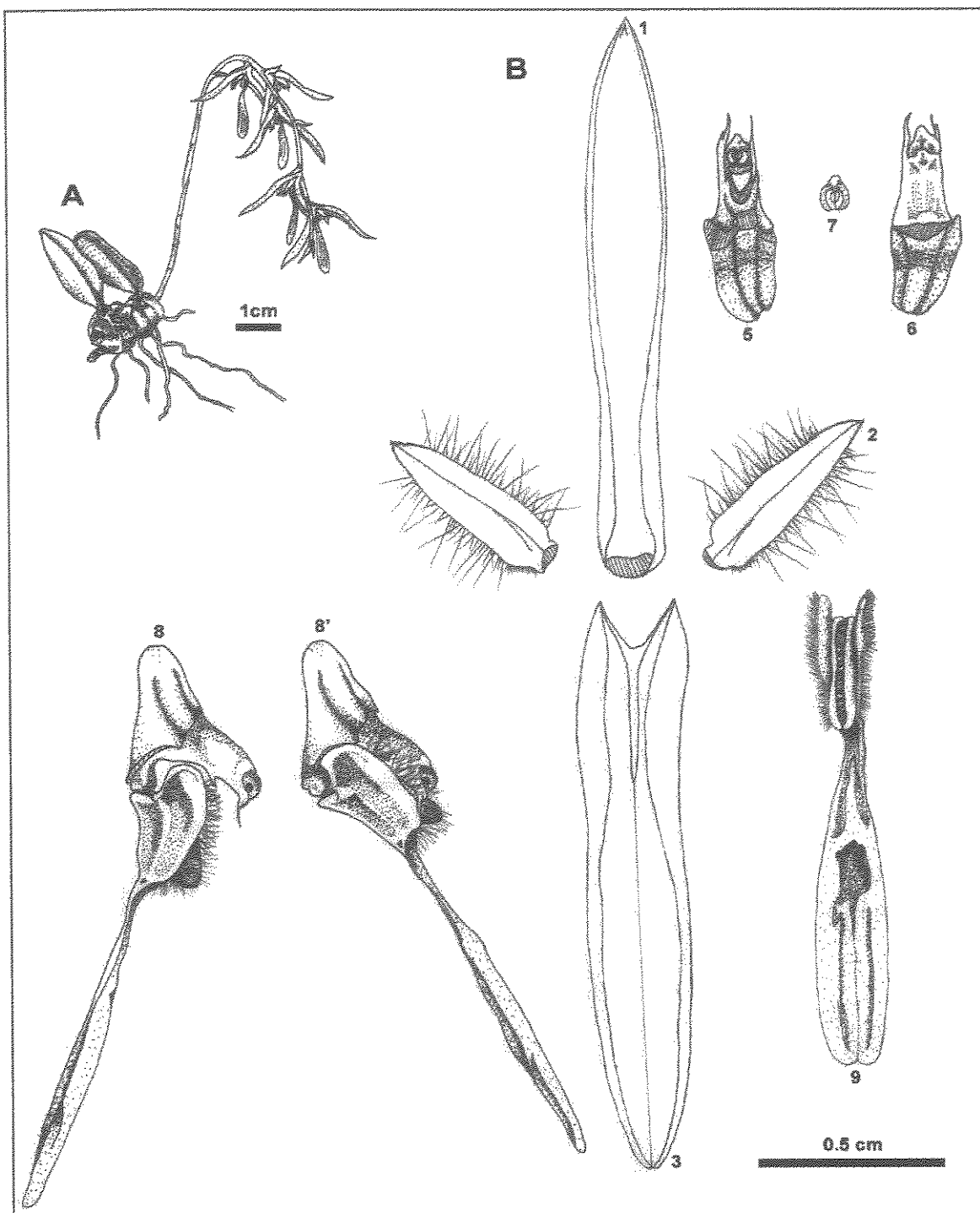


Figura 6- *Bulbophyllum plumosum*. A-hábito, B-morfologia floral. 1-sépala dorsal; 2-pétala; 3-sépalas laterais; 4-labelo (vista frontal); 5-coluna (vista ventral); 6-coluna (vista dorsal); 7-antera; 8-posição normal do labelo em relação à coluna; 8'-posição do labelo durante uma corrente de vento; 9-labelo (vista superior).

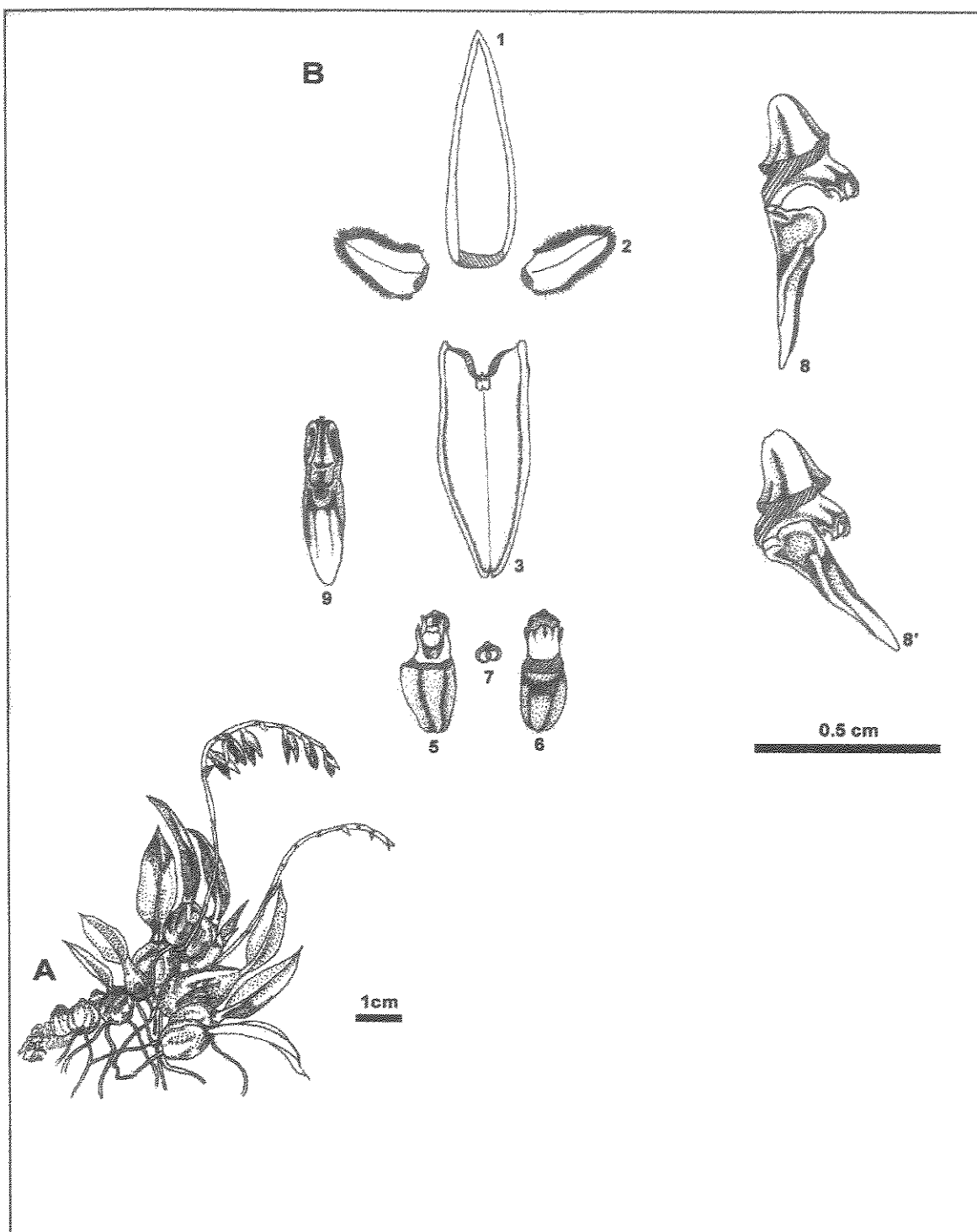


Figura 7- *Bulbophyllum bidentatum*. A-hábito, B-morfologia floral. 1-sépala dorsal; 2-pétala; 3-sépalas laterais; 4-labelo (vista frontal); 5-coluna (vista ventral); 6-coluna (vista dorsal); 7-antera; 8-posição normal do labelo em relação à coluna; 8'-posição do labelo durante uma corrente de vento; 9-labelo (vista superior).

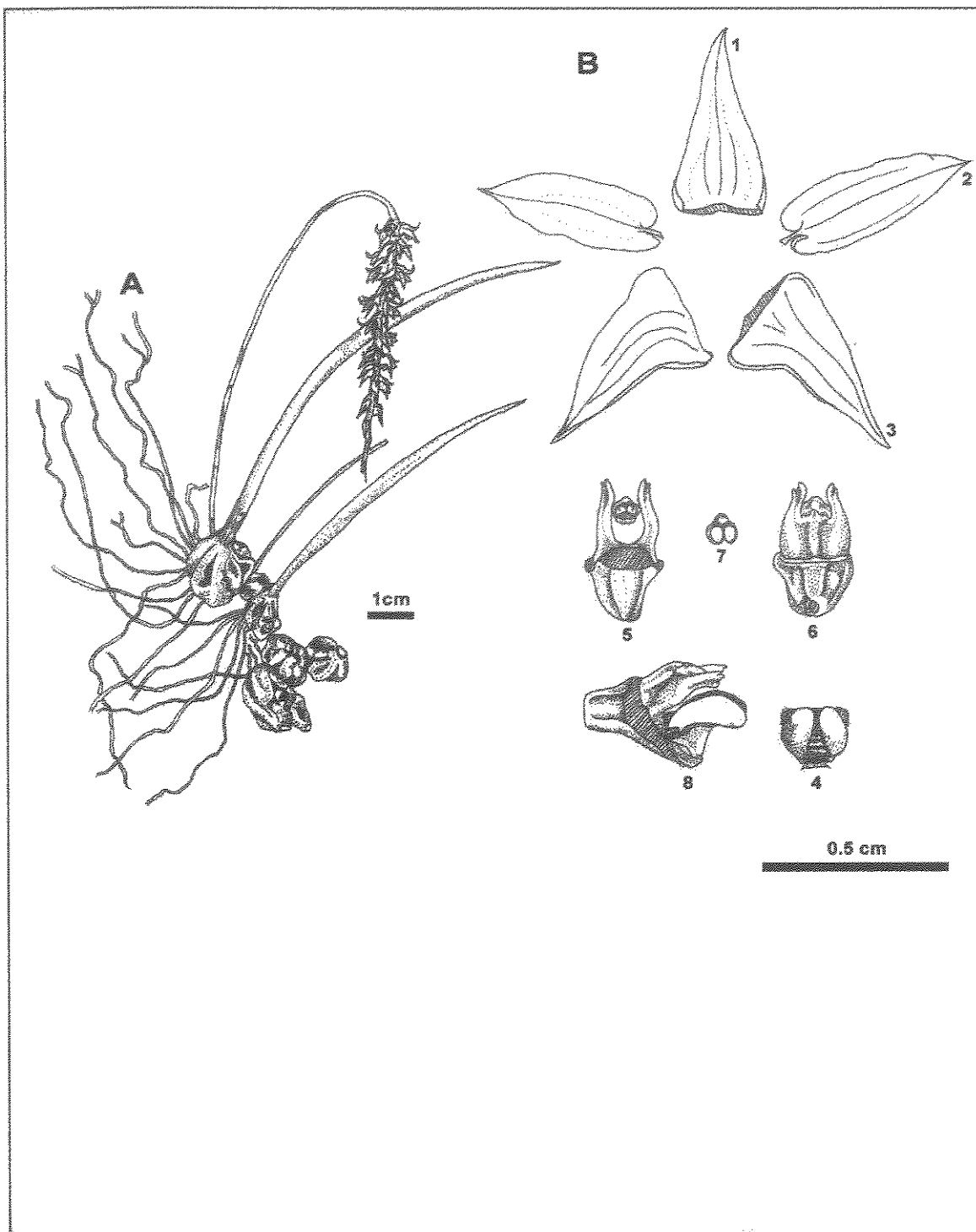


Figura 8- *Bulbophyllum insectiferum*. A-hábito, B-morfologia floral. 1-sépala dorsal; 2-pétala; 3-sépalas laterais; 4-labelo (vista frontal); 5-coluna (vista ventral); 6-coluna (vista dorsal); 7-antera; 8-posição normal do labelo em relação à coluna.

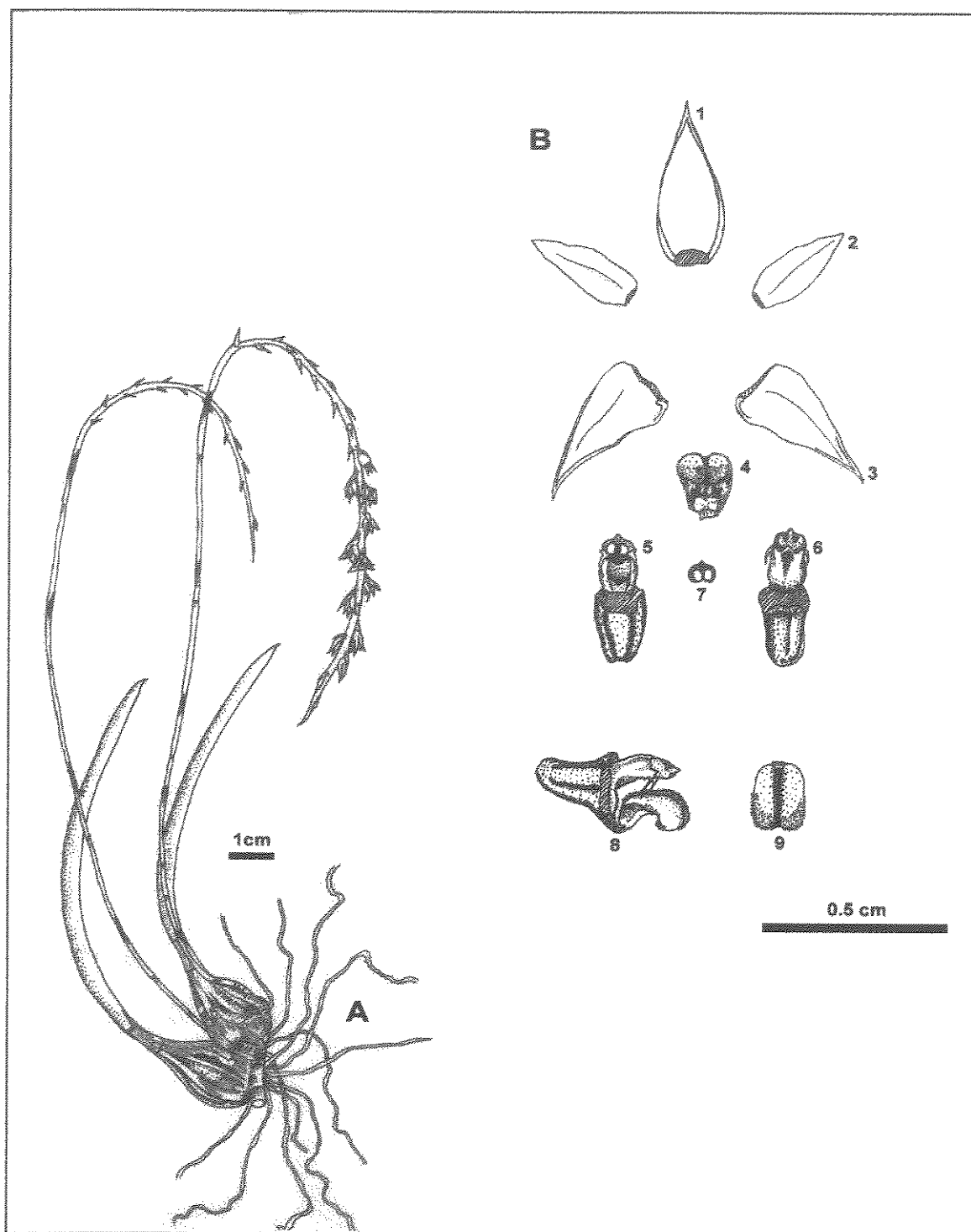


Figura 9- *Bulbophyllum adiamantinum*. A-hábito, B-morfologia floral. 1-sépala dorsal; 2-pétala; 3-sépalas laterais; 4-labelo (vista frontal); 5-coluna (vista ventral); 6-coluna (vista dorsal); 7-antera; 8-posição normal do labelo em relação à coluna; 9-labelo (vista superior).

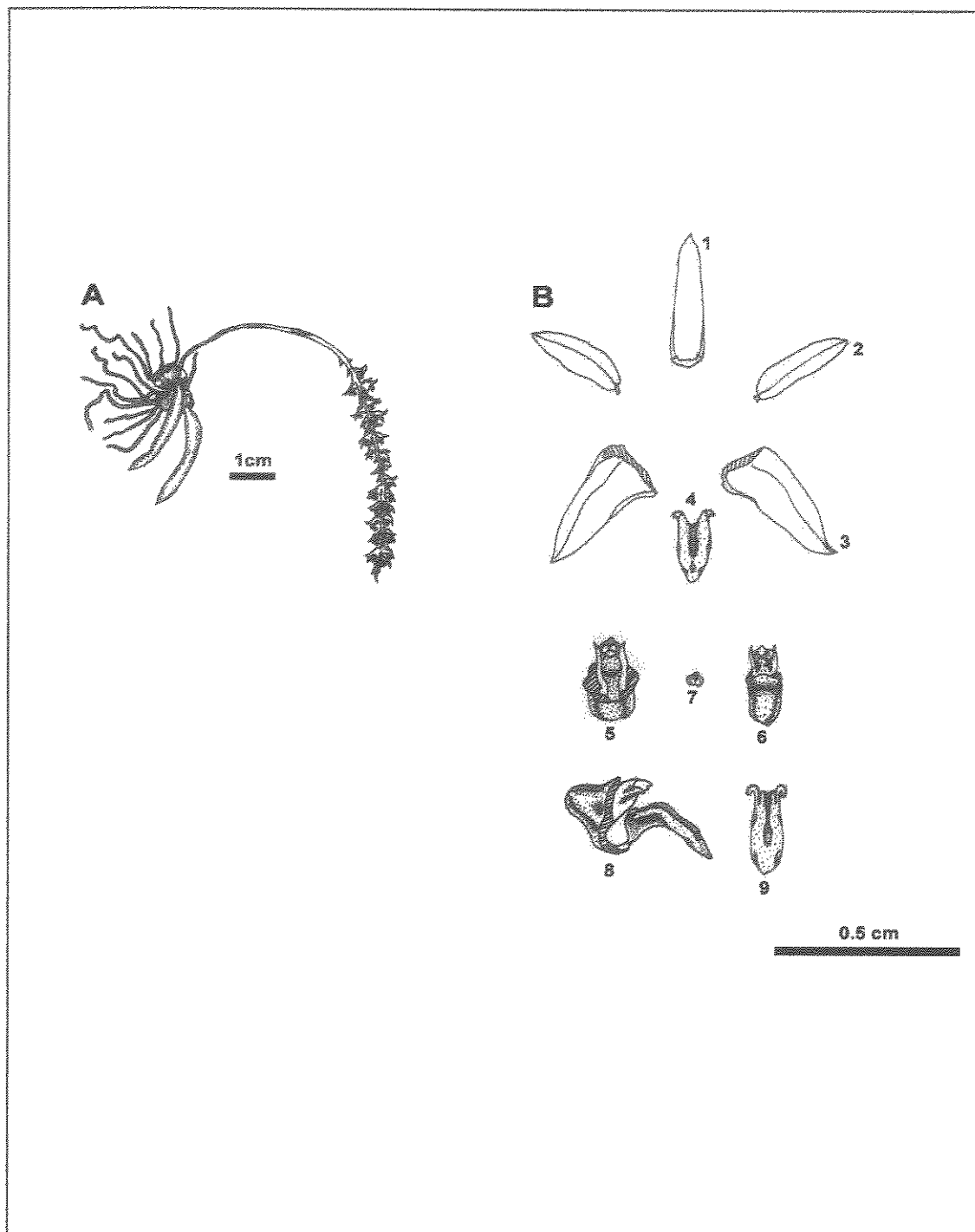


Figura 10- *Bulbophyllum epiphytum*. A-hábito, B-morfologia floral. 1-sépala dorsal; 2-pétala; 3-sépalas laterais; 4-labelo (vista frontal); 5-coluna (vista ventral); 6-coluna (vista dorsal); 7-antera; 8-posição normal do labelo em relação à coluna; 9-labelo (vista superior).

Velocidade do ar, temperatura e umidade relativa

As medidas de velocidade do vento obtidas nas áreas de ocorrência das espécies estudadas mostraram um padrão de ventos distribuídos de forma discreta, de acordo com o tipo de vegetação local, variando entre campo rupestre, com as maiores médias de velocidade registradas, e floresta estacional, com as menores médias. Na floresta estacional e áreas internas de mata de galeria, onde ocorre *B. glutinosum* e *B. regnellii*, respectivamente, as médias de velocidade do vento foram iguais ou inferiores a 0,5 m/s (Fig. 11A e Fig. 11B). Em áreas intermediárias, como matas de galeria (corredores) onde ocorrem as populações de *B. epiphytum*, a velocidade média do vento oscilou em torno de 1,5 m/s (Fig. 11G). Em áreas abertas de campo rupestre com afloramentos rochosos, onde ocorrem as populações de *B. plumosum*, *B. bidentatum*, *B. adiamantinum* e *B. insectiferum* foram registradas as maiores médias de velocidade do vento, entre 1,5 e 2,5 m/s (Fig. 11C-F, respectivamente).

Nas áreas de ocorrência das sete populações estudadas, ocorreu um aumento de temperatura com variações nas médias ao longo do dia. As maiores temperaturas ocorreram nas áreas abertas de campo rupestre, principalmente nas áreas de ocorrência de *B. plumosum* (Fig. 12C), *B. bidentatum* (Fig. 12D), *B. adiamantinum* (Fig. 12 E) e *B. insectiferum* (Fig. 12F), sendo as maiores temperaturas registradas para área de ocorrência de *B. bidentatum* (Fig. 12D) que cresce sobre rocha nua a pleno sol, com médias oscilando entre 25 e 35 °C, respectivamente.

As temperaturas mais amenas ocorrem em áreas fechadas (floresta estacional), onde ocorre *B. regnellii* (Fig. 12B) e em áreas intermediárias (no interior e nos corredores de matas de galeria) onde estão as populações de *B. glutinosum* (Fig. 12A) e *B. epiphytum* (Fig. 12G). Medidas de umidade relativa do ar para todas as áreas estudadas, mostraram-se inversamente proporcionais à temperatura do ambiente, decrescendo ao longo do dia e aumentando com o entardecer (Fig. 12A-C e 12D-G).

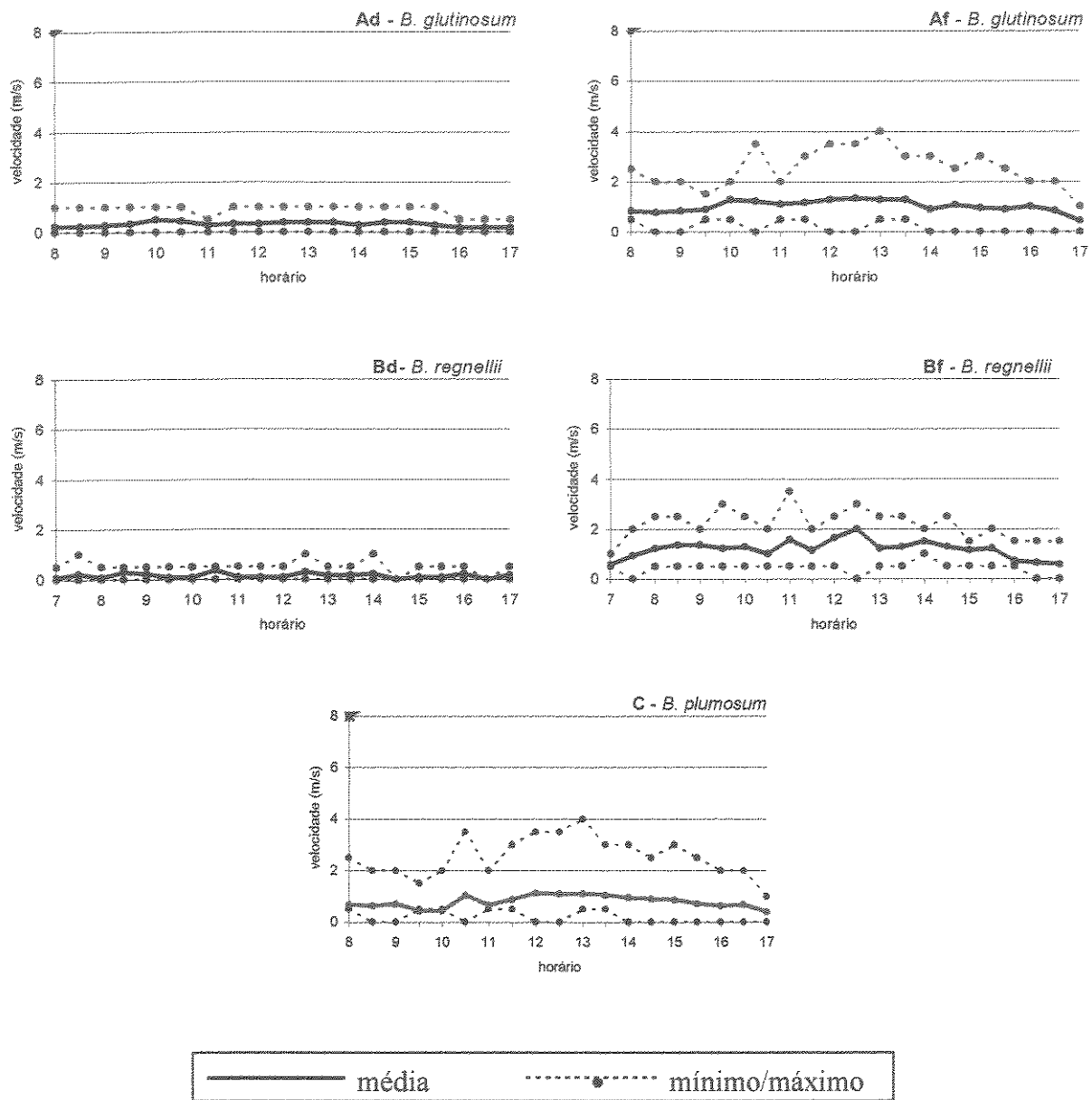


Figura 11- Dados médios, mínimos e máximos de velocidade do vento em áreas de ocorrência de *B. glutinosum* (A), *B. regnellii* (B) (d= dentro da mata e f= fora da mata) e *B. plumosum* (C), durante os períodos de observação de visitantes.

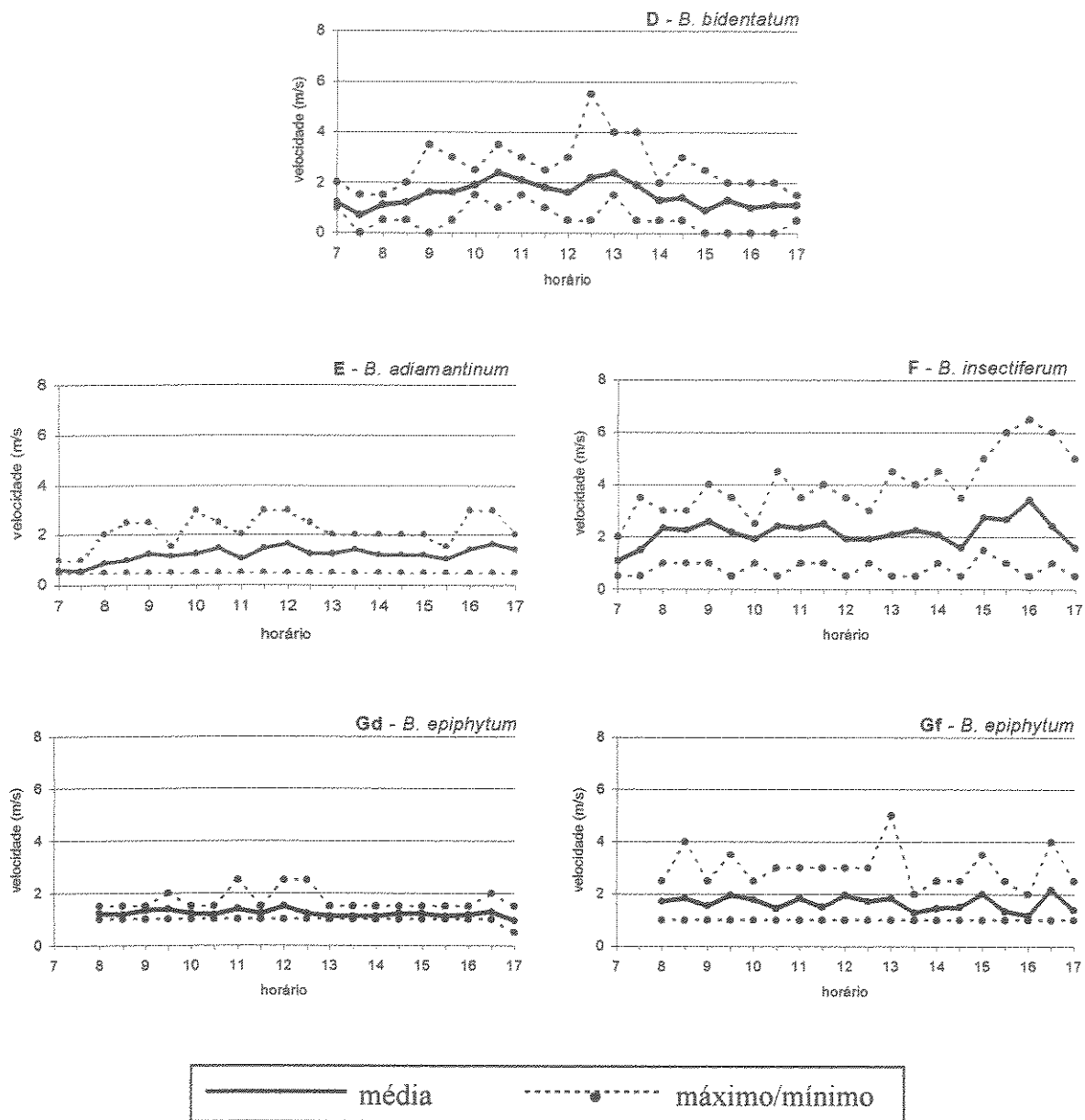


Figura 11 continuação - Dados médios, mínimos e máximos de velocidade do vento em áreas de ocorrência de *B. bidentatum* (D), *B. adiantinum* (E), *B. insectiferum* (F) e *B. epiphytum* (G) (d= dentro da mata e f= fora da mata), durante os períodos de observação de visitantes.

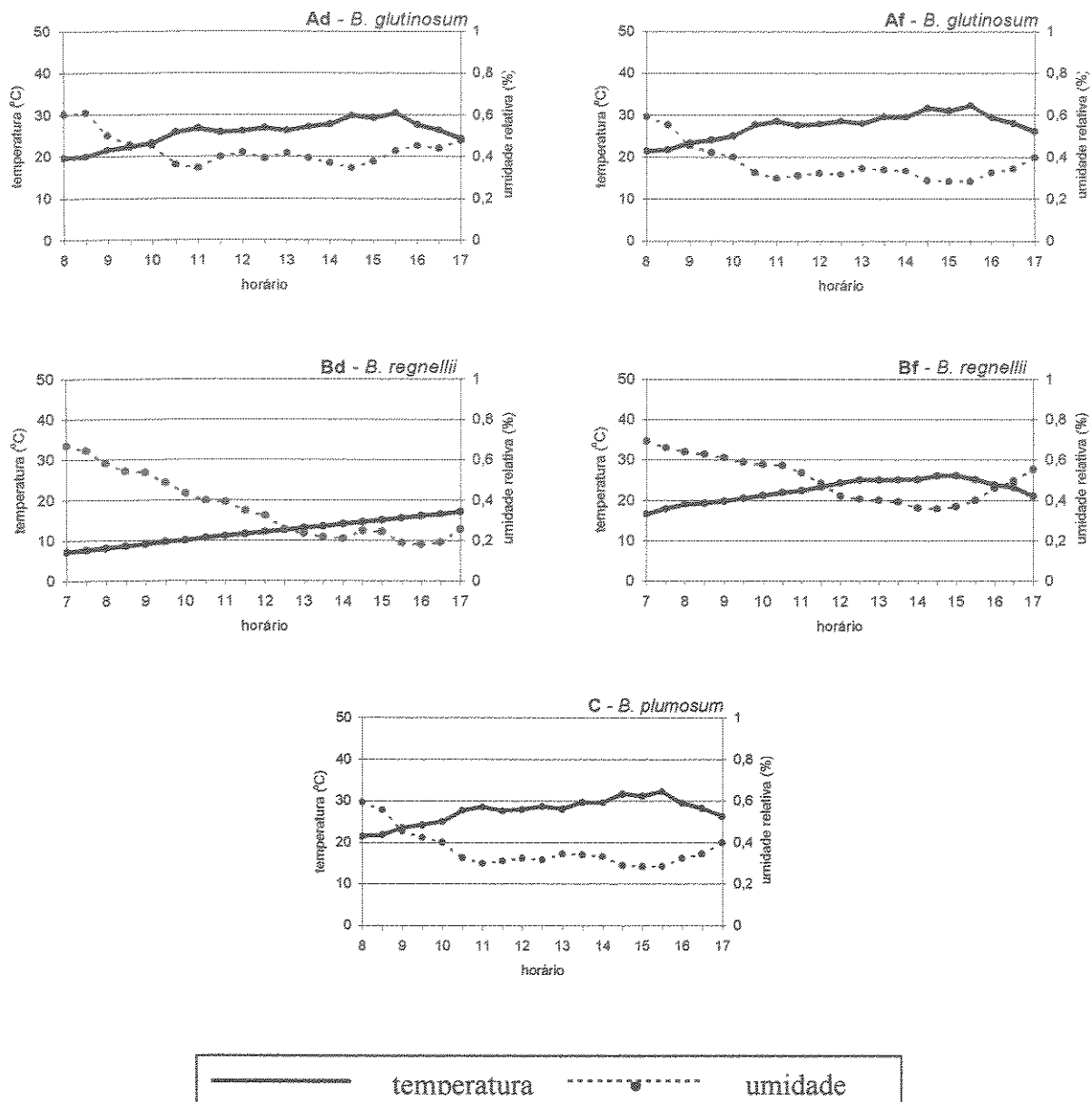


Figura 12- Dados médios de temperatura e umidade relativa do ar nas áreas de ocorrências de *B. glutinosum* (A), *B. regnellii* (B) (d= dentro da mata e f= fora da mata) e *B. plumosum* (C), durante os períodos de observação de visitantes.

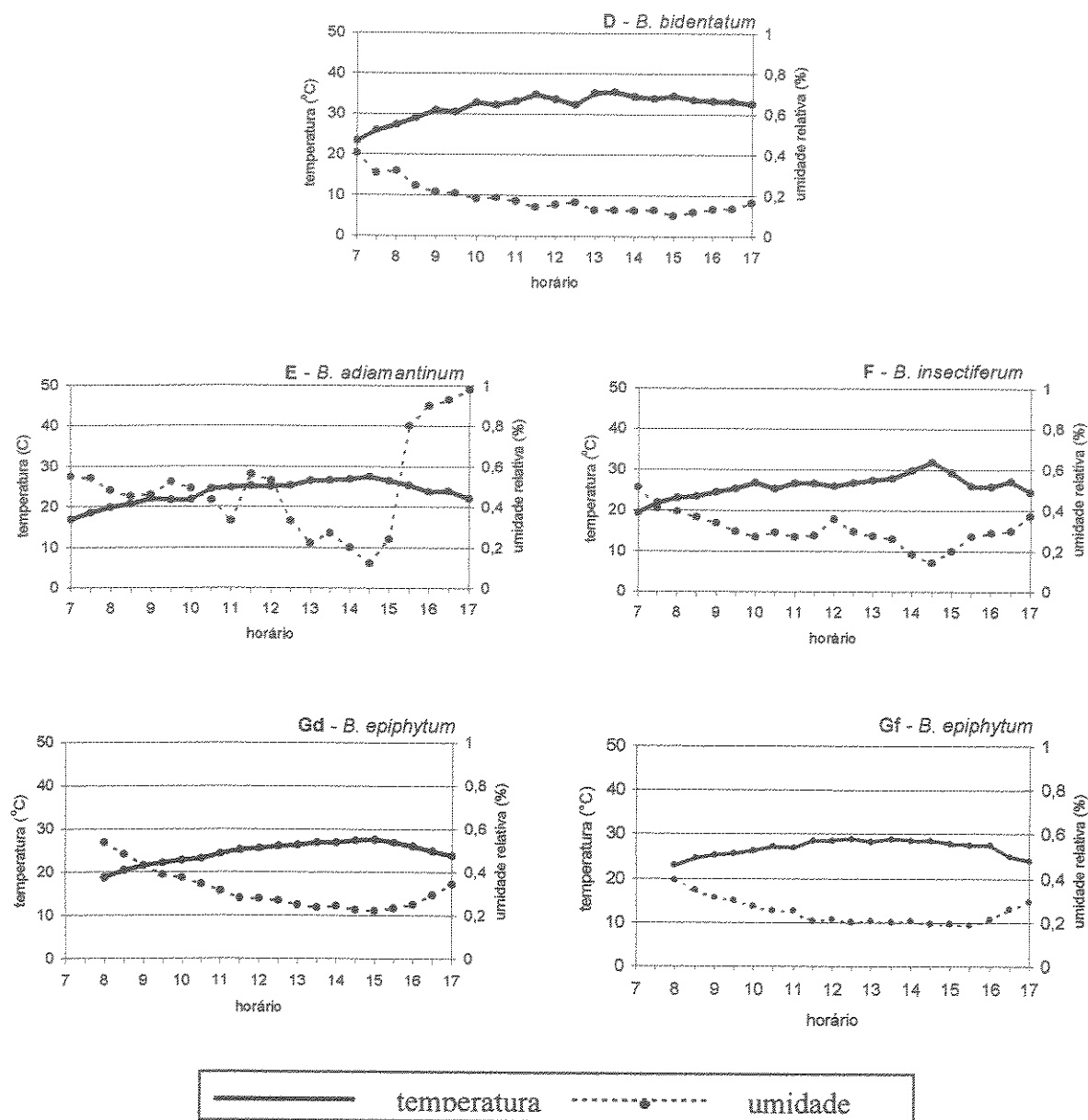


Figura 12 continuação- Dados médios de temperatura e umidade relativa do ar de nas áreas de ocorrências de *B. bidentatum* (D), *B. adiamantinum* (E), *B. insectiferum* (F) e *B. epiphytum* (G) (d= dentro da mata e f= fora da mata), durante os períodos de observação de visitantes.

Fenologia de floração, emissão de odores e néctar

Bulbophyllum glutinosum (Barb. Rodr.) Cogn.

Os indivíduos desta espécie iniciam a abertura das primeiras flores do início para a metade de fevereiro e o pico de floração ocorre no início de abril, com a floração se estendendo até o início de maio. Apesar de não ter sido efetuada nenhuma medida, aparentemente metade da população acompanhada floresceu.

Cada indivíduo apresenta, geralmente, uma inflorescência, cada uma contendo de três a nove flores, sendo mais freqüente o número de seis flores por inflorescência. O tempo de maturação dos frutos desta espécie não foi acompanhado.

A antese ocorre entre 8:00 e 13:00h, podendo levar até 3h para a abertura total da flor. A inflorescência é um racemo, com antese seqüencial da base para o ápice, abrindo uma flor por dia em cada inflorescência, que fica disponível, na maioria das vezes, por um ou, no máximo, dois dias.

O processo de antese é iniciado com o aumento da fenda entre a sépala dorsal e as laterais. As sépalas laterais sofrem uma torção para trás e suas extremidades se curvam quase totalmente. Durante o processo, a sépala dorsal cresce ligeiramente em comprimento e largura até tomar o seu tamanho definitivo e as sépalas laterais se distendem em direção oposta à coluna da flor. Durante a distensão das sépalas laterais, a fenda entre elas aumenta de tamanho o que permite a projeção do labelo para frente quando toma o posicionamento pendente definitivo.

Nesta espécie há produção de odor levemente desagradável, lembrando cheiro de matéria vegetal em decomposição, que se inicia logo após a antese e perdura por quase todo o dia. O néctar é produzido logo após a antese e durante todo o dia, acumulando-se na base do labelo. Não foi possível mensurar a quantidade de néctar produzido devido ao seu volume reduzido.

Bulbophyllum regnellii Rchb. f.

Os indivíduos desta espécie apresentam um desenvolvimento lento das inflorescências, começam a emitir os escapos florais em agosto, mas a antese das primeiras flores ocorre apenas em meados de março e começo de abril do ano seguinte. O pico de floração ocorre em meados do mês

de abril. Aparentemente 75% da população floresce ao ano, embora isso não tenha sido medido efetivamente.

Cada indivíduo pode apresentar entre uma e 12 inflorescências, cada uma contendo de uma a cinco flores, sendo mais freqüente o número de três flores por inflorescência. O desenvolvimento completo dos frutos leva cerca de 4,5 meses.

A antese ocorre predominantemente entre 7:30 e 11:30h e, eventualmente, durante a tarde, podendo durar até 3,5h para se completar. A antese das flores é seqüencial, ficando disponíveis por quatro ou cinco dias, abrindo-se uma flor por dia em cada inflorescência.

O processo de antese se inicia com o aumento da fenda entre a sépala dorsal e as laterais, quando as laterais sofrem um curvamento para trás e suas extremidades se viram quase totalmente. Durante este processo, a sépala dorsal cresce em comprimento e largura até tomar o seu tamanho definitivo e as sépalas laterais se distendem em direção oposta à coluna da flor. Durante a distensão das sépalas laterais, a fenda entre elas aumenta o que permite a projeção do labelo para frente quando toma o posicionamento pendente definitivo.

Nesta espécie há produção de um leve odor de canela, com pico de liberação ocorrendo no mesmo horário de produção do néctar. O pico de produção do néctar ocorre entre 10:00 e 14:00 h, geralmente logo após a antese floral, e ele se acumula na base do labelo em uma fenda formada entre a união das sépalas laterais e a inserção do labelo. No final do dia, por volta das 16:30h, ocorre um aumento na concentração do néctar que se torna mais viscoso. Não foi possível mensurar a quantidade de néctar produzido devido ao seu volume reduzido.

Bulbophyllum plumosum (Barb. Rodr.) Cogn.

Os indivíduos começam a desenvolver suas inflorescências no início de dezembro e a floração se estende até meados de maio. O pico de floração ocorre durante o final de março e início de abril. Apesar de não ter sido medida, aparentemente 75% da população acompanhada floresceu.

Cada indivíduo pode apresentar entre um e três inflorescências, cada uma contendo de três a dez flores, sendo o número mais comum cinco flores por inflorescência. Os frutos têm um período de desenvolvimento de aproximadamente 4,5 meses.

A antese ocorre principalmente entre as 9:00 e 12:30h, porém é comum flores abrirem mais cedo ou mais tarde. A antese das flores de um mesmo indivíduo é simultânea e as flores abrem no mesmo dia e ficam disponíveis por aproximadamente sete dias. Pode ocorrer, eventualmente, a abertura das flores inseridas no final da raque no dia seguinte.

O processo de antese se inicia com a expansão da fenda formada entre a sépala dorsal e as margens superiores das sépalas laterais, já que as sépalas inferiores são fundidas, dando início ao processo de distensão entre as sépalas laterais e a dorsal, expondo lentamente o labelo que ainda não apresenta mobilidade. Quando as sépalas atingem um ângulo de aproximadamente 90° entre si a antese é completada. Nesta fase, o labelo se solta da sépala dorsal e toma a posição pendular típica apresentando mobilidade sob ação do vento. As flores estão dispostas disticamente na raque e com a abertura voltada para baixo.

Não foi percebida a emissão de odores nem a produção de néctar por flores desta espécie.

Bulbophyllum bidentatum (Barb. Rodr.) Cogn.

Os indivíduos começam a emitir inflorescências no início de novembro e a floração se estende até meados de janeiro ou início de fevereiro. O pico de floração ocorre durante o final de dezembro e início de janeiro. Apesar de não ter sido efetuada nenhuma medida, aproximadamente metade dos indivíduos da população acompanhada floresceu.

Cada indivíduo pode apresentar entre um e três inflorescências, cada qual contendo de três a oito flores, sendo mais comum o número de seis flores por inflorescência. Os frutos levam aproximadamente 2,5 meses para completar seu desenvolvimento.

A antese ocorre principalmente no período da manhã, entre 7:00 e 10:00h, podendo durar até 2,5h, mesmo sendo verificadas anteses esporádicas no período da tarde. A antese de todas as flores de uma inflorescência ocorre simultaneamente, e as flores ficam disponíveis por aproximadamente oito dias.

O processo de antese se inicia com a expansão das fendas de união entre a sépala dorsal e as margens superiores das sépalas inferiores, já que as sépalas inferiores são fundidas, dando início ao processo de distensão entre as sépalas ventrais e a dorsal, expondo lentamente o labelo que ainda

não apresenta mobilidade. Quando as sépalas atingem um ângulo de aproximadamente 75° entre si a antese é completada e o labelo pendente apresenta mobilidade sob ação do vento. As flores estão dispostas disticamente na raque e sempre com a abertura voltada para baixo.

Não foi percebida a emissão de odores e nem a produção de néctar pelas flores desta espécie.

Bulbophyllum insectiferum Barb. Rodr.

A floração inicia-se em agosto, estendendo-se até meados de novembro, com pico de floração no final do mês de setembro. Mesmo não tendo sido efetuadas medidas, aproximadamente metade da população acompanhada floresceu.

Cada indivíduo pode apresentar entre uma e seis inflorescências, cada uma contendo de dez a 30 flores. Os frutos têm um período de desenvolvimento de aproximadamente 6,5 meses.

A antese ocorre principalmente no período da manhã, entre 8:00 e 12:00h, podendo durar de 3,5 a 4 h, mesmo sendo verificadas anteses esporádicas à tarde. Cada inflorescência pode apresentar antese de duas a três flores por dia. Cada inflorescência pode apresentar entre seis e 12 flores disponíveis a cada dia, sendo que cada flor fica disponível por um período de aproximadamente cinco dias entre a antese até o fenescimento.

As flores iniciam a antese expandindo as fendas de união entre as sépalas, dando início ao processo de distensão das sépalas que sofrem um curvamento em direção à raque, expondo as pétalas que ainda não apresentam mobilidade. Durante a abertura das sépalas laterais e dorsal, o labelo antes recolhido, aos poucos é projetado para frente tomando seu posicionamento definitivo. Após este processo, as pétalas já estão livres o suficiente para se moverem sob ação do vento.

Nesta espécie há emissão de odor levemente desagradável e ácido, lembrando matéria vegetal em decomposição, pouco perceptível ao olfato humano, principalmente nas flores mais jovens e logo após a antese. As flores produzem uma pequena quantidade de néctar logo após a antese que se acumula na base do labelo na forma de uma película cristalizada.

Bulbophyllum adiamantinum Brade

Os indivíduos começam a emitir as inflorescências no final de julho e a floração se estende até meados de outubro, com o pico de floração ocorrendo no mês de setembro. Aparentemente metade da população acompanhada floresceu, embora não tenham sido feitas medidas.

Cada indivíduo pode apresentar entre uma e três inflorescências, cada qual contendo de seis a 38 flores. O tempo de desenvolvimento dos frutos é de cerca de 6,5 meses.

A antese ocorre, principalmente, no período da manhã, entre 8:00 e 12:00h, ou à tarde, entre 13:00 e 15:00h, e leva de 2,5 a 3 h, podendo ocorrer de duas a três anteses por dia por inflorescência. Cada inflorescência pode apresentar entre cinco e oito flores disponíveis a cada dia (mais comumente cinco), sendo que cada flor fica disponível por um período de cinco a seis dias entre a antese e o fenescimento.

As flores iniciam a antese expandindo as fendas de união entre as sépalas, dando início ao processo de distensão das sépalas laterais que sofrem um curvamento em direção à raque, o que não ocorre com a sépala dorsal que sofre um leve curvamento do ápice em direção à raque. As pétalas não sofrem nenhuma alteração e ficam na mesma posição do início ao final da antese. Durante a abertura das sépalas laterais, o labelo, antes recolhido, aos poucos é projetado para frente tomando seu posicionamento definitivo, quando forma um ângulo ca. 90 ° entre sua base e a raque.

Nesta espécie há emissão de odor adocicado e levemente ácido, pouco perceptível, ocorrendo principalmente por volta das 9:00h e persistindo por toda tarde. Há uma pequena produção de néctar na base do labelo, o qual se acumula na forma de uma fina película cristalizada sobre a base do labelo.

Bulbophyllum epiphytum Barb. Rodr.

Os indivíduos começam a emitir inflorescências em setembro e o pico de floração ocorre durante todo o mês de novembro. De todas as espécies estudadas, esta foi a única que teve estimado o número de indivíduos da população florescendo, com um resultado de aproximadamente 72,8%.

Cada indivíduo pode apresentar entre um e nove inflorescências, contendo de seis a 60 flores. O tempo de desenvolvimento dos frutos é de cerca de 4,5 meses.

A antese ocorre, principalmente, no período da manhã, entre 6:30 e 11:30h, podendo levar até 4h, sendo verificadas algumas anteses esporádicas à tarde. A antese de todas flores na inflorescência geralmente ocorre simultaneamente e, eventualmente, algumas flores se abrem no dia seguinte. Cada flor fica disponível de sete a nove dias desde a antese até o fenescimento.

As flores iniciam a antese expandindo as fendas de união entre as sépalas laterais e, depois disso, ocorre um aumento das fendas entre as sépala dorsal e as laterais. As sépalas laterais se distendem ligeiramente em direção à coluna, e o labelo, aos poucos, é projetado para baixo até tomar sua posição pendente definitiva.

Nesta espécie há emissão de odores durante o dia todo, que se assemelham ao odor doce e cítrico de flores de laranja, com o pico de produção ocorrendo nas horas mais quentes do dia (entre 11:00 e 15:00 h), iniciando logo após a antese floral e persistindo até o fenescimento. Há produção e acúmulo de néctar na base do labelo logo após a antese, porém o seu volume reduzido impossibilitou a sua medição.

Visitantes florais

Todas as espécies que tiveram a biologia floral estudada são polinizadas exclusivamente por moscas, e a polinização ocorre somente durante o dia. Cada espécie de *Bulbophyllum* investigada neste trabalho é polinizada exclusivamente por fêmeas de moscas de uma única família, exceto *B. epiphytum* e *B. insectiferum*, nas quais machos podem chegar a efetuar a polinização. Várias famílias de Diptera estão envolvidas na polinização de diferentes espécies de *Bulbophyllum* estudadas, como: Tachinidae, Chloropidae, Milichiidae e Sciaridae.

Bulbophyllum glutinosum

Na população estudada, os visitantes florais foram exclusivamente fêmeas de uma espécie de Diptera da família Tachinidae (Fig. 13A), sem contudo haver tentativas de oviposição.

As visitas ocorreram durante o dia todo, intensificando-se entre 11:00 e 16:00h (Fig. 14A). Foi verificada uma única remoção de polinário, às 15:02h e nenhuma remoção ou depósito de polinário ocorreu fora do horário de observação (entre 17:00 e 8:00h).

Durante as observações, foi constatado que esta espécie é a mais visitada entre todas as estudadas, sendo o número de visitas, em relação ao pouso dos visitantes, o maior entre todas as espécies (Fig. 14A). No entanto, ao contrário do esperado, foi observada somente uma remoção de polinário durante as 72h de observação.

Os visitantes se aproximam das flores por meio de vôos de reconhecimento, que quase sempre terminam em pouso em qualquer parte da planta, principalmente sépala dorsal ou raque da inflorescência.

O inseto percorre, geralmente, toda a inflorescência que, na maioria das vezes, apresenta somente uma flor disponível, fazendo visitas legítimas inserindo parcialmente o corpo no interior da flor, sem, no entanto, tocar as partes reprodutivas.

Estas moscas entram na flor à procura do néctar produzido e armazenado na base do labelo onde se detém libando por até 15 segundos. Iniciam a visita subindo na parte distal do labelo, que se desloca (Fig. 15A-B). Ao subir pelo labelo e caminhar em direção à sua base, o inseto passa do ponto

de equilíbrio do labelo que volta repentinamente, ao posicionamento inicial, jogando o inseto contra a coluna da flor (Fig. 15C). Na maioria das vezes, o inseto é jogado contra coluna com pressão insuficiente para que este fique preso no rostelo da flor que é viscoso. Para que a remoção ocorra, a mosca tem que sair da flor andando para trás (Fig. 15D). Tal comportamento é raramente visto, e quase sempre a mosca se vira para a região externa da flor antes de abandoná-la. O polinário fica, então, aderido ao tórax do inseto (Fig. 15D), que visita flores das inflorescências vizinhas, a mesma inflorescência ou a mesma flor novamente.

Bulbophyllum regnellii

Durante as 50 horas de observação no ano de 2000 (Tabela 1), não houve nenhuma visita legítima de Diptera. As únicas visitas legítimas às flores foram feitas por uma espécie de Halictidae (Hymenoptera) que, ao entrarem nas flores à procura de néctar, forçavam o labelo para baixo, sem contudo encostarem nas partes reprodutivas das flores. Os visitantes mais freqüentes foram formigas que forrageavam as flores durante os picos de produção de néctar, quando entravam na flor sem tocar nas partes reprodutivas, não sendo observada nenhuma remoção de polinário por elas. Muitas vezes as visitas das formigas eram feitas de modo legítimo e após várias visitas passavam a pilhar o néctar pela parte abaxial da flor entre a inserção do labelo e as sépalas laterais. Não houve remoção de polinários fora do horário de observação.

No ano de 2001 foram feitas mais 70 horas de observação, totalizando 120h (entre 2000 e 2001-Tabela 1). Durante as últimas observações, moscas da família Syrphidae e Tachinidae fizeram vôos de reconhecimento nas flores desta espécie, sem contudo efetivarem pousos ou visitas nas flores. Por outro lado, visitas legítimas de uma espécie de Halictidae (Hymenoptera) foram freqüentes, com o mesmo comportamento descrito acima, sem contudo removerem o polinário.

Bulbophyllum plumosum

Durante 81 horas de observação focal, foram vistas somente fêmeas de uma espécie de Chloropidae do gênero *Gaurax* sp. (Chloropidae) (Fig. 13C), visitando e forrageando flores desta

espécie. Não foi constatado nenhum comportamento destes insetos, que indicasse tentativa de oviposição.

As visitas ocorrem principalmente entre 11:30 e 15:00h, intensificando-se entre 11:00 e 13:00h, sendo que todas as remoções de polinário ocorreram entre 9:00 e 13:00h (Fig. 14B). Nenhum polinário foi depositado ou removido fora do horário de observação. As visitas sempre ocorreram com maior frequência até a temperatura alcançar 30°C (Fig. 12C) e com ventos de 1,5 m/s (Fig. 11C) em média. A ocorrência de ventos muito fortes pode afetar a polinização, já que os polinizadores acessam as flores voando e só pousam nelas quando a velocidade do vento está em torno de 1,0 a 1,5 m/s (comparar Fig. 14B e 11C), acima dessa velocidade a inflorescência balança impedindo o pouso dos visitantes.

Foram observadas dez visitas legítimas com remoção de polinário, sendo comum o pouso destas moscas sem visitas legítimas na flor. Os visitantes aproximam-se das flores por meio de vôos erráticos, pousando quase sempre na sépala dorsal, raque ou diretamente na parte distal do labelo (Fig. 15E). Após o pouso, a mosca começa a se deslocar lentamente, sobe pelo labelo até atingir o calo labelar onde fica por cerca de 5-15 minutos libando (Fig. 15F), apesar desta espécie não produzir néctar e nem odores perceptíveis. Durante este período, ventos abaixo de 1,0 m/s e acima de 1,5 m/s são incapazes de mover o labelo/inflorescência de maneira correta, o que espanta a mosca.

Ventos entre 1,0 e 1,5 m/s são necessário para mover o labelo de forma eficiente (Fig. 15F) e jogar a mosca contra a coluna e prendê-la na cola rostelar (Fig. 15G). Depois de presa, a mosca fica se debatendo por até 25 minutos e tentando agarrar as laterais do labelo, que voltou ao seu posicionamento original depois de prendê-la. Ao conseguir se segurar nas laterais do calo, a mosca se desprende da cola rostelar, quando um vento suficientemente forte para desestabilizar o labelo ocorre novamente (Fig. 15G). O polinizador sai da flor com o polinário aderido ao dorso do tórax (Fig. 15H), podendo permanecer no labelo por vários minutos ou retornar à mesma flor ou inflorescência após a remoção do polinário, o que facilita a geitonogamia e a autopolinização.

Bulbophyllum bidentatum

Durante 50 horas de observação focal, foram observadas moscas da família Sciaridae e Chloropidae voando próximo ao grupo de observação, sem se aproximarem das flores e nem efetuarem pousos nas flores ou inflorescências.

Esta espécie possui um labelo extremamente móvel, longo e carnoso (Fig. 7B). Outra adaptação ao vento é a inflorescência voltada para baixo com flores inseridas disticamente na raque (Fig. 7A), para facilitar a polinização independentemente da direção do vento. Somente correntes de 1,5 m/s são capazes de deslocar o labelo com eficiência e, por consequência, a base do labelo contra a coluna da flor (Fig. 7B). A incidência de ventos com velocidade superior a 1,5 m/s movimenta demais a inflorescência o que, possivelmente, espantaria os visitantes. Os ventos inferiores a 1,5 m/s são capazes de promover o balanço rápido do labelo, sem, contudo, deslocá-lo o suficiente para promover uma aproximação entre a coluna e a base do labelo o que é necessário para a polinização.

Não houve remoção de polinários fora do horário de observação, em nenhum dos indivíduos acompanhados em campo.

Bulbophyllum insectiferum

Na população estudada os visitantes florais foram duas espécies de Diptera, uma da família Milichiidae (*Pholeomyia* sp.) (Fig. 13B) e uma outra de Chloropidae (*Apallates* sp.) sendo todos os visitantes, fêmeas.

As visitas ocorreram principalmente entre 9:30 e 17:00 h, porém se intensificavam entre as 12:00 e 15:00 h, e todas as remoções de polinário ocorreram entre 14:00 e 17:00 h (Fig. 14C). As visitas são mais freqüentes logo após chuvas rápidas ou no dia seguinte à chuva e com a incidência do sol diretamente sobre as flores. Correntes de ar, dependendo da intensidade, podem afetar a visitação, pois as moscas só pousam nas inflorescências quando há ventos de 1,0 m/s causando a movimentação das pétalas florais. As visitas deixam de ocorrer quando o vento ultrapassa a velocidade de 1,0 m/s e a inflorescência movimenta-se muito, impossibilitando o pouso dos visitantes. Nenhum polinário foi removido fora do horário de observação (entre 19:30 e 07:00 h do dia seguinte).

Durante as observações, duas espécies de Milichiidae visitaram as flores, uma maior (*Pholeomyia* sp.1) (Fig. 13B), uma menor (*Pholeomyia* sp.2) e uma espécie de Chloropidae (*Apallates* sp.). Porém, somente *Pholeomyia* sp.1 foi capaz de remover e depositar o polinário com eficiência. Foram observadas sete visitas legítimas com remoção de polinário das flores, sendo comuns visitas ilegítimas nas quais o visitante apenas liba a face abaxial do labelo. Os visitantes aproximam-se das flores por meio de vôos erráticos, pousando diretamente na parte distal da raque ou, algumas vezes, no meio da raque entre duas flores, sendo poucas vezes vistos pousos diretos sobre a flor (Fig. 15J). A mosca percorre várias flores da mesma inflorescência, sendo comum entrar parcialmente na flor sem tocar nas partes reprodutivas. O comportamento mais comum destes insetos é percorrer as flores da inflorescência libando a parte abaxial do labelo, onde se detêm por cerca de três minutos. Ao entrar na flor, o inseto procura por alimento, uma pequena quantidade de néctar produzido na base do labelo e que, muitas vezes, se apresenta cristalizado e pouco perceptível a olho nu. Procurando néctar, o inseto entra na flor que se estreita por causa das calosidades laterais do labelo e projeções (estelídeas) em forma de asa na coluna (Fig. 8B). A mosca força a entrada na flor empurrando o labelo para baixo. Ao chegar no final da cavidade floral a mosca perde o apoio devido à morfologia do labelo, que volta ao seu posicionamento inicial e acaba pressionando a mosca contra a coluna (Fig. 15K). O inseto força a saída da flor retrocedendo, tocando o dorso do tórax no rostelo da coluna e fica preso por cerca de 30 minutos debatendo-se para sair. Ao sair a mosca remove o polinário (Fig. 15L), sem remover a antera que fica retida na coluna. Após a remoção do polinário, o inseto sai da flor andando e imediatamente entra na flor mais próxima, no sentido das flores recentemente abertas, depositando o polinário removido e recomeçando o processo, repetindo o mesmo comportamento de visita por até três vezes, indo embora em seguida.

Bulbophyllum adiamantinum

Em toda a população estudada ocorreram somente pousos de Diptera nas extremidades das inflorescências, por moscas semelhantes a Milichiidae, porém não foi observada nenhuma visita legítima nas flores desta espécie. Mesmo os pousos foram ocasionais e esporádicos (13 pousos em

90 horas de observação) e ocorreram principalmente entre 13:00 e 16:30 h. Nenhum polinário foi removido de flores marcadas fora do horário de observação.

Bulbophyllum epiphytum

Durante as 81 horas de observação (Tab. 1), foram observadas exclusivamente visitas de moscas da família Sciaridae, realizadas por quatro espécies do gênero *Bradisia*. Três dessas espécies, *Bradisia* sp.1, *Bradisia* sp.2 e *Bradisia* sp.3, foram representadas somente por fêmeas, enquanto *Bradisia* sp.4 foi representada somente por machos. As visitas ocorreram principalmente entre 8:00 e 16:00h, intensificando-se entre 11:00 e 13:00 h, e todas as remoções de polinário ocorreram entre as 9:00 e 12:00 h (Fig. 14D). As visitas ocorrem principalmente nos horários em que a temperatura está se tornando mais quente e a umidade mais baixa (comparar com Fig. 12G). Não foi constatada nenhuma remoção de polinário fora do horário de observação.

Bradisia sp.1 (Fig. 13D2) é menor que *Bradisia* sp.2 e de coloração creme-amarelada com listras transversais negras; *Bradisia* sp.2 (Fig. 13D1) é maior e de coloração castanho-escura com listras transversais negras. As duas morfoespécies foram capazes de remover o polinário de *B. epiphytum*, havendo variações na eficiência de remoção.

Os indivíduos de *Bradisia* sp.1, devido ao menor tamanho, geralmente não tocam as partes reprodutivas da flor e não removem o polinário quando entram em flores recém abertas. Estes indivíduos se mostram eficientes em remover polinários de flores menores ou mais velhas que já estão em fenescimento. A remoção de polinário, neste caso, só é possível devido ao recolhimento do labelo durante o fenescimento quando o tubo floral se torna ainda mais estreito e a distância entre a base do labelo e a coluna fica menor. Nestas condições, *Bradisia* sp.1 consegue remover polinários e, geralmente, não fica na mesma inflorescência e sai voando em direção a inflorescências mais próximas.

A cola rostelar torna-se ainda mais viscosa e pegajosa com o fenescimento da flor, o que, muitas vezes, acaba retendo o visitante floral por mais tempo dentro da flor, geralmente *Bradisia* sp.1, e muitas vezes chega a causar sua morte no interior da flor.

Indivíduos de *Bradisia* sp.2 mostraram-se mais eficientes na remoção de polinários. Esta espécie pousa diretamente na raque da inflorescência e fica posicionada entre duas flores na inflorescência, e imediatamente começam a forragear as flores pela parte abaxial. Quando percebem que há néctar disponível, passam para parte adaxial do labelo (Fig.15N) e entram nas flores com a cabeça para frente, forçando a entrada pelo estreito tubo floral (Fig. 3G) e ficam presos na cola rostelar (Fig. 15O). Ao tentar sair, se debatem no interior da flor, forçam a saída retrocedendo e acabam removendo o polinário que fica aderido ao dorso do tórax (Fig. 15P).

Na maioria das vezes, após a remoção do polinário, o inseto voa imediatamente da flor e se dirige para inflorescências de outros indivíduos, embora possa voltar à mesma flor ou inflorescência logo em seguida. Por duas vezes foi possível observá-los chegando com o polinário aderido ao tórax, nas inflorescências que estavam sendo observadas em campo, bem como sua imediata entrada na flor e deposição do polinário no estigma.

Bradisia sp.3, apesar de visitar as flores de *B. epiphytum*, não removeu polinários devido ao seu tamanho reduzido, insuficiente para remover polinários mesmo de flores em fenescimento. Visitas de *Bradisia* sp.4 foram inconstantes e representadas somente por machos, que visitavam as flores de modo legítimo, porém sem remover polinários das flores.

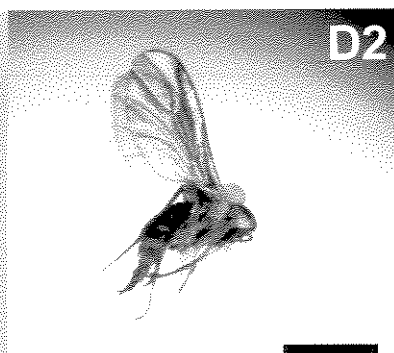
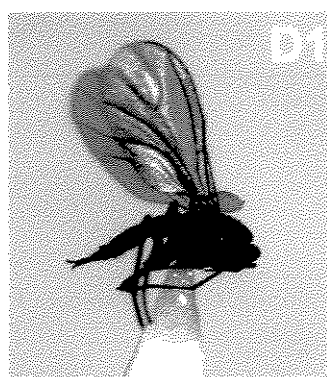
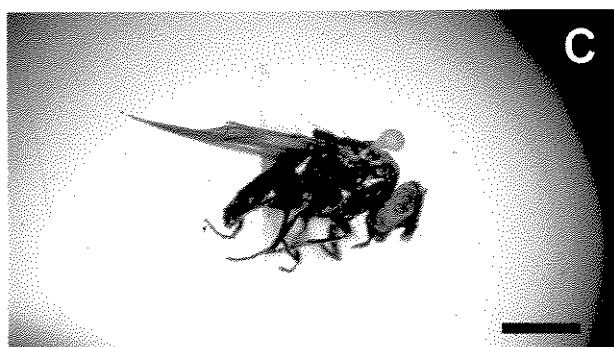
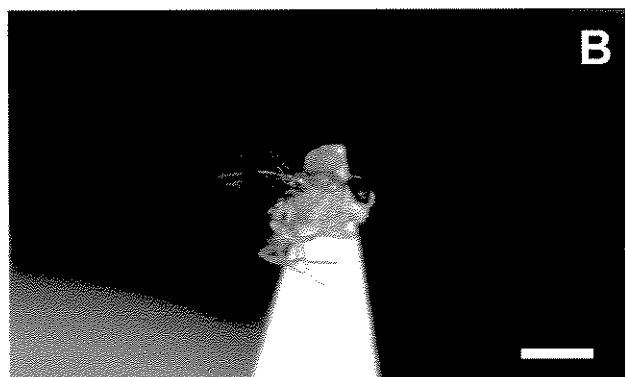


Figura 13 - Polinizadores das espécies estudadas de *Bulbophyllum*. (A) Tachinidae – polinizador de *B. glutinosum*, (B) Milichiidae (*Pholeomyia* sp.) polinizador de *B. insectiferum*, (C) Chloropidae (*Gaurax* sp.) polinizador de *B. plumosum*, (D1) Sciaridae (*Bradisia* sp2) e (D2) (*Bradisia* sp 1) polinizadores de *B. epiphytum*. Barras de escala = 0,5 mm.

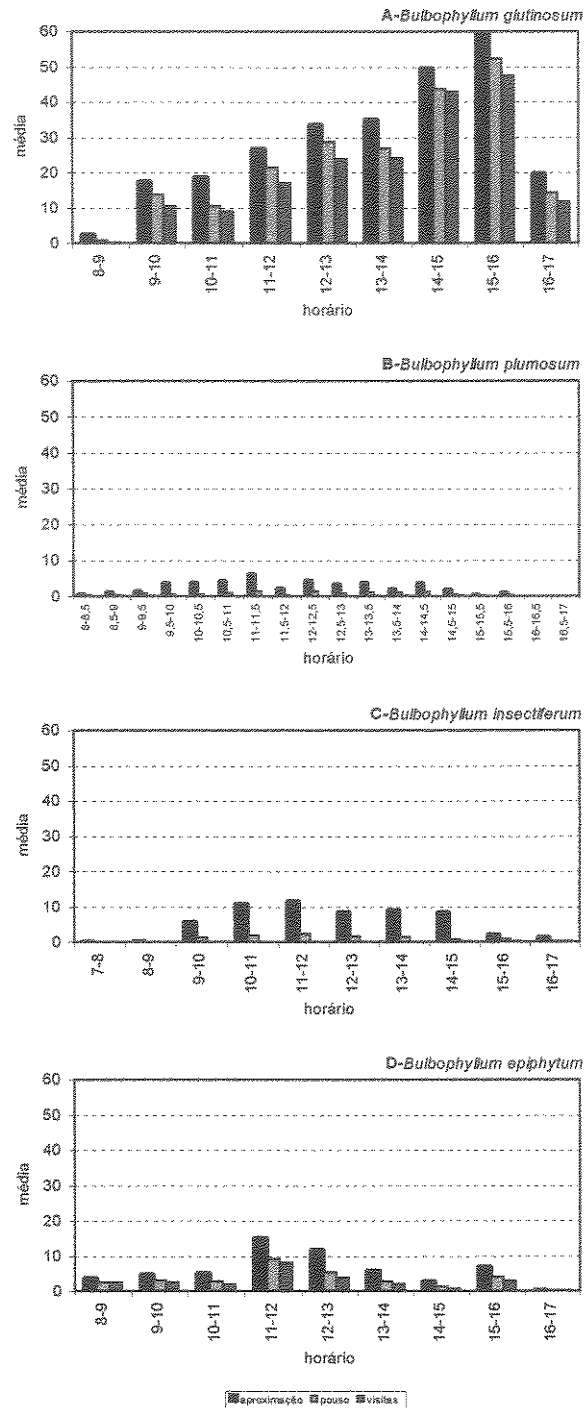


Figura 14- Frequência média de aproximações, pousos e visitas de polinizadores em flores de *B. glutinosum* (A), *B. plumosum* (B), *B. insectiferum* (C) e *B. epiphytum* (D).

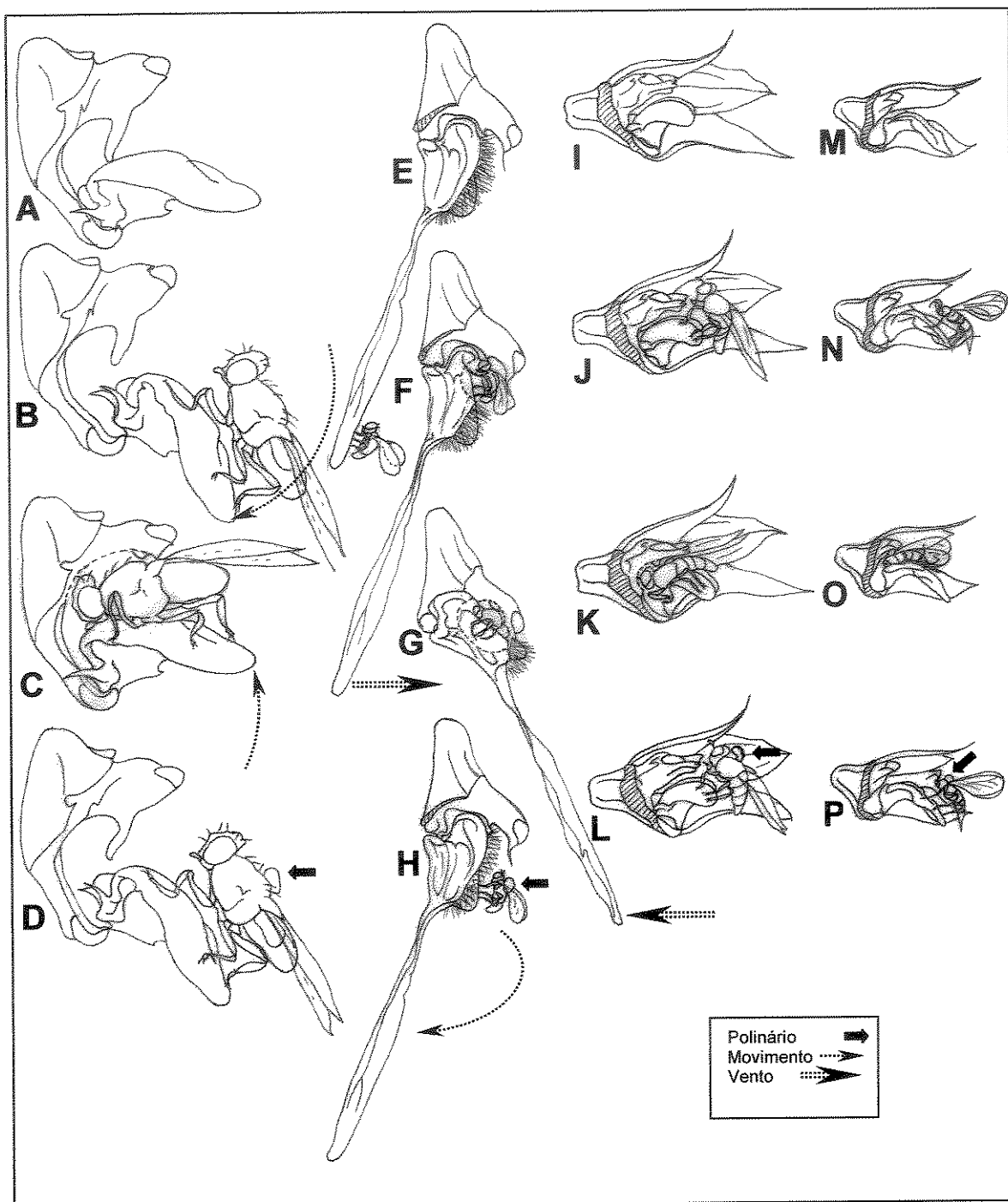


Figura 15- Mecanismo de polinização em *Bulbophyllum glutinosum* (A-D); *B. plumosum* (E-H); *B. insectiferum* (I-L) e *B. epiphytum* (M-P). Notar, setas curtas indicando o polinário aderido ao dorso do tórax do polinizador.

Taxa de frutificação e remoção de polinários

O resumo dos dados de frutificação, floração e remoção de polinários das espécies estudadas encontram-se na Tabela 2. A população de *B. plumosum* apresentou a maior taxa de frutificação (14,43%), seguido por *B. epiphytum* (5,2%), *B. adiamantinum* (2,7%), *B. insectiferum* (2,3%) e as menores taxas apresentadas por *B. bidentatum* (0,7%), *B. glutinosum* (0%) e *B. regnellii* (0%). O número de inflorescências com frutos variou muito entre as espécies estudadas, seguindo, aparentemente, um padrão relacionado às espécies com características morfológicas florais semelhantes e o tipo de ambiente ocupado como: *B. insectiferum* (25%) e *B. adiamantinum* (24,2%), *B. regnellii* (0%) e *B. glutinosum* (0%). Porém, exceções a essa tendência ocorreram no grupo morfológico formado por *B. plumosum* (40%) e *B. bidentatum* (3,3%) e em *B. epiphytum* (53,5%). O número máximo de frutos por inflorescência ocorreu em *B. epiphytum* (1,4 e 2,5%) sendo os menores números apresentados por *B. glutinosum* e *B. regnellii* (ambos com 0%). O número de polinários removidos variou muito entre as espécies, sendo o máximo detectado em *B. insectiferum* (40,8%) e o mínimo, em *B. regnellii* (0%).

Tabela 2 - Produção de flores e frutos e remoção de polinários em condições naturais nas populações de *Bulbophyllum glutinosum*, *B. regnellii*, *B. plumosum*, *B. bidentatum*, *B. insectiferum*, *B. adiamantinum* e *B. epiphytum*. Média $\pm$ desvio padrão (mínimo-máximo).

	inflorescências observadas	flores total (n)	flores/inflorescência (n)	frutos total (n)	frutos/inflorescência	frutificação (%)	inflorescências frutificando (%)	remoção de polinários (%)
<i>B. glutinosum</i>	20	126	6,3 $\pm$ 2,1 (3-9)	0	0	0	0	0,8
<i>B. regnellii</i>	33	95	2,9 $\pm$ 0,6 (1-4)	0	0	0	0	0
<i>B. plumosum</i>	20	97	4,8 $\pm$ 2,0 (2-9)	14	0,7 $\pm$ 0,98 (0-3)	14,4	40	32,8
<i>B. bidentatum</i>	30	140	4,7 $\pm$ 1,1 (2-6)	1	0,03 $\pm$ 0,2 (0-1)	0,7	3,3	-
<i>B. insectiferum</i>	20	350	17,5 $\pm$ 7,1 (10-34)	8	0,4 $\pm$ 0,8 (0-3)	2,3	25	40,8
<i>B. adiamantinum</i>	33	515	15,6 $\pm$ 8,4 (5-34)	14	0,4 $\pm$ 0,9 (0-4)	2,7	24,2	25,5
<i>B. epiphytum</i>	71	1958	27,2 $\pm$ 13,4 (5-58)	102	1,4 $\pm$ 2,5 (0-11)	5,2	53,5	18,6

DISCUSSÃO

Polinização

A miofilia em Orchidaceae está ligada principalmente às famílias Mycetophilidae, Sciaridae, Syrphidae, Chloropidae e Drosophilidae (Pijl & Dodson, 1966; Ackerman & Mesler, 1979; Reeves & Reeves, 1984; Chase, 1985; Dafni & Calder, 1987; Christensen, 1994; Pedersen, 1995; Bänziger, 1996; Singer & Cocucci, 1999; Borba & Semir, 2001), raramente a outras famílias (Patt et al., 1989; Borba & Semir, 1998a).

Em estudos anteriores de polinização em *Bulbophyllum*, polinizadores de várias famílias de moscas foram relatadas, como Tephritidae em *B. patens* King, uma espécie asiática (Tan & Nishida, 2000), Lonchaeidae em *B. longiflorum* Thouars (Jones & Gray, 1976), Tephritidae em *B. baileyi* F. Muell (Smythe, 1969) e Calliphoridae em *B. weinthalii* R. S. Rogers, sendo todas essas três últimas, espécies australianas. Estudos envolvendo *Bulbophyllum* neotropicais relatavam somente moscas da família Milichiidae como polinizadores, como em *B. correae* Pabst, uma espécie amazônica (Braga, 1977), *B. warmingianum* Cogn. (Sazima, 1978), *B. involutum* Borba, Semir & F. Barros, *B. weeddellii* Hoehne e *B. ipanemense* Hoehne, que são espécies de campo rupestre (Borba & Semir, 1998a). Apesar de escassos, os estudos envolvendo *Bulbophyllum* neotropicais, até o momento, mostravam uma relação estreita com moscas da família Milichiidae, o que levou à sugestão de uma relação específica de moscas da família Milichiidae e os *Bulbophyllum* neotropicais (Braga, 1977; Sazima, 1978; Borba & Semir, 1998a). Apesar disso, os resultados deste trabalho apontam uma inesperada variação nos mecanismos, na biologia da polinização e nos grupos de moscas envolvidas na polinização de espécies de *Bulbophyllum* neotropicais: *B. glutinosum*, polinizado por fêmeas de Tachinidae; *B. plumosum*, por fêmeas de Chloropidae; *B. epiphytum* por fêmeas de Sciaridae e apenas *B. insectiferum*, por fêmeas de Milichiidae.

Segundo Christensen (1994), plantas polinizadas pelo mesmo tipo de animal tendem a apresentar características similares como resultado direto do comportamento e forma dos polinizadores, sugerindo convergência nesta relação (Borba & Semir, 1998a; Borba et al., 2001). Os dados de polinização para as espécies deste estudo devem ser limitados a inferências de possíveis relações entre polinizadores e convergência de caracteres morfológicos associados aos mecanismos de polinização.

Bulbophyllum glutinosum é o único caso de polinização por moscas da família Tachinidae constatado, até o momento, no gênero *Bulbophyllum*. Moscas desta família foram relatadas polinizando *Orchis ustulata* L., uma espécie dos alpes austríacos (Vöth, 1984), *Listera ovata* L., uma espécie da Suécia (Darwin, 1877), *Trichoceros antennifera* (H.B.K) em um caso de pseudocopulação por machos do gênero *Paragymnomma* sp. (Dodson, 1962 a, 1962 b), *Stellilabium* sp. em mais um caso de pseudocopulação (Dressler, 1981) e *Epidendrum fimbriatum* H.B.K. uma espécie dos Andes equatorianos (Dodson, 1962a). Essas são as únicas espécies conhecidas sendo polinizadas por Tachinidae na família Orchidaceae, até o momento, embora sejam muito distantes filogeneticamente de *Bulbophyllum* (Cameron et al., 1999). O mecanismo de polinização de *Bulbophyllum glutinosum* é tido como básico em *Bulbophyllum* e foi descrito por Ridley (1890) para *B. macranthum* L., uma espécie típica de interior de matas do sudeste asiático. Apesar da maioria das espécies de *Bulbophyllum* ser polinizada por fêmeas de moscas, torna-se importante ressaltar que em nenhum dos casos foi observado comportamento de oviposição.

A polinização de *Bulbophyllum plumosum* é feita por fêmeas do gênero *Gaurax* (Chloropidae). A polinização de espécies de *Bulbophyllum* por moscas da família Chloropidae nunca havia sido descrita no gênero, porém é citada como um importante taxon envolvido na polinização de Orchidaceae, inclusive em três espécies de *Pleurothallis* (*P. fabobarrosii*, *P. johannensis* e *P. adamantinensis*), ocorrentes em campos rupestres brasileiros (Borba & Semir, 2001). O mecanismo de polinização descrito para *B. plumosum*, é semelhante ao de outras espécies de *Bulbophyllum* de campo rupestre (ex. *B. involutum*, *B. ipanemense* e *B. weddellii*), como descrito por Borba e Semir (1988), sendo *B. plumosum* semelhante, quanto à morfologia do labelo, a *B. weddellii*.

Bulbophyllum insectiferum é mais um caso de *Bulbophyllum* neotropical polinizado por moscas da família Milichiidae; espécies dessa família já foram observadas polinizando outras espécies de *Bulbophyllum* como: *B. correae* (Braga, 1977), *B. involutum*, *B. ipanemense* e *B. weddellii* (Borba, 1997; Borba & Semir, 1998a). O mecanismo de polinização descrito para *B. insectiferum* é comum na família Orchidaceae, e ocorre principalmente em espécies do gênero *Pleurothallis* mas ainda não havia sido descrito para o gênero *Bulbophyllum*, que apresenta dois tipos principais de mecanismo: o do deslocamento do labelo pelo peso do polinizador, e o do deslocamento do labelo com o auxílio do vento.

O mecanismo de polinização descrito para *B. epiphytum*, apesar de comum em Orchidaceae e denominado por Dressler (1981) como mecanismo básico para flores do tipo "gullet", onde o polinizador entra totalmente em flores que formam um tubo estreito, não havia sido descrito em espécies do gênero *Bulbophyllum*. Além disso, vale a pena salientar que é a primeira ocorrência de Sciaridae como polinizador entre todas as espécies de *Bulbophyllum* cuja polinização é conhecida.

A família Sciaridae constitui um dos mais importantes grupos de polinizadores em Orchidaceae (Pijl & Dodson, 1966; Reeves & Reeves, 1984; Chase, 1985; Dafni & Calder, 1987; Christensen, 1994; Pedersen, 1995; Bänzinger, 1996) estando envolvido na polinização de *Acianthus caudatus* R. Br. (Jones, 1974), *Satyrium bicallosum* Thunb. (Garside, 1923), *Listera cordata* (L.) R. Br. (Ackerman & Mesler, 1979; Mesler et al., 1980), *Pleurothallis monocardia* Reichb. f. (Dodson, 1962 a, b, 1965) e *Stelis aemula* Schltr. (Pijl & Dodson, 1969).

Fragrâncias florais variadas são interpretadas como resultado de uma evolução funcional a diferentes faunas de abelhas em subespécies de *Cypripedium calceolus* L. na Eurásia e América do Norte (Bergström et al., 1992). Os odores florais das orquídeas são muito diversos e refletem, igualmente, a diversidade de síndromes de polinização na família (Kaiser, 1993). Pouco se sabe sobre interações específicas conferidas por odores florais entre moscas e orquídeas, porém, os odores vêm sendo citados como primordiais para atração e especificidade de visitantes florais (Pijl & Dodson, 1966; Jones & Gray, 1976; Proctor et al., 1996; Borba & Semir, 1998a; 2001; Silva et al., 1999; Tan & Nishida, 2000).

A presença de apêndices móveis está ligada, de forma estreita, com a polinização por moscas, devido ao instinto de agregação destes insetos, que tendem a ser atraídos visualmente (Christensen, 1994; Meve & Liede, 1994). As espécies estudadas aparentemente têm estratégias diferentes para atrair os polinizadores. *Bulbophyllum glutinosum* e *B. epiphytum* atraem os polinizadores primariamente por odores e os mantêm na flor oferecendo néctar. *Bulbophyllum insectiferum*, possivelmente, atrai os polinizadores tanto pelo odor como pelo instinto de agregação das moscas devido às pétalas móveis, que fazem com que o conjunto de flores se assemelhe a um grupo de moscas pousadas em um ramo movimentando as asas, e as mantêm nas flores por oferecer néctar. Em *B. plumosum* a atração primária possivelmente é dada pelo instinto de agregação e, aparentemente, não há utilização de odores para atrair polinizadores, ou então os odores são imperceptíveis ao olfato humano, caracterizando um sistema baseado no engano, já que a espécie não oferece néctar.

Gradações na morfologia floral das espécies estudadas, sugerem uma seqüência de adaptações na transição de grupos anteriormente típicos de mata fechada irradiando até alcançarem outros ambientes, como áreas abertas de campos rupestres. Espécies típicas de interior de mata, tanto em regiões neotropicais, como as aquelas localizadas na Ásia, África e Oceania, onde estão a grande maioria das espécies de *Bulbophyllum* existentes, em geral, apresentam morfologia e mecanismos de polinização semelhantes, possivelmente moldados pela ausência de ventos que inviabilizaria a polinização com o auxílio de correntes de vento, como no caso de *B. glutinosum*. Partindo desta previsibilidade morfológica adaptativa a estes ambientes, pode-se supor que o mecanismo do deslocamento do labelo pelo peso do polinizador, ocorra em outras espécies de *Bulbophyllum* neotropicais tais como, *B. regnellii* Rchb. f., *B. napellii* Barb. Rodr., *B. mirandaianum* Hoehne, *B. sturmhoefeldii* Hoehne, *B. micropetaliforme* J. E. Leite e *B. cribbianum* Toscano, entre outros, por apresentarem morfologia floral, principalmente do labelo, característica de plantas com mecanismo de polinização do tipo desequilíbrio do labelo e, também, por serem espécies encontradas no interior de matas fechadas.

Utilizando a mesma previsibilidade de mecanismos adaptativos a áreas de baixa incidência de ventos e, locais de incidência incerta de vento, como áreas parcialmente abertas de campo

rupestre, indicam que a morfologia floral das espécies ocorrentes nessas áreas, pode estar associada a mecanismos que aumentem a eficiência de polinização nestes locais, como o mecanismo da perda de equilíbrio do polinizador associada a baixa mobilidade do labelo, como é o caso de *B. insectiferum* e, provavelmente, de *B. adiamantinum*.

O mecanismo de polinização típico para *Bulbophyllum* de campo rupestre (Sazima, 1978; Borba & Semir, 1998a), no qual uma corrente de vento moderada, em torno de 1,0-1,5 m/s é suficiente para deslocar o labelo e jogar o inseto contra a coluna da flor, ocorre em várias espécies de campo rupestre, como *B. involutum*, *B. ipanemense*, *B. weddellii* (Borba & Semir, 1998a) assim como observado em *B. plumosum* neste trabalho e, provavelmente, em *B. bidentatum*, *B. tripetalum* Hoehne, *B. chloropterum* Barb. Rodr., *B. longipetalum* Barb. Rodr. e *B. nemorosum* Barb. Rodr., entre outros. Este grupo de espécies, apresentando morfologia floral aparentemente adaptada ao mecanismo de polinização com auxílio do vento, formam o conjunto mais heterogêneo entre os morfogrupos característicos de *Bulbophyllum* brasileiros, sugerindo uma convergência morfológica de diferentes grupos ao mesmo mecanismo de polinização associado a grupos específicos de moscas.

Áreas de matas adjacentes, como é o caso de bordas de mata de galeria onde ocorre *B. epiphytum*, formam corredores de passagem ao vento. Estes corredores apresentam incidência de ventos inconstantes e imprevisíveis, devido a barreiras parciais à sua passagem, como é o caso das vegetação arbórea das laterais dos cursos de rios e riachos. Como resultado disso, eram de se esperar adaptações morfológicas adaptativas específicas, o que realmente foi visto. Em *B. epiphytum*, o mecanismo de polinização é bem diferente das outras espécies investigadas no gênero, pois, o polinizador é forçado a passar por um tubo floral estreito para obter o néctar e fica preso ao rostelo da flor. Esse mecanismo de polinização é um dos mais comuns em Orchidaceae, principalmente em espécies que apresentam flores do tipo "gullet" (Pijl & Dodson, 1966). A partir das características morfológicas apresentadas por *B. epiphytum*, pode-se prever que um mecanismo semelhante de polinização ocorra em outras espécies afins, como *B. micranthum* Barb. Rodr., *B. punctatum* Barb. Rodr. e *B. rupicolum* Barb. Rodr.

Na família Orchidaceae as variações dentro de síndromes são grandes, impossibilitando delimitações refinadas de caráter previsivo (Pijl & Dodson, 1966; Sazima, 1978; Borba & Semir, 1998a). Presença de néctar, coloração clara do perianto variando de branco a verde e amarelo, flores mais ou menos actinomorfas devido ao conjunto floral, simples, pequenas, com presença de guias de nectários, odores adocicados e flores abertas, são características típicas de flores visitadas por moscas. Miiófilia freqüentemente é subdividida em simples miiófilia, na qual as moscas são atraídas primariamente por alimento, principalmente néctar, e sapromiiófilia, onde os visitantes são enganados por mecanismos de engodo (odores desagradáveis e ausência de néctar). Vários autores vêm propondo o uso de diferentes terminologias baseadas no comportamento dos visitantes e formas florais como, miiomelitófilia ou melitomiiófilia, que são flores que lembram, por um conjunto de características morfológicas e de coloração, àquelas polinizadas por abelhas (Vogel, 1954, 1959; Whitehead et al., 1987) como é o caso de *B. regnellii* e, rinomiiófilia, que são flores com características típicas de espécies polinizadas por Lepidoptera, embora sejam polinizadas por moscas (Rebello et al., 1985), entre outros.

Características muito variadas nas espécies estudadas neste trabalho, nos impossibilitam de enquadrá-las dentro de uma síndrome específica e mais refinada. Desta forma nos limitaremos a caracterizá-las como espécies genericamente miiófilas.

Morfologia floral e mecanismos de polinização

O mecanismo de polinização tido como básico em *Bulbophyllum* foi descrito pela primeira vez por Ridley (1890), em *B. macranthum* L., uma espécie epífita de florestas tropicais do sudeste asiático. O polinizador de *B. macranthum*, ao pousar no labelo, faz com que este se desloque para baixo e, ao movimentar-se pela extensão do labelo, ultrapassa o ponto de equilíbrio entre a base do conectivo e o labelo, permitindo que este volte ao posicionamento inicial pressionando a mosca contra a coluna da flor. Este mesmo mecanismo de polinização foi observado em outras espécies de *Bulbophyllum* de interior de matas, sendo *B. correae* uma espécie epífita da Amazônia e as

outras todas epífitas de florestas tropicais da Ásia, África e Oceania (Pijl & Dodson, 1966; Jones & Gray, 1976; Braga, 1977).

O mecanismo acima descrito para *B. macranthum* ocorre em uma das espécies do presente trabalho: *B. glutinosum* (Fig. 15A-D). Pode-se supor que ocorra também em *B. regnellii* com base na semelhança morfológica de suas flores com as de *B. glutinosum* (comparar Fig. 4 e 5), que apresentam o labelo móvel, mas não o suficiente para ser deslocado por uma corrente de vento que, em áreas fechadas (ambiente ocupado por estas duas espécies), não ultrapassa 0,5 m/s. Outro fato que confirma esta inferência é que o deslocamento do labelo, por correntes criadas artificialmente, só foi possível com correntes superiores a 4 m/s, velocidade incomum nas áreas de mata fechada (ver Fig 11A e B). Outro fato que impossibilita a ocorrência de mecanismos associados ao vento para que a polinização destas duas espécies é o escapo floral longo e flexível, que ao serem expostas a correntes de vento acima de 1,5 m/s balançam demasiadamente impedindo o pouso de visitantes nas flores, pois, acessam as flores em voo.

O segundo mecanismo de polinização descrito para *Bulbophyllum* é, aparentemente, o único em plantas onde um agente biótico e um abiótico são necessários, concomitantemente, para promover a polinização. Neste mecanismo, correntes de vento de 1,0-1,5 m/s são necessárias para deslocar o labelo em direção à coluna da flor, pressionando a mosca que fica presa ao rostelo e, ao sair, remove o polinário e, foi descrito pela primeira vez em *B. warmingianum* (Sazima, 1978). Mecanismo de polinização semelhante foi observado para outras espécies de *Bulbophyllum* neotropicais ocorrentes exclusivamente em campos rupestres como *B. weddellii*, *B. involutum* e *B. ipanemense* (Borba & Semir, 1998a).

O mecanismo de polinização descrito acima ocorre em *B. plumosum* (Fig. 15E-H) e, provavelmente, em *B. bidentatum*. Apesar dos locais de ocorrência das duas espécies (*B. plumosum* – epífito de áreas parcialmente protegidas de campo rupestre e *B. bidentatum* – rupícola de áreas abertas de campo rupestre) serem um pouco diferentes, quando se compara a morfologia floral (comparar Fig. 6 e 7) com os dados de incidência de vento nos locais (ver Fig. 11C e Fig. 11E), pode-se verificar uma clara adaptação morfológica específica às médias de incidência de ventos das áreas de ocorrência das duas espécies. *Bulbophyllum plumosum* possui

um labelo em forma de pêndulo, longo, móvel, membranáceo e com uma superfície de contato ao vento mais desenvolvida e sensível que em *B. bidentatum*, que possui um labelo em forma de pêndulo, mais estreito, carnoso e de mobilidade menor. As variações morfológicas parecem estar adaptadas às áreas de ocorrência das duas espécies, podendo ser explicadas pelas médias de velocidade do vento, que em áreas parcialmente abertas, onde ocorre *B. plumosum*, variam entre 1,0 e 1,5 m/s e em áreas abertas, onde ocorre *B. bidentatum*, variam entre 1,5 e 2,5 m/s.

Adaptações morfológicas do labelo, disposição oposta das flores em escapos florais arqueados e a inserção floral pendular ajudam a maximizar o aproveitamento das correntes de vento, independentemente da direção de incidência. Certamente a velocidade das correntes de vento varia de acordo com as áreas de ocorrência das espécies, devido ao grau de proteção oferecida pelo tipo de vegetação dos ambientes onde ocorrem *B. plumosum* e *B. bidentatum*, e que adaptaram de certa forma até a mobilidade dos escapos florais destas espécies bem como a forma e mobilidade do labelo. Em áreas com incidência de ventos mais fortes, como em locais onde vivem as populações de *B. bidentatum*, os escapos florais são mais rígidos e menos móveis, ao contrário de *B. plumosum* que tem suas populações mais protegidas e com escapos florais mais laxos e móveis.

Os pedúnculos florais mais rígidos de *B. bidentatum*, permitem o deslocamento do labelo e a manutenção de um mecanismo de polinização promovido pelo vento em áreas de incidência de vento com velocidade elevada, sem afetar na estabilidade da inflorescência como um todo. Como os visitantes acessam as flores em vôo, inflorescências muito móveis dificultariam seu pouso.

As espécies do velho mundo são encontradas tipicamente em interior de floresta e o mecanismo básico de polinização é o do deslocamento do labelo pelo peso do polinizador (Vermeulen, 1991). Dessa forma, é importante ressaltar que o mecanismo de polinização dependente do vento, aparentemente, ocorre apenas em espécies de *Bulbophyllum* neotropicais, de campo rupestre (Sazima, 1978; Borba & Semir, 1998a), sugerindo a evolução do mecanismo associado a áreas abertas ou pouco protegidas, onde barreiras contra o vento inexistem ou são pouco representativas, sendo favorecido em locais com correntes de vento moderadas entre 1,5 e 2,5 m/s durante a maior parte do horário de visitação dos polinizadores.

O terceiro mecanismo de polinização, o da perda de apoio pelo polinizador, foi observado em *B. insectiferum* (Fig. 15I-L), sendo descrito neste trabalho e inédito no gênero. O labelo de *B. insectiferum* apresenta mobilidade reduzida, o que dificultaria a polinização mediada pelo vento, sendo necessárias correntes de vento de 8 m/s para promover o deslocamento suficiente para a ocorrência da polinização. Correntes de vento de 8 m/s são raras nos locais onde vivem as populações de *B. insectiferum*, e mesmo que fossem frequentes, a posição e a instabilidade das inflorescências desta espécie não seriam adequados para um mecanismo de polinização auxiliado por correntes de vento.

O mecanismo que envolve a perda de apoio do polinizador durante a visita, provavelmente, além de *B. insectiferum*, também ocorra em *B. adiamantinum*. Essa suposição, baseia-se na semelhança da morfologia floral, hábito e ambientes onde vivem *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*.

Comparando dados morfológicos do grupo formado por *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*, com aquele formado por *B. plumosum* e *B. bidentatum*, pode-se supor que as condições locais, como a estrutura da vegetação (aberta ou fechada) e tipo de afloramento rochoso, permitiram maior ou menor exposição às correntes de vento, selecionando estruturas morfológicas florais adaptadas como forma de maximizar a eficiência dos mecanismos de polinização destas espécies.

O mecanismo de polinização descrito para *Bulbophyllum epiphytum* (Fig. 15M-P) é comum em Orchidaceae e relatado para várias espécies que apresentam flores do tipo "gullet" (Pijl & Dodson, 1966). *Bulbophyllum epiphytum* ocorre na borda interior de matas de galeria, que funcionam como corredores de vento. Desta maneira, o mecanismo de polinização está de acordo com as características do habitat da espécie, onde ocorrem ventos de, no máximo, 2,5 m/s, insuficientes para deslocar o labelo da flor, que necessitaria de ventos superiores a 6 m/s para que o mecanismo do deslocamento do labelo fosse eficiente para a espécie. No entanto, maior ou menor grau de exposição ao vento nesta espécie não inviabiliza seu mecanismo de polinização, podendo ocorrer independente do vento em qualquer tipo de vegetação.

Eficiência dos polinizadores

Os visitantes e polinizadores das espécies estudadas neste trabalho foram variados, mostrando a heterogeneidade de polinizadores em *Bulbophyllum* neotropicais, contrariamente ao que foi indicado por Borba & Semir (1998a), que consideravam as espécies do gênero, como sendo polinizadas unicamente por Milichiidae. Apesar disso a relação de especificidade é surpreendente.

Diptera freqüentemente têm sido considerados como polinizadores ineficientes devido ao comportamento casual e inespecífico (Pijl & Dodson, 1966; Faegri & Pijl, 1979; Bierzychudek, 1981; Chase, 1985; Christensen, 1994). Por outro lado, Tremblay (1992) ressalta a necessidade de polinizadores específicos, principalmente em orquídeas onde toda a carga de pólen está concentrada em poucos "pacotes", as polínias. Desta forma, espécies que atraíam polinizadores ineficientes e inespecíficos, sofrerão uma seleção contrária pela perda considerável de seu sucesso reprodutivo.

O número de polinários removidos foi muito variável entre as espécies. As espécies mais visitadas, *B. epiphytum* e *B. glutinosum*, apresentaram uma das menores taxas de remoção de polinários (18,6% e 0,8%, respectivamente), superando apenas taxas de remoção de polinário de *B. regnellii* e *B. bidentatum*, as duas espécies em que não foram observadas visitas. Por outro lado, *B. insectiferum*, *B. plumosum* e *B. adiamantinum* foram as espécies que apresentaram as maiores taxas de remoção de polinário (40%, 32,76% e 25,5%, respectivamente). Isso pode estar refletindo a alta eficiência do polinizador em removê-los para compensar o seu comportamento de visitar flores da mesma inflorescência, o que resultaria em mais polinizações geitonogâmicas do que alogâmicas. A baixa eficiência do polinizador de *B. epiphytum* em remover polinários pode estar sendo compensada por seu comportamento de sair da flor após a remoção de polinários e ir para outras inflorescências de indivíduos diferentes, aumentando, dessa forma, o número de polinizações cruzadas dentro da população e, conseqüentemente, a taxa de frutificação (5,2%).

Os valores de frutificação encontrados são muito baixos (exceto para *B. plumosum*) e devem ser analisados com cautela, uma vez que foi estudada uma população de cada espécie e

em um único ano. Valores baixos de frutificação são observados, com frequência, em Orchidaceae cujos polinizadores são atraídos por engodo, inclusive em espécies sapromiíófilas (Dafni & Calder, 1987; Montalvo & Ackerman, 1987; Ackerman, 1989; Zimmerman & Aide, 1989; Christensen, 1992; Pedersen, 1995; Bänzinger, 1996; Borba, 1997; Borba & Semir, 1998a, 2001), o que é, no mínimo intrigante, pois nem todas as espécies aqui estudadas parecem se enquadrar nestas síndromes de polinização.

Sistemas de polinização baseados em recompensa alimentar, normalmente apresentam taxas de frutificação mais elevadas (Thien & Utech, 1970; Patt et al., 1989; Rodrigues-Robles et al., 1992; Pleasants & Moe, 1993; Ackerman et al., 1994), assim como ocorre em *B. epiphytum* que apresentou a maior taxa de frutificação dentre as espécies aqui estudadas. No entanto, a taxa de frutificação de *B. glutinosum* e *B. regnellii* contradiz a afirmação pois estas espécies produzem néctar e, no entanto, apresentaram as menores taxas de frutificação entre as espécies estudadas. Mesmo assim, a taxa de frutificação de *B. epiphytum* está muito abaixo do esperado, sendo semelhante à de espécies cujas flores não oferecem recompensas aos polinizadores (Dafni & Calder, 1987; Montalvo & Ackerman, 1987; Ackerman, 1989; Zimmerman & Aide, 1989). Em *B. plumosum*, que não oferece recompensa ao polinizador, ocorreu justamente ao contrário: a taxa de frutificação foi alta (14,43%), o que pode estar refletindo a alta eficiência da flor em atrair o polinizador sem, contudo, investir na produção de néctar.

Grande produção de frutos em uma estação pode interferir no crescimento vegetativo, reprodução sexual futura ou na sobrevivência a longo prazo, pois, em muitos casos as vantagens a curto prazo da alta produção de frutos são duvidosas, principalmente quando se trata de espécies que estão expostas à limitação de recursos (Schemske, 1980; Montalvo & Ackerman, 1987; Zimmerman & Aide, 1989), como no caso de *B. bidentatum* que cresce diretamente sobre rochas, assim como em *B. insectiferum* e *B. adiamantinum* que têm suas populações distribuídas como epífitas ou rupícolas.

Baixa parcela da população florescendo a cada estação e floração infrequente, podem indicar que as espécies estão enfrentando limitação de recursos (Montalvo & Ackerman, 1987; Ackerman, 1989; Zimmerman & Aide, 1989), o que é esperado para plantas que crescem

diretamente sobre rochas, como *B. insectiferum*, *B. bidentatum* e *B. adiamantinum* e, até mesmo nas outras espécies deste trabalho, que têm aproximadamente 50% dos indivíduos da população florescendo ao ano.

O "fitness" real das plantas, neste caso, pode estar sendo maximizado pela frutificação baixa ou moderada, resultante de baixos níveis de polinização (Montalvo & Ackerman, 1987; Calvo, 1990; Proctor et al., 1996). A baixa taxa de frutificação pode ser particularmente adaptativa em plantas que se reproduzem vegetativamente, como as espécies estudadas, exceto *B. epiphytum* que parece se reproduzir sexuadamente. Nestes casos, os clones, podem, teoricamente, viver por centenas de anos e a reprodução sexual pode ser somente a garantia de sobrevivência a longo prazo ou em eventos de colonização de novas áreas (Pijl & Dodson, 1966; Proctor et al., 1996). Em casos como este, então, raros eventos de reprodução sexuada, representariam uma estratégia mais eficiente do que uma frutificação massiva em uma única estação (Schemske, 1980; Montalvo & Ackerman, 1987; Zimmerman & Aide, 1989; Borba & Semir, 1998a). Isso pode ser verdade, principalmente em Orchidaceae, em que a sobrevivência da espécie pode ser garantida por um único fruto que, na maioria das vezes, contém milhares de sementes (Dressler, 1981, 1993).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackerman, J. D. 1983. Specificity and mutual dependency of the orchid euglossine bee interaction. *Biol. J. Linn. Soc.* 20: 301-314.
- Ackerman, J. D. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Syst. Bot.* 14: 101-109.
- Ackerman, J. D. & Mesler M. R. 1979. Pollination biology of *Listera cordata* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 77: 820-824.
- Ackerman, J. D.; Rodríguez-Robles, J. A. & Meléndez, E. J. 1994. A meager nectar offering by an epiphytic orchid is better than nothing. *Biotropica* 26: 44-49.
- Bänziger, H. 1996. The mesmerizing wart: the pollination strategy of epiphytic lady slipper orchid *Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Stein (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 121: 59-90.
- Bierzychudek, P. 1981. Pollinator limitation of plant reproductive effort. *Am. Nat.* 117: 838-840.
- Borba, E. L. 1997. **Estudos biossistemáticos em três espécies de *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae) ocorrentes nos campos rupestres brasileiros.** Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Borba, E. L. & Semir, J. 1998a. Wind-assisted fly pollination in three *Bulbophyllum* species (Orchidaceae) occurring in the Brazilian 'campos rupestres'. *Lindleyana* 13: 203-218.
- Borba, E. L. & Semir, J. 1999. Temporal variation in pollinarium size after its removal in species of *Bulbophyllum*: a different mechanism preventing self-pollination in Orchidaceae. *Pl. Syst. Evol.* 217: 197-204.
- Borba, E. L. & Semir, J. 2001. Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: a multiple population approach. *Ann. Bot.* 88: 75-87.
- Borba, E. L.; Shepherd, G. J. & Semir, J. 1999. Reproductive system and crossing potential in three species of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) occurring in Brazilian 'campo rupestre' vegetation. *Pl. Syst. Evol.* 217: 205-214.
- Braga, P. I. S. 1977. Aspectos ecológicos das Orchidaceae de uma campina na Amazônia Central. *Acta Amazonica* 9 (suplemento 2): 1-81.
- Calvo, R. N. 1990. Inflorescence size and fruit distribution among individuals in three orchid species. *Amer. J. Bot.* 77: 1378-1381.
- Chase, M. W. 1985. Pollination of *Pleurothallis endotrachys*. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 54: 431-434.
- Christensen, D. E. 1992. Notes on the reproductive biology of *Stelis argentata* Lindl. (Orchidaceae: Pleurothallidinae) in eastern Ecuador. *Lindleyana* 7: 28-33.
- Christensen, D. E. 1994. Fly pollination in the Orchidaceae. In J. Arditti, ed. *Orchid biology: reviews and perspectives VI*, pp 415-454. John Wiley & Sons, New York.
- Dafni, A. & Calder, D. M. 1987. Pollination by deceit and floral mimesis in *Thelymitra antennifera* (Orchidaceae). *Pl. Syst. Evol.* 158: 11-22.
- Darwin, C. 1877. **The various contrivances by which orchids are fertilised by insects** (2nd ed., reeditado 1984). Univ. of Chicago Press, Chicago.

- Dodson, C. H. 1962 a . The importance of pollination in the evolution of the orchids in tropical America. **Amer. Orchid Soc. Bull.** 31: 525-534.
- Dodson, C. H. 1962 b. The importance of pollination in the evolution of the orchids in tropical America. **Amer. Orchid Soc. Bull.** 31: 641-649.
- Dodson, C. H. 1965. **Agentes de polinizacion y su influencia sobre la evolucion en la familia Orchidaceae.** Univ. Nac. Amazonia Peruana, Lima.
- Dressler, R. L. 1968. Observations on orchids and Euglossinae bees in Panama and Costa Rica. **Rev. Biol Trop.** 15: 143-183.
- Dressler, R. L. 1981. **The orchids: natural history and classification.** Harvard University Press, Cambridge.
- Dressler, R. L. 1993. **Phylogeny and classification of the orchid family.** Cambridge University Press, Cambridge.
- Faegri, K. & Pijl, L. van der. 1979. **The principles of pollination ecology**, 3rd ed. Pergamon Press, Oxford.
- Garside, S. 1923. The pollinization of *Satyrium bicallosum* Thumb. **Ann. Bolus Herb.** 3: 147-154.
- Jones, D. L. 1974. The pollination of *Acianthus caudatus* R. Br. **Victorian Nat.** 91: 272-274.
- Jones, D. L. & Gray, B. 1976. The pollination of *Bulbophyllum longiflorum* Thouars. **Amer. Orchid Soc. Bull.** 45:15-17.
- Köppen, W. 1948. **Climatologia com un estudio de los climas de la Tierra México.** Fondo de Cultura Economica, Cidade do México.
- Lloyd, D. G. 1980. Sexual strategies in plants. I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. **New Phytol.** 86: 69-79.
- Mesler, M. R.; Ackerman, J. D. & Lu, K. K. 1980. The effectiveness of fungus gnats as pollinators. **Amer. J. Bot.** 67: 564-567.
- Meve, U. & Liede, S. 1994. Floral biology and pollination in stapeliads - new results and a literature review. **Pl. Syst. Evol.** 192: 99-116.
- Montalvo, A. M. & Ackerman, J. D. 1987. Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). **Biotropica** 19: 24-31.
- Pabst, G. F. J. & Dungs, F. 1975. **Orchidaceae Brasiliensis**, Vol. 1. Kurt Schmiersow, Hildesheim.
- Patt, J. M.; Merchant, M. W.; Williams, D. R. E. & Meeuse, B. J. D. 1989. Pollination biology of *Platanthera stricta* (Orchidaceae) in Olympic National Park, Washington. **Amer. J. Bot.** 76: 1097-1106.
- Pedersen, H. A. 1995. Anthecological observations on *Dendrochilum longibracteatum* - a species pollinated by facultatively anthophilous insects. **Lindleyana** 10: 19-28.
- Pijl, L. van der & Dodson, C. H. 1966. **Orchid flowers: their pollination and evolution.** University of Miami Press, Coral Gables.
- Pleasants, J. M. & Moe, S. 1993. Floral display size and pollination of the western prairie fringed orchid, *Platanthera praeclara* (Orchidaceae). **Lindleyana** 8: 32-38.
- Proctor, M.; Yeo, P. & Lack, A. 1996. **The natural history of pollination.** Harper Collins, London.
- Rebelo, A. G.; Sigfried, W. R. & E. G. H. 1985. Pollination syndromes of *Erica* species in southwest Cape. **S. Afr. J. Bot.** 51: 270-280.

- Reeves, L. M. & Reeves, T. 1984. Life history and reproduction of *Malaxis paludosa* in Minnesota. *Am. Orchid Soc. Bull.* 53: 1280-1291.
- Ridley, H. N. 1890. On the method of fertilization in *Bulbophyllum macranthum* and allied orchids. *Ann. Bot.* 4:327-336.
- Rodríguez-Robles, J. A.; Meléndez, E. A. & Ackerman, J. A. 1992. Effects of display size, flowering phenology, and nectar availability on effective visitation frequency in *Comparettia falcata* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 79: 1009-1017.
- Sazima, M. 1978. Polinização por moscas em *Bulbophyllum warmingianum* Cogn. (Orchidaceae), na Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. *Rev. bras. Bot.* 1:133-138.
- Schemske, D. W. 1980. Evolution of floral display in the orchid *Brassavola nodosa*. *Evolution* 34: 489-493.
- Silva, U. F.; Borba, E. L.; Semir, J. & Marsaioli, A. J. 1999. A simple solid injection device for the analyses of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) volatiles. *Phytochemistry* 50: 31-34.
- Singer, R. B. & Cocucci, A. A. 1999. Pollination mechanism in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* 14: 47-56.
- Smythe, R. 1969. An observation on the population of *Bulbophyllum baileyi*. *Orchadian* 3 (5): 61.
- Stoutamire, W. P. 1969. Pollination in temperate American orchids. In: **Proceedings on the sixth World Orchid Conference**, pp. 233-243. Haistead Press. Sydney.
- Tan, K. & Nishida, R. 2000. Mutual reproductive benefits between a wild orchid, *Bulbophyllum patens*, and *Bactrocera* fruit flies via a floral syndrome. *J. Chem. Ecol.* 26: 533-546.
- Thien, L. B. & Utech, F. 1970. The mode of pollination in *Habenaria obtusata* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 57: 1031-1035.
- Tremblay, R. L. 1992. Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Can. J. Bot.* 70: 642-650.
- Vermeulen, J. J. 1991. **Orchids of Borneo. Vol. 2-Bulbophyllum**. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Vogel, S. 1954. Blütenbiologische Typen als Elemente der Sippengliederung dargestellt anhand der Flora Südafrikas. *Bot. Stud.* 1:1-338.
- Vogel, S. 1959. Organografie der Blüten Kapländischer Ophrydeen, Teil I. Disinae und Satyrinae. *Akad. Mains.* 6:270-401.
- Vöth, W. 1984. *Echynomyia magnicornis* Zett. Bestäuber von *Orchis ustulata* L. *Die Orchidee* 35: 189-192.
- Whitehead, V. B. Giliomee, J. H. & Rebelo, A. G. 1987. Insect pollination in the cape flora. *S. Afr. Nat. Sci. Prog. Rep.* 141:52:82.
- Williams, N. H. & Dodson, C. H. 1972. Selective attraction of Male Euglossinae Bees in orchid floral fragrances and its importance in long distance pollen flow. *Evolution* 26:84-95.
- Zimmerman, J. K. & Aide, T. M. 1989. Patterns of fruit production in a neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *Amer. J. Bot.* 76: 67-73.

CAPÍTULO 2

Sistemas de reprodução em espécies de *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae) ocorrentes em floresta estacional, mata de galeria e campos rupestres do Brasil.

RESUMO

Foram realizadas, experimentalmente em casa de vegetação, auto-polinizações, polinizações cruzadas intra-específicas e polinizações cruzadas inter-específicas em sete espécies de *Bulbophyllum*: *B. regnellii*, *B. plumosum*, *B. bidentatum*, *B. insectiferum*, *B. adiamantinum*, *B. epiphytum* e *B. micranthum*. Todas as espécies mostraram-se auto-incompatíveis e necessitam de vetores para que a polinização ocorra. A auto-incompatibilidade é determinada, aparentemente, por mecanismo de incompatibilidade gametofítica. Em cruzamentos intra-específicos ocorre elevada taxa de aborto de frutos e formação de sementes sem embrião. Em cruzamentos inter-específicos, as taxas de abortos de frutos foram mais variáveis do que em cruzamentos intra-específicos. Em cruzamentos envolvendo *B. adiamantinum* x *B. insectiferum*, espécies morfológicamente muito semelhantes, a taxa de frutificação e produção de sementes viáveis foi alta, indicando a ausência de mecanismos de inter-incompatibilidade. Cruzamentos envolvendo *B. epiphytum* x *B. micranthum* apresentaram altas taxas de frutificação, porém a formação de sementes viáveis somente ocorreu unidirecionalmente, quando *B. epiphytum* foi o doador de pólen. Em cruzamentos envolvendo *B. regnellii* x *B. plumosum*, espécies morfológicamente não relacionadas, a taxa de frutificação foi elevada, porém a taxa de produção de sementes viáveis foi reduzida. O exame dos tubos polínicos e de frutos abortados sugere haver um conjunto de fatores que determinam os abortos e o número reduzido de sementes viáveis, dependendo, principalmente, das espécies consideradas e do tipo de cruzamento efetuado. Os resultados obtidos concordam parcialmente com teorias onde a potencialidade de cruzamentos inter-específicos poderia refletir a proximidade filogenética entre as espécies envolvidas.

INTRODUÇÃO

Na família Orchidaceae, barreiras à autopolinização e à hibridização entre espécies do mesmo gênero geralmente ocorrem por mecanismos pré-zigóticos, ou seja, ao nível da polinização (Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1981, 1993). Contudo, exceções a esta afirmação ocorrem, e barreiras genéticas têm sido demonstradas para algumas espécies (Johansen, 1990; Pedersen, 1995; Borba et al., 2001).

Informações sobre auto-incompatibilidade em orquídeas são escassas e limitadas (Calder et al., 1982; Ackerman & Oliver, 1985; Kjellson et al., 1985; Agnew, 1986; Kjellson & Rasmussen, 1987; Clifford, 1988; Johansen, 1990; Borba et al., 2001) sendo a expressão de sistemas de incompatibilidade em orquídeas somente tratada brevemente por Kirchner (1922) e Clifford (1988). O conhecimento limitado sobre sistemas de incompatibilidade em Orchidaceae é atribuído, geralmente, a dois fatores principais: longo tempo das gerações, geralmente de 7 a 10 anos para o crescimento e floração dos indivíduos (dificultando desta maneira o estudo das progênes) e o número limitado de indivíduos em coleções em relação à quantidade de cruzamentos necessários para gerar conhecimento genético suficiente sobre os sistemas de incompatibilidade.

Espécies alogâmicas normalmente tendem a expressar depressão endogâmica se autopolinizadas, devido ao acúmulo de alelos recessivos letais, o que normalmente não ocorre em plantas que se reproduzem por autogamia (Tremblay, 1994; Husband & Schemske, 1996; Shields, 1982; Lande & Schemske, 1985; Charlesworth & Charlesworth, 1987; Barret & Charlesworth, 1991).

Vários estudos mostram que barreiras genéticas inter-específicas intragenéricas em Orchidaceae ocorrem, principalmente, entre espécies filogeneticamente menos relacionadas (Sanford, 1964, 1967; Stort, 1972, 1986; Scacchi et al., 1990), o que está de acordo com a teoria da incongruidade de Hogenboom (1975). De acordo com esse autor, quando um cruzamento não resulta em frutificação, isso se deve mais ao grau de divergência evolutiva entre as espécies envolvidas, do que a reações típicas de incompatibilidade.

Ornduff (1969, 1978) e Stoutamire (1969), têm reforçado que o conhecimento dos sistemas de reprodução pode ser de grande auxílio em decisões taxonômicas. Capacidade de cruzamento entre espécies diferentes de orquídeas tem sido utilizada como uma medida de "relacionamento" (Holtum, 1952; Sanford, 1964, 1967; Wilfret & Kamemoto, 1969), porém tal capacidade pode diferir dependendo de quais espécies são cruzadas (Johansen, 1990).

O gênero *Bulbophyllum* é muito variável quanto à morfologia e ao hábito, bem como aos ambientes que ocupa. Eventos fenológicos sincronizados favorecem a ocorrência de hibridização entre espécies próximas, porém o isolamento reprodutivo entre elas pode ser obtido de outras formas como: separação espacial, polinizadores específicos e barreiras mecânicas ou, até mesmo, genéticas. Barreiras à hibridização entre espécies em Orchidaceae, onde espécies próximas são potencialmente interférteis, ocorrem principalmente ao nível de polinização, (Dodson, 1962; Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1968, 1981, 1993; Borba & Semir, 1999; Borba et al., 2001).

Foram estudados os sistemas de reprodução de uma população de cada espécie, em indivíduos coletados em populações naturais de: *B. regnellii* Rchb. f., *B. plumosum* (Barb. Rodr.), *B. insectiferum* Barb. Rodr., *B. adiamantinum* Brade, *B. epiphytum* Barb. Rodr. e *B. micranthum* Barb. Rodr.

O presente trabalho objetivou medir a frutificação e produção de sementes em polinizações autogâmicas e alogâmicas e a potencialidade de hibridização entre as espécies estudadas, principalmente nas espécies morfologicamente semelhantes e com eventos fenológicos sobrepostos (Ver Capítulo 1).

METODOLOGIA

Foram coletados, em populações naturais, 40 indivíduos de *Bulbophyllum regnellii* Rchb.f., 36 de *B. plumosum* (Barb. Rodr.) Cogn., 40 de *B. bidentatum* (Barb. Rodr.) Cogn., 20 de *B. insectiferum* Barb. Rodr., 44 de *B. adiantinum* Brade, 70 de *B. epiphytum* Barb. Rodr. e 7 de *B. micranthum* Barb. Rodr., os quais foram cultivados em casa de vegetação do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP, Campinas-SP (22°49'S; 47°06'W; ca. 700m alt.). Os indivíduos das espécies estudadas foram coletados, na maioria das vezes, cerca de três meses antes do início dos experimentos.

Foram tomados os devidos cuidados para coletar indivíduos de diferentes clones, pois estas espécies reproduzem-se vegetativamente. Outro cuidado consistiu em coletar somente parte dos indivíduos, pois as populações, muitas vezes, são pequenas e restritas a poucas áreas, minimizando, dessa forma, danos às populações naturais.

A população de *B. regnellii* foi coletada na reserva municipal da Grota Funda, município de Atibaia-SP, as populações de *B. plumosum*, *B. bidentatum*, *B. insectiferum* e *B. micranthum*, na Pedreira do Guilherme e *B. epiphytum*, na cachoeira Vargem Grande, áreas localizadas no município de Carrancas-MG; já *B. adiantinum* foi coletado na Serra do Cabral, município de Joaquim Felício-MG. O clima dos locais de coleta das espécies estudadas é do tipo Cwb segundo a classificação de Köppen (1984), sendo semelhante ao clima da cidade de Campinas-SP, onde as plantas foram mantidas sob cultivo. As espécies apresentam épocas de floração diferentes, com sobreposição de floração entre *B. plumosum* e *B. regnellii*, *B. epiphytum* e *B. micranthum*, bem como *B. insectiferum* e *B. adiantinum*. Para a caracterização dos locais de ocorrência das espécies, ver Capítulo 1.

Foram realizadas polinizações experimentais, manuais, em todas as espécies, com três tipos de tratamento para cada espécie como receptora de pólen: autopolinização, polinização cruzada intra-específica e polinização cruzada inter-específica em espécies que apresentaram sobreposição na fenologia floral. Polinizações adicionais foram realizadas em campo para espécies com floração reduzida em casa de vegetação. O número de polinizações variou entre os tratamentos e as espécies, dependendo da disponibilidade de flores. Para os experimentos de reprodução foram utilizadas flores em primeiro dia de antese, sendo a ordem de polinização, em cada inflorescência, aleatória. Algumas flores não emasculadas e não polinizadas foram ensacadas para verificação de eventos de agamosperma e/ou autopolinizações espontâneas. O início e o tempo de desenvolvimento dos frutos foi acompanhado por visitas regulares em casa de vegetação, onde foram obtidos os tempos médios de desenvolvimento dos frutos e/ou abortos, após os tratamentos.

Para cada fruto maduro coletado foi examinada uma amostra de cerca de 300 sementes sob microscopia convencional, em lâminas montadas na hora da observação e calculado o percentual de sementes viáveis, a partir de suas características morfológicas. Sementes com embrião rudimentar e sem embrião foram consideradas inviáveis e sementes com embrião bem desenvolvido foram consideradas viáveis (Fig 1A).

Frutos abortados, frutos maduros e flores polinizadas fenescidas foram fixados em solução de FAA 50% por 48 horas e transferidos para álcool 50%. Posteriormente, o material coletado foi lavado cinco vezes com água destilada, em banhos de 30 minutos cada e mergulhado em vidros de penicilina contendo solução de NaOH 10N, retirados da estufa, depois levado para estufa a 60 °C por 1:00 h (frutos) ou 25 min. (flores). Após este tratamento, o material foi imediatamente lavado com água destilada por seis vezes, com banhos de 30min cada para remoção do NaOH. Em seguida, o material tratado foi mergulhado em solução de azul de anilina por cerca de 12 horas e examinado em microscópio de fluorescência para observação do crescimento de tubos polínicos e fertilização de óvulos (método modificado de Martin, 1959).

Reduzido número de cruzamentos em algumas das espécies e o elevado número de abortos espontâneos não permitiram análise estatística adequada dos dados coletados e, desta forma, este trabalho se limitará a uma análise descritiva dos padrões observados.

O material testemunho das espécies foi depositado no herbário UEC (*Bulbophyllum regnellii* - C.F. Verola, et al. s.n. (UEC 122.330); *B. plumosum* - C.F. Verola, et al. s.n. (UEC 122.329); *B. bidentatum* - C.F. Verola, et al. s.n. (UEC 122.328); *B. insectiferum* - C.F. Verola, et al. s.n. (UEC 122.334); *B. adiantinum* - C.F. Verola, et al. s.n. (UEC 122.332); *B. epiphytum* - C.F. Verola, et al. s.n. (UEC 122.327); *B. micranthum* - C.F. Verola, et al. s.n. (UEC 122.333).

RESULTADOS

Taxa de frutificação

Cruzamentos intra-específicos

Nenhuma das sete espécies desenvolveu frutos espontaneamente ou por apomixia, sendo os polinizadores indispensáveis como vetores de pólen para a formação de frutos.

O material disponível para experimentação, permitiu que fossem realizados 409 cruzamentos experimentais, sendo 340 intra-específicos e 69 inter-específicos, para a verificação dos sistemas de reprodução das espécies. Flores auto-polinizadas que não iniciaram o desenvolvimento dos frutos, murcharam e feneceram entre seis e 11 dias após a polinização. O tempo de maturação dos frutos formados em polinizações cruzadas intra-específicas, é de cerca de seis meses em *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*, 4,5 meses em *B. regnellii* e *B. plumosum*, 3,6 meses em *B. epiphytum*, e 2,5 meses em *B. bidentatum*. Não foram realizadas polinizações cruzadas intra-específicas em *B. micranthum*. Os resultados das polinizações manuais efetuadas para as sete espécies de *Bulbophyllum* estão resumidas na Tabela 1.

Todas as espécies estudadas são autoincompatíveis. Em nenhuma espécie houve frutificação em auto-polinização, exceto em *B. regnellii*, onde a taxa de frutificação foi de 15,4%. Em polinizações cruzadas intra-específicas, a taxa de frutificação variou de 50% (*B. regnellii*) a 71,5% (*B. plumosum*). Em *B. epiphytum*, apesar do grande número de polinizações cruzadas realizadas (n=60), a taxa de frutificação foi baixa (20%). Quando excluídos os dois pares de indivíduos de *B. epiphytum* com baixa taxa de frutificação em polinizações cruzadas, a taxa de frutificação se eleva para 50% (n=20). Em polinizações cruzadas intra-específicas, houve uma taxa de abortos espontâneos de aproximadamente 50% em todas as espécies.

Cruzamentos inter-específicos

A taxa de frutificação em cruzamentos inter-específicos variou entre os diferentes pares de espécies, e algumas vezes superou taxas de frutificação de cruzamentos intra-específicos (Tabela 1). Flores que receberam cruzamentos inter-específicos e não iniciaram o desenvolvimento dos frutos, murcharam e feneceram entre sete e 15 dias após a polinização. O período de maturação dos frutos formados em polinizações cruzadas inter-específicas, é de cerca de seis meses entre *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*, 4,5 meses entre *B. regnellii* e *B. plumosum*, e 2,5 meses entre *B. epiphytum* e *B. micranthum*, como doadores ou receptores de pólen.

Em cruzamentos bidirecionais envolvendo espécies morfológicamente semelhantes, como *B. insectiferum* x *B. adiamantinum* e *B. epiphytum* x *B. micranthum*, a taxa de frutificação variou de 25% a 80%, respectivamente. No entanto, cruzamentos bidirecionais envolvendo espécies morfológicamente distintas, como *B. regnellii* x *B. plumosum*, a taxa de frutificação foi de 80 %, aproximadamente. Cruzamentos bidirecionais entre *B. epiphytum* x *B. micranthum* e *B. regnellii* x *B. plumosum* a taxa de frutificação foi semelhante nas duas direções (cerca de 80%), mas entre *B. insectiferum* x *B. adiamantinum* a taxa de frutificação foi diferente dependendo da direção do cruzamento (cerca de 25% e 50%), porém os valores amostrais foram baixos para uma análise conclusiva.

A taxa de abortos espontâneos em polinizações inter-específicas, variou de acordo com os pares de espécies consideradas, sendo de aproximadamente 50% em cruzamentos envolvendo *B. adiamantinum* x *B. insectiferum*, 25% entre *B. epiphytum* x *B. micranthum*, e de 20% entre *B. plumosum* x *B. regnellii*, em qualquer das direções dos cruzamentos, como doadores ou receptores de pólen.

Tabela 1 - Percentual de frutificação em cruzamentos experimentais de *Bulbophyllum regnellii*, *B. plumosum*, *B. bidentatum*, *B. insectiferum*, *B. adiamantinum*, *B. micranthum* e *B. epiphytum*. Sendo auto = autopolinização; intra = polinização cruzada intra-específica; x reg, x plu, x bid, x ins, x adi, x mic, x epi = cruzamento interespecífico tendo *B. regnellii*, *B. plumosum*, *B. bidentatum*, *B. insectiferum*, *B. adiamantinum*, *B. micranthum* e *B. epiphytum* como os doadores de polinário respectivamente. O tamanho da amostra está representado entre parênteses.

espécie	auto	intra	xreg	xplum	xbid	xins	xadi	xmic	xepi
<i>B. regnellii</i>	15,4 (13)	50 (8)		80 (5)					
<i>B. plumosum</i>	0 (20)	71,5 (14)	83,3 (6)						
<i>B. bidentatum</i>	0 (13)	57,1 (14)							
<i>B. insectiferum</i>	0 (37)	69,45 (36)				25 (8)			
<i>B. adiamantinum</i>	0 (37)	68,75 (48)				50 (8)			
<i>B. micranthum</i>	0 (20)								76,9 (13)
<i>B. epiphytum</i>	0 (20)	20 (60)						80 (15)	
		50(20)*							

*Valores excluindo pares de indivíduos com frutificação excepcionalmente baixa em polinizações intra-específicas (ver texto para explicação).

Viabilidade de sementes

Polinizações cruzadas intra-específicas

Foram analisados 79 frutos entre todos os tratamentos realizados (40 de cruzamentos intra-específicos e 39 de cruzamentos inter-específicos), totalizando 25.563 sementes. Os frutos formados em cruzamentos intra-específicos, apresentaram alto percentual de sementes viáveis, variando de 71,9 a 87,5%, exceto em *B. epiphytum*, que apresentou 50,9% de sementes viáveis. A única espécie que desenvolveu frutos em auto-polinizações foi *B. regnellii*, porém a viabilidade de sementes foi de 0%, estando elas, neste caso, sem embrião (Tabela 2).

Frutos obtidos de polinizações cruzadas intra-específicas, em todas as espécies estudadas (exceto *B. epiphytum*), apresentaram a maior parte de sementes viáveis e bem desenvolvidas; sendo que a maioria das sementes consideradas inviáveis estavam sem embrião, com embriões rudimentares ou mal formados (Fig. 1A).

Polinizações cruzadas inter-específicas

Frutos obtidos de polinizações bidirecionais inter-específicas, apresentaram variação no percentual de sementes viáveis, de 0% (*B. micranthum* x *B. epiphytum*) a 77,5% (*B. epiphytum* x *B. micranthum*). Cruzamentos bidirecionais inter-específicos envolvendo *B. regnellii* e *B. plumosum*, apresentaram as menores taxas de viabilidade de sementes. Por outro lado, cruzamentos inter-específicos bidirecionais envolvendo *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*, apresentaram taxa elevada de sementes viáveis, sendo similares à taxa de viabilidade de sementes obtidas em cruzamentos intra-específicos (Tabela 2). Em frutos obtidos de polinizações cruzadas inter-específicas, as sementes consideradas inviáveis, na maioria das vezes, não apresentavam embrião.

Tabela 2 – Viabilidade de sementes em cruzamentos experimentais de *Bulbophyllum regnellii*, *B. plumosum*, *B. bidentatum*, *B. insectiferum*, *B. adiamantinum*, *B. micranthum* e *B. epiphytum*. Onde intra = polinização cruzada intra-específica; x reg, x plu, x bid, x ins, x adi, x mic, x epi = cruzamento interespecífico tendo *B. regnellii*, *B. plumosum*, *B. insectiferum*, *B. micranthum* e *B. epiphytum* como os doadores de polinário, respectivamente. Todos os valores estão em porcentagem e foram arcsen transformados, mínimo e máximo representado entre parênteses.

espécie	intra	xreg	xplu	xins	xadi	xmic	xepi
<i>B. regnellii</i>	72,8 (57,6-86,9)		14,2 (7,4-16,3)				
<i>B. plumosum</i>	74,4 (63,2-86,6)	25,8 (26,4-37,0)					
<i>B. bidentata</i>	77,6 (75-85,7)						
<i>B. insectiferum</i>	71,9 (42,1-96,1)			73,7 (67,1-89,7)	69 (64,6-75,9)		
<i>B. adiamantinum</i>	87,5 (82,0-96,1)						0 (0-0)
<i>B. micranthum</i>							
<i>B. epiphytum</i>	50,7 (44,6-51,7)					77,5 (65,5-83,7)	

Morfologia dos tubos polínicos

Foi analisado do crescimento de tubos polínicos em sete das espécies estudadas que serão descritos de acordo com a similaridade morfológica apresentada, independentemente do cruzamento em que ocorreram:

Tipo 1- Grãos de pólen de poucas tétrades germinaram, crescendo pouco, ficando os tubos polínicos restritos à cavidade estigmática ou início do canal estilar, enovelados e com grande depósito de calose. As tétrades de pólen que não germinaram, apresentaram as bordas e contornos fluorescentes (Fig. 1B). Primórdios de placenta visível. Morfologia freqüente em flores fenescidas auto-polinizadas de *B. regnellii*, *B. bidentatum*, *B. insectiferum* e *B. adiamantinum* e em flores fenescidas de polinizações cruzadas intra-específicas de *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*.

Tipo 2- Grãos de pólen de poucas tétrades germinaram, os tubos polínicos cresceram até o início ou meio do canal estilar, tomados de calose, com ápice dilatado e estourando (Fig. 1C). Alguns tubos polínicos cresceram muito e alcançaram a placenta na região do ovário, onde se tornaram irregulares, dilatados, com grande deposição de calose, ápice dilatado e, algumas vezes, estourando (Fig. 1D). Primórdios de placenta visíveis. Morfologia apresentada exclusivamente em flores fenescidas de polinizações cruzadas intra-específicas em *B. bidentatum*.

Tipo 3- A maioria dos grãos de pólen das tétrades geminou, os tubos polínicos ficaram restritos à cavidade estigmática, crescendo pouco e irregulares, com grande deposição de calose (Fig. 1E), ápice dilatado e algumas vezes estourando (Fig. 1F). Primórdios de placenta visíveis. Freqüente em flores fenescidas de polinização cruzada intra-específica de *B. regnellii*, flores fenescidas de polinizações cruzadas bidirecionais inter-específicas entre *B. regnellii* e *B. plumosum*, *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*, polinização cruzada inter-específica de *B. epiphytum* x *B. micranthum*, e em flores fenescidas auto-polinizadas de *B. plumosum*, *B. micranthum* e *B. epiphytum*.

Tipo 4- A maioria dos grãos de pólen germinou, os tubos polínicos cresceram até a metade do canal estilar, quando se tornaram tomados de calose (Fig. 1G), com ápice dilatado e estourando. Alguns tubos polínicos cresceram até o ovário, onde se tornaram tomados de calose, com ápice dilatado e estourando. Primórdios de placenta visível. Morfologia encontrada exclusivamente em flores fenescidas de polinizações cruzadas intra-específicas de *B. plumosum*.

Tipo 5- A maioria dos grãos de pólen germinou, os tubos polínicos cresceram até o ovário, onde sua morfologia tornou-se alterada, irregulares, ápice dilatado e, algumas vezes, estourando (Fig. 1H). Placenta bem desenvolvida e muitos óvulos não fertilizados. Morfologia freqüente em flores fenescidas de polinizações cruzadas intra-específicas de *B. epiphytum*, flores fenescidas e frutos formados em polinizações cruzadas inter-específicas de *B. micranthum* x *B. epiphytum*, e em frutos formados em auto-polinização de *B. regnellii*.

Tipo 6- A maioria dos grãos de pólen das tétrades germinou, os tubos polínicos cresceram até o ovário, formando feixes de tubos polínicos normais, bem definidos e com "plugs" de calose em intervalos constantes (Fig. 1I). Em partes isoladas do ovário, alguns tubos polínicos apresentaram morfologia alterada, com grande deposição de calose nas paredes, ápice dilatado e, algumas vezes, estourando (Fig. 1J). Placenta bem desenvolvida, grande quantidade de sementes, algumas sem embrião ou com embriões mal formados e algumas fertilizações visíveis (Fig. 1J). Morfologia freqüente em frutos formados em polinizações cruzadas intra-específicas de *B. regnellii*, *B. plumosum*, *B. bidentatum* e *B. epiphytum* e frutos formados em polinizações cruzadas inter-específicas bidirecionais envolvendo *B. regnellii* e *B. plumosum* em qualquer direção do cruzamento, como doador ou receptor de polinário.

Tipo 7- A maioria das tétrades de pólen germinou, os tubos cresceram até o ovário formando feixes normais, bem definidos e com "plugs" de calose em intervalos aproximadamente regulares (Fig. 1K). Placenta bem desenvolvida, com muitas sementes viáveis e algumas fertilizações visíveis. Morfologia freqüente em frutos obtidos em polinizações cruzadas intra-específicas de *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*, frutos obtidos em polinizações cruzadas inter-específicas de *B. epiphytum* x *B. micranthum* e polinizações cruzadas inter-específicas bidirecionais entre *B. insectiferum* x *B. adiamantinum*.

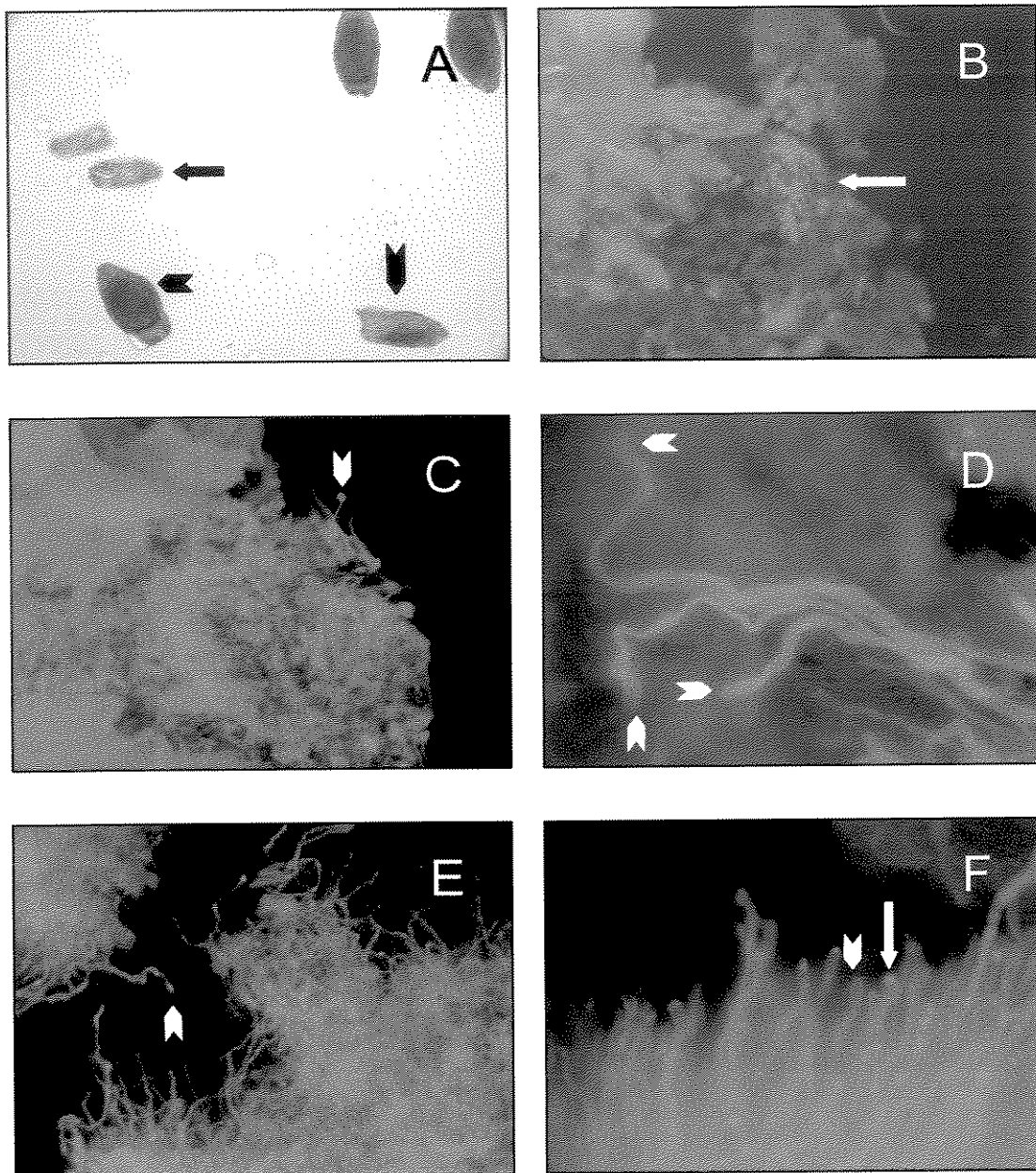


Figura 1 – A- Semente viável com embrião bem desenvolvido (seta larga curta), inviável com embrião mal formado (seta larga longa) e inviável sem embrião (seta estreita longa). B- Tipo 1; polinário na cavidade estigmática com tétrades de pólen sem germinar e com bordas fluorescentes (*Bulbophyllum bidentata*, autopolinização). C, D- Tipo 2; poucas tétrades de pólen germinadas, crescendo pouco e restritas à cavidade estigmática com ápice dilatado e estourando (seta) (*B. bidentata*, polinização cruzada – flor fenescida). E, F- Tipo 3; maioria das tétrades de pólen germinadas, restritas à cavidade estigmática com grande deposição de calose, ápices dilatados (setas largas) e algumas vezes estourando (seta longa) (*B. epiphytum*, autopolinização).

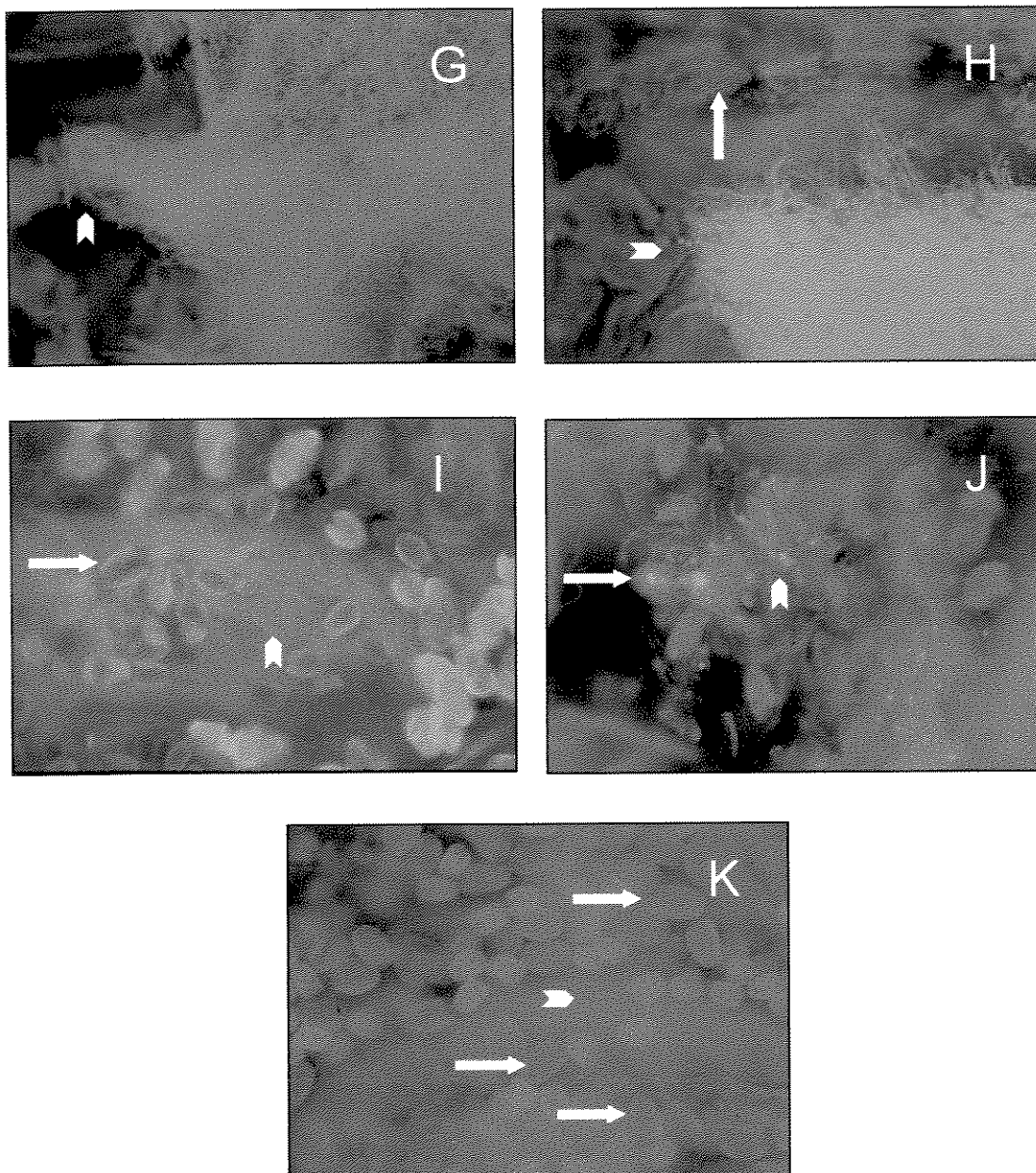


Figura 1 continuação – G- Tipo 4; feixe de tubos polínicos no início do canal estilar, com grande deposição de calose e ápices dilatados (seta longa) (*Bulbophyllum plumosum*, polinização cruzada – flor fenescida). H- Tipo 5; feixe de tubos polínicos na região do ovário, com grande depósito de calose, ápice dilatado (seta longa) e óvulos não fertilizados (seta longa) (*B. epiphytum*, polinização cruzada – flor fenescida). I- Tipo 6; feixe de tubos polínicos normais na região do ovário (seta longa), número elevado de sementes viáveis (seta longa) (*B. epiphytum*, polinização cruzada – frutos). J- Tipo 6; tubos deformados em regiões isoladas do ovário (seta longa) e fertilização visível (seta longa) (*B. plumosum* x *B. regnellii* – fruto). K- feixe de tubos polínicos normais no ovário (seta longa) e muitas semente com embriões bem desenvolvidos (setas longas) (*B. adiamantinum*, polinização cruzada – fruto).

DISCUSSÃO

Cruzamentos intra-específicos

Os resultados obtidos através das auto-polinizações experimentais, principalmente pela análise da morfologia dos tubos polínicos e a ausência de frutificação, revela que todas as espécies estudadas apresentam mecanismo de auto-incompatibilidade homomórfico gametofítico (De Nettancourt, 1977; Bawa, 1979; Dafni & Calder, 1987; Murfett et al., 1996; Richards, 1997). Apesar da morfologia típica de mecanismo de auto-incompatibilidade apresentada pelos tubos polínicos, as espécies apresentam algumas variações nos sítios de reconhecimento de tubos polínicos provenientes de um mesmo material genético, indo desde a cavidade estigmática até a porção final do canal estilar.

Bulbophyllum regnellii foi a única espécie a formar frutos através de auto-polinizações, porém, estes apresentaram 0% de sementes viáveis que, na maioria das vezes, estavam sem embrião ou com embriões mal formados. Mecanismos pós-zigóticos, como a presença de alelos recessivos letais, resultam em ausência ou baixa formação de sementes, causando aborto dos frutos (Johansen, 1990; Tremblay, 1994). Estudos sugerem que mutações letais tendem a ocorrer em estágios iniciais do desenvolvimento (Templeton & Read, 1983). Segundo Husband & Schermisk (1996), depressão endogâmica em uma população natural é observada, geralmente, durante a maturação da semente ou nos estágios de crescimento ou reprodução, raramente na germinação.

Auto-incompatibilidade raramente ocorre em Orchidaceae, sendo auto-compatibilidade a regra geral (Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1981, 1993; Johansen, 1990; Pedersen, 1995; Borba, 1997; Borba et al., 1999), sendo observada principalmente em espécies miófilas, como *Dendrochilum longibracteatum* Pfitze (Pedersen, 1995), *Stelis argentata* Lindl. (Christensen, 1992), *Pleurothallis* spp. (Borba et al., 2001), embora grupos não miófilos também apresentem sistemas de auto-incompatibilidade, como em espécies da subfamília Vandoideae (Agnew, 1986) e algumas espécies do gênero *Dendrobium* (Johansen, 1990). Outras espécies de *Bulbophyllum* estudadas até o momento, são auto-compatíveis, como ocorre em *B. weddellii*, *B. involutum* e *B. ipanemense*, nos quais são observadas barreiras mecânicas, e não genéticas, à autogamia (Borba & Semir, 1998a, 1999; Borba et al., 1999).

Apesar de estudos recentes mostrarem que a auto-incompatibilidade em Orchidaceae não ser tão rara como se pensava (Agnew, 1986; Johansen, 1990; Christensen, 1992; Pedersen, 1995; Borba et al., 2001), a interpretação da incompatibilidade devido a uma vasta variação nos tipos de reação, nos deixam pouco à vontade para tentar explicá-las.

Mesmo apresentando mecanismo de auto-incompatibilidade, *B. regnellii* apresenta pequena taxa de frutificação em auto-polinizações experimentais, mas os frutos não apresentam sementes viáveis. Em condições naturais, apesar de ser potencialmente possível aumentar a produção de frutos por auto-polinização, isso é aparentemente impedido por um tipo de barreira mecânica. Em *B. regnellii*, o polinário é muito maior que a cavidade estigmática (ver Capítulo 1), sugerindo haver um mecanismo parecido com aquele de *B. ipanemense* e *B. involutum*, em que o polinário tem que se desidratar e diminuir de tamanho, tornando-se menor que a cavidade estigmática, para que a polinização ocorra (Borba & Semir, 1999).

Em orquídeas miófilas, barreiras mecânicas e mecanismos de auto-incompatibilidade podem estar associados ao fato destas espécies possuírem polinizadores com comportamento de permanecer na flor após a remoção do polinário, visitar outras flores da mesma inflorescência ou retornar à mesma flor após a remoção do polinário, o que propiciaria a ocorrência de autopolinização, como visto em *B. insectiferum* (Capítulo 1) e, em outras espécies de orquídeas polinizadas por moscas (Christensen, 1992; Pedersen, 1995; Borba & Semir, 1998a, 1999, 2001; Borba et al., 2001; Singer & Cocucci, 1999), assim como, em outras famílias, como Asclepiadaceae (Meeve & Liede, 1994).

Mesmo sendo mais eficiente em evitar a autogamia, a auto-incompatibilidade (barreira genética) pode ser pouco vantajosa já que implica em perda de pólen e de flores. Evitar essa perda é especialmente importante em orquídeas que disponibilizam todo o pólen de uma flor em uma ou poucas unidades, as polínias (Tremblay, 1992).

As taxas de frutificação obtidas em polinizações cruzadas intra-específicas foram muito variáveis e, mesmo assim, na maioria das espécies estudadas (exceto *B. epiphytum* e *B. regnellii*), foram superiores às taxas de frutificação obtidas em outras espécies de *Bulbophyllum*

estudadas até o momento (Sazima, 1978; Borba et al., 1999). Apesar de *B. epiphytum* e *B. regnellii* apresentarem taxas de frutificação semelhantes às de outras espécies de *Bulbophyllum* anteriormente estudadas (Braga, 1977; Sazima, 1978; Borba et al., 1999), quando comparamos com as altas taxas de frutificação apresentadas pelas outras espécies deste estudo, podemos dizer que o número elevado de abortos e a menor taxa de frutificação destas duas espécies, podem ser devidos ao cruzamento entre indivíduos aparentados, sendo os abortos e a reduzida taxa de frutificação causados por depressão endogâmica. A baixa taxa de frutificação atribuída a cruzamentos entre indivíduos aparentados em *B. epiphytum* pode ser reforçada pelo fato de que, quando excluimos os pares de indivíduos com baixa frutificação, a taxa de frutificação se eleva de 20% para 50%. Em *B. regnellii*, a baixa taxa de frutificação poderia ser reflexo do número reduzido de cruzamentos intra-específicos efetuados, que podem ter superestimado efeitos (ex. depressão endogâmica) que em populações naturais seriam raros.

A taxa de aborto em todos os tipos de cruzamento intra-específico foi alta. O número elevado de abortos em todas as espécies, assim como a baixa taxa de frutificação em *B. regnellii*, podem ter sido causados pelo transplante recente dos indivíduos utilizados nos experimentos e por diferenças ambientais entre os locais das populações e as condições de cultivo. Aparentemente, a escassez de recursos é uma condição comum em espécies de orquídeas de campos rupestres (Borba et al. 1999, 2001). Escassez de recursos, juntamente com o estresse causado pelo transplante de plantas coletadas em campo, podem levar ao aumento na taxa de abortos e à diminuição da taxa de frutificação (Lloyd, 1980; Stephenson, 1981). No entanto, estudos de reprodução envolvendo *B. involutum*, tanto em campo sem o transplante de indivíduos (Sazima, 1978), como em casa de vegetação após o transplante (Borba et al., 1999), apresentaram taxa de aborto e frutificação semelhantes, indicando não haver correlação entre estresse causado pelo transplante e variações quantitativas na taxa de abortos e frutificação.

Experimentos em populações naturais de orquídeas, na maioria das vezes, resultam em altas taxas de aborto e baixas taxas de frutificação (Mehrfhoff, 1983; Ackerman & Oliver, 1985; Gonzáles-Dias & Ackerman, 1988). Além da escassez de recursos, o baixo número de sementes em desenvolvimento constitui um outro fator que pode contribuir para o aborto de frutos (Stephenson, 1981; Bertin, 1990). Baixo número de sementes pode ser o resultado de número reduzido de tubos polínicos se desenvolvendo, devido à baixa carga de pólen e, mesmo, a problemas com os tubos polínicos (Bertin, 1990; Niesenbaum & Casper, 1994).

Cruzamentos inter-específicos

Os cruzamentos inter-específicos foram os que apresentaram as maiores taxas de frutificação (exceto cruzamentos entre *B. insectiferum* e *B. adiamantinum*), indicando a ausência de mecanismos genéticos de inter-incompatibilidade.

Alguns estudos mostram haver correlação entre similaridade morfológica e potencialidade de hibridização entre espécies (Sanford, 1964, 1967; Scacchi, et al., 1990; Borba et al., 1999), embora exista uma série de barreiras pré-polinização que previnem a hibridização, como isolamento geográfico, barreiras mecânicas e especificidade de polinizadores (Lenz & Wimber, 1959; Dodson, 1962; Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1968, 1981, 1993; Steiner et al., 1994; Borba & Semir, 1998a, 1999, 2001; Borba et al., 2001). Segundo Hogenboom (1975), a não frutificação em um cruzamento interespecífico pode resultar da falta de informação genética de um indivíduo sobre algum caráter relevante do outro, devido ao grau de divergência evolutiva entre as espécies. A capacidade de cruzamentos entre espécies pode, desta maneira, refletir o grau de divergência evolutiva, da mesma forma que similaridade ou filogenia em orquídeas (Sanford, 1964, 1967; Stort, 1972, 1986; Scacchi et al., 1990).

Bulbophyllum insectiferum e *B. adiamantinum* aparentemente são espécies filogeneticamente próximas, apresentam fenologia de floração sobreposta (ver Capítulo 1) e são bidirecionalmente inter-férteis, por apresentarem moderada taxa de frutificação e alta taxa de viabilidade de sementes quando inter-cruzadas. No entanto, estas espécies apresentam distribuição geográfica restrita e são espacialmente disjuntas não sendo observadas em simpatria. Mesmo sendo espécies filogeneticamente próximas e inter-compatíveis, a separação geográfica destas espécies garante o isolamento reprodutivo entre elas, que poderiam, potencialmente, hibridizar se entrassem em contato e apresentassem os mesmos polinizadores.

Da mesma forma, *B. epiphytum* e *B. micranthum* são, aparentemente, espécies filogeneticamente próximas, apresentam fenologia de floração e distribuição geográfica sobrepostas e, quando inter-cruzadas, apresentam alta taxa de frutificação. No entanto, quando inter-cruzadas estas duas espécies somente produzem sementes viáveis quando o doador de pólinias é *B. micranthum*. Desta maneira podemos dizer que a hibridização entre as duas espécies é evitada em pelo menos 50%, sendo possível ocorrer naturalmente a hibridização entre elas apenas se o polinizador de *B. micranthum* for o mesmo de *B. epiphytum*.

Segundo Lenz & Wimber (1959), pólinias de espécies com flores pequenas teriam tubos polínicos incapazes de alcançar os óvulos de espécies com flores maiores. Por outro lado, Hildebrand (1863) e Strasburger (1886) acreditam que a não produção de sementes viáveis pode ser resultante da incapacidade de um tubo polínico proveniente de um pólen estranho induzir o desenvolvimento do óvulo. *Bulbophyllum epiphytum* possui flores maiores que *B. micranthum*, porém as duas espécies apresentam colunas florais de tamanho equivalente. O tamanho reduzido das flores de *B. micranthum* aliado à ausência de produção de sementes viáveis em cruzamentos inter-específicos com *B. epiphytum*, que possui flores maiores, contradiz a proposta de Lenz & Wimber (1959). A análise dos tubos polínicos de cruzamentos entre *B. epiphytum* e *B. micranthum*, evidencia que há uma coerência com a proposta de Hildebrand (1863) e Strasburger (1886) quando *B. epiphytum* foi o doador de pólen, pois apesar de *B. micranthum* conseguir manter o desenvolvimento do fruto até a deiscência, as sementes obtidas não possuíam embriões, o que evidencia a não fertilização dos óvulos por problemas com os tubos polínicos. Neste caso específico os tubos polínicos, apesar de crescerem até o ovário, apresentaram morfologia alterada, freqüentemente estourando e não fertilizando os óvulos.

Polinizações cruzadas inter-específicas entre *B. regnellii* e *B. plumosum*, em qualquer direção dos cruzamentos, resultaram em altas taxas de frutificação e baixas taxas de viabilidade de sementes. *B. regnellii* e *B. plumosum* parecem ser espécies filogeneticamente pouco relacionadas, apresentam fenologia de floração sobreposta, e apesar de às vezes ocorrerem na mesma região, nunca foram observadas em simpatria. Mesmo que ocorressem simpatricamente, os polinizadores dessas duas espécies provavelmente são distintos, pois apresentam diferenças nos mecanismos de polinização (ver Capítulo 1). *B. plumosum* é polinizado por uma espécie de mosca pequena e o processo de polinização depende do vento para ocorrer, já em *B. regnellii*, mesmo não tendo sido observado o polinizador, a polinização deve ser efetuada por um grupo de moscas maior, com peso suficiente para deslocar seu labelo, o que inviabilizaria a polinização mesmo que ocorressem visitas pelo polinizador de *B. plumosum* que é pequeno e leve. Desta forma, mesmo sendo espécies com alta taxa de frutificação quando inter-cruzadas artificialmente, uma série de barreiras como: baixa fertilidade de sementes devido a problemas com os tubos polínicos, ocupação de ambientes diferentes e especificidade de polinizadores, evitam a hibridização natural entre essas espécies.

Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com o modelo geral proposto para Orchidaceae, no qual espécies próximas são potencialmente intercompatíveis e o isolamento reprodutivo é mantido principalmente por barreiras pré-polinização (Lenz & Winber, 1959; Dodson, 1962; Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1968, 1981, 1993; Steiner, et al., 1994; Borba & Semir, 1998a, 1999, 2001; Borba et al., 2001), assim como observado para outras espécies de *Bulbophyllum* estudadas (Borba & Semir, 1998a, 1999; Borba et al., 1999). Porém estas barreiras são mais flexíveis do que barreiras genéticas, podendo ocorrer, eventualmente, a formação de híbridos (Borba & Semir, 1998b). Esse quadro concorda, parcialmente, com a teoria de Hogenboom (1975), que considera que barreiras genéticas inter-específicas intragenéricas em orquídeas ocorrem principalmente em espécies filogeneticamente menos relacionadas (Sanford, 1964, 1967; Stort, 1972, 1986; Scacchi et al. 1990).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackerman, J. D. & Oliver, J. C. 1985. Reproductive biology of *Oncidium variegatum*: moon phases, pollination, and fruit set. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 54: 326-329.
- Agnew, J. D. 1986. Self-compatibility/incompatibility in some orchid of the subfamily Vandoideae. *Plant Breeding* 97: 183-186.
- Barrett, S. C. H. & Charlesworth, D. 1991. Effects of a change in the level of inbreeding on the genetic load. *Nature* 352: 522-524.
- Bawa, K. S. 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28: 85-92.
- Bawa, K. S. 1979. Breeding systems of trees in a wet forest. *New Zel. Jour. Bot.* 17: 521-524.
- Bertin, R. I. 1990. Effects of pollination intensity in *Campsis radicans*. *Amer. J. Bot.* 77: 176-187.
- Borba, E. L. 1997. **Estudos biossistemáticos em três espécies de *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae) ocorrentes nos campos rupestres brasileiros.** Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Borba, E. L. & Semir, J. 1998a. Wind-assisted fly pollination in three *Bulbophyllum* species (Orchidaceae) occurring in the Brazilian 'campos rupestres'. *Lindleyana* 13: 203-218.
- Borba, E. L. & Semir, J. 1998b. *Bulbophyllum xcipoense* (Orchidaceae), a new natural hybrid from the Brazilian campos rupestres: description and biology. *Lindleyana* 13: 113-120.
- Borba, E. L. & Semir, J. 1999. Temporal variation in pollinarium size after its removal in species of *Bulbophyllum*: a different mechanism preventing self-pollination in Orchidaceae. *Pl. Syst. Evol.* 217: 197-204.
- Borba, E. L. & Semir, J. 2001. Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: a multiple population approach. *Ann. Bot.* 88: 75-88.
- Borba, E. L.; Semir, J. & Shepherd, G. J. 2001. Self-incompatibility, inbreeding depression, and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. *Ann. Bot.* 88: 89-99.
- Borba, E. L.; Shepherd, G. J. & Semir, J. 1999. Reproductive system and crossing potential in three species of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) occurring in Brazilian 'campo rupestre' vegetation. *Pl. Syst. Evol.* 217: 205-214.
- Braga, P. I. S. 1977. Aspectos ecológicos das Orchidaceae de uma campina na Amazônia Central. *Acta Amazônica* 9 (suplemento 2): 1-81.
- Calder, D. M.; Adams, P. B. & Slater, A. T. 1982. The floral biology and breeding systems of *Dendrobium speciosum* Sm. In: E. G. Williams, R. B. Knox, J. H. Gilbert & P. Bernhardt (Eds). *Pollination* pp. 184-191. Meulbourne University, Melbourne.
- Cameron, M. K.; Chase, M. W.; Whitten, W. M.; Kobes, P. J.; Jarrell, P. C.; Albert, V. A.; Yukawa, T.; Hills, H. G. & Goldman, D. H. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *Am. J. Bot.* 86: 208-224.
- Charlesworth, D. & Charlesworth, B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:237-268.
- Christensen, D. E. 1992. Notes on the reproductive biology of *Stelis argentata* Lindl. (Orchidaceae: Pleurothallidinae) in eastern Ecuador. *Lindleyana* 7: 28-33.
- Clifford, S. C. 1988. Post-pollination phenomena and embryo development in the Oncidiinae (Orchidaceae). In: Tenth international symposium on sexual reproduction in higher plants. **Programme and abstracts**: 29. Springer Verlag, Berlin.
- Dafni, A. & Calder, D. M. 1987. Pollination by deceit and floral mimicry in *Thelymitra antennifera* (Orchidaceae). *Pl. Syst. Evol.* 158: 11-22.
- Dodson, C. H. 1962. The importance of pollination in the evolution of the orchids of tropical America. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 31: 525-534, 641-649, 731-735.
- Dressler, R. L. 1968. Observations on orchids and Euglossine bees in Panama and Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 15: 143-183.
- Dressler, R. L. 1981. **The orchids: natural history and classification.** Harvard University Press, Cambridge.
- Dressler, R. L. 1993. **Phylogeny and classification of the orchid family.** Cambridge University Press, Cambridge.
- González-Dias, N. & Ackerman, J. D. 1988. Pollination, fruit set, and seed production in the orchid, *Oeceoclades maculata*. *Lindleyana* 3: 150-155.

- Hildebrand, F. 1863. Die Fruchtbildung der Orchideen, ein Beweis für die doppelte Wirkung des Pollen. *Bot. Zeit.* 21: 329-333, 337-345.
- Hogenboom, N. G. 1975. Incompatibility and incongruity: two different mechanisms for the non-functioning of intimate partner relationships. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 188:361-375.
- Hottum, R. E. 1952. The subdivision of the genus *Dendrobium*. *The Orchid Journal* 1: 163-165.
- Husband, B. C. & Schemske, D. W. 1995. Magnitude and timing of inbreeding depression in diploid population of *Epilobium angustifolium* (Onagraceae). *Heredity* 75:206-215.
- Husband, B. C. & Schemske, D. W. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution* 50:54-70.
- Jamirez, I. & Ramirez, N. 1999. Breeding systems in a secondary deciduous forest in Venezuela: the importance of life form, habitat, and pollination specificity. *Pl. Syst. Evol.* 215: 23-36.
- Johansen, B. 1990. Incompatibility in *Dendrobium* (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 103:165-196.
- Kirchner, O. Von. 1922. Zur Selbstbestäubung der Orchidaceen. *Ber. D. Bot. Ges.* 40: 317-321.
- Kjellsson, G. & Rasmussen, F. N. 1987. Does the pollination of *Dendrobium unicum* Seidenf. involve "pseudopollen"? *Die Orchidee* 38:183-187.
- Kjellsson, G.; Rasmussen, F. N. & Dupuy, D. 1985. Pollination of *Dendrobium infundibulum*, *Cymbidium insigne* (Orchidaceae) and *Rhododendron lyl* (Ericaceae) by *Bombus eximius* (Apidae) in Thailand: a possible case of floral mimicry. *Trop. Ecol.* 1: 289-302.
- Köppen, W. 1948. *Climatologia con un estudio de los climas de la Tierra*. Fondo de Cultura Economica, México.
- Lande, R. & Schemske, D. W. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. *Evolution* 39:24-40.
- Lenz, L. W. & Wimber, D. E. 1959. Hybridization and inheritance in orchids. In: Withner CL. Ed. *The orchids, a scientific survey*, pp. 261-314. Krieger, Malabar.
- Lloyd, D. G. 1980. Sexual strategies in plants. I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. *New Phytol.* 86: 69-79.
- Martin, F. W. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technol.* 34: 125-128.
- Mehrlhoff, L. A. 1983. Pollination in the genus *Isotria* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 70: 1444-1453.
- Meve, U. & Liede, S. 1994. Floral biology and pollination in stapeliads - new results and a literature review. *Pl. Syst. Evol.* 192: 99-116.
- Murfett, J.; Strabala, T. J.; Zurek, D. M.; Mou, B.; Beecher, B. & McClure, B. A. 1996. S RNase and inter-specific pollen rejection in the genus *Nicotiana*: multiple pollen-rejection pathways contribute to unilateral incompatibility between self-incompatible species. *Plant Cell* 8: 943-958.
- De Nettancourt, D. 1977. *Incompatibility in Angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin.
- Niesenbaum, R. A. & Casper, B. B. 1994. Pollen tube numbers and selective fruit maturation in *Lindera benzoin*. *Am. Nat.* 144: 184-191.
- Ornduff, R. 1969. Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon* 18: 121-133.
- Ornduff, R. 1978. Reproductive characters and taxonomy. *Syst. Bot.* 3: 420-427.
- Pedersen, H. A. 1995. Anthecological observations on *Dendrochilum longibracteatum* - a species pollinated by facultatively anthophilous insects. *Lindleyana* 10: 19-28.
- Pijl, L. van der & Dodson, C. H. 1966. *Orchid flowers: their pollination and evolution*. University of Miami Press, Coral Gables.
- Richards, A. J. *Plant breeding systems*. 2nd ed. Chapman & Hall, London.
- Sanford, W. W. 1964. Sexual compatibility relationship in *Oncidium* and related genera I. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 33: 1035-1048.
- Sanford, W. W. 1967. Sexual compatibility relationship in *Oncidium* and related genera II. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 36: 114-122.
- Sazima, M. 1978. Polinização por moscas em *Bulbophyllum warmingianum* Cogn. (Orchidaceae), na Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. *Rev. bras. Bot.* 1:133-138.
- Scacchi, R., De Angelis, G. & Lanzana, P. 1990. Allozyme variation among and within eleven *Orchis* species (fam. Orchidaceae), with special reference to hybridization aptitud. *Genetica* 81:143-150.

- Schemske, D. W. & Lande, R. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. *Evolution* 39:41-52.
- Shields, W. M. 1982. **Phylopatry, inbreeding, and the evolution of Sex**. State Univ. New York Press, Albany.
- Singer, R. B. & Cocucci, A. A. 1999. Pollination mechanism in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* 14: 47-56.
- Sobrevilla, C. & Arroyo, M. T. K. 1982. Breeding systems in a montane tropical cloud forest in Venezuela. *Pl. Syst. Evol.* 140: 19-37.
- Steiner, K. E.; Whitehead, V. B. & Johnson, S. D. 1994. Floral and pollinator divergence in two sexually deceptive South African orchids. *Amer. J. Bot.* 81: 185-194.
- Stephenson, A. G. 1981. Flowers and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- Stort, M. N. S. 1972. Estudos em híbridos F1 artificiais em orquídeas. *Clên. Cult.* 24: 847-851.
- Stort, M. N. S. 1986. Fertilidade de cruzamentos e relação filogenética entre algumas espécies do gênero *Cattleya* (Orchidaceae). *Rev. bras. Bot.* 9: 69-73.
- Stoutamire, W. P. 1969. Pollination in temperate American orchids. In: **Proceedings on the sixth World Orchid Conference**, pp. 233-243. M. J. G. Corrigan. Halstead Press, Sydney.
- Strasburger, E. 1886. Ueber fremdartige Bestäubung. *Jahrb. Wiss. Bot.* 17: 50-98.
- Templeton, A. R. & Read, B. 1983. The elimination of inbreeding depression in a captive herb of Speke's gazelle. In: **Genetics and Conservation: a reference for managing wild animal and plant populations**, pp. 241-261. Benjamin/Commings, London.
- Tremblay, R. L. 1992. Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Can. J. Bot.* 70: 642-650.
- Tremblay, R. L. 1994. Frequency and consequences of multi-parental pollinations of *Cypripedium calceolus* var. *pubescens* (Orchidaceae). *Lindleyana* 9: 161-167.
- Wiens, D.; Calvin, C.L.; Wilson, C. A.; Davern, C. I.; Franc, D. & Seavey, S. R. 1987. Reproductive success, spontaneous embryo abortion, and genetic load in flowering plants. *Oecologia* 71: 501-509.
- Wijffret, G. J. & Kamamoto, H. 1969. Genome and karyotype relationships in the genus *Dendrobium* (Orchidaceae). I. Crossability. *Amer. J. Bot.* 56: 521-526.

Conclusão geral

Durante muitos anos, mesmo sabendo-se do elevado número de espécies miófilas na família Orchidaceae, poucos foram os estudos que se dedicaram à busca de respostas sobre especificidade de polinizadores em grupos miófilos, sendo este tipo de estudo restrito a sistemas de alta especificidade, como em espécies de orquídeas polinizadas por abelhas. Grande parte do "preconceito" quanto ao estudo de orquídeas miófilas, foi gerado pelas afirmações de alguns autores (Pijl & Dodson, 1966; Faegri & Pijl, 1979; Chase, 1985; Christensen, 1994; Proctor, et al., 1996), que julgavam os Diptera como polinizadores ineficientes, irregulares e não confiáveis, devido à falta de constância e comportamento casual. No entanto, estudos realizados por Borba & Semir (1998a, 1999, 2001) e Borba et al. (1999, 2001) em espécies miófilas de *Bulbophyllum* e *Pleurothallis*, certamente passaram a contradizer a casualidade e a falta de especificidade atribuída aos sistemas miófilos, por revelarem que se trata de um sistema complexo e altamente específico, sendo, inclusive, assim como em sistemas de polinização de orquídeas por abelhas ou em sistemas baseados em pseudocópula, de grande auxílio na taxonomia de grupos complexos e confusos como *Bulbophyllum* e as Pleurothallidinae em geral. Os resultados obtidos neste trabalho, vieram a confirmar a elevada especificidade entre espécies miófilas e seus polinizadores, contribuindo e incentivando que este tipo de estudo seja realizado com maior frequência, resultando, certamente, em contribuições significativas para o entendimento de processos ecológicos e evolutivos.

Outro resultado interessante deste trabalho, foi a constatação da grande variedade de mecanismos de polinização "adotados" por espécies de *Bulbophyllum* neotropicais, de forma a maximizar a eficiência de polinização destas espécies de acordo com os ambientes que ocupam, deixando claro haver uma elevada plasticidade adaptativa, com base nestes mecanismos, na ocupação de ambientes diversos, contribuindo para o entendimento da evolução, manutenção e especiação de espécies no gênero. Borba & Semir (1998a) sugeriam haver uma especificidade exclusiva entre *Bulbophyllum* neotropicais e moscas da família Milichiidae, no entanto partindo-se da extrema variação dos caracteres morfológicos florais apresentados pelas espécies de *Bulbophyllum*, chegamos à conclusão de que seria importante dedicarmos parte deste trabalho à investigação dessa hipótese, e não foi surpreendente a constatação das várias famílias de moscas envolvidas na polinização de *Bulbophyllum*, o que, de certa forma, justifica a grande variabilidade morfológica floral apresentada por este gênero.

Durante muito tempo, acreditou-se que barreiras à hibridização entre orquídeas fossem devidas a mecanismos pré-polinização, como polinizadores específicos, voláteis florais e barreiras mecânicas. Recentemente, no entanto, uma série de trabalhos, inclusive este, vêm mostrando que barreiras genéticas (de auto ou inter-incompatibilidade), sejam elas totais ou parciais, são possíveis e estão envolvidas na manutenção de espécies de orquídeas. Contudo, a dificuldade de obtenção de dados quanto ao funcionamento das barreiras genéticas, devido ao longo tempo de geração e ao número reduzido de indivíduos em cultivo, frente ao número elevado de cruzamentos necessários para a compreensão destes mecanismos, tem limitado o número de trabalhos que tratam destes assuntos.

Trabalhos envolvendo química de voláteis florais também seriam de grande valia para o entendimento dos processos de isolamento entre espécies, e de formação de espécies novas, uma vez que, aparentemente, as espécies aqui estudadas, assim como outras, entre as quais espécies de *Stanhopea* polinizadas por abelhas Euglossini (Dodson, 1962a) e espécies de *Bulbophyllum* polinizadas por diferentes espécies de Milichiidae (Silva et al., 1999), atraem os diferentes polinizadores por odores específicos.

Os estudos de caso, utilizando uma ou poucas espécies são frequentes, devido ao longo tempo requerido para a conclusão destes trabalhos, principalmente os casos envolvendo miofilia, onde, geralmente, os polinizadores apresentam uma baixa frequência de visitas, requerendo extrema paciência por parte dos pesquisadores que muitas vezes precisam ficar durante horas e até semanas inteiras observando plantas em campo e, mesmo assim, muitas vezes o volume de informações obtido não é suficiente para chegar a resultados conclusivos. É o caso, por exemplo, de *B. regnellii*, *B. adiamantinum* e *B. bidentatum* estudadas neste trabalho (Capítulo 1). No entanto, não podemos dizer que espécies polinizadas por moscas são fortemente selecionadas pela baixa constância de visitas e baixos índices de frutificação, uma vez que os gêneros com maior número de espécies dentro de Orchidaceae, como *Bulbophyllum* e *Pleurothallis*, são miófilos, com ampla distribuição

geográfica. Além disso, a miofilia, aparentemente, evoluiu várias vezes, independentemente, dentro da família, o que permite caracterizar a miofilia como um sistema plástico, adaptativo e muito bem sucedido na família Orchidaceae.

Uma questão interessante e que, de alguma forma, traz perspectivas para trabalhos futuros, é a distribuição geográfica de *Bulbophyllum* e *Pleurothallis*. Como já mencionado anteriormente, *Pleurothallis* "sensu lato" é o maior gênero em número de espécies dentro de Orchidaceae, seguido por *Bulbophyllum*, no entanto as espécies de *Pleurothallis* estão distribuídas exclusivamente nos neotrópicos, enquanto *Bulbophyllum* é pouco representado nos neotrópicos, uma vez que a maioria de seus representantes está no Velho Mundo, principalmente Ásia, Oceania e África. Devido aos sistemas similares de polinização apresentados por esses dois grupos, seria interessante o desenvolvimento de trabalhos focados em fitogeografia, polinização, competição, equivalência ecológica e evolução destes grupos em ambientes diversos, fornecendo um panorama geral sobre os fatores que influenciam na sua distribuição.

BIBLIOGRAFIA GERAL

- Ackerman, J. D. 1983. Specificity and mutual dependency of the orchid euglossine bee interaction. *Biol. J. Linn. Soc.* 20: 301-314.
- Ackerman, J. D. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Syst. Bot.* 14: 101-109.
- Ackerman, J. D. & Mesler M. R. 1979. Pollination biology of *Listera cordata* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 77: 820-824.
- Ackerman, J. D. & Oliver, J. C. 1985. Reproductive biology of *Oncidium variegatum*: moon phases, pollination, and fruit set. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 54: 326-329.
- Ackerman, J. D.; Rodriguez-Robles, J. A. & Meléndez, E. J. 1994. A meager nectar offering by an epiphytic orchid is better than nothing. *Biotropica* 26: 44-49.
- Agnew, J. D. 1986. Self-compatibility/incompatibility in some orchid of the subfamily Vandoideae. *Plant Breeding* 97: 183-186.
- Bänziger, H. 1996. The mesmerizing wart: the pollination strategy of epiphytic lady slipper orchid *Pepiophyllum villosum* (Lindl.) Stein (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 121: 59-90.
- Barrett, S. C. H. & Charlesworth, D. 1991. Effects of a change in the level of inbreeding on the genetic load. *Nature* 352: 522-524.
- Bawa, K. S. 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28: 85-92.
- Bawa, K. S. 1979. Breeding systems of trees in a wet forest. *New Zel. Jour. Bot.* 17: 521-524.
- Bertin, R. I. 1990. Effects of pollination intensity in *Campsis radicans*. *Amer. J. Bot.* 77: 178-187.
- Bierzychudek, P. 1981. Pollinator limitation of plant reproductive effort. *Am. Nat.* 117: 838-840.
- Borba, E. L. 1997. Estudos biossistemáticos em três espécies de *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae) ocorrentes nos campos rupestres brasileiros. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Borba, E. L. & Semir, J. 1998a. Wind-assisted fly pollination in three *Bulbophyllum* species (Orchidaceae) occurring in the Brazilian 'campos rupestres'. *Lindleyana* 13: 203-218.
- Borba, E. L. & Semir, J. 1998b. *Bulbophyllum xcipoense* (Orchidaceae), a new natural hybrid from the Brazilian campos rupestres: description and biology. *Lindleyana* 13: 113-120.
- Borba, E. L. & Semir, J. 1999. Temporal variation in pollinarium size after its removal in species of *Bulbophyllum*: a different mechanism preventing self-pollination in Orchidaceae. *Pl. Syst. Evol.* 217: 197-204.
- Borba, E. L. & Semir, J. 2001. Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: a multiple population approach. *Ann. Bot.* 88: 75-88.
- Borba, E. L.; Shepherd, G. J. & Semir, J. 1999. Reproductive system and crossing potential in three species of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) occurring in Brazilian 'campo rupestre' vegetation. *Pl. Syst. Evol.* 217: 205-214.
- Borba, E. L.; Semir, J. & Shepherd, G. J. 2001. Self-incompatibility, inbreeding depression, and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. *Ann. Bot.* 88: 89-99.
- Braga, P. I. S. 1977. Aspectos ecológicos das Orchidaceae de uma campina na Amazônia Central. *Acta Amazonica*. 9 (suplemento 2): 1-81.
- Calder, D. M.; Adams, P. B. & Slater, A. T. 1982. The floral biology and breeding systems of *Dendrobium speciosum* Sm. in: E. G. Williams, R. B. Knox, J. H. Gilbert. & P. Bernhardt, ed. *Pollination*, pp. 82: 184-191. Melbourne University, Melbourne.
- Calvo, R. N. 1990. Inflorescence size and fruit distribution among individuals in three orchid species. *Am. J. Bot.* 77: 1378-1381.
- Cameron, M. K.; Chase, M. W.; Whitten, W. M.; Kobes, P. J.; Jarrell, P. C.; Albert, V. A.; Yukawa, T.; Hills, H. G. & Goldman, D. H. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from *rtbL* nucleotide sequences. *Am. J. Bot.* 86: 208-224.
- Charlesworth, D. & Charlesworth, B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18:237-268.
- Chase, M. W. 1985. Pollination of *Pleurothallis endotrachys*. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 54: 431-434.
- Christensen, D. E. 1992. Notes on the reproductive biology of *Stelis argentata* Lindl. (Orchidaceae: Pleurothallidinae) in eastern Ecuador. *Lindleyana* 7: 28-33.
- Christensen, D. E. 1994. Fly pollination in the Orchidaceae. In: J. Arditti, ed. *Orchid biology: reviews and perspectives VI*, pp. 415-454. John Wiley & Sons, New York.
- Clifford, S. C. 1988. Post-pollination phenomena and embryo development in the Oncidiinae (Orchidaceae). In: Tenth international symposium on sexual reproduction in higher plants. Programme and abstracts: 29. Springer Verlag, Berlin.
- Dafni, A. & Calder, D. M. 1987. Pollination by deceit and floral mimicry in *Thelymitra antennifera* (Orchidaceae). *Pl. Syst. Evol.* 158: 11-22.
- Darwin, C. 1877. The various contrivances by which orchids are fertilised by insects (2nd ed., reeditado 1984). Univ. of Chicago Press, Chicago.
- De Nettancourt, D. 1977. *Incompatibility in Angiosperms*. Springer-Verlag, Berlin.
- Dodson, C. H. 1962a. The importance of pollination in the evolution of the orchids in tropical America. *Am. Orchid Soc. Bull.* 31: 525-534.
- Dodson, C. H. 1962b. The importance of pollination in the evolution of the orchids in tropical America. *Am. Orchid Soc. Bull.* 31: 641-649.

- Dodson, C. H. 1965. Agentes de polinización y su influencia sobre la evolución en la familia Orchidaceae. Univ. Nac. Amazonia Peruana, Lima.
- Dressler, R. L. 1968. Observations on orchids and Euglossine bees in Panama and Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 15: 143-183.
- Dressler, R. L. 1981. The orchids: natural history and classification. Harvard University Press, Cambridge.
- Dressler, R. L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Cambridge University Press, Cambridge.
- Faegri, K. & Pijl, L. van der. 1979. The principles of pollination ecology. 3rd ed. Pergamon Press, Oxford.
- Garside, S. 1923. The pollination of *Satyrium bicalosum* Thumb. *Ann. Bot. Soc. Lond.* 3: 147-154.
- González-Díaz, N. & Ackerman, J. D. 1988. Pollination, fruit set, and seed production in the orchid, *Oeceoclades maculata*. *Lindleyana* 3: 150-155.
- Hildebrand, F. 1863. Die Fruchtbildung der Orchideen, ein Beweis für die doppelte Wirkung des Pollen. *Bot. Zeit.* 21: 329-333, 337-345.
- Hogenboom, N. G. 1975. Incompatibility and incongruity: two different mechanisms for the non-functioning of intimate partner relationships. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 188:361-375.
- Holtum, R. E. 1952. The subdivision of the genus *Dendrobium*. *The Orchid Journal* 1: 163-165.
- Husband, B. C. & Schemske, D. W. 1995. Magnitude and timing of inbreeding depression in diploid population of *Epilobium angustifolium* (Onagraceae). *Heredity* 75:206-215.
- Husband, B. C. & Schemske, D. W. 1996. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution* 50:54-70.
- Jamiré, I. & Ramírez, N. 1999. Breeding systems in a secondary deciduous forest in Venezuela: the importance of life form, habitat, and pollination specificity. *Pl. Syst. Evol.* 215: 23-36.
- Johansen, B. 1990. Incompatibility in *Dendrobium* (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 103:165-196.
- Jones, D. L. 1974. The pollination of *Acianthus caudatus* R. Br. *Victorian Nat.* 91: 272-274.
- Jones, D. L. & Gray, B. 1976. The pollination of *Bulbophyllum longifolium* Thouars. *Am. Orchid Soc. Bull.* 45:15-17.
- Kirchner, O. Von. 1922. Zur Selbstbestäubung der Orchidaceen. *Ber. D. Bot. Ges.* 40: 317-321.
- Kjellsson, G. & Rasmussen, F. N. 1987. Does the pollination of *Dendrobium unicum* Seidenf. involve "pseudopollen"? *Die Orchidee* 38:183-187.
- Kjellsson, G.; Rasmussen, F. N. & Dupuy, D. 1985. Pollination of *Dendrobium infundibulum*, *Cymbidium insigne* (Orchidaceae) and *Rhododendron lyi* (Ericaceae) by *Bombus eximius* (Apidae) in Thailand: a possible case of floral mimicry. *Trop. Ecol.* 1: 289-302.
- Köppen, W. 1948. *Climatología con un estudio de los climas de la Tierra*. Fondo de Cultura Económica, México.
- Lande, R. & Schemske, D. W. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic models. *Evolution* 39:24-40.
- Lenz, L. W. & Wimber, D. E. 1959. Hybridization and inheritance in orchids. In: Wähner C.L. Ed. *The orchids, a scientific survey*, pp. 261-314. Krieger, Malabar.
- Lloyd, D. G. 1980. Sexual strategies in plants. I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. *New Phytol.* 86: 69-79.
- Martin, F. W. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technol.* 34: 125-128.
- Mehrfold, L. A. 1983. Pollination in the genus *Isotria* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 70: 1444-1453.
- Mesler, M. R.; Ackerman, J. D. & Lu, K. K. 1980. The effectiveness of fungus gnats as pollinators. *Amer. J. Bot.* 67: 564-567.
- Meve, U. & Liede, S. 1994. Floral biology and pollination in stapeliads - new results and a literature review. *Pl. Syst. Evol.* 192: 99-116.
- Montalvo, A. M. & Ackerman, J. D. 1987. Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *Biotropica* 19: 24-31.
- Murfett, J.; Strabala, T. J.; Zurek, D. M.; Mou, B.; Beecher, B. & McClure, B. A. 1996. S RNase and interspecific pollen rejection in the genus *Nicotiana*: multiple pollen-rejection pathways contribute to unilateral incompatibility between self-incompatible species. *Plant Cell* 8: 943-958.
- Niesenbaum, R. A. & Casper, B. B. 1994. Pollen tube numbers and selective fruit maturation in *Lindera benzoin*. *Am. Nat.* 144: 184-191.
- Ornduff, R. 1969. Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon* 18: 121-133.
- Ornduff, R. 1978. Reproductive characters and taxonomy. *Syst. Bot.* 3: 420-427.
- Pabst, G. F. J. & Dungs, F. 1975. *Orchidaceae Brasiliensis*, Vol. 1. Kurt Schmiersow, Hildesheim.
- Patt, J. M.; Merchant, M. W.; Williams, D. R. E. & Meeuse, B. J. D. 1989. Pollination biology of *Platanthera stricta* (Orchidaceae) in Olympic National Park, Washington. *Amer. J. Bot.* 76: 1097-1106.
- Pedersen, H. A. 1995. Anthecological observations on *Dendrochilum longibracteatum* - a species pollinated by facultatively anthophilous insects. *Lindleyana* 10: 19-28.
- Pijl, L. van der & Dodson, C. H. 1966. *Orchid flowers: their pollination and evolution*. University of Miami Press, Coral Gables.
- Pleasant, J. M. & Moe, S. 1993. Floral display size and pollination of the western prairie fringed orchid, *Platanthera praeclara* (Orchidaceae). *Lindleyana* 8: 32-38.
- Proctor, M., Yeo, P. & Lack, A. 1996. *The natural history of pollination*. Harper Collins, London.
- Rebelo, A. G.; Sigfried, W. R. & E. G. H. 1985. Pollination syndromes of *Erica* species in southwest Cape. *S. Afr. J. Bot.* 51: 270-280.
- Reeves, L. M. & Reeves, T. 1984. Life history and reproduction of *Malaxis paludosa* in Minnesota. *Am. Orchid Soc. Bull.* 53: 1280-1291.
- Richards, A. J. *Plant breeding systems*. 2nd ed. Chapman & Hall, London.

- Ridley, H. N. 1890. On the method of fertilization in *Bulbophyllum macranthum* and allied orchids. *Ann. Bot.* 4:327-336.
- Rodriguez-Robles, J. A.; Meléndez, E. A. & Ackerman, J. A. 1992. Effects of display size, flowering phenology, and nectar availability on effective visitation frequency in *Comparettia falcata* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 79: 1009-1017.
- Sanford, W. W. 1964. Sexual compatibility relationship in *Oncidium* and related genera I. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 33: 1035-1048.
- Sanford, W. W. 1967. Sexual compatibility relationship in *Oncidium* and related genera II. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 36: 114-122.
- Sazima, M. 1978. Polinização por moscas em *Bulbophyllum warmingianum* Cogn. (Orchidaceae), na Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. *Rev. bras. Bot.* 1:133-138.
- Scacchi, R., De Angelis, G. & Lanzana, P. 1990. Allozyme variation among and within eleven *Orchis* species (fam. Orchidaceae), with special reference to hybridization aptitud. *Genetica* 81:143-150.
- Schemske, D. W. 1980. Evolution of floral display in the orchid *Brassavola nodosa*. *Evolution* 34: 489-493.
- Schemske, D. W. & Lande, R. 1985. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. *Evolution* 39:41-52.
- Shields, W. M. 1982. *Phytopatry, inbreeding, and the evolution of Sex*. State Univ. New York Press, Albany.
- Silva, U. F.; Borba, E. L.; Semir, J. & Marsaioli, A. J. 1999. A simple solid injection device for the analyses of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) volatiles. *Phytochemistry* 50: 31-34.
- Singer, R. B. & Cocucci, A. A. 1999. Pollination mechanism in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* 14: 47-56.
- Smythe, R. 1969. Na observation on the population of *Bulbophyllum baileyi*. *Orchadian* 3: 61.
- Sobrevilla, C. & Arroyo, M. T. K. 1982. Breeding systems in a montane tropical cloud forest in Venezuela. *Pl. Syst. Evol.* 140: 19-37.
- Steiner, K. E.; Whitehead, V. B. & Johnson, S. D. 1984. Floral and pollinator divergence in two sexually deceptive South African orchids. *Amer. J. Bot.* 81: 185-194.
- Stephenson, A. G. 1981. Flowers and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- Stort, M. N. S. 1972. Estudos em híbridos F1 artificiais em orquídeas. *Ciênc. Cult.* 24: 847-851.
- Stort, M. N. S. 1986. Fertilidade de cruzamentos e relação filogenética entre algumas espécies do gênero *Cattleya* (Orchidaceae). *Rev. bras. Bot.* 9: 69-73.
- Stoutamire, W. P. 1969. Pollination in temperate American orchids. In: *Proceedings on the sixth World Orchid Conference*, pp. 233-243. Hailead Press. Sydney.
- Strasburger, E. 1886. Ueber fremdartige Bestäubung. *Jahrb. Wiss. Bot.* 17: 50-98.
- Tan, K. & Nishida, R. 2000. Mutual reproductive benefits between a wild orchid, *Bulbophyllum patens*, and *Bactrocera* fruit flies via a floral synomone. *J. Chem. Ecol.* 26: 533-546.
- Templeton, A. R. & Read, B. 1983. The elimination of inbreeding depression in a captive heb of Speke's gazelle. *Genetics and Conservation: A reference for managing wild animal and plant populations*, pp. 241-261. Benjamin/Commings, London.
- Thien, L. B. & Utech, F. 1970. The mode of pollination in *Habenaria obtusata* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 57: 1031-1035.
- Tremblay, R. L. 1992. Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Can. J. Bot.* 70: 642-650.
- Tremblay, R. L. 1994. Frequency and consequences of multi-parental pollinations of *Cypripedium calceolus* var. *pubescens* (Orchidaceae). *Lindleyana* 9: 161-167.
- Vermeulen, J. J. 1991. *Orchids of Borneo. Vol. 2-Bulbophyllum*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Vogel, S. 1954. Blütenbiologische Typen als Elemente der Sippengliederung dargestellt anhand der Flora Südafrikas. *Bot. Stud.* 1:1-338.
- Vogel, S. 1959. Organografie der Blüten Kapländischer Ophrydeen, Teil I. Disinae und Satyrinae. *Akad. Mainz.* 6:270-401.
- Vöth, W. 1984. *Echynomia magnicornis* Zett. Bestäuber von *Orchis ustulata* L. *Die Orchidee* 35: 189-192.
- Whitehead, V. B.; Giliomee, J. H. & Rebelo, A. G. 1987. Insect pollination in the cape flora. *S. Afr. Nat. Sci. Prog. Rep.* 141:52-82.
- Wiens, D.; Calvin, C. L.; Wilson, C. A.; Davern, C. I.; Franc, D. & Seavey, S. R. 1987. Reproductive success, spontaneous embryo abortion, and genetic load in flowering plants. *Oecologia* 71: 501-509.
- Wilfret, G. J. & Kamamoto, H. 1969. Genome and karyotype relationships in the genus *Dendrobium* (Orchidaceae). I. Crossability. *Amer. J. Bot.* 56: 521-526.
- Williams, N. H. & Dodson, C. H. 1972. Selective attraction of Male Euglossinae Bees in orchid floral fragrances and its importance in long distance pollen flow. *Evolution* 26:84-95.
- Zimmerman, J. K. & Aide, T. M. 1989. Patterns of fruit production in a neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *Amer. J. Bot.* 76: 67-73.

