

ROLF DIETER ILLG

ASPECTOS EVOLUTIVOS EM ALGUMAS
MAXILARIAS BRASILEIRAS (ORCHIDACEAE)

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual
de Campinas, para obtenção do grau
de Doutor em Ciências

BIBLIOTECA
CENTRAL DE BIOLOGIA
UNICAMP

Campinas-São Paulo

1975

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao Prof. Dr. F. G. Brieger

Pioneiro das pesquisas em orquídeas no Brasil

À memória de meu pai,

À minha mãe,

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Expressamos os agradecimentos a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho e, especialmente, às seguintes pessoas:

Prof. Dr. F.G.Brieger, nosso orientador, pela sugestão do material, pelos ensinamentos, sugestões e apoio constantes.

Prof. Dr. Walter August Hadler, Diretor do Instituto de Biologia da UNICAMP e Prof. Dr. Ernesto Paterniani, Diretor do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da USP, pelas facilidades concedidas.

Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo, Chefe do Departamento de Genética Geral da UNICAMP, Prof. Dr. Fernando Romano Milanez, Chefe do Departamento de Botânica da UNICAMP e Prof. Aquiles E. Piedrabuena, especialista em Bioestatística.

Dr. Hamilton Dias Bicalho, Chefe do Setor de orquídeas da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da USP e Dra. Nanuza Luiza Menezes, do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da USP.

Sr. Alcor de Oliveira, Srta. Ivete de Toledo da ESALQ-USP, Sra. Luiza Araujo Farah e outros técnicos do Departamento de Genética Geral e Histologia de UNICAMP.

ÍNDICE

| | PAG. |
|---|------|
| I. INTRODUÇÃO | 1 |
| II. REVISÃO DA LITERATURA | 3 |
| II.1 - Taxonomia com base na morfologia comparativa e distribuição geográfica do material | 3 |
| II.2 - Taxonomia com base em métodos bioestatísticos | 5 |
| II.3 - Cleistogamia e apomixia | 7 |
| II.3.1 - Agamospermia | 8 |
| II.3.2 - Reprodução vegetativa | 11 |
| II.4 - Mecanismos de isolamento | 12 |
| III. MATERIAL E MÉTODOS | 17 |
| III.1 - Material | 17 |
| III.2 - Métodos | 18 |
| III.2.1 - Análises estatísticas | 18 |
| III.2.1.1 - Obtenção de dados | 18 |
| III.2.1.2 - Avaliação dos dados | 19 |
| III.2.2 - Métodos de análises | 20 |
| III.3 - Análise da reprodução por sementes | 23 |
| III.3.1 - Alogamia e cleistogamia | 23 |
| III.3.2 - Barreiras de isolamento | 25 |
| IV. RESULTADOS | 26 |
| IV.1 - Análises estatísticas | 26 |
| IV.1.1 - Da decomposição sequencial das variâncias | 26 |
| IV.1.2 - Variação entre as quatro espécies da secção <i>Heterota</i> - <i>xis</i> | 29 |
| IV.2 - Autofecundações e cruzamentos | 30 |
| IV.3 - Análises embriológicas | 37 |
| IV.3.1 - Formação do saco embrionário e embriogênese na <i>M. brasiliensis</i> Brieg. et Illg | 37 |
| IV.3.2 - Formação do saco embrionário e embriogênese na <i>M. cleistogama</i> Brieg. et Illg | 40 |
| V. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES | 44 |
| VI. RESUMO | 50 |
| VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 53 |
| VIII. ÍNDICE DAS FIGURAS | |
| IX. ÍNDICE DAS TABELAS | |

I. INTRODUÇÃO

Quando pretende-se iniciar um estudo sobre a evolução de um determinado grupo de plantas deve-se procurar abranger o maior número de aspectos diferentes possível, para um melhor entendimento não só da atual situação, como também de todos os passos da sua evolução filogenética.

Um trabalho dessa natureza, contudo, exige muito tempo para ser concluído e uma equipe de trabalho com especialistas em vários assuntos, envolvendo, basicamente, botânicos, geneticistas, ecólogos, estatísticos, bioquímicos, além de uma equipe de técnicos especializados como coletores, laboratoristas, desenhistas, fotógrafos, etc..

O presente trabalho representa, assim, uma etapa de um estudo sobre evolução, a ser continuado posteriormente.

Escolhemos para este trabalho alguns aspectos que podemos considerar como sendo primordiais, quais sejam, posição taxonômica das plantas, alguns mecanismos de isolamento das espécies em questão e alguns dados sobre reprodução, especificamente dos fenômenos de cleistogamia e apomixia que aparecem em algumas das nossas espécies.

Quanto ao aspecto taxonômico, recorreremos, inicialmente, ao método clássico de classificação, através de comparações do material coletado com as descrições constantes da literatura e, na medida do possível, de fotografias do espécimen tipo, obtidas dos herbários onde está depositado. Este método, utilizando os princípios de morfologia comparada, baseia-se em características qualitativas e quantitativas das plantas. Sua utilização, no entanto, nem sempre é plenamente satisfatória, principalmente, em grupos de plantas com distribuição geográfica muito ampla, onde, em geral, há um aumento na variabilidade genotípica e, consequentemente, fenotípica.

Existem outros métodos de classificação, como os

baseados em análises estatísticas, ou seja, os da "Taxonomia Numérica", conforme apresentados no livro de SOKAL & SNEATH (1963). BRIEGER (1969a) no entanto, coloca sérias objeções a certos métodos desse tipo que, segundo ele, "tendem a rejeitar os princípios de evolução filogenética... com um retorno à classificação artificial". No sistema de classificação artificial, criado por LINEU, alguns caracteres são selecionados arbitrariamente, enquanto a Taxonomia Numérica recomenda usar todo e qualquer caráter, não levando em consideração a natureza ou o suposto valor biológico das diferenças.

Utilizamos neste trabalho outro método de Taxonomia Experimental, desenvolvido por BRIEGER (1969b, 1972), destinado a analisar a variação geográfica, tentando estabelecer, objetivamente, os limites inter e intraespecíficos no caso de espécies polimorfas.

Quanto ao estudo de barreiras de isolamento, além de levarmos em conta a época de florescimento, valemo-nos, ainda, de estudos comparativos de fertilidade, obtidos através dos resultados de vários tipos de cruzamentos intra e interpopulacionais, além de cruzamentos interespecíficos, bem como de análise histológica. Detivemo-nos, assim, no estudo da gametogênese e embriogênese em algumas espécies que mostravam comportamento diferente daquele considerado normal nas plantas superiores.

De posse desses dados tornou-se possível situar filogeneticamente o grupo de espécies em estudo e conhecer alguns dos seus processos evolutivos.

II. REVISÃO DA LITERATURA

II.1 - Taxonomia com base na morfologia comparativa e distribuição geográfica do material

As espécies em estudo pertencem, em sua maioria, à seção *Heterotaxis* (Lindl.) Brieg., do gênero *Maxillaria* Ruiz et Pavón, sub-tribo Maxillariinae que, por sua vez, pertence à sub-família Vandoideae tribo Maxillariae, conforme recente divisão taxonômica proposta por BRIEGER (1971b).

A seção *Heterotaxis* abrange, atualmente, onze espécies (BRIEGER & ILLG, 1972) cinco das quais ocorrem no Brasil, com uma espécie nova essencialmente brasileira, ou seja, a *M. brasiliensis* Brieg. et Illg.

A primeira espécie da seção em discussão foi descrita por LINDLEY com o nome *Heterotaxis crassifolia* Lindl. Bot. Reg. 12: tab. 1028 1826. Em seguida, o mesmo autor descreveu a *Dicrypta baueri* Lindl. Gen. et Sp. Orch. : 44 1830, mas reconheceu, mais tarde, tratar-se da mesma espécie anteriormente descrita, atribuindo-lhe a denominação *Dicrypta crassifolia* Lindl. ex Loud. Hort. Brit. Suppl. 3: 536 1839. O nome *Heterotaxis* dado por Lindley baseia-se em uma interpretação errônea da estrutura das polínias. O autor assim justifica o seu engano "... in an analysis of this same plant, it's pollen was represented so differently that I did not recognised it to be *Heterotaxis*, but took it for a new genus and called it *Dicrypta*".

REICHENBACH filius finalmente fez a transferência de todas as espécies de *Dicrypta* para o gênero *Maxillaria* e, a espécie em questão, foi denominada *Maxillaria crassifolia* (Lindl.) Rehb. f. Bonpl. 2: 16 1854, hoje considerada espécie típica da seção. Sua distribuição geográfica estende-se sobre toda a América Central, ou seja, México, Guatemala, Honduras, Costa Rica, Cuba, Panamá e Jamaica, penetrando na América do Norte até a Flórida e na Amé-

rica do Sul até a Colombia e, provavelmente, a Venezuela.

COGNIAUX in Mart. Fl. Br. 3,6: 35-36 1904, seguido por HOEHNE Fl. Brasílica 12,7: 140 1953, atribuiu o nome *M. crassifolia* também a material brasileiro. Muitos autores, baseados em exemplares coletados nas matas hígrófilas do litoral do Brasil (do Rio Grande do Sul até a Bahia), não se deram conta de que estavam diante de uma espécie nova, a *M. brasiliensis* Brieg. et Illg (ILLG, 1975a), nitidamente diferente da espécie preferencialmente central-americana *M. crassifolia*.

Citaremos apenas algumas diferenças mais evidentes:

| | <i>M. crassifolia</i> sensu Rehb. f. | <i>M. crassifolia</i> sensu Hoehne |
|--------|--|--|
| folhas | 6 a 35 cm comp. x 1 a 3,8cm larg. carnoso-coriáceas, linear-lanceoladas obtusas e agudas amarelas e amarelo- pálidas | 20 a 45 cm comp. x 2,5 a 5 cm larg. carnoso-coriáceas, oblongo-liguladas no ápice um tanto torcidas verde-amareladas, quase sem pre frutíferas |
| flores | sépalas 16 a 20 mm comp. x 5 a 6mm larg. pétalas 14 a 17 mm comp. x 3 a 4mm larg. labelo 12 a 14 mm comp. x 5 a 7mm larg. | 12 a 15 mm comp. x 5 a 8 mm larg. 11 a 13 mm comp. x 3,5 a 4 mm larg. 12 a 13 mm comp. x 8 a 9 mm larg. |

Quanto ao porte resulta, assim, uma nítida diferença, ilustrada nas figuras 1 e 2 que se torna, contudo, mais evidente quando se comparam os caracteres florais. Um detalhe não mencionado por COGNIAUX e HOEHNE é o de que a espécie por eles descrita possui dois tipos de flores: umas abrem-se normalmente (Fig. 3), possuindo coloração amarelo-rosada e murchando na pós-floração quando a grande maioria das flores não chegam a se abrir totalmente (Fig. 4) e, sem murchar, passam diretamente do botão à pós-floração. Estas flores permanecem amarelo-esverdeadas, as cápsulas e colunas entumescem, as pétalas e sépalas permanecem presas ao perianto tornando-se rijas e coriáceas e as polínias permanecem intactas. As cápsulas contêm sementes com embrião. A figura 5 refere-se ao aspecto de uma flor de *M. crassifolia*.

Outra espécie foi descrita por BARBOSA RODRIGUES como *Dicrypta villosa* Barb. Rodr. Gen. et Sp. Orch. N. 1: 125 1877 e transferida para o gênero *Maxillaria* por COGNIAUX,

passando a ser denominada *M. villosa* (Barb. Rodr.) Cogn. in Mart. Fl. Bras. 3,6: 34 c. tab. 12 1904, sendo sinônimo, ainda, a *M. verecunda* Schltr. Fedde Rep. Beih. 27: 96 1924. A distribuição geográfica desta espécie é na zona andina (Colômbia, Peru, Venezuela) e na Bacia Amazônica, até Pernambuco, no Brasil.

As figuras 6 e 7 mostram o aspecto da planta e da flor, respectivamente.

Uma terceira espécie foi descrita originalmente como *Dicrypta discolor* Lodd. ex Lindl. Bot. Reg. 25: Misc. 91 1839, a qual passou a ser denominada *M. discolor* (Lodd.) Rchb. f. Cat. Orch. Schill.: 44 1857, tendo como sinônimo a *Dicrypta bicolor* Paxt. ex J.E. Planch. Hort. Donat. Orch. : 73 1858. A sua distribuição geográfica é bastante descontínua, ocorrendo no Sul da Venezuela, no Pará, reaparecendo no Sul da Bahia e na região de Ubatuba, no Estado de São Paulo.

As figuras 8 e 9 referem-se a aspectos da planta e detalhes da flor, respectivamente.

A última espécie da seção Heterotaxis incluída neste estudo, é a *M. tarumaensis* Hoehne Arq. Bot. Est. São Paulo N.S. 2: 73 1947, com uma distribuição geográfica na região do Baixo Amazonas.

As figuras 10 e 11 mostram, respectivamente, o aspecto da planta e da flor nesta espécie.

Tendo sido observadas anomalias na formação de embriões da *M. brasiliensis* resolvemos, para fins de comparação, incluir outra espécie a qual, embora não pertencendo a seção Heterotaxis, também mostra anomalias na embriogênese. Trata-se da *Maxillaria cleistogama* Brieg. et Illg (ILLG, 1975b) cuja distribuição geográfica é muito ampla, estando a nossa disposição material da Venezuela, Peru, Bolívia e Brasil (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo).

As figuras 12 e 13 correspondem, respectivamente, ao aspecto da planta e de uma flor que se abre normalmente e a figura 14 refere-se a aspectos do desenvolvimento de flores cleistogâmicas.

II.2 - Taxonomia com base em métodos bioestatísticos

Há certa polêmica quanto ao uso e aplicação de métodos bioestatísticos em taxonomia, como já foi mencionado na introdução. SOKAL & SNEATH (1963) e, mais tarde, SNEATH & SOKAL (1973) expuseram os principais conceitos sobre Taxonomia Numérica. BRIEGER (1969a) fez sérias críticas quanto ao uso destes métodos, tanto do ponto de vista biológico quanto do estatístico e seguimos, neste trabalho, um método por ele desenvolvido (BRIEGER, 1969b, 1972).

O método aqui utilizado consiste na aplicação da decomposição da variação total no material em estudo, de cada espécie, pelo modelo FISHERIANO da decomposição "entre-dentro". Sendo possível medir os mesmos órgãos, tais como pseudobulbos, folhas e órgãos florais por várias vezes, durante os anos em cultivo, torna-se possível identificar um componente básico da variação "dentro de plantas", resultado exclusivamente do efeito da variação fenotípica. Sob condições naturais, esta variação é extremamente grande e, levando em conta a amplitude das condições ecológicas sob as quais as espécies ocorrem, a variação fenotípica no habitat é muito mais ampla do que a variação durante o cultivo sob condições homogêneas e não segue uma distribuição ao acaso, pois, na natureza, além de encontrarmos espécimens crescendo sob condições médias, existem casos isolados encontrados sob condições extremas.

Usamos, por isso, o que se chama de "variação fenotípica mínima", ou seja, aquela exibida por plantas, embora coletadas no seu habitat natural, foram mantidas em cultivo sob condições homogêneas por vários anos. Comparando as plantas coletadas na mesma localidade, estas podem ser consideradas como membros de uma população local e a sua variação indica o acréscimo, à variação fenotípica básica, pela segregação gênica dentro da população. Estando ainda a disposição, material de numerosas localidades, torna-se possível acrescentar outros componentes atribuíveis à variação geográfica, pois, as populações locais, separadas entre si pelo espaço geográfico, devem ter sofrido certa diversificação, devido a redução do fluxo gênico entre elas. Assim, torna-se possível haver mais um aumento da variação, devido a estes fatores geográficos. Este pode, ainda, ser dividido

em partes quando existe um número razoável de localidades e quando estas podem ser reunidas ainda em regiões geográficas diversas. Então, pode-se prever que a variação entre localidades indique um aumento da variação sobre aquela entre plantas da mesma localidade e que a variação entre regiões possa ser maior ainda, na medida em que a distância geográfica crescente diminua o fluxo gênico. Os detalhes da aplicação e uso deste método são dados no capítulo referente à metodologia.

II.3 - Cleistogamia e apomixia

Fala-se de cleistogamia, quando certas flores não chegam a abrir mas, apesar disso, sem dar acesso aos polinizadores, produzem frutos e sementes viáveis, como resultado de estrita autogamia. Este fenômeno é bastante conhecido no reino vegetal tendo sido descrito, pela primeira vez, pelo botânico HOFFMANN, em 1660. O termo *cleistogamismus* foi proposto por KUNH, em 1867, derivado de "kleistos" (fechado) e "gāmein" (casar). As causas podem ser numerosas, às vezes aparentemente contraditórias, tais como excesso de água, condições de seca, excessiva umidade atmosférica, temperaturas altas, pouca luz, má nutrição das plantas, além de causas genéticas. Uma boa revisão foi feita por UPHOF (1938), bastante completa até a época, além de referências na literatura em geral sobre biologia das flores. Além das causas ecológicas, o autor cita vários trabalhos que segerem que, em muitas espécies, a cleistogamia parece ser devida à mutações com espécies chasmogâmicas, isto é, que abrem e são polinizadas normalmente.

Dentro da família Orchidaceae a cleistogamia é relativamente frequente, tendo sido estudada por DARWIN (1877), MOORE (1877), REICHENBACH f. (1877), FORBES (1884, 1885), RIDLEY (1888), SMITH (1905, 1928, 1929), SCHLECHTER (1914), KIRCHNER (1922), SWAMY (1941), ILLG (1975), além de simples referências em descrições taxonômicas. Muito frequentemente a transformação em frutos já ocorre quando a flor está ainda em fase de botão e quando partes da flor e, muito especialmente, o labelo, tem o seu desenvolvimento sustado pre-

coemente como acontece, por exemplo, em *Epidendrum nocturnum* Lindl.

Sob a denominação geral de apomixia, incluem-se todos os mecanismos em plantas superiores onde o embrião não resulta da fusão de núcleos masculinos do tubo polínico com núcleos femininos do saco embrionário. Muito numerosos são os trabalhos sobre esse assunto que começou a ser estudado desde 1841 por J. SMITH, em plantas femininas de *Caelobogyne* (Euphorbiaceae). Revisões bibliográficas foram feitas por WINKLER (1908, 1920, 1934) e ROSENBERG (1930), sendo que o primeiro propôs a primeira classificação do fenômeno de apomixia, posteriormente melhorada por STEBBINS (1941). O trabalho que pode ser considerado como fundamental, sem dúvida, é o desenvolvido por GUSTAFSSON (1946, 1947a-b). Uma revisão mais recente foi feita por NYGREN (1967), que seguiu, no entanto, em termos gerais, a terminologia adotada por GUSTAFSSON. GUSTAFSSON distingue, inicialmente, dois sub-grupos apomícticos. No primeiro grupo a reprodução dá-se por sementes, sendo chamada agamospermia (TÄCKHOLM, 1922). O outro grupo compreende espécies, nas quais a reprodução dá-se por transformações de órgãos vegetativos, tais como, bulbos, bulbilhos, estolões, etc., sendo denominada reprodução vegetativa.

II.3.1 - Agamospermia

A agamospermia pode ser subdividida em cinco grupos distintos:

a. Diplosporia

Neste caso, a célula-mãe do saco embrionário destaca-se mas, a redução meiótica do número de cromossomos está totalmente suprimida, podendo ou não sofrer uma divisão mitótica. No primeiro caso, a célula não dividida forma, diretamente, um saco embrionário diplóide; no segundo caso a célula micropilar degenera e, a outra, forma um saco embrionário diplóide. Em ambos os casos a oosfera diplóide forma, diretamente, um embrião partenogenético. Este caso, por enquanto, não tem sido observado em orquídeas.

b. Partenogênese haplóide ou partenogênese facultativa (MAHESHWARI, 1950)

Neste caso ocorre meiose e formação normal do saco embrionário com núcleos haplóides, mas uma de suas células, ou a oosfera ou uma das sinérgides, passa diretamente para a formação do embrião que, assim, continua sendo haplóide.

HAGERUP (1944, 1945, 1947) estudando a embriogênese de *Orchis maculata*, *Epipactis latifolia*, *Platanthera chlorantha*, *Cephalanthera damasonium* e *Listera ovata*, encontrou um número grande de embriões haplóides. Ele observou que, enquanto alguns sacos embrionários recebem mais de um tubo polínico, outros não os recebem, ou o tubo chega tarde demais não ocorrendo, em nenhum caso, a fertilização. Apesar disso, ele observou que a oosfera não fertilizada frequentemente dividia-se, dando origem a um embrião haplóide.

Algumas vezes, como em *Orchis*, *Listera* e *Platanthera*, o óvulo era fertilizado dando um embrião normal, mas simultaneamente uma sinérgide não fertilizada também podia começar a desenvolver-se, havendo formação de dois embriões no mesmo óvulo, um diplóide e outro haplóide. HAGERUP (1947), também observou em *Orchis*, que o tubo polínico não penetrou no saco embrionário, no qual, tanto a oosfera quanto uma das sinérgides começaram a dividir-se, mostrando a possibilidade de haver produção de embriões haplóides gêmeos.

c. Automixia no saco embrionário

THOMAS (1940) estudando a formação do saco embrionário, em espécies do gênero *Rubus* (Rosaceae) observou que a célula-mãe sofre meiose regular e o saco embrionário chega a possuir 8 núcleos haplóides. Então, dois núcleos da região micropilar fusionam-se, restituindo o número diplóide de cromossomos. A esse fenômeno o autor deu a denominação de automixia. Como consequência, THOMAS sugere que a tendência é uma "completa homozigotização da progênie resultante, envolvendo interessantes consequências genéticas".

d. Aposporia

Neste caso forma-se um saco embrionário a partir de uma célula qualquer do nucelo, que aumenta o seu volume, ficando vacuolizada, sofrendo três divisões mitóticas e formando o saco embrionário diplóide, dentro do qual desenvolve-se um embrião diplóide. Pode acontecer que, simultanea-

mente, dentro do mesmo óvulo, desenvolvam-se dois sacos embrionários, um proveniente da célula-mãe que, após sofrer divisões meióticas, venha a formar um segundo saco embrionário normal haplóide, além do saco embrionário da célula nuclear. O saco embrionário que estiver situado mais próximo aos vasos da chalaza e, assim, melhor nutrido, ganha esta competição. Além disso, o saco embrionário haplóide apenas vence a competição quando ele inicia a sua divisão muito mais cedo que as células apospóricas.

Aposporia é o tipo mais frequente de agamospermia nas angiospermas, mas ainda não foi relatado em orquídeas.

e. Embrionia adventícia

Na embrionia adventícia, forma-se um saco embrionário na sua estrutura histológica mas, em seguida, uma célula do nucelo ou tegumento aumenta o seu volume ou, penetrando no saco embrionário ou mais afastado do mesmo, transforma-se diretamente em um embrião diplóide, de forma típica. As vezes pode acontecer que, além desses embriões adventícios, o saco embrionário também consiga formar um embrião pelo processo normal.

No caso de orquídeas, SUESSENGUTH (1923) relata o primeiro caso de embrionia adventícia induzida artificialmente. Submetendo plantas da espécie brasileira *Zygopetalum mackayi* à polinizações artificiais com pólen de *Oncidium*, este autor descobriu que os tubos polínicos não atingem o saco embrionário mas, apesar disso, aparecem sementes no fruto maduro. Conclui o autor que alguma substância química provoca o desenvolvimento de sementes com embriões.

Em 1928 e 1932, AFZELIUS cita um caso interessante de embrionia adventícia em *Nigritella nigra*. Nas orquídeas em geral, o nucelo é reduzido a uma só camada de células, circundando a célula-mãe do megásporo. Esta última dá origem a 3 ou 4 células-filhas, das quais a chalazal é funcional e forma o saco embrionário. Quanto este último atinge o estágio de 4 células, uma ou duas células da epiderme nuclear mostram considerável aumento em tamanho e atividade celular citoplasmática, começando a dividir-se e dando origem a embriões adventícios, em geral localizados muito próximos ao ápice do saco embrionário e completamente envolvidos

pelos tegumentos.

SWAMY (1946) cita um caso semelhante na orquídea *Zeuxine sulcata*. Nesta espécie, porém, não há formação regular do megásporo. Se este chegar a formar-se, aborta rá em um estágio precoce. Tal como ocorre em *Nigritella*, as células da epiderme nucelar também possuem potencial para crescimento e diferenciação. Uma ou duas destas células alongam-se consideravelmente e formam um pró-embrão filamentar.

A embrionia adventícia pode ser completamente autônoma como em *Nigritella nigra* (AFZELIUS, 1928), isto é, independe de polinização mas, neste caso, o autor constatou que a presença de tubos polínicos no ovário parece acelerar a tendência de produzir embriões adventícios. Em outras plantas, tanto a polinização quanto a fertilização são fatores importantes no estímulo do desenvolvimento de embriões adventícios, apesar de que o seu papel exato ainda não está bem elucidado.

A embrionia adventícia, geralmente, está associada a uma poliembrionia e, como consequência, são formados vários embriões por semente. Em *Spiranthes cernua*, SWAMY (1948) encontrou três "raças" bem características, uma sexual, uma assexual e outra intermediária. Os embriões de origem assexual tal como em *Zeuxine sulcata* desenvolvem saco embrionário até o estágio de quatro células. Daí em diante ocorre uma diferenciação de células do tegumento interno produzindo um ou mais embriões epomícticos. Alguns se localizam dentro da semente e outros com parte fora dela.

A poliembrionia também pode ser originária de uma célula-ovo que, após dividir-se, forma as células do sustensor e sofre novas clivagens poliembriônicas. Trata-se aqui da formação de "embriões gemelares univitelinos" que devem possuir a mesma constituição genética. Casos como este foram descritos em *Cymbidium bicolor* (SWAMY, 1942), *Eulophia epidendrea* (SWAMY, 1943), *Habenaria platyphyla* (SWAMY, 1946) e *E. nuda* (SWAMY, 1949).

II.3.2 - Reprodução vegetativa

Em orquídeas conhecem-se também alguns tipos de reprodução vegetativa. Assim, na sub-família Orchidoideae como, por exemplo, no gênero tropical *Habenaria*, formam-se estolões na base do caule, logo acima do bulbo subterrâneo. A ponta de cada estolão forma uma raiz adventícia que, engrossando, transforma-se em novo bulbo para o ano seguinte, o seu ponto vegetativo (estolão), formar um outro caule. Em algumas espécies brasileiras de *Habenaria* estes estolões podem ter o comprimento de vários decímetros podendo, assim, formar um agrupamento de numerosas plantas originadas todas de uma só planta inicial. O mesmo processo de reprodução vegetativa encontra-se na tribo australiana Diurideae da sub-família Neotioideae (BRIEGER, 1971a).

Em outros casos a formação do novo broto vegetativo não se dá na ponta de um estolão, mas origina-se adventiciamente em raízes como, por exemplo, no gênero americano *Cleistis* (BRIEGER, 1971a).

Pode-se, ainda, incluir como reprodução vegetativa a formação de novos brotos no pedúnculo da inflorescência de várias espécies de *Epidendrum*, do sub-gênero *Amphiglottida*, como o nosso *E. ellipticum* *E. mosenii* ou *E. viviparum* do sub-gênero *Aulizeum*, da Amazônia, embora, nestes casos, o novo caule, apesar de formar um grande número de raízes continue sempre ligado à planta mãe. Trata-se, portanto, de um tipo mais semelhante a trepadeira do que uma verdadeira reprodução vegetativa.

II.4 - Mecanismos de isolamento

A teoria da evolução parte basicamente do processo normal de reprodução sexuada e postula que, para a diversificação evolutiva tornar-se eficiente, é necessário que na fase de especiação, se formem mecanismos eficientes de isolamento reprodutivo, impedindo que, o que está em diversificação se misture novamente. Embora raros, os casos de apomixia podem ser considerados como um caso extremo de um tal isolamento reprodutivo.

A grande maioria das espécies de orquídeas são, essencialmente, alógamas. Pela própria constituição das

políneas, a polinização pelo vento é praticamente impossível e, pela posição das anteras, separadas da cavidade estigmática pelo rostelo, uma autofecundação é impraticável. Em vista disso, as orquídeas dependem de animais polinizadores, ou seja, principalmente de insetos (cerca de 80%) e colibris (3%), de outros grupos (15%) e, apenas, cerca de 2% possuem autofecundação (BRIEGER, 1971a). Esses fatos levam a pensar que há a possibilidade de ocorrer também cruzamentos interespecíficos e até intergenéricos, além dos cruzamentos intraespecíficos. Sabe-se, também, da grande facilidade em obter, artificialmente, a formação de híbridos interespecíficos e intergenéricos em laboratório. Outro fato, no entanto, também bastante conhecido entre botânicos e orquidicultores é o de que a ocorrência de híbridos em condições naturais é muito rara, devendo-se concluir que as orquídeas possuem eficientes barreiras de isolamento que impedem, sob condições naturais, o cruzamento entre espécies.

Uma revisão dos mecanismos de isolamento em orquídeas foi feita por BRIEGER (1971a) que os dividiu em dois grandes grupos: mecanismos que impedem o cruzamento, e mecanismos que conferem esterilidade a híbridos.

Quanto aos mecanismos que impedem os cruzamentos entre as espécies, consideram-se três fatores como principais:

- a. separação geográfica: espécies tão distantes geograficamente que nenhum inseto seria capaz de levar as políneas de uma a outra espécie. Como exemplo podemos citar as Cattleyae do grupo Labiata que ocorrem em áreas geográficas separadas e, na natureza, não apresentam híbridos mas, em laboratório, seus híbridos são férteis.
- b. separação temporal: espécies que diferem quanto à sua época de florescimento. Este parece ser o mecanismo de isolamento mais difundido nos trópicos entre espécies que, pelo menos em parte, ocupam áreas geográficas contíguas e sobrepostas.
- c. separação mecânica: principalmente por diferenças na estrutura da flor.

Certo número de espécies de orquídeas tem, devi-

do a sua estrutura floral, grande especificidade quanto aos insetos polinizadores e, em consequência disso, grande diferença quanto ao mecanismo de polinização. A maioria não tem essa especificidade e, assim, numerosos insetos podem polinizar mais de uma espécie de orquídeas e vice-versa.

No concernente aos mecanismos que conferem esterilidade a híbridos, temos que considerar o seguinte: a obtenção de híbridos interespecíficos e intergenéricos é bastante fácil em laboratório e, na natureza, ocorre dentro de certos limites. Caso a ocorrência desses híbridos fosse muito frequente, isto contrariaria o conceito de espécie preconizado por MAYR (1963), DOBZHANSKY (1969) e outros, que a definem como sendo um grupo de populações com troca de genes entre elas, mas separadas das populações de outras espécies na natureza por um ou mais mecanismos de isolamento. Assim, devemos supor que existem nas orquídeas sob condições naturais, outros mecanismos internos de isolamento reprodutivo.

BRIEGER (1971a) distingue diferentes modalidades destes mecanismos. Primeiramente a incompatibilidade pode ser tão grande a ponto de impedir o crescimento dos tubos polínicos ou, pelo menos, a fertilização, não aparecendo, assim, plantas híbridas F_1 . Em outros casos, formam-se tais híbridos mesmo sob condições naturais, os quais ou morrem devido à incompatibilidade gênica dos genomas, ou não se reproduzem em consequência da esterilidade gamética ou zigótica, pois, praticamente, nunca foram observadas, sob condições naturais, plantas híbridas de segunda geração ou de retrocruzamentos. A situação em híbridos artificiais diverge bastante da situação na natureza, não só porque faltam os efeitos de seleção natural, como também porque um grau de fertilidade de 1:1.000 representa, sob condições de seleção natural, uma esterilidade praticamente total, sendo, porém, para o melhorista de orquídeas, uma fertilidade satisfatória.

Com maiores detalhes, LENZ & WIMBER (1959) já alertaram para a falsa impressão que fornece a literatura sobre experimentos com cruzamentos de orquídeas, pois, raramente, são divulgados os resultados negativos.

Nas orquídeas, como foi apontado por BRIEGER

(1971a) aparecem todos os tipos de esterilidade dos híbridos, havendo fases mais sensitivas a incompatibilidade do que outras, de modo que as causas dessa esterilidade podem ser evidenciadas em várias etapas do desenvolvimento.

Quando as sementes provenientes de uma cápsula híbrida forem cultivadas em meio de cultura apropriado, a maioria das sementes desenvolve-se e cresce apesar de haver uma variação quanto a velocidade de crescimento entre elas. Quando as plântulas forem transferidas do nutriente-agar para o meio natural (xaxim), onde sempre haverá infecção com fungos simbiotes, o quadro já se altera. Neste momento devem iniciar-se certas reações fisiológicas específicas, pois, certas combinações híbridas desenvolvem-se normalmente enquanto outras sucumbem. Até o presente momento, desconhece-se a causa dessa sensibilidade ou incompatibilidade genômica. As plantas vencedoras dessa fase, continuam seu desenvolvimento até a fase adulta.

Outra fase crítica começa na meiose e formação dos gametas do híbrido F_1 , estendendo-se por toda a fase da fertilização até a formação dos embriões. STORT (1970) estudando o comportamento de híbridos artificiais F_1 entre várias espécies e gêneros de orquídeas observou que a macrosporogênese e microsporogênese são irregulares. A frequência de sementes F_1 com embriões F_2 bem formados, provenientes dos cruzamentos interespecíficos ou intergenéricos principalmente envolvendo os gêneros *Cattleya*, *Laelia* e *Brassavola* era maior em espécies mais afins e menor em espécies menos aparentadas. Na época da fertilização, muitos óvulos dos híbridos apresentavam uma formação granular antigênica, de composição mucosa (mucopolissacarídeo ácido) no trajeto a ser percorrido pelos tubos polínicos, impedindo a fertilização. Quando houve formação de sementes, a frequência de germinação foi, em geral, muito baixa.

Existe, portanto, nas orquídeas uma série de estágios sensíveis durante o desenvolvimento, as quais foram enumeradas por BRIEGER (1971a) da seguinte maneira: a) uma primeira fase, desde a meiose, fertilização e desenvolvimento embrionário, até a capacidade germinativa do embrião, b) uma segunda fase, quando as plântulas forem retiradas

do nutriente-agar, tendo que alimentarem-se por si próprias;
c) uma terceira fase, quando o híbrido atinge a floração apa-
recendo esterilidades de vários tipos.

III. MATERIAL E MÉTODOS

III.1 - Material

As plantas utilizadas para este trabalho encontram-se no orquidário do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, sob as seguintes condições de cultivo: cada espécimen coletado é plantado em um vaso de barro contendo xaxim e levado ao ripado onde é regado periodicamente, recebendo, ainda, tratamentos, como adubações periódicas e combate à pragas e doenças. Neste ambiente, uniforme para todas as plantas, é evitada grande parte da variabilidade fenotípica, sendo que a variabilidade devida aos fatores genéticos fica mais fácil de ser analisada. Todas as plantas por nós estudadas já se encontram neste ambiente uniforme por vários anos.

Foram incluídas neste trabalho 4 espécies da seção Heterotaxis (Lindl.) Brieg. (BRIEGER & ILLG, 1972). As demais espécies deste grupo não puderam ser incluídas por estarem representadas na coleção por poucos indivíduos.

Notando-se na *M. brasiliensis* Brieg. et Illg uma alta frequência de formação de frutos sem intervenção de polinizações, foi incluída, para fins de comparação, outra espécie que demonstra o mesmo fenômeno, a *Maxillaria cleistogama* Brieg. et Illg. Esta espécie pertence a outro grupo do gênero *Maxillaria*, sendo aparentada com uma espécie muito comum, a *M. rufescens* Lindl.

Para as análises estatísticas, inicialmente utilizaram-se apenas os dados dos caracteres florais. Os dados dos caracteres vegetativos, foram coletados algum tempo após, quando algumas plantas já estavam mortas. Sendo assim, o número de plantas na análise dos caracteres florais difere do dos caracteres vegetativos, como mostra o quadro I.

Quadro I. Relação do número de espécimens utilizados nas análises estatísticas, nas cinco espécies estudadas.

| SECÇÃO HETEROTAXIS | CARACTERES FLORAIS | CARACTERES VEGETATIVOS |
|--|--------------------|------------------------|
| <i>Maxillaria brasiliensis</i> Brieg.et Illg | 103 plantas | 74 plantas |
| <i>M. villosa</i> (Barb. Rodr.) Cogn. | 72 plantas | 59 plantas |
| <i>M. discolor</i> (Lodd.) Rehb. f. | 61 plantas | 54 plantas |
| <i>M. tarumaensis</i> Hoehne | 75 plantas | 72 plantas |
| Grupo da <i>M. rufescens</i> | | |
| <i>Maxillaria cleistogama</i> Brieg.et Illg | 44 plantas | - |

Para os estudos sobre a megasporogênese e o desenvolvimento do embrião, foram utilizados vários exemplares das plantas acima mencionadas.

III.2 - Métodos

III.2.1 - Análises estatísticas

III.2.1.1 - Obtenção de dados

Para as comparações estatísticas somente foram usadas as características das plantas possíveis de serem medidas e expressas em algarismos. Em cada planta foram determinados dados representando 14 medições, sendo 8 correspondentes aos caracteres florais e 6 vegetativos:

- | | |
|------------|----------------------------------|
| | 1. comprimento da sépala dorsal |
| | 2. Largura da sépala dorsal |
| | 3. Comprimento da sépala lateral |
| Caracteres | 4. Largura da sépala lateral |
| florais | 5. Comprimento da pétala |
| | 6. Largura da pétala |
| | 7. Comprimento do labelo |
| | 8. Largura do labelo |

Tendo em vista que cada planta não produz um número suficiente de flores simultaneamente, bem como para introduzir certa variação fenotípica devido à época em que o mate

rial foi retirado, foram confeccionadas fichas com diagramas florais e feitas as medições. Conforme a disponibilidade do material, as medições foram feitas em, pelo menos, 2(duas), até no máximo 6(seis) flores em cada espécimen. Para o feitiço do diagrama utilizou-se flores vivas, as quais foram dissecadas e seus órgãos aplainados e medidos numa escala de milímetros. O mesmo material, foi, depois, conservado em fichas para futuras referências.

As medições dos caracteres vegetativos foram feitas na planta viva, escolhendo-se dois pseudobulbos adultos, isto é, com um ano completo de idade.

- | | |
|-------------|-------------------------------|
| | 1. Comprimento da folha |
| | 2. Largura da base da folha |
| Caracteres | 3. Largura máxima da folha |
| vegetativos | 4. Comprimento do pseudobulbo |
| | 5. Largura do pseudobulbo |
| | 6. Espessura do pseudobulbo |

III.2.1.2 - Avaliação dos dados

Para verificar se os dados merecem confiança, isto é, para uma análise estatística adequada, foram determinados os coeficientes de variação dentro das plantas. Primeiramente calcula-se a média de todas as plantas, de cada espécie para cada caráter e o respectivo erro padrão. O cálculo do valor do coeficiente de variação é obtido pela divisão do erro residual pela média e multiplicado por 100.

Sendo impossível em material biológico obter grande constância dos fatores ambientais, aparecem, frequentemente, valores do coeficiente de variação relativamente altos. De um modo geral, podem ser considerados como muito satisfatórios valores em volta de 5% e até valores até 10%. Quando os valores são superiores a 10%, a eficiência estatística dos testes fica seriamente afetada. Conforme mostram os dados da última coluna das tabelas 1 a 5, os coeficientes de variação para o comprimento dos órgãos florais estão, de um modo geral, entre 5% a 8% e, portanto, satisfatórios. Para a largura aparecem alguns valores da ordem de 12%, o que pode ser explicado pelo fato de tratar-

-se de medidas da ordem de poucos milímetros e, assim, não determinados com eficiente precisão. A variação dos caracteres vegetativos oscila, em geral, entre 7% e 11% com um único valor superior, da ordem de 16,6% referente ao comprimento do pseudobulbo. Desta maneira, podemos considerar as medições como satisfatórias.

III.2.2 - Métodos de análises

Em se tratando de espécies que não foram muito claramente definidas na literatura taxonômica e que ocorrem em áreas muito extensas, surge a questão de como distinguir entre a variação intraespecífica e a interespecífica.

Para esta finalidade, foi utilizado o método da decomposição sequencial das variâncias conforme proposto por BRIEGER (1969b, 1972), baseado nas seguintes considerações:

1. Indivíduos coletados no mesmo local, podem ser considerados como pertencentes a uma população, devendo haver certa variação genotípica entre estas plantas.

2. Comparando, em seguida, as médias de plantas originárias de diferentes localidades, pertencendo, portanto, a diferentes populações, deve haver um aumento na diversidade como resultado de certo impedimento do livre fluxo gênico entre elas, devido às distâncias geográficas.

3. Considerando, ainda, a grande extensão da área de distribuição encontrada nestas espécies, torna-se possível reunir grupos de localidades de diferentes regiões, podendo-se esperar um maior impedimento do fluxo gênico entre estas regiões, devido a maior distância geográfica e, portanto, um maior aumento da variabilidade.

Deste modo, além da variação básica, ou seja, da variação fenotípica mínima dentro das plantas (s_4), podemos obter mais 3 componentes da variabilidade genotípica, ou seja: entre plantas dentro de populações (s_3), entre populações dentro de uma mesma região (s_2) e entre regiões geograficamente distintas (s_1) conforme indica o quadro II.

Como já explicamos acima, a variabilidade fenotípica foi reduzida ao mínimo devido ao cultivo sob condições homogêneas.

Quadro II. Modelo da análise da decomposição sequencial das variâncias.

| COMPONENTE | ERRO | GRAUS DE LIBERDADE | TETA |
|---|-------|-----------------------|-----------------------|
| Entre (r) regiões | s_1 | $\Sigma r - 1$ | $s_1: s_2 = \theta_1$ |
| Entre (l) localidades dentro de regiões | s_2 | $\Sigma l - \Sigma r$ | $s_2: s_3 = \theta_2$ |
| Entre plantas da mesma localidade | s_3 | $\Sigma p - \Sigma l$ | $s_3: s_4 = \theta_3$ |
| Dentro de um órgão da mesma planta | s_4 | $\Sigma t - \Sigma p$ | - - - |

Os demais componentes incluem, além desta variação fenotípica mínima, componentes genotípicos de fontes diversas. Assim, a variação entre plantas da mesma localidade que fazem parte, portanto, de uma mesma população, acusam um aumento na variabilidade devido a segregação genética dentro de cada população. Ao compararmos localidades diferentes, pode esperar-se que a distância geográfica entre localidades impeça parcialmente o livre fluxo de genes entre as populações locais, iniciando, deste modo, uma certa diversificação o que resulta em um aumento da variabilidade entre localidades. Da mesma forma pode-se prever que o aumento crescente das distâncias geográficas opere ainda em maior grau como um mecanismo parcial do isolamento reprodutivo, pelo impedimento do fluxo gênico, resultando em mais um aumento na variação. Todavia, de acordo com a hipótese de BRIEGER (1969b) este aumento de variabilidade não pode ser indefinido, pois cada taxon deve ter uma variabilidade genotípica máxima.

Comparando sucessivamente os componentes da variação total na sequência supra indicada, podemos observar um aumento progressivo das variâncias. Para verificar este aumento progressivo, não comparamos os componentes s_1, s_2 e s_3 com o componente s_4 (residual) mas, cada um com o correspondente posterior, conforme é indicado na última coluna do quadro II. Nestas comparações, não usamos o quociente de variâncias F de SNEDECOR (1956) mas sim o quociente entre erros, Teta (θ) de BRIEGER (1946) por dar, imediatamente, uma

estimativa do aumento de variação ocorrido.

A eficiência da análise estatística depende do número de dados em que se baseia o cálculo de um parâmetro. No nosso material ocorre que, às vezes, o aumento de variação pode ser constatado numericamente sem que se possa demonstrar a sua significância estatística, devido a um grau de liberdade muito pequeno, pois o número de plantas, localidades ou regiões que podem ser estabelecidos, não dependem de uma escolha prévia mas da ocorrência de espécimens na natureza. Nestes casos, pode-se aumentar a eficiência estatística confundindo em uma só estimativa média as estimativas individuais das diferentes características, obtidas da mesma localidade, região e mesma espécie taxonômica. Estas estimativas médias podem ser obtidas, calculando a soma dos quadrados de cada valor de teta individual, dividida pelo número de valores individuais ou, quando os graus de liberdade das partes forem diferentes, multiplicando os quadrados de cada teta pelo seu grau de liberdade e dividindo a sua soma pela soma dos graus de liberdade, finalmente, a raiz quadrada.

Deve-se, em seguida, fazer um teste de homogeneidade, dividindo cada valor teta individual pela estimativa média correspondente. Se, neste teste de homogeneidade, surgir um grau considerável de heterogeneidade, indicado pelos valores significativos de teta, deve-se proceder um novo agrupamento dos dados individuais, eliminando os valores de teta significativos, calculando, novamente, a média e um novo teste de homogeneidade para cada agrupamento. Evidentemente um agrupamento pode ser considerado correto quando o mesmo for caracterizado por uma variação normal.

Para testar todos os valores de teta individuais, foram utilizadas as tabelas de limites unilaterais (BRIEGER, 1946) pois, neste caso, interessa apenas a questão de haver ou não um aumento da variação. No caso do teste de homogeneidade foram utilizadas as tabelas de limites bilaterais pois, agora, interessa, a variação em torno de médias.

Além da variação intraespecífica e tendo sido analisados materiais atribuídos a diferentes espécies, seria interessante também obter uma estimativa de uma variação in-

terespecífica. É de se esperar que a variação interespecífica seja bem maior do que a variação geográfica máxima intraespecífica. Embora tenha sido utilizada a técnica comparativa, comum na taxonomia, para distinguir as quatro espécies da secção Heterotaxis, foram, também, usadas as médias e variâncias residual (s_4), aplicando-se o teste t de STUDENT, para a comparação de médias. O cálculo do valor t baseia-se na seguinte fórmula:

$$t = \frac{\bar{x}_a - \bar{x}_b}{\sqrt{\frac{s_a^2}{N_a} + \frac{s_b^2}{N_b}}}$$

onde \bar{x}_a e \bar{x}_b significam as médias dos dois grupos a serem comparados, s_a^2 e s_b^2 representem os componentes s_4 de cada espécie a ser comparada e, finalmente, N_a e N_b representam o número de plantas por espécie em que se baseou para o cálculo das médias.

Estes quocientes t são comparados com a avaliação máxima da variação geográfica e sendo os seus valores estatisticamente significativos e maiores do que 1,0, podem ser considerados como satisfatórios para a separação de espécies.

III.3 - Análise da reprodução por sementes

Considerando que o material em estudo pertence, em grande parte, a espécies simpátricas, e uma das finalidades do trabalho é verificar se as espécies mencionadas realmente são distintas, surge a questão da existência de eventuais barreiras de isolamento reprodutivo. Para isto foram feitos cruzamentos e estimada a fertilidade de sementes com embriões normais, constatados em amostras.

III.3.1 - Alogamia e cleistogamia

De um modo geral, as orquídeas são alógamas e a polinização é feita por insetos de diferentes grupos e mesmo por beija-flores que levam as polínias de uma flor para outra. É um fato conhecido que este processo não ocorre

com alta frequência na natureza como é demonstrado pela relativa raridade de frutos formados no habitat. Este fato, no entanto, é compensado pelo grande número de sementes produzidas em cada cápsula.

Normalmente nas condições de cultivo faltam, geralmente, os polinizadores e, conseqüentemente, o número de frutos naturalmente produzidos é mínimo. Entretanto, foi observado por nós que em duas das cinco espécies estudadas, o número de frutos produzidos no ripado era muito grande, isto é, praticamente cada flor transformou-se em um fruto. Observamos ainda em *M. cleistogama* que a maioria das flores nem se abrem mas que o seu ovário começa a engrossar e desenvolver-se antes da antese. Apenas algumas flores desenvolvem-se normalmente, o seu ovário não entumesce e a flor murcha. Na *M. brasiliensis* acontece o mesmo fenômeno. A maioria das flores não chegam a se abrir completamente mas desenvolvem o ovário e produzem sementes. A *M. discolor* também forma alguns frutos em condições de ripado, de maneira semelhante àquela apresentada pela *M. brasiliensis*, porém em proporção bem menor.

Em orquídeas, o fenômeno da autogamia sem polinizador, isto é, a germinação dos grãos de pólen na cavidade estigmática da própria flor, é muito raro. Observamos em *M. brasiliensis* que, nas flores que já estão em processo de formação de frutos, as polínias ainda estão intactas dentro das anteras.

Por outro lado, constatamos nas mesmas flores que existem grãos de pólen de orquídeas em germinação na cavidade estigmática e que a coluna é entumescida devido a grande quantidade de tubos polínicos na mesma, os quais porém, não penetram na cavidade ovariana. Não sabemos qual o inseto que transportou as polínias para dentro dos botões um pouco abertos, nem qual a origem destas polínias mas, por outro lado, tornou-se evidente que, sem esta polinização, embora não seguida por fertilização, não ocorre a formação de frutos em plantas isoladas na casa de vegetação, protegidas contra qualquer visita de insetos. No caso de ensacamento de flores individuais, mostrou-se que elas não resistem ao tratamento. No caso do estímulo mecânico, aplicando sim-

plesmente leve ferimento na superfície estigmática, a qual poderá, em certas orquídeas, provocar uma partenocarpia, não resultou, no nosso material, um desenvolvimento dos frutos.

Aplicando polínias da mesma espécie na cavidade estigmática, observamos a germinação dos tubos polínicos os quais, todavia, não penetraram no ovário. Assim, podemos concluir que um estímulo de polinização é indispensável para provocar uma partenocarpia sem ocorrer qualquer fertilização.

Assim sendo, procedemos a análise histológica do desenvolvimento dos óvulos. Ovários de cada espécie foram coletados em diversas fases do desenvolvimento, fixados em FAA 50 (JOHANSEN, 1940) preparados para cortes histológicos utilizando a técnica de inclusão em parafina. Os cortes de 8 μ de espessura foram coloridos com safranina (1% de safranina em álcool 50%), e diferenciados em verde-firme (solução de verde-firme ("fast-green") saturada em óleo de cravo, diluído em álcool:xilol:: 40:60). Os tempos de coloração variaram conforme a fase do desenvolvimento do material.

III.3.2 - Barreiras de isolamento

Para analisar a natureza das barreiras de isolamento interespecífico, foram feitos cruzamentos e analisado o seu resultado. Uma vez que a obtenção de descendentes adultos é muito demorada, ou seja, de pelo menos 4 anos, limitamo-nos a análise das próprias sementes, determinando a porcentagem de sementes com embriões normais em contraposição às sementes totalmente vazias ou defeituosas. Deve-se lembrar, todavia, que mesmo nos cruzamentos intraespecíficos, um certo número de sementes geralmente é vazio.

IV. RESULTADOS

IV.1 - Análises estatísticas

IV.1.1 - Da decomposição sequencial das variâncias

Os resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias, constantes das tabelas 1 a 5, mostram o seguinte:

- a) na primeira coluna, da direita para a esquerda, os coeficientes de variação, calculados com base no erro residual, variando em geral entre 5% e 10%, com poucos valores acima de 10%, o que é bastante satisfatório.
- b) na segunda coluna, o erro dentro de plantas, que corresponde à variação fenotípica entre flores dentro da mesma planta, e entre folhas e pseudobulbos.
- c) o terceiro bloco, formado pelas três colunas seguintes, refere-se à variação genotípica entre as plantas: primeiramente, do lado esquerdo, o valor do componente do erro (s_3), em seguida, no meio, o do quociente sequencial do erro ($s_3: s_4$) que representa o valor teta (θ), finalmente, do lado direito, o resultado do teste de homogeneidade.
- d) o quarto bloco refere-se à variabilidade genética entre localidades, com o significado das três colunas análogo ao já indicado para o componente entre plantas, e o quinto bloco, no caso da *M. brasiliensis* Brieg. et Illg, refere-se à variabilidade genética entre regiões.

Na última linha horizontal, em baixo, estão as médias ponderadas dos valores de teta (θ) para os caracteres analisados. Quando o teste de homogeneidade indicou a existência de heterogeneidade, foram calculados dois valores de teta separadamente, o que ocorreu, por exemplo, referente aos caracteres florais ou vegetativos no caso da *M. brasiliensis* (tabela 1). O número entre parêntesis (1) ou (2), na coluna do teste de homogeneidade mostra qual o teta médio

utilizado para calcular o quociente do teste de homogeneidade.

Na penúltima linha horizontal estão representados os valores N referentes ao número de flores, plantas, localidades e regiões e, na linha logo superior, os valores dos graus de liberdade (G1).

A *M. brasiliensis* mostra um coeficiente de variação satisfatório exceto para poucos caracteres onde ele ultrapassa o limite de 10% (tabela 1). A variação entre plantas mostra um aumento de 1,30 vezes sobre a variação fenotípica média para os caracteres florais e de 2,25 vezes para os caracteres vegetativos, sendo ambos os valores altamente significativos, no limite de 1/1.000. O aumento da variação entre localidades sobre a variação dentro de localidades é estatisticamente insignificativo quando analisado para cada caráter, embora todos, exceção feita a um caráter, alcancem um valor superior a 1,0 mas, a sua média ponderada indica um aumento da variação de 1,33 vezes, valor esse altamente significativo, no limite de 1/1.000. Igualmente parece haver um aumento da variação entre regiões quando comparada com a variação entre localidades mas, devido ao baixo valor dos graus de liberdade, nem os valores individuais nem o valor da média ponderada são estatisticamente significativos.

Estes resultados estão representados graficamente na figura 15 a qual mostra um aumento gradativo da variação genotípica, aproximando-se assintoticamente a um valor máximo, o qual pode ser considerado como normal para uma espécie bem definida e não polimorfa.

A *M. tarumaensis* (tabela 4) mostra, de modo geral, um comportamento semelhante ao acima descrito. As duas curvas representadas na figura 16 indicam que, tal como na *M. brasiliensis*, há um aumento da variabilidade genética que igualmente tende a um valor máximo. Para os caracteres florais este aumento é de 1,46 vezes e para os vegetativos é de 1,97 vezes, entre plantas da mesma localidade, porém, quando se consideram regiões geograficamente diferentes, não se constata um maior aumento na variação.

No concernente a *M. villosa* encontramos outro pa-

drão de variação. Do exame de tabela 3, verificamos que há um primeiro aumento na variabilidade devido a componentes genotípicos, tanto para os caracteres florais quanto para os vegetativos, de cerca de 1,69 vezes, valor esse que é altamente significativo, ao nível de 1/1.000. Quando se compara a variabilidade entre regiões verifica-se que, quanto aos caracteres florais ainda há um certo aumento, de cerca de 1,49 vezes sobre a variação entre plantas da mesma localidade mas o aumento mais significativo é para os caracteres vegetativos, que mostram um aumento de 3,34 vezes sobre a variação entre plantas. Temos, então, para os caracteres florais uma curva que tende assintoticamente a um valor máximo. Entretanto, para os caracteres vegetativos, a curva é típica para as espécies polimorfas (figura 18), onde o limite de variabilidade não é atingido, o que pode ser explicado não só pela ampla distribuição geográfica da espécie como também pelo impedimento do livre fluxo gênico.

Na *M. discolor* (tabela 2) a situação se assemelha, em parte, à da *M. villosa*. Há uma constância na variabilidade dos caracteres florais, a qual pode ser expressa graficamente por uma linha reta (figura 17), que indica não haver qualquer variação genotípica, o que permite supor que a formação de frutos sem polinização cruzada exerce uma maior influência nesses caracteres. Por outro lado, no que diz respeito aos caracteres vegetativos, a espécie comporta-se como uma espécie polimorfa, o que novamente pode ser atribuído à grande extensão da área geográfica que, além do mais, é descontínua, reduzindo a possibilidade do fluxo gênico.

Da *M. cleistogama* foram analisados apenas dados referentes aos caracteres florais (tabela 5). Esta espécie mostrou um padrão de variação completamente diferente, até agora não encontrado em nenhuma outra espécie. Apesar de terem sido analisadas 44 plantas, de 8 regiões ou localidades do Brasil e da região Andina, não foi encontrado nenhum aumento na variabilidade genotípica, e a variabilidade fenotípica é da mesma ordem das outras espécies estudadas. Tendo em vista que não possuímos dados suficientes dos caracteres vegetativos, devido ao fato já mencionado de que muitas plantas foram perdidas antes de serem tomadas as medidas,

constatamos, também, grande constância nos caracteres vegetativos, pela observação visual das plantas que ainda pudemos examinar. A representação gráfica do tipo de variação encontrada nesta espécie pode, portanto, ser expressa numa linha reta (figura 19).

Do exposto encontramos, via de regra, três modos de comportamento:

- a) o de espécies que mostram um crescimento na variabilidade, decorrente do aumento da separação geográfica, sem atingir um limite máximo, comportamento este que pode ser considerado como característico em espécies polimorfas.
- b) espécies que mostram um aumento gradativo na variação, de acordo com o aumento da distância, aproximando-se, todavia, assintoticamente ao máximo da variação para espécies, comportamento este característico para espécies não polimorfas.
- c) uma falta de aumento na variabilidade, proporcional à distribuição geográfica e ausência de variação genotípica dentro de populações, indicando prováveis anomalias na reprodução.

IV.1.2 - Variação entre as quatro espécies da secção Heterotaxis

Uma vez que pelo menos três espécies, a *M. brasiliensis*, *M. villosa* e *M. discolor*, frequentemente tem sido confundidas na literatura, foi efetuado um teste de diferenças, ou seja, o teste *t* de STUDENT, para os 14 caracteres estudados. Incluímos a *M. tarumaensis*, pouco estudada por autores anteriores. As médias gerais para os caracteres estudados estão na tabela 6; e a tabela 7 mostra as comparações feitas entre as 4 espécies da secção Heterotaxis, em valores de *t*.

Todas as comparações mostram diferenças altamente significativas para todos os caracteres florais, ao nível de 1/1.000, com raras exceções. Comparações de coloração de flores também mostram que existem diferenças significativas.

Os valores de *t* (tabela 7) são, de modo geral, bas

tante superiores ao valor máximo de variação atingido dentro de cada espécie, entre regiões. Com relação aos caracteres vegetativos existem certas semelhanças entre algumas das 4 espécies, como pode ser constatado, por exemplo, na largura da folha e do pseudobulbo, entre a *M. brasiliensis* e *M. discolor*, na espessura do pseudobulbo entre a *M. brasiliensis* e *M. villosa* e no comprimento e espessura do pseudobulbo entre a *M. discolor* e *M. villosa*. Entretanto, quanto aos caracteres florais, essas semelhanças são ainda mais raras, sendo evidenciadas apenas na largura da pétala na comparação entre a *M. brasiliensis* e a *M. villosa* e no comprimento da sépala dorsal e da pétala na comparação entre a *M. brasiliensis* e a *M. tarumaensis*.

Em síntese, podemos dizer que essa análise estatística confirma, plenamente, tratar-se de quatro taxons nitidamente distintos, os quais podem ser considerados como espécies diferentes.

IV.2 - Autofecundações e cruzamentos

Uma vez que a existência de barreiras de isolamento reprodutivo são de grande importância, tanto para a distinção entre espécies, quanto para avaliar o grau de fertilidade dentro de cada espécie, foram efetuadas autofecundações, cruzamentos entre plantas da mesma localidade, cruzamentos entre plantas de diferentes regiões, além de cruzamentos interespecíficos entre as espécies em estudo. Limitamo-nos, neste trabalho, à espécie da secção Heterotaxis (Lindl.) Brieg., não só porque a *M. cleistogama* pertence a uma outra secção do gênero, como também porque ela não poderá ser usada para estudos em experiências com polinizações, uma vez que suas flores produzem sementes sem intervenção de polinizações.

Nas espécies onde foram efetuados os vários tipos de cruzamentos, foram feitas contagens de sementes em apenas uma amostra dos frutos desenvolvidos, devido à grande quantidade de material acumulado. Apesar da variação existente nos dados, podem utilizar-se os valores médios para as comparações. Em orquídeas, o número de sementes

estéreis é extremamente variável, fato este ainda não plenamente explicado, pois, o número de tubos polínicos sempre é tão amplo que poderia permitir a fertilização de todos os óvulos. Parece, portanto, justificado usar a porcentagem média de sementes com embriões normais, como indicador do grau de compatibilidade existente entre as partes combinadas na polinização.

Maxillaria villosa (Barb. Rodr.) Cogn.

Da tabela 8 constam os resultados detalhados das contagens de sementes provenientes de autofecundações na *M. villosa* e na tabela 9 encontram-se os resultados dos vários tipos de cruzamentos efetuados. Para possibilitar uma melhor apreciação dos dados, reunimos os valores médios no quadro III, apresentado abaixo.

Quadro III. Porcentagem de frutos desenvolvidos e embriões bem formados na *M. villosa*.

| TIPOS DE CRUZAMENTOS NA <i>M. villosa</i> | Nº DE FLORES CRUZADAS | FRUTOS DE- SENVOLVIDOS | | % DE EMBRIÕES BEM FORMADOS | | |
|---|-----------------------------|---------------------------|---------|-------------------------------|-------|--------|
| | | Nº | % | MÍNIMA | MÉDIA | MÁXIMA |
| Autofecundações | 60 | 30 | (50,00) | 52,42 | 72,07 | 93,50 |
| Cruzamentos entre plantas da mesma localidade | 14 | 13 | (92,85) | 81,36 | 88,97 | 95,88 |
| Cruzamentos entre plantas de regiões diferentes | 10 | 9 | (90,00) | 80,00 | 91,10 | 97,84 |
| Cruzamentos interespecíficos | 13 | 10 | (76,92) | 68,64 | 82,60 | 98,18 |

Nota-se que há grande autoesterilidade nesta espécie, pois, apenas 50% de flores autofecundadas deram frutos com sementes. Por outro lado, a porcentagem de sementes normais foi relativamente alta, embora, em geral, seja menor que nos cruzamentos. Deve-se concluir conseqüentemente que o bloqueio devido a autoesterilidade consiste em impedir o funcionamento dos tubos polínicos.

Quando se efetuam cruzamentos inter e intrapopulacionais a porcentagem de frutos desenvolvidos é de cerca de

90%, bastante superior portanto à de autofecundações. Neste caso também a porcentagem média de embriões bem formados é mais elevada, ao redor de 90%, mostrando ausência de uma barreira interpopulacional nos cruzamentos desta espécie.

Quanto aos cruzamentos interespecíficos faremos, mais adiante, uma apreciação resumida para todas as espécies.

M. discolor (Lodd.) Rchb.f.

As tabelas 10 e 11 mostram os resultados detalhados das contagens de sementes provenientes de autofecundações e de cruzamentos, respectivamente.

O quadro IV, apresentado abaixo, é um resumo das tabelas 10 e 11 e indica a porcentagem de embriões bem formados nos vários tipos de tratamentos efetuados.

Quadro IV. Porcentagem de frutos desenvolvidos e embriões bem formados na *M. discolor*.

| TIPOS DE CRUZAMENTOS NA <i>M. discolor</i> | Nº DE FLORES CRUZADAS | FRUTOS DE- SENVOLVIDOS | | % DE EMBRIÕES BEM FORMADOS | | |
|---|-----------------------------|---------------------------|----------|-------------------------------|-------|--------|
| | | Nº | % | MÍNIMA | MÉDIA | MÁXIMA |
| Autofecundações | 24 | 18 | (75,00) | 86,89 | 93,76 | 100,00 |
| Cruzamentos entre plantas da mesma localidade | 10 | 9 | (90,00) | 82,61 | 92,68 | 97,65 |
| Cruzamentos entre plantas de regiões diferentes | 8 | 8 | (100,00) | 90,20 | 94,98 | 100,00 |
| Cruzamentos interespecíficos | 16 | 15 | (93,75) | 93,20 | 96,65 | 100,00 |

Nesta espécie a autoesterilidade é bem menos acentuada que na espécie precedente, chegando a formar 75% de frutos, a partir de flores autofecundadas artificialmente e com mais de 90% de seus embriões normais.

Nos cruzamentos inter e intrapopulacionais, a frequência de frutos desenvolvidos é igualmente alta, entre 90% e 100%, como também é alta a porcentagem de embriões bem for

mados.

M. tarumaensis Hoehne

Os resultados das contagens de sementes provenientes de autofecundações e cruzamentos estão nas tabelas 12 e 13, respectivamente. Para uma melhor apreciação dos resultados, eles foram agrupados no quadro V.

Quadro V. Porcentagem de frutos desenvolvidos e embriões bem formados na *M. tarumaensis*

| TIPOS DE CRUZAMENTOS <i>M. tarumaensis</i> | Nº DE FLORES CRUZADAS | FRUTOS DESENVOLVIDOS | | % DE EMBRIÕES BEM FORMADOS | | |
|---|-----------------------|----------------------|----------|----------------------------|-------|--------|
| | | Nº | % | MÍNIMA | MÉDIA | MÁXIMA |
| Autofecundações | 24 | 18 | (75,00) | 31,52 | 71,88 | 94,48 |
| Cruzamentos entre plantas da mesma localidade | 13 | 13 | (100,00) | 81,75 | 91,86 | 100,00 |
| Cruzamentos entre plantas de regiões diferentes | 4 | 3 | (75,00) | 83,17 | 90,67 | 95,68 |
| Cruzamentos interespecíficos | 6 | 5 | (83,33) | 86,47 | 91,32 | 94,84 |

Há 75% de formação de frutos nesta espécie e a porcentagem média de embriões bem formados é de cerca de 70%, nas autofecundações.

Os cruzamentos intrapopulacionais mostram alta fertilidade com grande frequência de embriões normais. Os cruzamentos interpopulacionais em número relativamente baixo, também apresentam grande quantidade de frutos com embriões bem formados.

M. brasiliensis Brieg. et Illg

Desde o início observou-se uma diferença no comportamento desta espécie quando comparada com as outras do grupo. Ela forma grande quantidade de frutos em condições de ripado, enquanto a *M. discolor* forma muito poucos frutos e as outras duas espécies quase não os formam, a não ser com

a interferência de polinizações artificiais. Por suspeitar-se estar ocorrendo cleistogamia efetuou-se uma série de tratamentos. Os resultados constam do quadro VI, abaixo.

Quadro VI. Número de frutos desenvolvidos a partir de flores pertencentes à *M. brasiliensis*, submetidas a vários tratamentos.

| TRATAMENTOS | Nº DE FLORES USADAS | | Nº DE FRUTOS | MURCHAMENTO |
|-------------|---------------------|--------|---------------|-------------|
| | RECEM ABERTAS | BOTÕES | DESENVOLVIDOS | |
| A | 7 | 5 | 0 | 1 semana |
| B | 2 | 6 | 0 | 1 semana |
| C | 46 | 0 | 0 | 1 semana |
| D | 8 | 0 | 0 | 1 semana |
| Total | 74 | | 0 | |
| E | 92 | | 91 | |

A-castração de flores e botões florais, protegendo-os em seguida com saquinho de papel; B-castração de flores e botões, sem proteção de papel, deixando-se as plantas em casas de vegetação, portanto, livres da visita de insetos; C-sem castração, em casas de vegetação, livres da visita de insetos; D-estímulo mecânico provocado na cavidade estigmática, deixando intactas as polínias; E-autofecundações artificiais.

Dos resultados expostos no quadro acima, podemos verificar que a flor apenas desenvolve frutos quando estimulada pela presença de grãos de pólen, os quais tanto podem ser depositados por insetos ou, artificialmente, pelo homem. Nesta espécie, nunca foi observado que o pólen germina para a cavidade estigmática da própria flor.

Fazendo cortes longitudinais e transversais no ovário, em vários estágios do desenvolvimento, não pudemos observar a presença dos feixes de tubos polínicos, como ocorre nos frutos das orquídeas que possuem fecundação.

Procedendo-se a uma raspagem da cavidade estigmática dos frutos desenvolvidos, observou-se a presença de grãos de pólen em germinação e de tubos polínicos. A coluna toda se apresenta fortemente entumescida, contendo um grande número de tubos polínicos desenvolvidos. Todavia, a zona de ligação entre a coluna e o ovário não é entumescida e apenas raros tubos polínicos atingem a cavidade ovariana. A presen

ça destes poucos tubos polínicos na cavidade ovariana, apenas pôde ser constatada pela fluorescência da calose. Desta forma, torna-se evidente que os tubos polínicos apenas provocam uma partenogênese, a qual consiste na ativação do desenvolvimento do ovário, bem como do desenvolvimento dos óvulos, sem ser seguida por fertilização entre a oosfera e o núcleo germinativo do tubo polínico. Trata-se, portanto, de uma esterilidade quase total dos tubos polínicos de qualquer origem que deve ser causada por uma interação fisiológica entre o tecido feminino da coluna e os tubos polínicos. A formação de sementes, como demonstraremos no capítulo referente às análises embriológicas, independe da fertilização e se processa por autómixia.

Para verificar se apenas o pólen da mesma planta pode servir de estímulo para o desenvolvimento do ovário ou, se o pólen de outras plantas também tem o mesmo efeito, foram efetuadas além das autofecundações, cruzamentos inter e intrapopulacionais e interespecíficos. Os resultados das contagens de sementes são mostrados nas tabelas 14 e 15. O quadro VII é um resumo dessas tabelas e fornece uma indicação da porcentagem de embriões bem formados, nos vários tipos de tratamentos efetuados.

Quadro VII. Porcentagem de frutos desenvolvidos e de embriões bem formados na *M. brasiliensis*.

| Tipos de cruzamentos na <i>M. brasiliensis</i> | Nº de flores cruzadas | Frutos desenvolvidos | | % de embriões bem formados | | |
|---|-----------------------|----------------------|----------|----------------------------|-------|--------|
| | | Nº | % | mínima | média | máxima |
| Autofecundações | 117 | 114 | (97,44) | 71,00 | 88,68 | 96,94 |
| Cruzamentos entre plantas da mesma localidade | 18 | 18 | (100,00) | 81,78 | 90,58 | 96,78 |
| Cruzamentos entre plantas de regiões diferentes | 15 | 14 | (93,33) | 79,81 | 89,39 | 96,47 |
| Cruzamentos interespecíficos | 16 | 14 | (87,50) | 79,89 | 88,05 | 96,42 |

Pelo quadro VII observa-se que o desenvolvimento do ovário independe da natureza do pólen. A porcentagem mó-

dia de embriões bem formados, além de ser alta é bastante uniforme. Todavia, deve-se lembrar que isto não indica fertilidade, seja de autofecundações, seja de cruzamentos, pois como dizíamos acima, os tubos polínicos não passam além da coluna e, assim, não penetram na cavidade ovariana. A origem destes embriões foi estudada através de cortes histológicos do ovário, em várias fases do desenvolvimento.

Cruzamentos interespecíficos

Os dados detalhados dos cruzamentos interespecíficos encontram-se nas tabelas 9, 11, 13 e 15 e foram resumidos no quadro VIII.

Quadro VIII. Porcentagem de embriões bem formados em cruzamentos interespecíficos e os recíprocos.

| Macho Fêmea | <i>M. villosa</i> % de embriões bem formados | | | <i>M. discolor</i> % de embriões bem formados | | | <i>M. brasiliensis</i> % de embr. bem formados | | |
|------------------------|--|-------|--------|---|-------|--------|--|-------|--------|
| | mínima | média | máxima | mínima | média | máxima | mínima | média | máxima |
| <i>M. villosa</i> | | | | 68,64 | 73,37 | 78,11 | | | 91,86 |
| | | | | (2 cruzamentos) | | | (1 cruzamento) | | |
| <i>M. discolor</i> | 94,67 | 96,90 | 100,00 | | | | 93,20 | 94,68 | 100,00 |
| | (4 cruzamentos) | | | | | | (6 cruzamentos) | | |
| <i>M. brasiliensis</i> | 92,68 | 94,55 | 96,42 | 79,89 | 85,05 | 88,53 | | | |
| | (2 cruzamentos) | | | (3 cruzamentos) | | | | | |

Usando a *M. villosa* como doadora de pólen, não existem diferenças na frequência de formação de embriões normais em ambas as espécies receptoras, com uma porcentagem média ao redor de 95% para ambas. Porém, quando a *M. villosa* foi usada como planta feminina aparece uma diferença, com cerca de 70% de sementes normais, quando cruzada com *M. discolor* e 90% com a polinização com a *M. brasiliensis*.

A *M. discolor* mostra um comportamento inverso. Quando receptora de pólen, resulta com ambas as espécies cruzadas uma porcentagem semelhante de embriões normais, da ordem de 95% a 100% das sementes contadas. Como doadora de pólen mostrou diferenças no comportamento, com apenas 73% de embriões normais em combinação com a *M. villosa*, e 85% em combinação com a *M. brasiliensis*.

Finalmente, a *M. brasiliensis* mostra em todas combinações, seja como doadora, seja como receptora, uma alta porcentagem de embriões normais.

Apesar do número relativamente pequeno de cruzamentos interespecíficos realizados, os dados permitem concluir que as barreiras de isolamento entre as três espécies em questão não consistem, de qualquer maneira, de um impedimento do processo de polinização e fertilização.

Há, todavia, um isolamento geográfico, pois, exceto a *M. brasiliensis* e a *M. discolor* que se sobrepõe em São Paulo e na Bahia, as demais espécies não ocorrem nos mesmos lugares, nem florescem exatamente na mesma época.

IV.3 - Análises embriológicas

Em vista do já exposto, tornou-se necessário analisar com maiores detalhes, por meio de cortes histológicos, a gametogênese e a embriogênese das duas espécies com flores que não se abrem totalmente, ou seja, a *M. brasiliensis* e a *M. cleistogama*.

IV.3.1 - Formação do saco embrionário e embriogênese na *M. brasiliensis* Brieg. et Illg

Fazendo-se um corte transversal no ovário de uma flor não polinizada, observaram-se três saliências dicotômicas de tecido parietal. Isto se explica pela estrutura morfológica dos ovários que são formados por três carpelos, com as margens curvadas para dentro e concrecidas. As protuberâncias dicotômicas correspondem às duas fileiras de primórdios de placentas, formados nas margens de cada carpelo. As células destas saliências começam apenas a dividir-se de no-

vo após a polinização, vindo a formar a placenta.

Cerca de 10 a 15 dias após a polinização, observa-se um entumescimento em todo o ovário e, no seu interior, a placenta apresenta-se com numerosas protuberâncias. Cada protuberância alonga-se dando origem, no seu ápice, a um primórdio de óvulo, composto por uma fileira interna de células, revestidas por uma única camada de células epidérmicas e este conjunto forma o nucelo. Cerca de 30 a 40 dias após a polinização, torna-se possível reconhecer claramente, nesta fileira interna, a célula mais apical que diferencia-se das demais células da fileira pelo seu maior tamanho, pelo seu grande núcleo e citoplasma mais denso, representando, assim, a célula arqueosporial e, portanto, a célula-mãe dos megásporos (Fig.20A). Nesta fase, o óvulo começa a curvar-se num ângulo com o funículo, resultando, enfim, em um óvulo anátropo.

A partir desta época começam a desenvolver-se os tegumentos, pelo crescimento e divisões celulares da camada externa do nucelo, na mesma altura da posição da célula arqueosporial (Fig.20B). Inicialmente desenvolve-se o tegumento externo, na região chalazal, envolvendo o óvulo na parte não encostada ao funículo, de modo que, no óvulo adulto, a micropila é circundada pelo tegumento externo e pelo próprio funículo ao qual o tegumento externo fica ligado. Quando o tegumento externo envolve aproximadamente a metade do nucelo, começa, na parte basal deste, a formação do tegumento interno. Quando os dois tegumentos cobrem quase todo o nucelo, a camada externa única deste último, começa a degenerar-se (Fig.20C), sendo, afinal, totalmente absorvida.

Durante a fase de formação do tegumento interno, a célula-mãe dos megásporos entra em divisão meiótica. Terminada a primeira parte dessa divisão, aparece uma parede transversal que separa as duas células resultantes (Fig.20D). A da região micropilar degenera-se, não tendo sido constatada nenhuma segunda divisão desta célula. A célula chalazal desta díade, a qual é muito maior do que aquela que se degenera, sofre a segunda divisão meiótica. Um dos núcleos resultantes desta divisão, o da região micropilar, também se degenera (Fig.20E). Como resultado temos, assim, um megás-

poro funcional ou seja, uma célula-mãe do saco embrionário monospórico.

Decorridos 70 dias da polinização já existe um saco embrionário binucleado (Fig.20F) e os núcleos separam-se migrando um para o polo micropilar e o outro para o chalazal. Em seguida, cada núcleo divide-se novamente dando origem a um saco embrionário tetranucleado (Fig.20G). Observa-se, no interior do saco embrionário, a formação de um grande vacúolo que afasta cada vez mais os dois pares de núcleos, um para a região micropilar e o outro para a região chalazal.

Pela marcha considerada como normal, seria de se esperar que cada um dos quatro núcleos se dividisse novamente formando um saco embrionário octa-nucleado e que, em seguida, um núcleo da região chalazal e outro da região micropilar migrassem para o centro do saco embrionário e se fusionassem para formar um núcleo diplóide, enquanto os três núcleos restantes da região chalazal, formassem as antípodas e os três núcleos micropilares, a cosfera e as duas sinérgides.

Isto porém não acontece na espécie em estudo. Podem haver novas divisões mitóticas de núcleos sem formação de células em separado mas, praticamente sempre, destaca-se um núcleo chalazal o qual aumenta consideravelmente o seu volume e migra para o centro do saco embrionário (Fig.21A). Em seguida, ocorre uma fusão de dois núcleos (Fig.21B e C), sendo que um deles parece ser sempre o núcleo maior, já em posição central, e o outro pode ser qualquer dos demais, de modo que, no fim desta fase, temos um núcleo central bem maior em fusão (Fig.21D), ou já totalmente fusionado (Fig.21E) com, pelo menos, dois nucléolos. Além desse, um número variável de três a oito núcleos menores, e cada um com um nucléolo apenas. Podemos, assim, concluir que o grande núcleo resultante da fusão contém, novamente, um número diplóide de cromossomos.

Há, ainda, certas variações no comportamento dos núcleos que não sofrem fusão. Todos estes núcleos, contudo, degeneraram-se progressivamente, permanecendo ativo apenas o núcleo diplóide reconstituído, o qual passa a formar

um embrião. Cerca de 105 dias após a polinização, este núcleo diplóide (Fig.22A), dá origem a um próembrião bicelular (Fig.22B). Devido as novas divisões transversais, forma-se uma fileira de 4 células (Fig.22C). As três células que ficam na direção micropilar formam o suspensor (Fig.22D e E) e a quarta célula, a apical, em direção à chalaza, sofre divisões transversais e longitudinais, formando o corpo do embrião. Simultaneamente, as células dos tegumentos crescem longitudinalmente em toda a sua extensão, fechando praticamente a micrópila, e a parte chalazal adquire aspecto fusiforme. As paredes celulares tornam-se mais grossas e o seu conteúdo desaparece totalmente. Decorridos 170 a 190 dias da polinização, a semente está plenamente desenvolvida (Fig.22F), com um embrião de forma elipsóide, coberto pelas células mortas do tegumento.

Em resumo, podemos dizer que o saco embrionário haplóide começa o seu desenvolvimento normalmente, sem chegar ao fim considerado normal para plantas superiores degenerando, ao contrário, todos os seus núcleos, exceto dois, que se fusionaram e dos quais forma-se diretamente um embrião, após restituição do número diplóide de cromossomos ou seja, por automixia ou partenogênese diplóide, sem interferência de qualquer elemento masculino.

Tendo ocorrido anteriormente um processo meiótico normal, o qual possibilitou a segregação gênica, temos como resultado um processo análogo a uma estrita autogamia.

IV.3.2 - Formação do saco embrionário e embriogênese na *Maxillaria cleistogama* Brieg. et Illg

A fase inicial é idêntica à descrita para a *M. brasiliensis* com os três primórdios marginais duplos de placetas. Estes se desenvolvem formando protuberâncias filamentosas que nesta espécie se ramificam, transformando-se cada ponta em um primórdio de óvulo, composto por uma fileira axial de poucas células, revestida por uma única camada externa nucelar (Fig.23A). Cerca de 40 dias após, a célula mais apical da fileira interna, destaca-se pelo seu tamanho e volume do núcleo (Fig.23B), correspondendo à célula-mãe

dos megásporos (Fig.23C). Tal como na *M.brasiliensis*, já se nota nesta fase, o início da formação dos tegumentos externo e interno. A célula-mãe sofre a primeira divisão meiótica e produz duas células (Fig.23D), das quais, a da região micropilar não aumenta de volume mas se degenera progressivamente sem dividir-se novamente. A outra aumenta de volume e efetua a 2a. divisão meiótica (Fig.23E). Das três células resultantes, as micropilares se degeneram e a chalazal torna-se a célula-mãe do saco embrionário (Fig.23F). Até este momento, o desenvolvimento da *M.cleistogama* é exatamente o mesmo descrito para a *M.brasiliensis*.

Em seguida, na *M.cleistogama*, a degeneração das células nucelares ocorre mas não em toda a sua extensão. Na região micropilar há, ao contrário, um aumento do volume e do conteúdo citoplasmático de algumas células. A figura 23G, mostra um saco embrionário binucleado, vendo-se as células nucelares laterais em degeneração e duas células nucelares na região da micrópila bastante aumentadas e, ainda, abaixo delas ou, às vezes, ao lado, os restos dos megásporos degenerados. Nesta fase, todo o óvulo já está revestido pelos tegumentos externo e interno. O desenvolvimento do saco embrionário binucleado continua, cada núcleo caminha para polos opostos, onde dividem-se novamente, às vezes, sincronicamente (Fig.23H). Resulta daí um saco embrionário com quatro núcleos haplóides, com um grande vacúolo entre cada par de núcleos (Fig. 23I). Este estágio é atingido em todos os óvulos de forma idêntica. Seu desenvolvimento toma, em seguida, dois caminhos alternativos, ora formando embriões de origem sexuada ora de origem assexuada.

Embriões de origem sexuada

Em uma minoria de óvulos, ocorrem divisões mitóticas no saco embrionário tetranucleado, resultando 8 núcleos dos quais três são micropilares, três chalazais e dois deles são centrais (Fig.24C), tendo-se observado vários estágios intermediários com 6 e 7 núcleos (Fig.24A e B, respectivamente). Os tubos polínicos podem atingir o saco embrionário através da micrópila (Fig.24C). Nestes tubos polínicos, às ve

zes, observa-se um núcleo germinativo em divisão e o núcleo vegetativo em degeneração. Foram encontrados estágios indicando a fusão de um núcleo masculino com um feminino (Fig. 24D), mas não se observou fertilização dupla. Tudo indica que o núcleo diplóide, resultante da fusão dos núcleos masculino e feminino, em seguida procede até à formação normal do embrião. Tendo em vista que não se podem distinguir as fases finais da outra alternativa da formação de embriões, nada podemos afirmar.

Embriões de origem assexuada

A outra modalidade do desenvolvimento é encontrada na maioria dos óvulos. Nota-se uma atividade de crescimento na região micropilar tanto dos tegumentos quanto das células nucelares micropilares remanescentes. Algumas dessas células possuem maior densidade do conteúdo citoplasmático, o qual é pouco vacuolizado, com núcleos proporcionalmente muito grandes (Fig.25A). Uma dessas células da região micropilar do tegumento interno ou do nucelo, cresce para dentro do saco embrionário e transforma-se, progressivamente, em um prôembrião (Fig.25B). Muito mais raramente o aumento da atividade citoplasmática, o aumento do volume da célula e dos núcleos, ocorrem em células do tegumento, laterais ao saco embrionário (Fig.25C). Após o início do crescimento do prôembrião adventício (Fig.25D), este fica protegido por uma nova membrana embrionária. Finalmente, a célula em crescimento pode ocupar grande espaço do saco embrionário (Fig.25E). Ela se divide em duas células, a chalazal que continua a crescer para dentro do saco embrionário e a micropilar que, embora sofrendo várias divisões nucleares (Fig.25E), degenera-se progressivamente. O prôembrião sofre, então, várias divisões transversais, e resulta em uma fileira de células, típica para os embriões de orquídeas. A fig. 25F representa um prôembrião partindo da região micropilar e a fig.25D outro, partindo de uma célula lateral do tegumento. A partir desta fase, e como já mencionamos acima, não podemos mais distinguir embriões originados por fertilização, dos embriões adventícios. O desenvolvimento do em-

brião segue a marcha normal terminando em um corpo não diferenciado de forma elipsóide e um curto suspensor. Embora tenha sido observada a presença de dois prôembriões dentro de um saco embrionário, nunca observamos a presença de dois embriões completos juntos, devendo-se supor que um deles se degenerou.

Em síntese, torna-se evidente que, na *M. cleistogama*, as fases inicial e final são idênticas às da *M. brasiliensis*, sendo que na fase intermediária em *M. cleistogama*, forma-se um prôembrião diplóide adventício, a partir de uma célula do tegumento ou nucelo e na *M. brasiliensis* ocorre a formação de um prôembrião por automixia, isto é, pela fusão de dois núcleos haplóides do saco embrionário. Na *M. cleistogama* o número de sacos embrionários com desenvolvimento normal e com formação de embriões é muito reduzido e podemos concluir que a maioria das sementes resulta de apomixia por embrionia adventícia.

V. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Da revisão taxonômica das espécies em estudo constatamos que existem no Brasil, cinco espécies de *Maxillaria* de flores menores e pertencentes à secção *Heterotaxis* (Lindl.) Brieg. inclusive uma nova, a *M. brasiliensis* Brieg. et Illg. Destas, foram usadas apenas quatro espécies, ou seja, a *M. villosa* (Barb.Rodr.) Cogn., a *M. discolor* (Lodd.) Rchb.f., a *M. tarumaensis* Hoehne e a *M. brasiliensis*. A quinta espécie brasileira do grupo, ou seja, a *M. superflua* Rchb. f. por estar à nossa disposição apenas um número pequeno de espécimens, não deu margem para estudos mais detalhados. A descrição da espécie nova (ILLG, 1975a), tornou-se necessária devido ao fato de ela ter sido frequentemente confundida com a *M. crassifolia* (Lindl.) Rchb.f. que, ao que tudo indica, é essencialmente de origem centralamericana e se distingue muito bem da nossa espécie brasileira, pelas suas folhas estreitas, flores menores e pelo seu colorido diferente.

As espécies mostram uma distribuição geográfica muito diversa. A *M. brasiliensis* ocorre em todo o litoral brasileiro, desde o sul da Bahia, a 15 graus de latitude sul, até o Rio Grande do Sul, a 30 graus de latitude sul, ou seja, sob uma extensão de aproximadamente 1.800 km, com pequena penetração para o interior. A *M. villosa* ocupa uma área muito maior em toda a Bacia Amazônica, atingindo o Peru e, provavelmente, o Equador e a Colômbia, no Oeste, a Venezuela e as Guianas, no Norte, e Pernambuco no Nordeste do Brasil. A *M. discolor* tem uma dispersão fragmentada, ocorrendo na Venezuela e, provavelmente, no Pará, reaparecendo na região cacau-eira da Bahia e na região de Ubatuba, no Estado de São Paulo. A *M. tarumaensis* é restrita à região do Baixo Amazonas, entre Manaus e Belém do Pará. A *M. superflua* parece ocorrer exclusivamente no Pará.

As conclusões a que se chegou através dos métodos comuns pela taxonomia baseada na morfologia comparativa, foram plenamente confirmadas pelas análises estatísticas. No

que diz respeito à variação intraespecífica, as análises estatísticas mostraram certas diferenças de comportamento. A variação genotípica entre todas as plantas da mesma população sempre é maior do que a variação fenotípica mínima.

Pelos métodos comuns da taxonomia não havia indicação de variações acentuadas dentro de cada espécie mas, a análise estatística detalhada, mostra certa heterogeneidade intraespecífica do material. A variação genotípica entre as plantas de cada população sempre é maior do que a variação fenotípica mínima, exceto à variação dos caracteres florais da *M. discolor*.

Dentro de cada espécie, os efeitos devidos a redução do fluxo gênico entre populações geograficamente distantes, seguiram diferentes modelos. As espécies *M. brasiliensis* e *M. tarumaensis* seguiram o modelo da variação intraespecífica de espécies pouco variáveis, aumentando a variação gradativamente e atingindo assintoticamente o máximo de variação, característico para a espécie.

Em outros casos, como na *M. villosa* e na *M. discolor* observamos um comportamento típico para espécies polimorfas, ou seja, um aumento contínuo da variação com o aumento das distâncias entre as localidades onde foram coletadas.

Assim sendo, podemos concluir que a distância entre localidades e, conseqüentemente, entre populações, a qual reduz o fluxo gênico entre elas, é apenas uma causa do aparecimento de um certo grau de diversificação intraespecífica. O tipo de variação intraespecífica deve ser uma particularidade da constituição genética de cada espécie, uma vez que o aumento da variação ou atinge o máximo ou cresce indefinidamente. Não sabemos qual a natureza dessa diferenciação genética.

Deste modo, tudo indica que as espécies *M. tarumaensis* e *M. brasiliensis* são bastante homogêneas, enquanto a *M. villosa* e a *M. discolor* mostram, com respeito aos seus órgãos vegetativos, um certo polimorfismo.

Estes resultados estão de acordo com as conclusões anteriormente obtidas por BRIEGER (1969b, 1972) que já notou estes dois tipos de comportamento, ou seja, algumas espécies possuem variação total restrita, com um valor máximo para ca

da espécie, e outras, de natureza polimorfa, não apresentam aquele valor máximo.

A respeito do modo de reprodução das quatro espécies acima mencionadas, notamos diferenças no comportamento quanto à formação de frutos com sementes na *M. brasiliensis*.

Assim, para permitir comparações, foi incluída a *M. cleistogama*, representante de outro grupo do gênero *Maxillaria*, a qual mostrou anomalias de reprodução aparentemente análogas à *M. brasiliensis*. Na análise estatística a *M. cleistogama* mostrou um comportamento bastante diferente daquele já descrito para as outras espécies, pois, ela possui um extremo grau de homogeneidade genética. Na comparação de plantas, tanto dentro de populações quanto entre as populações, demonstrou-se a ausência de componentes genotípicos, sendo toda a variabilidade limitada ao componente fenotípico. Uma situação semelhante apenas foi observada com respeito aos caracteres florais da *M. discolor*.

Em síntese, temos três tipos de comportamento de variação intraespecífica:

- a) ausência de variação genotípica, o que é bastante raro;
- b) existência de variação genotípica e o seu aumento até um máximo que é típico para cada espécie;
- c) um aumento indefinido na variação, para espécies polimorfas.

A explicação para o tipo a, ou seja, ausência de variação genotípica, foi encontrada pela análise embriológica a qual demonstrou que a quase totalidade de embriões produzidos, são originados de células diplóides do tegumento. Portanto, esta espécie pode ser comparada a um clone extremamente uniforme.

As demais espécies com um processo reprodutivo sexual normal, ou seja, ocorrência de meiose com a subsequente segregação mendeliana de genes e fusão de núcleos haplóides, a qual permite a sua recombinação, também possuem um componente da variação genotípica.

Conforme já mencionamos acima, não sabemos qual quer detalhe sobre a base genética das diferenças entre es-

pécies com variação genotípica restrita ao máximo, das espécies que são polimorfas, as quais possuem um aumento indefinido da variação genotípica. No que diz respeito às diferenças entre as espécies, pudemos constatar que elas são muito bem definidas pelos seus caracteres, nunca tendo surgido dúvidas na classificação dos indivíduos. Todavia, para uma melhor avaliação do grau de diversificação, contrastando variação inter e intraespecífica, foi executado um teste *t* de STUDENT. Para a variação interespecífica, foi constatado que, de fato, ela é sempre significativamente maior do que a variação máxima intraespecífica, isto é, a variação entre localidades e entre regiões.

Em vista das diferenças de comportamento estatístico, por um lado a grande constância de variação dentro da *M. cleistogama* e, por outro, o aumento na variação intraespecífica nas demais espécies e, considerando o fato de que na *M. cleistogama* e na *M. brasiliensis* praticamente todas as flores transformam-se em frutos contendo embriões viáveis, foi feita uma análise histológica e embriológica destas duas espécies.

Na *M. brasiliensis* apenas algumas flores possuem cabo floral fino e alongado com flores bem abertas e alaranjadas, conforme já foi descrito por ILLG (1975a). A maioria das flores não se abrem completamente, nem adquirem coloração alaranjada permanecendo verdes, às vezes, levemente amareladas, tendo o seu ovário fortemente entumescido. Assim, pensou-se, inicialmente, tratar-se de uma espécie cleistogama mas, as observações supra relatadas, demonstraram que quando o ovário se desenvolve, sempre se encontram tubos polínicos em germinação, os quais devem ser provenientes de polínias de outra flor, pois, as polínias da própria flor, na maioria dos casos, estão completamente intactas. Este fato permite concluir que as flores realmente não são cleistogamas, devendo estar numa fase muito precoce, o suficientemente abertas para atrair algum inseto polinizador, o qual não conseguimos identificar.

Por outro lado, a análise estatística não mostrou diferenças no comportamento dos caracteres entre a *M. brasiliensis* e as outras espécies que dependem, normalmente, de

uma polinização. A análise embriológica demonstrou que, de fato, não ocorre fertilização. A formação do saco embrionário segue, inicialmente, a marcha normal, ocorrendo meiose e produzindo núcleos haplóides mas, em seguida, dois destes núcleos haplóides se fusionam dando origem a um embrião diplóide. Desta forma, esta espécie produz seus embriões por processo de estrita automixia entre células haplóides femininas. Assim, havendo meiose normal e fusão de células haplóides e, no caso de uma planta ser heterozigota, existem todas as possibilidades de recombinações gênicas. Devemos, portanto, considerar esta espécie como uma espécie autogama embora não de forma absoluta porque formam-se algumas flores que se abrem normalmente, podendo sofrer polinização alógama. De qualquer modo, isto explica que o tipo de variação genética constatada na análise estatística é do mesmo tipo que a variação das espécies normalmente alógamas, a exemplo da *M. villosa* e da *M. tarumaensis*.

Na *M. cleistogama*, por outro lado, a grande maioria das flores é cleistogama e, via de regra, os seus embriões formam-se por embrionia adventícia, partindo de células do nucelo ou do tegumento, de modo que, o conjunto de descendentes representa um clone. A ausência do mecanismo de meiose e fertilização no processo de formação de embriões, pode explicar a ausência de uma acentuada variação genotípica, pois, falta a possibilidade de segregação e recombinação de genes mas, dificilmente poderia explicar a total ausência de uma variação genotípica. Todavia, devemos lembrar que o método de análise estatística não pôde dar resultados absolutamente concludentes. Apenas foi comprovado que não existe, nesta espécie, nem um acentuado aumento da variação genotípica sobre a variação fenotípica dentro das populações, nem um aumento do componente da variação genotípica em função do aumento da distância geográfica entre as populações. Todavia, não se pode excluir a ausência total de qualquer variação genotípica, a qual poderia ser tão pequena que a sensibilidade do método estatístico e o número da amostra disponível não pudessem ser suficientes para acusá-la. Neste caso, além de tratar-se de uma reprodução clonal, a *M. cleistogama* mostra uma certa analogia com outras

espécies que também possuem uma distribuição geográfica sobre uma área extremamente ampla. Espécies deste tipo são conhecidas pelos taxônomos sem que se possa distinguir qualquer diferenciação quanto à variação geográfica. É o caso, por exemplo, das espécies *Hormidium tripterum* Lindl. e *Epidendrum rigidum* Jacq., ambas ocorrendo desde o México e a Flórida, no Norte, até o Sul do Brasil. Deve-se supor que a *M. cleistogama*, independentemente do seu modo de reprodução, possui uma extrema homogeneidade genética para os caracteres morfológicos, combinada a uma grande adaptabilidade homeostática, sob as condições ecológicas climáticas mais variáveis. A grande homogeneidade da *M. cleistogama* deve ser atribuída, em parte, ao seu modo de reprodução e, em parte, a particularidades de uma situação genética encontrada também em outras espécies para as quais não temos nenhum indício quanto ao seu processo reprodutivo.

VI. RESUMO

Neste trabalho é utilizado um método relativamente novo para analisar a variação intraespecífica em cinco espécies do gênero *Maxillaria* (Orchidaceae), quatro das quais pertencentes à seção *Heterotaxis* (Lindl.) Brieg. e uma pertencente ao grupo da *M. rufescens* Lindl.

A análise estatística mostrou três padrões de variação intraespecífica:

- a) espécies com ausência de variação genotípica, tanto dentro de populações quanto entre populações geograficamente separadas, o que é bastante raro;
- b) espécies que apresentam uma variação genotípica de acordo com o aumento da distância geográfica, até um máximo, característico para cada espécie. É o comportamento típico para espécies não polimorfas;
- c) espécies com um aumento indefinido na variação, decorrente do aumento da separação geográfica, sem existir um limite máximo. Este comportamento é típico para as espécies polimorfas.

O comportamento de espécies do grupo b, corresponde ao esperado, o mesmo ocorrendo com as espécies do grupo c, como resultado do próprio polimorfismo. O comportamento do grupo a, todavia, foi inesperado e exigiu uma melhor análise do processo de formação de embriões.

Com o objetivo de estudar a causa da ausência total de variabilidade encontrada no tipo a, foi feita uma análise da gametogênese e embriogênese da espécie que apresentou este padrão, ou seja, da *M. cleistogama* Brieg. et Illg. Verificou-se que, sob condições de ripado, quase todas as flores são cleistogamas e produzem sementes com embrião. Pela análise histológica do desenvolvimento dos óvulos, constatamos que o saco embrionário chega a formar-se mas, a maior parte dos embriões são adventícios, isto é, aparecem como resultado do desenvolvimento de uma célula do tegumento ou do nucelo. Trata-se, portanto, de um desenvolvimento clonal, o que pode explicar a ausência de variação.

Foi efetuado, ainda, o estudo da gametogênese e embriogênese em outra espécie, cujo padrão de comportamento

é o do tipo b, comum, portanto, à maioria das espécies mas que também mostrou anomalias na sua reprodução. Trata-se da *M. brasiliensis* Brieg. et Illg que, sob condições de rirpado, também forma grande quantidade de cápsulas contendo sementes com embriões normais. Observou-se que estas cápsulas são provenientes de flores que não chegam a se abrir completamente, passando diretamente à pós-floração. A cavidade estigmática dessas flores, no entanto, sempre está repleta de grãos de pólen em germinação, os quais, provavelmente, devem ter sido trazidos por algum inseto de outra flor, pois, as polínias da própria flor, na maioria das vezes, estão intactas. Os tubos polínicos, contudo, não penetram na cavidade ovariana, portanto, não ocorre a fertilização. A análise histológica mostrou que os óvulos sofrem meiose normal, chegando a formar um saco embrionário. Em determinado estágio porém, ocorre a fusão de dois núcleos femininos haplóides do saco embrionário, reconstituindo um núcleo diplóide que dá origem a um embrião. Apesar de ser um tipo de partenogênese, há segregação meiótica e posterior recombinação, o que explica o comportamento dessa espécie ser semelhante ao de espécies com fertilização cruzada.

Este fenômeno é conhecido pela denominação de automixia e, embora já conhecido em outras famílias, foi descrito pela primeira vez na família Orchidaceae.

Além da variação intraespecífica das espécies mencionadas, foi feita, também, uma análise das diferenças entre as espécies. Foi aplicado o teste t de STUDENT que não apenas deu resultados altamente significativos, como também representou medidas de variação sempre superiores ao máximo da variação intraespecífica constatada. Assim, a separação das espécies também está estatisticamente confirmada.

Não sendo conhecidos quaisquer híbridos naturais entre as espécies apesar de sobreporem-se, em certas localidades, foi feito um rápido estudo dos mecanismos de isolamento reprodutivo evidentemente existentes. Ao analisarmos a produção de sementes provenientes de cruzamentos intraespecíficos encontramos em diferentes graus, a existên-

cia de uma certa autoesterilidade, apesar de sempre haver fertilidade nestes cruzamentos. Nos cruzamentos interespecificos constatamos que não existe qualquer barreira contra cruzamentos, apesar de haver certa redução na fertilidade com determinadas espécies quando doadoras de pólen e em outras quando receptoras.

Desta forma deve-se concluir que a barreira de isolamento é formada pelo mecanismo de polinização, não só devido a diferenças na época de florescimento, como também pela escolha específica por parte dos insetos polinizadores.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- AFZELIUS, K. Die Embryobildung bei *Nigritella nigra*.
Svensk.Bot.Tidskr., 22: 82-91, 1928.
- AFZELIUS, K. Zur Kenntnis der Fortpflanzungsverhältnisse
und Chromosomenzahlen bei *Nigritella nigra*. Svensk.
Bot.Tidskr., 30: 572-579, 1932.
- BRIEGER, F.G. Limites unilaterais e bilaterais na análise
estatística. Bragantia, 6(10): 479-545, 1946.
- BRIEGER, F.G. On the methodology of numerical taxonomy.
Ciência e Cultura, 21(1): 736-748, 1969a.
- BRIEGER, F.G. Patterns of evolutionary and geographical
distribution in neotropical orchids. Biol.Journ.Linn.
Soc., 1: 197-217, 1969b.
- BRIEGER, F.G. I. Botanische Grundlagen der Orchideenforschung
"In" BRIEGER, F.G.; MAATSCH, R. und SENGHAS, K. Die
Orchideen, Verlag Paul Parey, Berlin, 1971a.
- BRIEGER, F.G. II. Taxonomischer Teil "In" BRIEGER, F.G.,
MAATSCH, R. und SENGHAS, K. Die Orchideen, Verlag Paul
Parey, Berlin, 1971b.
- BRIEGER, F.G. Phylogenetic evolution and phytogeographic
variation. I Cong. Lat. Am. Bot., México, 1972. (no prelo).
- BRIEGER, F.G. & ILLG, R.D. O grupo Heterotaxis do gênero
Maxillaria Ruiz et Pavón (Orchidaceae). XXIII Cong. Nac.

* As abreviaturas dos periódicos foram feitas de acordo com
"World List of Scientific Periodicals, 1963" e a normali-
zação bibliográfica segue as recomendações da Associação
Brasileira de Normas Técnicas (A.B.N.T.).

Bot. Garanhuns, Pe, 93-98, 1972.

- DARWIN, C. The different forms of flowers on plants of the same species. Murray, London, 1877. (Apud UPHOF, J.C.T. 1938, op.cit.).
- DOBZHANSKY, T. Genetics and the origin of species. New York, Columbia University Press, 3a.ed., 1969.
- FORBES, H.D. On the contrivances for ensuring self-fertilization in some tropical orchids. Jour.Linn.Soc., 21: 538-550, 1884.
- FORBES, H.D. A naturalist's wanderings in the eastern archipelago, 1885 (Apud UPHOF, J.C.T., 1938, op.cit.).
- GUSTAFSSON, A. Apomixis in higher plants. I. The mechanism of apomixis. Lunds.Univ.Årsskr.N.F.Avd. II, 42(3): 1-67, 1946.
- GUSTAFSSON, A. Apomixis in higher plants. II. The causal aspect of apomixis. Lunds. Univ.Årsskr.N.F.Avd., II, 43(2): 71-179, 1947a.
- GUSTAFSSON, A. Apomixis in higher plants. III. Biotype and species formation. Lunds.Univ.Årsskr.N.F.Avd., II, 43(12): 183-370, 1947b.
- HAGERUP, O. On fertilization, polyploidy and haploidy in *Orchis maculatus* L. Dansk.Bot.Arkiv., 11(5): 1-26, 1944.
- HAGERUP, O. Facultative parthenogenesis and haploidy in *Epipactis latifolia*. Kgl.Danske Vidensk.Selsk., Biol.Medd., 19(11): 1-14, 1945.
- HAGERUP, O. The spontaneous formation of haploid, polyploid and aneuploid embryos in some orchids. Kgl.Danske Vidensk.Selsk., Biol.Medd., 20(9): 1-22, 1947.

- HOFFMANN, M. Florae Altdorffinae deliciae hortenses, 1660.
(Apud UPHOF, J.C.T., 1938, op.cit.).
- ILLG, R.D. *Maxillaria brasiliensis* Brieg. et Ilig, uma espécie nova de orquídeas da secção Heterotaxis. XXVI Cong. Nac. Bot., Rio de Janeiro, GB, 1975a. (no prelo).
- ILLG, R.D. *Maxillaria cleistogama* Brieg. et Ilig, uma espécie nova de orquídeas do grupo *M. rufescens* Lindl. XXVI Cong. Nac. Bot., Rio de Janeiro, GB, 1975b. (no prelo).
- JOHANSEN, D.A. Plant Microtechnique, New York, Mc Graw-Hill Book Co., 1940.
- KIRCHNER, O. von Über-selbstbestäubung bei der Orchideen. Allg. Bot. Zeit., 115: 103-129, 1922.
- KUHN, M. Einige Bemerkungen über *Vandellia* und den Blüten-dimorphismus. Bot. Zeitung, 25: 65-67, 1867.
- LENZ, L.W. & WIMBER, D.E. Hybridization and inheritance in orchids. "In" WITHNER, C.L. The Orchids, pp. 261-314, 1959.
- MAHESHWARI, P. An introduction to the embryology of angiosperms. New York, Mc Graw-Hill Book Co., 1950.
- MAYR, E. Animal species and evolution. Cambridge, Harvard University Press, 1963.
- MOORE, S. Bud-fertilization in orchids. Jour. Bot., 15: 57, 1877.
- NYGREN, A. Apomixis in the angiosperms. In: Sexualität, Fortpflanzung, Generationswechsel. Handbuch der Pflanzenphysiologie, vol. XVIII, Berlin, Springer-Verlag, 1967.
- REICHENBACH filius, H.G. Bud-fertilization in orchids.

Jour.Bot., 15: 85, 1877.

RIDLEY, H.H. Notes on self-fertilization and cleistogamy in orchids. Jour.Linn.Soc., 24: 389-395, 1888.

ROSENBERG, O. Apogamie und Parthenogenesis bei Pflanzen. Hand. der Vererb.Wiss, Lieferung, 12: 1-66, 1930.

SCHLECHTER, R. Die Orchidaceen von Deutsch - New Guinea. Rep.Spec.Nov.Reg.Veg.Beih., 50: 50-51, 1914.

SMITH, J. Notice of a plant which produces seeds without any apparent action of pollen. Transactions of the Linn. Soc.London 18 (Meeting of June 18th, 1839), 1841. (Apud GUSTAFFSON, A., 1947b, op.cit.).

SMITH, J.J. Zelfbevruchting bij Orchideen. Natuurk Tijdsch. Ned.Indië, 88: 122-140, 1928.

SMITH, J.J. Autogamy in Orchidaceae. Orchid Review, 37: 75-78, 1929.

SMITH, J.J. Die Orchideen von Amboina, 1905 (Apud UPHOF, J. C.T., 1938, op.cit.).

SNEATH, P.H.A. & SOKAL, R.R. Numerical Taxonomy; the Principles and Practice of Numerical Classification. San Francisco, Freeman & Co., 1973.

SNEDECOR, G.W. Statistical Methods. Iowa, Iowa State College Press, 5a.ed., 1956.

SOKAL, R.R. & SNEATH, P.H.A. Principles of Numerical Taxonomy. London, Reeman Co., 1963.

STEBBINS, G.L.Jr. Apomixis in the angiosperms. Bot.Review, 7(10): 507-543, 1941.

STORT, M.N.S. Estudos em híbridos F_1 artificiais de orquídeas

- (Orchidaceae) com vistas à esterilidade. Tese de Douto-
ramento , U.S.P., Piracicaba, SP, 1970.
- SUESSENGUTH, K. "Über Pseudogamie bei *Zygopetalum mackayi*
Hook. Ber.Deutsch .Bot.Ges., 41: 16-23, 1923.
- SWAMY, B.G.L. The development of the male gametes in *Cym-*
bidium bicolor Lindl. Proc.Indian Acad.Sci.Sect. B, 14:
454-460, 1941.
- SWAMY, B.G.L. Female gametophyte and embryogeny in *Cymbi-*
dium bicolor Lindl. Proc.Indian Acad.Sci.Sect. B, 15:
194-201, 1942.
- SWAMY, B.G.L. Gametogenesis and embryogeny of *Eulophea epi-*
dendraea Fischer. Proc.Nat.Inst.Sci.India, 9: 59-65,
1943.
- SWAMY, B.G.L. The embryology of *Zeuxine sulcata* Lindl.
New Phytol., 45: 132-136, 1946.
- SWAMY, B.G.L. Agamospermy in *Spiranthes cernua*. Lloydia,
2(3): 149-162, 1948.
- SWAMY, B.G.L. Embryological studies in the Orchidaceae. II.
Embryogeny. Am.Midland Nat., 41(1): 202-232, 1949.
- "
TAKHOLM, G. Zytologische Studien über die Gattung *Rosa*.
Acta Horti.Berg., 7(3): 97-381, 1922.
- THOMAS, P.T. Reproductive versatility in *Rubus*. II. The
chromosomes and development. Jour.Genet., 40: 119-128,
1940.
- UPHOF, J.C.T. Cleistogamic flowers. Bot.Review, 4: 21-49,
1938.
- "
WINKLER, H. Über Parthenogenesis und Apogamie in Pflanzen-
reiche. Progr. rei Bot., 2: 293-454, 1908.

WINKLER, H. Verbreitung und Ursache der Parthenogenesis in Pflanzen und Tierreich. Jena, 1920. 166p.

WINKLER, H. Fortpflanzung der Gewächse. 7. Apomixis.-
Handwörterbuch d. Naturwiss: Zweite Auflage Jena, Bd.
IV: 451-461, 1934.

VIII. ÍNDICE DAS FIGURAS

- Figura 1 - *Maxillaria crassifolia* (Lindl.) Rchb. f., aspecto da planta.
- Figura 2 - *M. brasiliensis* Brieg. et Illg, aspecto da planta.
- Figura 3 - *M. brasiliensis* Brieg. et Illg, aspecto de uma flor normal.
- Figura 4 - *M. brasiliensis* Brieg. et Illg, aspecto de uma flor que passa diretamente da fase de botão para a pós-floração.
- Figura 5 - *M. crassifolia*(Lindl.)Rchb.f., aspecto da flor.
- Figura 6 - *M. villosa*(Barb.Rodr.) Cogn., aspecto da planta.
- Figura 7 - *M. villosa*(Barb.Rodr.) Cogn., aspecto da flor.
- Figura 8 - *M. discolor*(Lodd.) Rchb.f., aspecto da planta.
- Figura 9 - *M. discolor*(Lodd.) Rchb.f., aspecto da flor.
- Figura 10 - *M. tarumaensis* Hoehne, aspecto da planta.
- Figura 11 - *M. tarumaensis* Hoehne, aspecto da flor.
- Figura 12 - *M. cleistogama* Brieg. et Illg, aspecto da planta
- Figura 13 - *M. cleistogama* Brieg. et Illg, aspecto de uma flor que se abre normalmente.
- Figura 14 - *M. cleistogama* Brieg. et Illg, desenvolvimento de uma flor cleistogama.
- Figura 15 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F) e os 6 caracteres vegetativos (V), analisados na *M. brasiliensis* Brieg. et Illg.
- Figura 16 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F) e os 6 caracteres vegetativos (V), analisados na *M. tarumaensis* Hoehne.
- Figura 17 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F) e os 6 caracteres vegetativos (V), analisados na *M. discolor* (Lodd.) Rchb. f.

- Figura 18 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F) e os 6 caracteres vegetativos (V), analisados na *M. villosa* (Barb. Rodr.) Cogn.
- Figura 19 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F), analisados na *M. cleistogama* Brieg. et Illg.
- Figura 20 - Formação do saco embrionário na *M. brasiliensis* Brieg. et Illg.
- Figura 21 - Formação do saco embrionário na *M. brasiliensis* Brieg. et Illg.
- Figura 22 - Início da formação do embrião e embrião completo na *M. brasiliensis* Brieg. et Illg.
- Figura 23 - Formação do saco embrionário na *M. cleistogama* Brieg. et Illg.
- Figura 24 - Formação do saco embrionário na *M. cleistogama* Brieg. et Illg.
- Figura 25 - Formação do saco embrionário e embrião adventício na *M. cleistogama* Brieg. et Illg.



Fig.1 - *Maxillaria crassifolia* (Lindl.) Rehb. f.,
aspecto da planta.



Fig.2 - *M.brasiliensis* Brieg. et Illg, aspecto da
planta.

Fig. 4 - *M. brasiliensis* Brleg. et Illg., aspecto de uma flor que passa diretamente da fase de botão para a pós-floração.

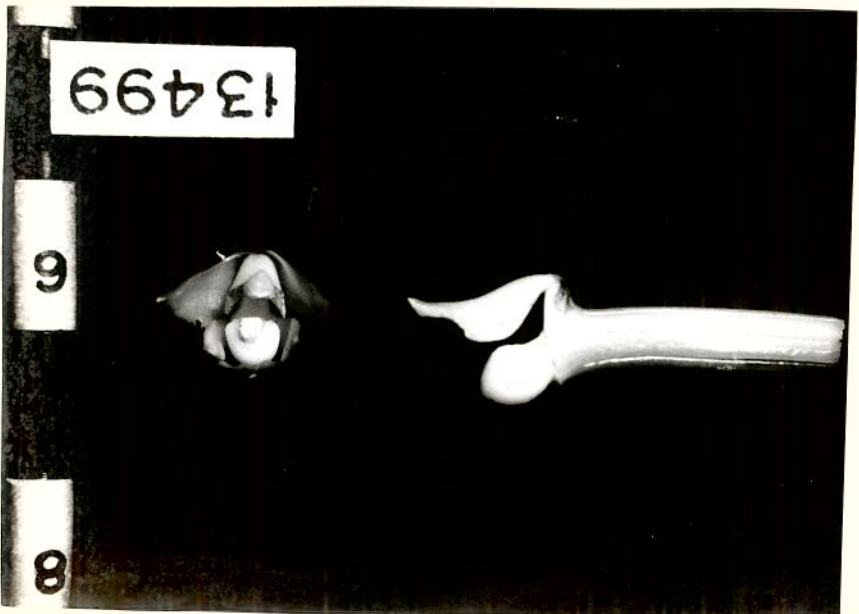


Fig. 3 - *M. brasiliensis* Brleg. et Illg., aspecto de uma flor normal.



Fig.5 - *M. crassifolia* (Lindl.) Rchb. f.,
aspecto da flor.



Fig.6 - *M.villosa* (Barb.Rodr.) Cogn.,
aspecto da planta.



Fig.7 - *M.villosa* (Barb.Rodr.) Cogn.,
aspecto da flor.



Fig. 8 - *M. discolor* (Lodd.) Rchb. f.,
aspecto da planta.



Fig. 9 - *M. discolor* (Lodd.) Rchb. f.,
aspecto da flor.



Fig.10 - *M. tarumaensis* Hoehne,
aspecto da planta.



Fig.11 - *M. tarumaensis* Hoehne,
aspecto da flor.



Fig.12 - *M. cleistogama* Brieg. et Illg.,
aspecto da planta.



Fig.13 - *M. cleistogama* Brieg. et Illg.,
aspecto de uma flor que se abre normalmente.

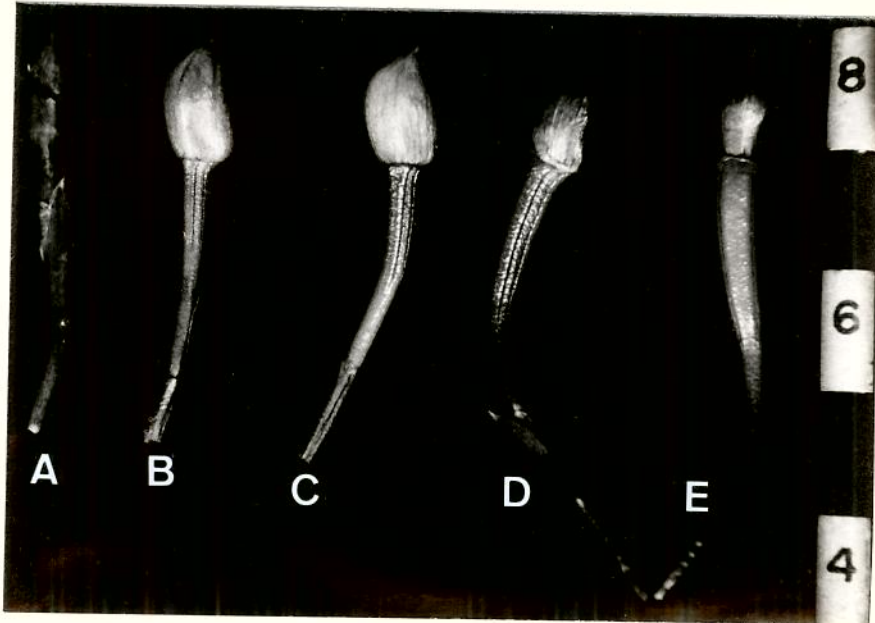


Fig.14 - *Maxillaria cleistogama* Brieg. et Illg.,
desenvolvimento de uma flor cleistoga-
ma.

A-Botão floral; B e C-Flores cleistogamas; D-
Pós-floração (as sépalas e pétalas continuam fe-
chadas em volta da coluna, os grãos de pólen ger-
minam para a cavidade estigmática da própria
flor); E-Cápsula em desenvolvimento.

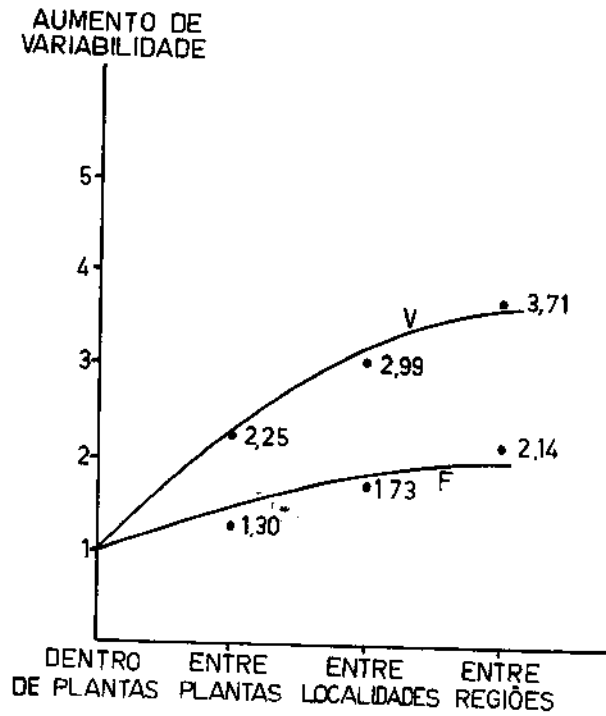


Fig. 15 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F) e os 6 caracteres vegetativos (V), analisados na *M. brasiliensis* Brieg. et Illg.

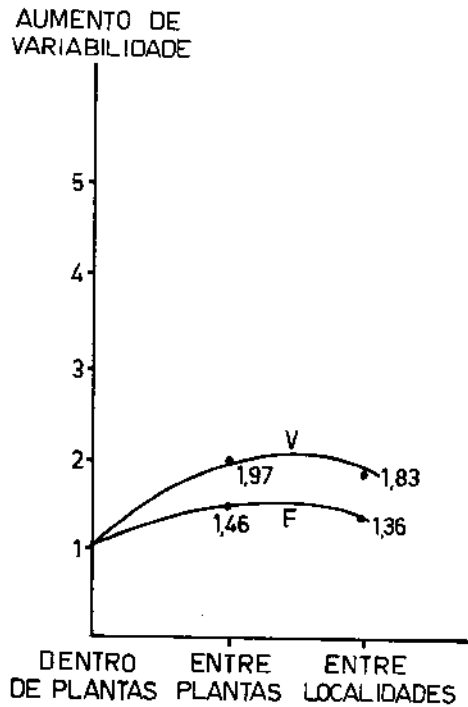


Fig. 16 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F) e os 6 caracteres vegetativos (V), analisados na *M. tarumaensis* Hoehne.

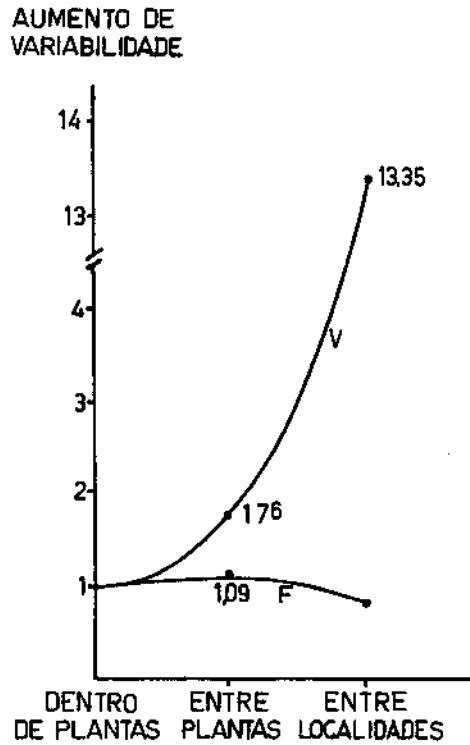


Fig.17 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F) e os 6 caracteres vegetativos (V), analisados na *M. discolor* (Lodd.) Rchb. f.

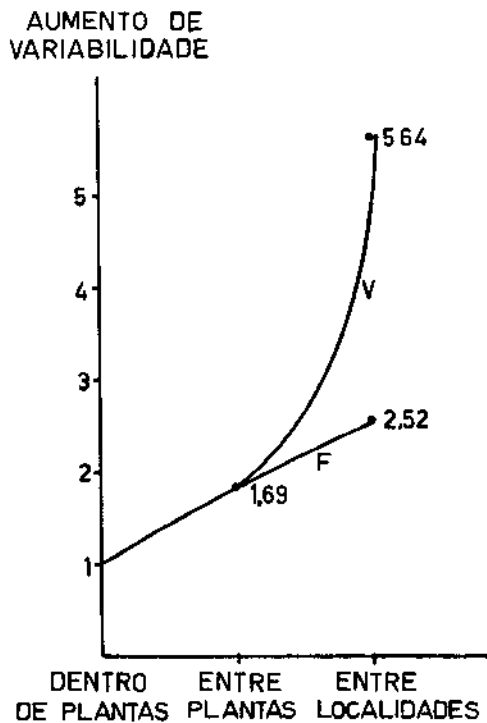


Fig.18 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F) e os 6 caracteres vegetativos (V), analisados na *M. villosa* (Barb.Rodr.) Cogn.

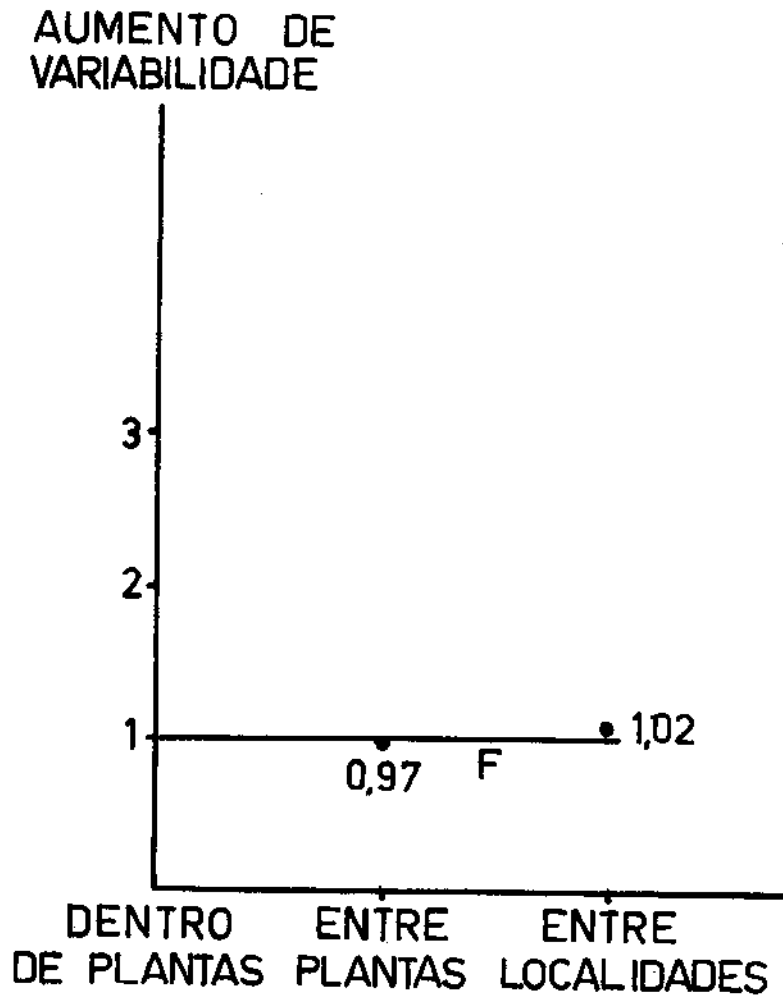
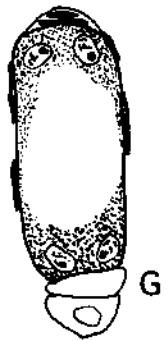
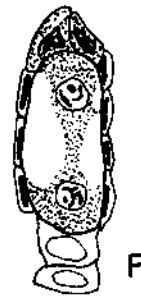
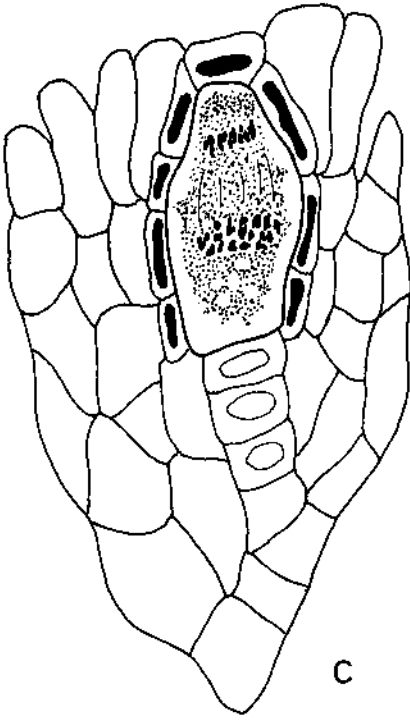
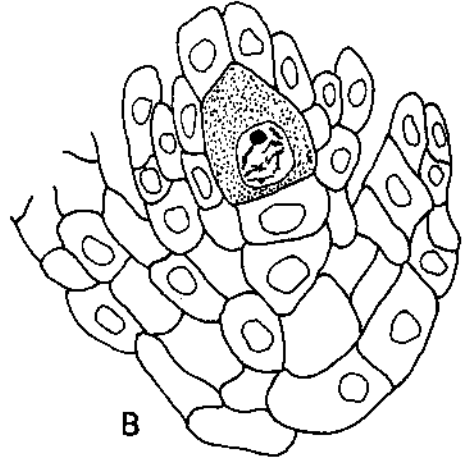
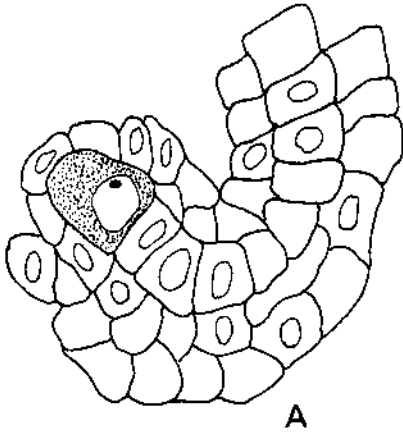
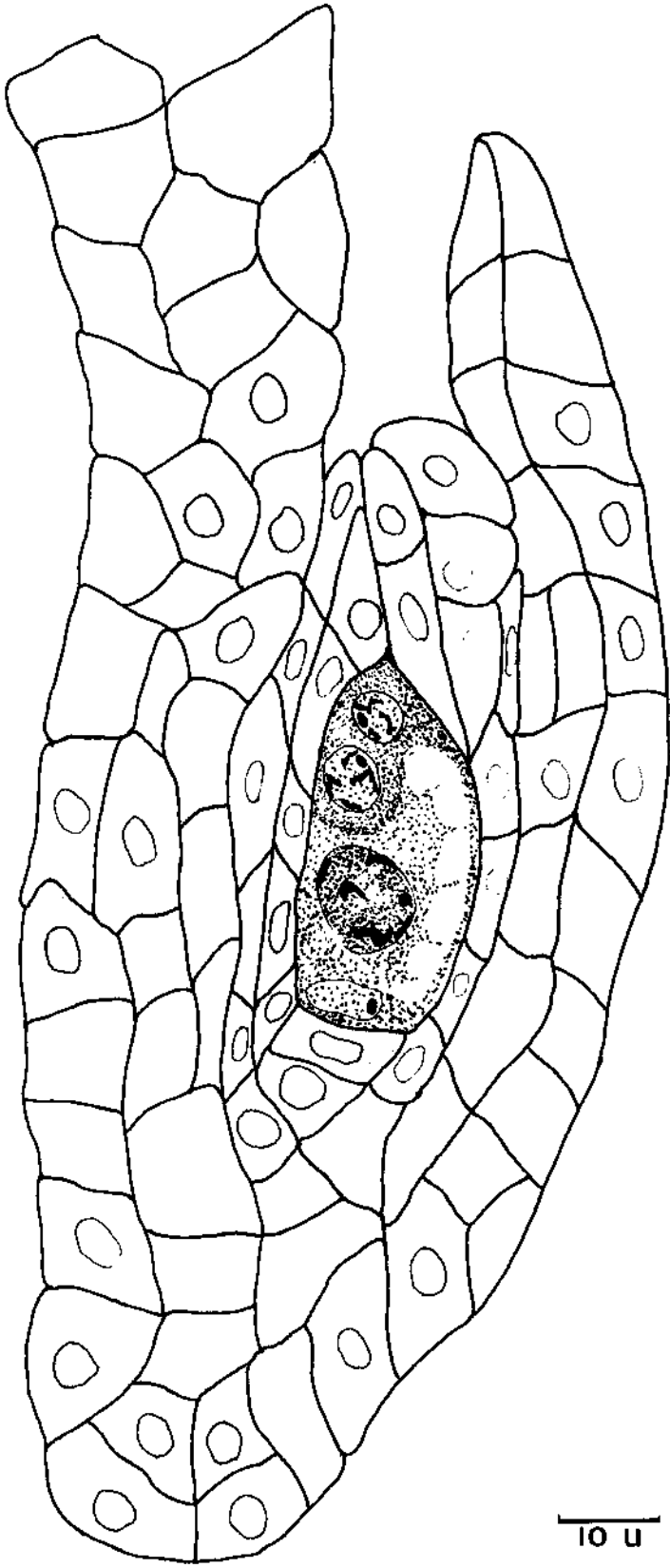


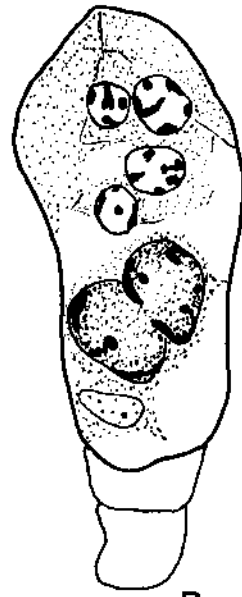
Fig.19 - Representação gráfica referente ao tipo de variação para os 8 caracteres florais (F), analisados na *M. cleistogama* Brieg. et Illg.



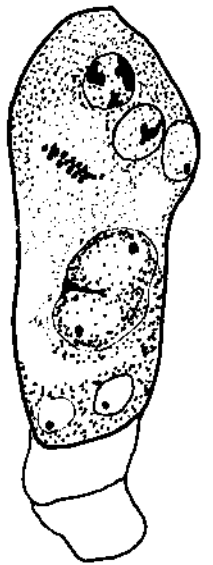
10 u



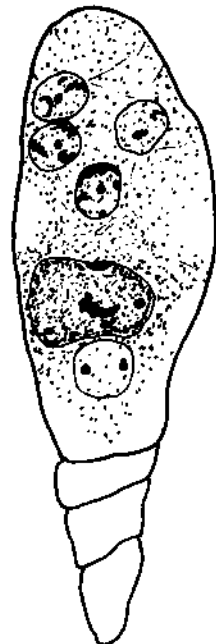
A



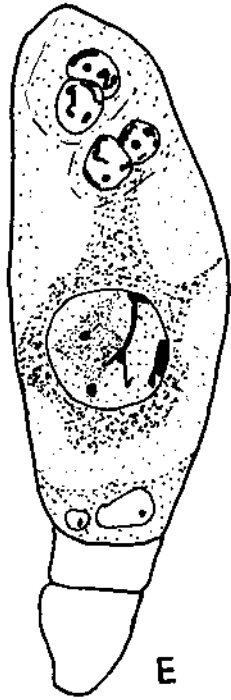
B



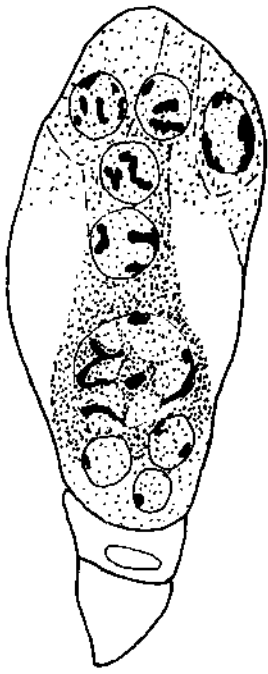
C



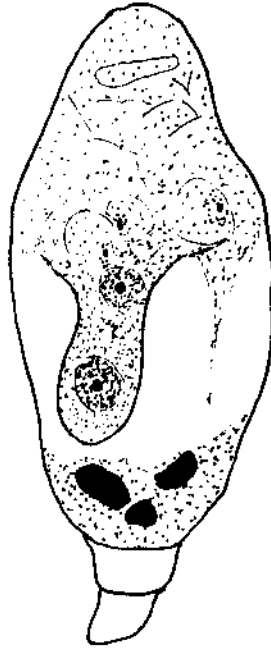
D



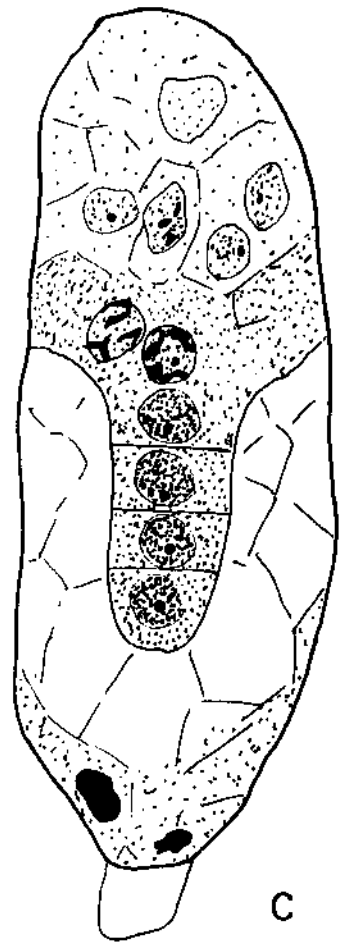
E



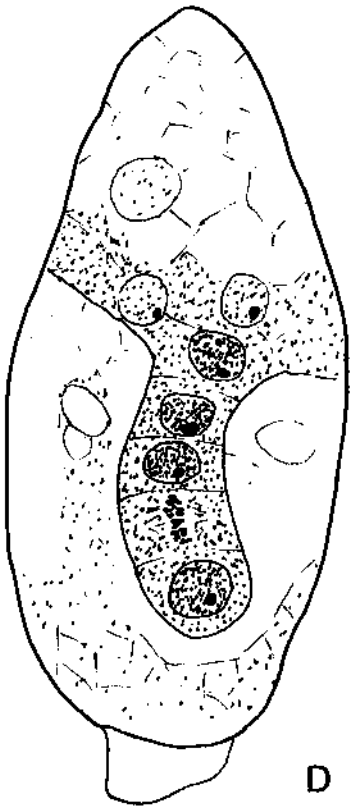
A



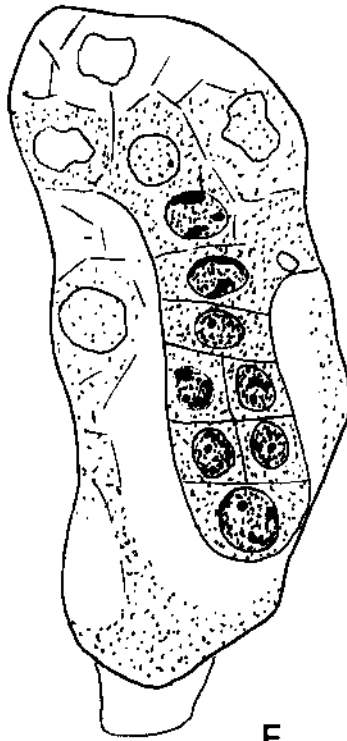
B



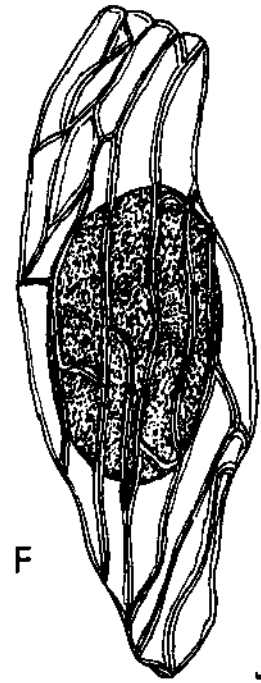
C



D



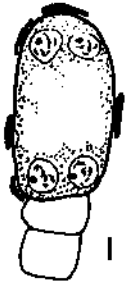
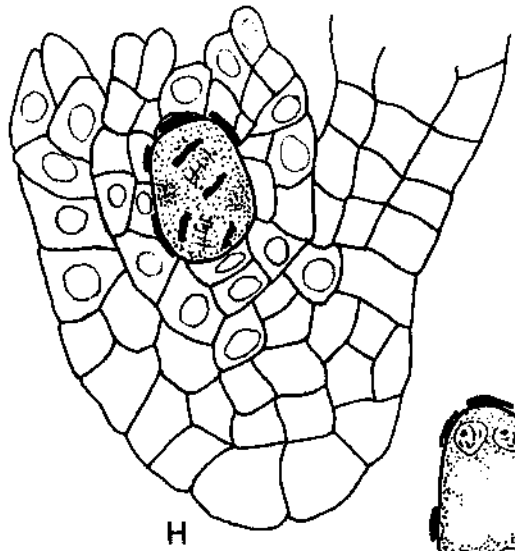
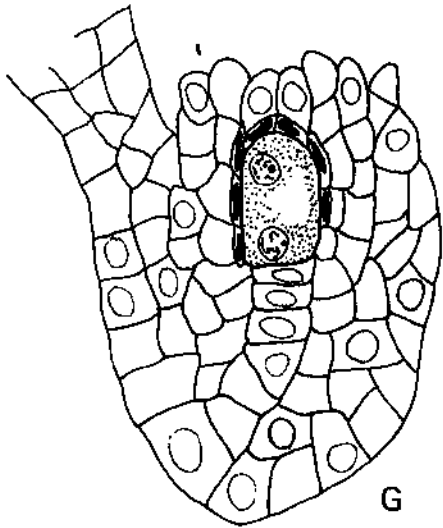
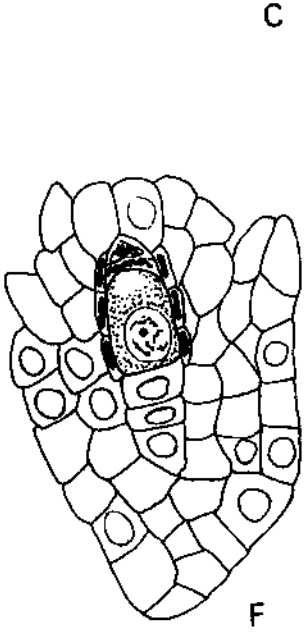
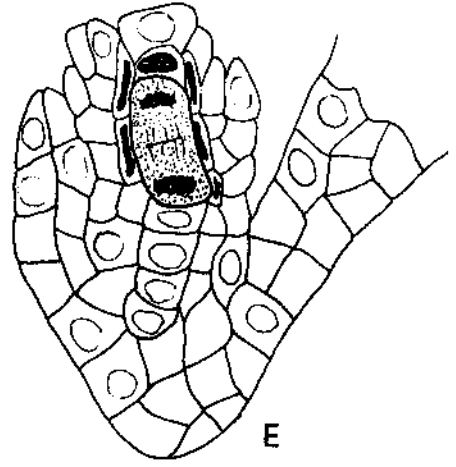
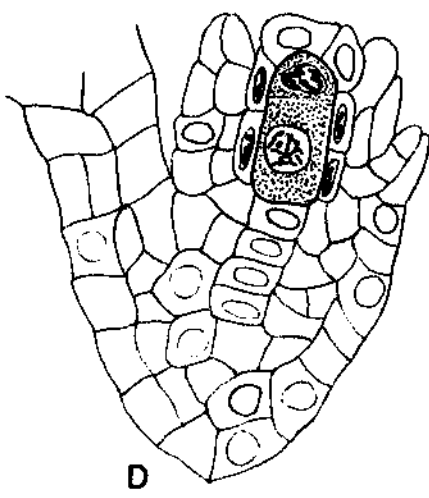
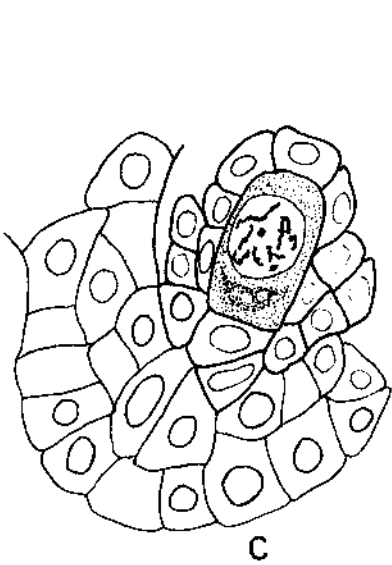
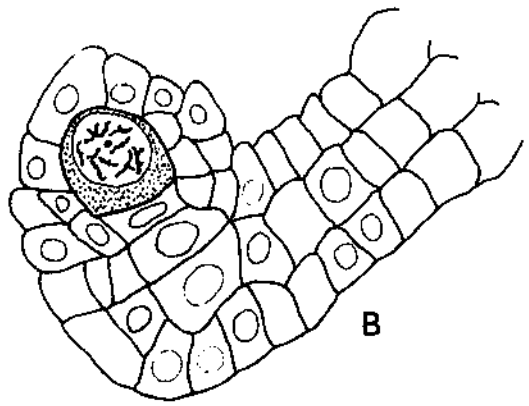
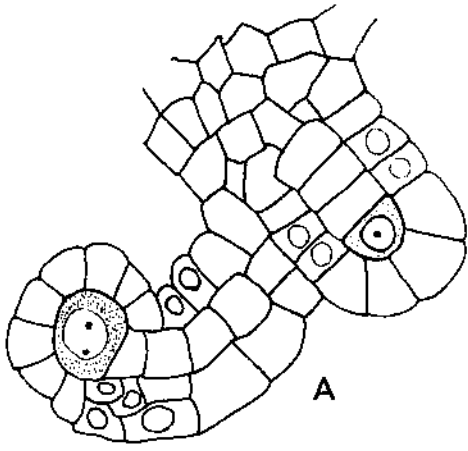
E



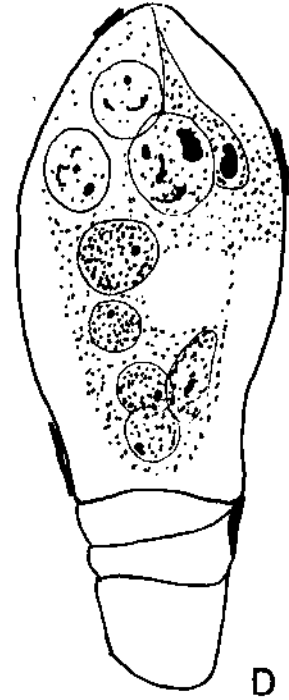
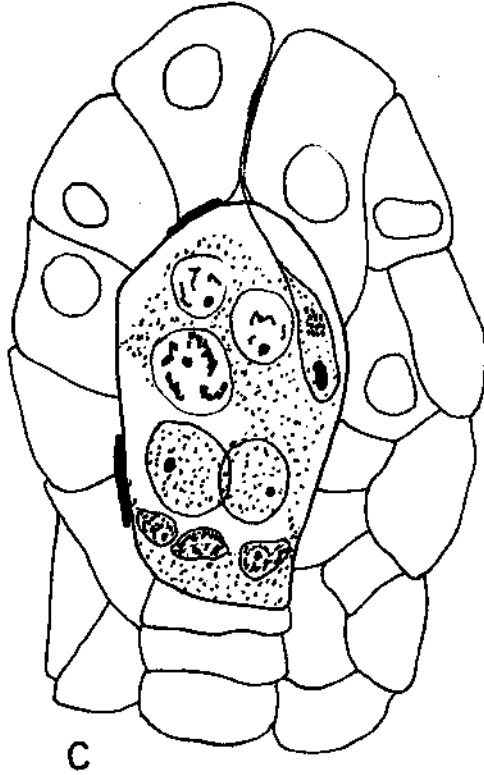
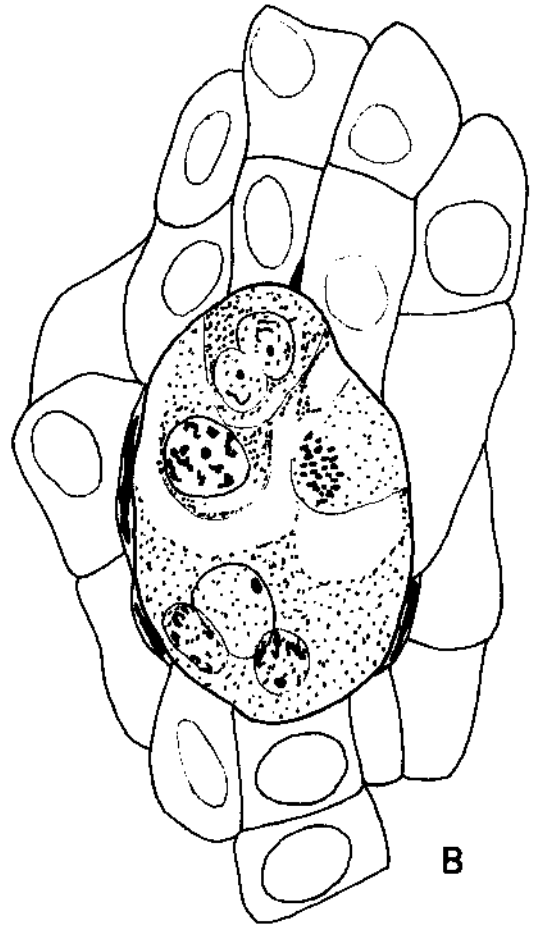
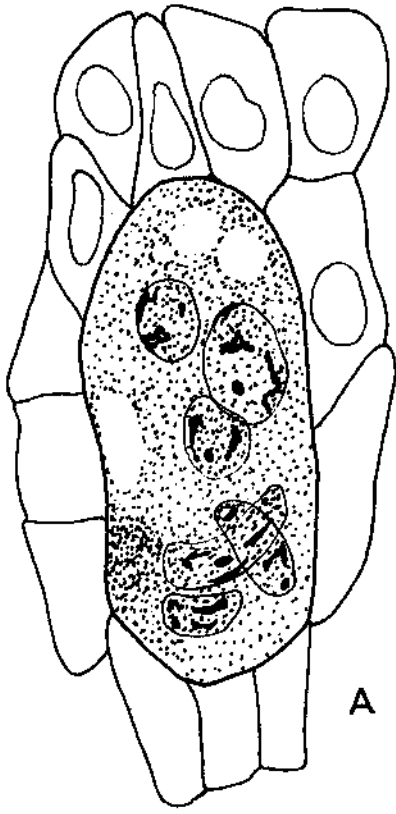
F

10 u

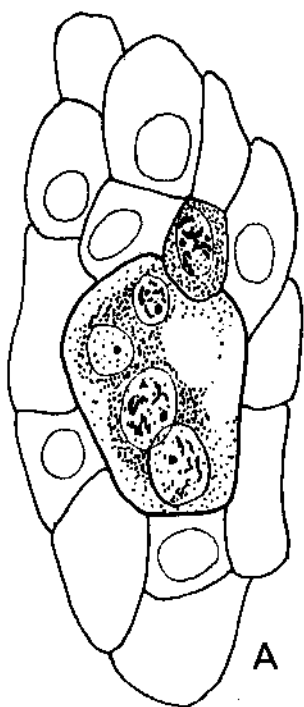
20 u



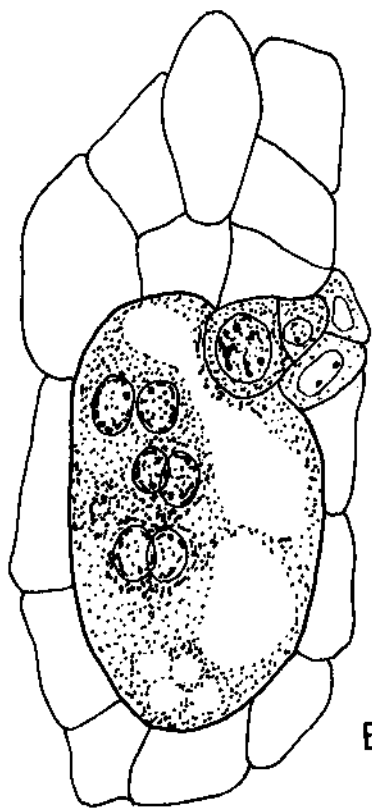
10 μ



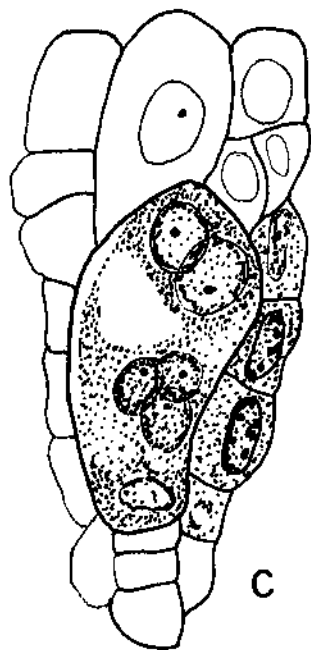
10 μ



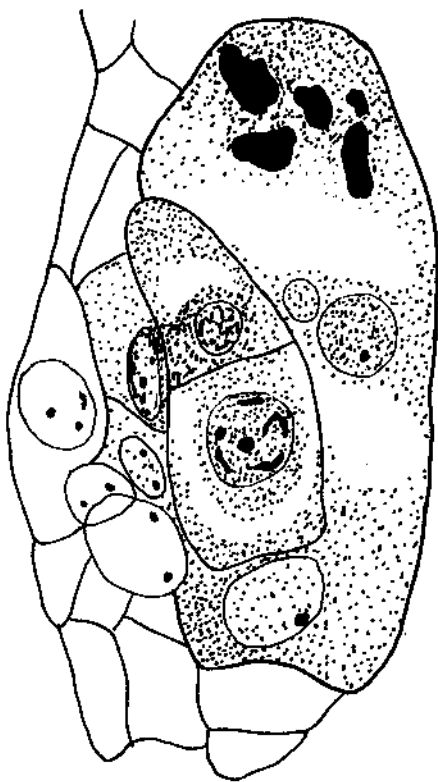
A



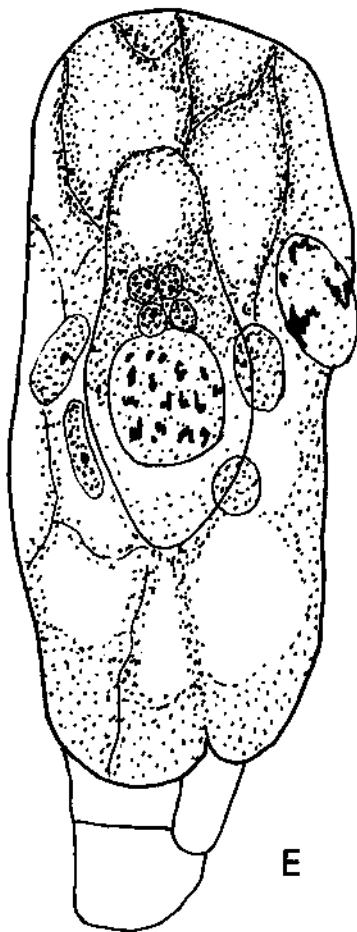
B



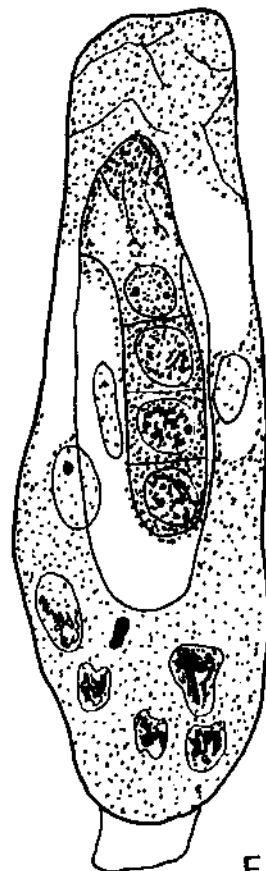
C



D



E



F

10 u

IX. ÍNDICE DAS TABELAS

- Tabela 1 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias da *M. brasiliensis* Brieg. et Illg.
- Tabela 2 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias da *M. discolor* (Lodd.) Rchb. f.
- Tabela 3 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias da *M. villosa* (Barb. Rodr.) Cogn.
- Tabela 4 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias da *M. tarumaensis* Hoehne.
- Tabela 5 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias da *M. cleistogama* Brieg. et Illg.
- Tabela 6 - Média geral, em milímetros dos 14 caracteres estudados nas 4 espécies da secção Heterotaxis e dos 8 caracteres estudados da *M. cleistogama*.
- Tabela 7 - Comparações entre as 4 espécies (1. *M. brasiliensis*, 2. *M. discolor*, 3. *M. villosa*, 4. *M. tarumaensis*), em valores de *t*.
- Tabela 8 - Resultados das contagens de sementes provenientes de autofecundações na *M. villosa*.
- Tabela 9 - Resultados das contagens de sementes provenientes de cruzamentos de plantas de *M. villosa*: A-da mesma localidade; B-de localidades diferentes e C-de cruzamentos interespecíficos.
- Tabela 10 - Resultados das contagens de sementes provenientes de autofecundações na *M. discolor*.
- Tabela 11 - Resultados das contagens de sementes provenientes de cruzamentos de plantas de *M. discolor*: A-da mesma localidade; B-de localidades diferentes e C-de cruzamentos interespecíficos.
- Tabela 12 - Resultados das contagens de sementes provenientes de autofecundações na *M. tarumaensis*.
- Tabela 13 - Resultados das contagens de sementes provenientes de cruzamentos de plantas de *M. tarumaensis*: A-da mesma localidade; B-de localidades diferentes e C-de cruzamentos interespecíficos.

Tabela 14 - Resultados das contagens de sementes de *M.brasiliensis*, cujo desenvolvimento do ovário foi induzido por pólen da própria planta.

Tabela 15 - Resultados das contagens de sementes de *M.brasiliensis*, cujo desenvolvimento do ovário foi induzido por pólen de outras plantas: A-da mesma localidade, B-de localidades diferentes e C-de cruzamentos interespecíficos.

Tab.1 - Resultados das análises de decomposição sequencial das variâncias da *M. brasiliensis* Brieg. et Illg.

| CARACTERES | Entre Regiões | | | Entre Localidades | | | Entre Plantas | | | Dentro de Plantas | Coeficiente de Variação |
|--------------------|------------------------|----------|---------|------------------------|---------|---------|--|---------|-------------|-------------------------|-------------------------|
| | Erro (s ₁) | Teta | Homog. | Erro (s ₂) | Teta | Homog. | Erro (s ₃) | Teta | Homog. | Erro (s ₄) | |
| Comprimento | | | | | | | | | | | |
| Sd | 3,66 | (2,85 x) | 2,30 xx | 1,28 | 1,00 ns | 0,75 ns | 1,28 | 1,39 xx | 1,07 ns (1) | 0,91 | 5,88 % |
| Sl | 2,66 | 1,35 ns | 1,09 ns | 1,97 | 1,53 ns | 1,15 ns | 1,29 | 1,53 xx | 1,18 ns (1) | 0,84 | 5,23 % |
| Pt | 2,65 | 2,11 ns | 1,70 ns | 1,25 | 1,04 ns | 0,76 ns | 1,20 | 1,37 xx | 1,05 ns (1) | 0,88 | 6,57 % |
| L | 1,04 | 0,67 ns | 0,54 ns | 1,55 | 1,54 ns | 1,16 ns | 1,06 | 1,29 x | 0,99 ns (1) | 0,78 | 5,96 % |
| Largura | | | | | | | | | | | |
| Sd | 1,18 | 1,23 ns | 0,99 ns | 0,96 | 1,37 ns | 1,03 ns | 0,70 | 1,30 x | 1,00 ns (1) | 0,54 | 8,37 % |
| Sl | 0,77 | 0,73 ns | 0,59 ns | 1,05 | 1,56 ns | 1,17 ns | 0,67 | 1,22 x | 0,94 ns (1) | 0,55 | 8,54 % |
| Pt | 0,94 | 1,48 ns | 1,19 ns | 0,64 | 1,28 ns | 0,96 ns | 0,50 | 1,18 ns | 0,91 ns (1) | 0,42 | 12,33 % |
| L | 1,40 | 1,45 ns | 1,17 ns | 0,97 | 1,30 ns | 0,98 ns | 0,74 | 1,08 ns | 0,83 ns (1) | 0,69 | 9,32 % |
| Folha | | | | | | | | | | | |
| Comprimento | 104,19 | (2,60 x) | 2,10 x | 40,10 | 0,65 ns | 0,49 ns | 61,72 | 2,96xxx | 1,32 ns (2) | 20,84 | 7,45 % |
| Larg. base | 8,65 | 1,46 ns | 1,18 ns | 5,92 | 1,03 ns | 0,77 ns | 5,71 | 1,69xxx | 0,75 ns (2) | 3,39 | 10,63 % |
| Larg. máxima | 12,49 | 0,84 ns | 0,68 ns | 14,89 | 1,81 x | 1,36 ns | 8,25 | 2,20xxx | 0,98 ns (2) | 3,75 | 7,79 % |
| Pseudobulbo | | | | | | | | | | | |
| Comprimento | 24,39 | 1,41 ns | 1,14 ns | 17,28 | 1,07 ns | 0,80 ns | 16,13 | 2,10xxx | 0,93 ns (2) | 7,68 | 9,29 % |
| Largura | 4,67 | 0,80 ns | 0,48 ns | 7,74 | 1,65 x | 1,24 ns | 4,70 | 2,45xxx | 1,09 ns (2) | 1,92 | 6,91 % |
| Espessura | 3,68 | 0,59 ns | 0,48 ns | 6,19 | 1,97 xx | 1,48 ns | 3,14 | 1,91xxx | 0,85 ns (2) | 1,64 | 10,22 % |
| G1 | 3 | | | 4 | | | 66 | | | 103-flor. 74-veget. | |
| N | 4 | | | 8 | | | 103-flor. 74-veget. | | | 177-flor. 148-veget. | |
| Teta Médio | 1,24 ns | | | 1,33 xxx | | | θ ₁ = 1,30 xxx θ ₂ = 2,25 xxx | | | | |

Tab.2 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias da *M. discolor* (Lodd.) Rchb. f.

| CARACTERES | Entre Regiões | | | Entre Plantas | | | Dentro de Plantas | Coeficiente de Variação |
|--------------------|------------------------|----------|-------------|------------------------|-----------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|
| | Erro (s ₁) | Teta | Homog. | Erro (s ₂) | Teta | Homog. | Erro (s ₃) | |
| <u>Comprimento</u> | | | | | | | | |
| Sd | 1,03 | 0,60 ns | 0,81 ns (1) | 1,73 | 1,07 ns | 0,98 ns (1) | 1,58 | 8,21 % |
| Sl | 0,56 | 0,33 ns | 0,45 ns (1) | 1,64 | 1,12 ns | 1,03 ns (1) | 1,46 | 7,43 % |
| Pt | 1,37 | 1,08 ns | 1,46 ns (1) | 1,27 | 1,16 ns | 1,06 ns (1) | 1,10 | 6,64 % |
| L | 0,70 | 0,70 ns | 0,95 ns (1) | 0,99 | 1,24 ns | 1,14 ns (1) | 0,79 | 5,25 % |
| <u>Largura</u> | | | | | | | | |
| Sd | 1,24 | (2,52 x) | 3,41 x (1) | 0,49 | 0,78 ns | 0,72 xx (1) | 0,62 | 8,81 % |
| Sl | 1,37 | (2,57 x) | 3,47 x (1) | 0,54 | 1,02 ns | 0,94 ns (1) | 0,52 | 7,59 % |
| Pt | 1,18 | 0,41 ns | 0,55 ns (1) | 0,44 | 0,75 ns | 0,69 xx (1) | 0,57 | 14,58 % |
| L | 0,70 | 1,01 ns | 1,36 ns (1) | 0,69 | 1,01 ns | 0,93 ns (1) | 0,69 | 9,06 % |
| <u>Folha</u> | | | | | | | | |
| Comprimento | 340,62 | 8,36 xxx | 1,10 ns (2) | 40,74 | 2,02 xxx | 1,15 ns (2) | 20,18 | 8,19 % |
| Largura base | 31,53 | 5,38 xxx | 0,71 ns (2) | 5,86 | 1,11 ns | 0,63 xxx(2) | 5,28 | 15,49 % |
| Largura máxima | 67,05 | 7,30 xxx | 0,96 ns (2) | 9,18 | 1,73 xxx | 0,98 ns (2) | 5,32 | 8,94 % |
| <u>Pseudobulbo</u> | | | | | | | | |
| Comprimento | 18,26 | 1,68 ns | 0,22 ns (2) | 10,87 | 1,73 xxx | 0,98 ns (2) | 6,27 | 10,56 % |
| Largura | 33,89 | 9,98 xxx | 1,31 ns (2) | 3,39 | 1,91 xxx | 1,09 ns (2) | 1,77 | 6,45 % |
| Espessura | 26,96 | 9,55 xxx | 1,26 ns (2) | 2,82 | 1,93 xxx | 1,10 ns (2) | 1,46 | 9,51 % |
| G1 | 1 | | | 52 | | | 61-flor. 54-veget. | |
| N | 2 | | | | 61-flor. 54-veget. | | 115-flor. 108-veget. | |
| Teta Médio (1) | | 0,74 ns | | | 1,09 ns | | | |
| Teta Médio (2) | | 7,59 xxx | | | 1,76 xxx | | | |

Tab.3 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias da *M. villosa* (Barb.Rodr.) Cogn.

| CARACTERES | Entre Regiões | | | Entre Plantas | | | Dentro de Plantas | Coeficiente de Variação |
|--------------------|---------------------------|------------|-------------|------------------------|-----------|---------|-------------------------|-------------------------|
| | Erro (s ₁) | Teta | Homog. | Erro (s ₂) | Teta | Homog. | Erro (s ₃) | |
| <u>Comprimento</u> | | | | | | | | |
| Sd | 2,16 | 1,33 ns | 0,89 ns (1) | 1,63 | (1,21 ns) | 0,72 xx | 1,34 | 7,60 % |
| Sl | 2,21 | 1,30 ns | 0,87 ns (1) | 1,70 | 1,41 xx | 0,83 ns | 1,20 | 6,57 % |
| Pt | 2,36 | 1,67 ns | 1,12 ns (1) | 1,41 | 1,45 xx | 0,86 ns | 0,97 | 6,30 % |
| L | 1,95 | 1,71 ns | 1,15 ns (1) | 1,14 | 1,56 xxx | 0,92 ns | 0,73 | 5,06 % |
| <u>Largura</u> | | | | | | | | |
| Sd | 1,39 | 1,60 ns | 1,07 ns (1) | 0,87 | 2,00 xxx | 1,18 ns | 0,43 | 7,23 % |
| Sl | 1,25 | 1,75 ns | 1,17 ns (1) | 0,71 | 1,48 xx | 0,88 ns | 0,48 | 7,81 % |
| Pt | 1,59 | (2,58 xxx) | 1,73 ns (1) | 0,62 | 1,44 xx | 0,85 ns | 0,43 | 12,46 % |
| L | 0,68 | 0,88 ns | 0,59 ns (1) | 0,77 | (1,22 ns) | 0,72 xx | 0,63 | 7,63 % |
| <u>Folha</u> | | | | | | | | |
| Comprimento | 139,59 | 2,20 xx | 0,66 ns (2) | 62,84 | 2,57 xxx | 1,52 ns | 24,45 | 7,83 % |
| Largura base | 18,68 | 4,52 xxx | 1,35 ns (2) | 4,13 | 1,41 x | 0,83 ns | 2,92 | 11,22 % |
| Largura máxima | 29,60 | 4,12 xxx | 1,23 ns (2) | 7,19 | 1,62 xxx | 0,96 ns | 4,43 | 9,68 % |
| <u>Pseudobulbo</u> | | | | | | | | |
| Comprimento | 29,65 | 2,46 xxx | 0,74 ns (2) | 12,07 | 1,83 xxx | 1,08 ns | 6,60 | 10,91 % |
| Largura | 12,99 | 3,88 xxx | 1,16 ns (2) | 3,35 | 1,62 xxx | 1,08 ns | 1,83 | 7,86 % |
| Espessura | 4,09 | 1,85 xx | 0,55 ns (2) | 2,21 | (1,24 ns) | 0,73 xx | 1,77 | 11,43 % |
| G1 | 4 | | | 54 | | | 72-flor. 59-veget. | |
| N | | | | 72-flor. 59-veget. | | | 131-flor. 118-veget. | |
| Teta Médio | θ ₁ = 1,49 xxx | | | 1,69 xxx | | | | |
| | θ ₂ = 3,34 xxx | | | | | | | |

Tab.4 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias da *M. tarumaensis* Hoehne.

| CARACTERES | Entre Regiões | | | Entre Plantas | | | | Dentro de Plantas | Coeficiente de Variação |
|--------------------|----------------|----------|----------|--|------------|--------------|----------------|-------------------------|-------------------------|
| | Erro (s_1) | Teta | Homog. | Erro (s_2) | Teta | Homog. | Erro (s_3) | | |
| <u>Comprimento</u> | | | | | | | | | |
| Sd | 1,63 | 0,90 ns | 0,97 ns | 1,81 | 1,62 xxx | 1,11 ns (1) | 1,11 | 7,28 % | |
| S1 | 1,95 | 1,20 ns | 1,29 ns | 1,63 | 1,46 xxx | 1,00 ns (1) | 1,11 | 7,38 % | |
| Pt | 1,74 | 1,14 ns | 1,23 ns | 1,49 | 1,67 xxx | 1,14 ns (1) | 0,89 | 6,81 % | |
| L | 1,15 | 0,86 ns | 0,92 ns | 1,33 | 1,32 xx | 0,90 ns (1) | 1,00 | 7,92 % | |
| <u>Largura</u> | | | | | | | | | |
| Sd | 0,67 | 1,34 ns | 1,44 ns | 0,50 | 1,32 xx | 0,90 ns (1) | 0,38 | 7,70 % | |
| S1 | 1,09 | (2,10 x) | 2,26 x | 0,52 | 1,49 xxx | 1,02 ns (1) | 0,35 | 7,10 % | |
| Pt | 0,33 | 0,82 ns | 0,88 ns | 0,41 | 1,46 xxx | 1,00 ns (1) | 0,28 | 9,89 % | |
| L | 0,54 | 0,76 ns | 0,82 ns | 0,71 | 1,32 xx | 0,90 ns (1) | 0,54 | 8,15 % | |
| <u>Folha</u> | | | | | | | | | |
| Comprimento | 33,95 | 0,61 ns | 0,66 ns | 55,15 | (3,11 xxx) | 1,58 xxx (2) | 17,71 | 8,59 % | |
| Largura base | 8,01 | (3,06 x) | 3,29 xxx | 2,61 | 1,82 xxx | 0,92 ns (2) | 1,44 | 10,11 % | |
| Largura máxima | 5,43 | 1,21 ns | 1,30 ns | 1,49 | 1,77 xxx | 0,90 ns (2) | 2,53 | 11,55 % | |
| <u>Pseudobulbo</u> | | | | | | | | | |
| Comprimento | 6,53 | 0,92 ns | 0,99 ns | 7,08 | 2,16 xxx | 1,10 ns (2) | 3,28 | 10,26 % | |
| Largura | 1,25 | 0,58 ns | 0,62 ns | 2,12 | 2,09 xxx | 1,06 ns (2) | 1,01 | 10,30 % | |
| Espessura | 0,64 | 0,34 ns | 0,37 ns | 1,82 | (1,44 xx) | 0,73 xx (2) | 1,26 | 16,60 % | |
| G1 | 2 | | | 69 | | | | 75-flor. 72-veget. | |
| N | 3 | | | 75-flor. 72-veget. | | | | 147-flor. 144-veget. | |
| Teta Médio | 0,93 ns | | | $\theta_1 = 1,46 \text{ xxx}$ $\theta_2 = 1,97 \text{ xxx}$ | | | | | |

Tab.5 - Resultados das análises da decomposição sequencial das variâncias de *M. cleistogama* Brieg. et Illg.

| CARACTERES | MÉDIA | Entre Regiões | | | Entre Plantas | | | Dentro de Plantas | Coeficiente de Variação |
|--------------------|-------|------------------------|------------|----------|------------------------|----------|---------|------------------------|-------------------------|
| | | Erro (s ₁) | Teta | Homog. | Erro (s ₂) | Teta | Homog. | Erro (s ₃) | |
| <u>Comprimento</u> | | | | | | | | | |
| Sd | 13,15 | 1,89 | 1,24 ns | 1,20 ns | 1,53 | 1,18 ns | 1,21 ns | 1,30 | 9,88 % |
| Sl | 12,32 | 1,02 | 0,67 ns | 0,86 ns | 1,00 | 0,86 ns | 0,89 ns | 1,17 | 9,50 % |
| Pt | 12,25 | 1,09 | 0,83 ns | 0,82 ns | 1,30 | 1,21 ns | 1,25 ns | 1,07 | 8,73 % |
| L | 10,48 | 0,84 | 1,02 ns | 1,01 ns | 0,82 | 0,73 ns | 0,75 ns | 1,12 | 10,69 % |
| <u>Largura</u> | | | | | | | | | |
| Sd | 6,59 | 0,79 | 0,83 ns | 0,83 ns | 0,95 | 0,90 ns | 0,93 ns | 1,05 | 15,93 % |
| Sl | 5,86 | 0,94 | 1,22 ns | 1,21 ns | 0,77 | 0,82 ns | 0,85 ns | 0,94 | 16,04 % |
| Pt | 4,80 | 1,86 | (2,66 xxx) | 2,63 xxx | 0,73 | 1,04 ns | 1,07 ns | 0,69 | 14,38 % |
| L | 8,78 | 1,15 | (1,69 x) | 1,67 ns | 0,68 | 0,86 ns | 0,89 ns | 0,79 | 9,00 % |
| G1 | | | 7 | | | 36 | | 44-flor. | |
| N | | | 8 | | | 44-flor. | | 68-flor. | |
| Teta Médio | | | 1,01 ns | | | 0,97 ns | | | |

Tab.6 - Média geral, em milímetros, dos 14 caracteres estudados nas 4 espécies da secção Heterotaxis e dos 8 caracteres estudados da *M. cleistogama*.

| CARACTERES | Secção Heterotaxis | | | | Grupo Rufescens |
|-------------|--------------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------------|
| | <i>M. bras.</i> | <i>M. disc.</i> | <i>M. vill.</i> | <i>M. tar.</i> | <i>M. cleistogama</i> |
| Comprimento | | | | | |
| Sd | 15,53 | 19,23 | 17,64 | 15,26 | 13,15 |
| Sl | 16,12 | 19,63 | 18,32 | 15,08 | 12,32 |
| Pt | 13,32 | 16,47 | 15,42 | 13,10 | 12,25 |
| Lab | 13,07 | 15,06 | 14,37 | 12,68 | 10,48 |
| Largura | | | | | |
| Sd | 6,40 | 7,07 | 5,99 | 4,89 | 6,59 |
| Sl | 6,41 | 6,87 | 6,18 | 4,93 | 5,86 |
| Pt | 3,41 | 3,93 | 3,42 | 2,81 | 4,80 |
| Lab | 7,38 | 7,56 | 8,31 | 6,63 | 6,78 |
| Folha | | | | | |
| Compr. | 279,42 | 246,29 | 311,99 | 206,04 | |
| Larg.base | 31,87 | 34,06 | 26,04 | 14,22 | |
| Larg.max. | 48,06 | 59,50 | 45,74 | 21,86 | |
| Pseudobulbo | | | | | |
| Compr. | 82,64 | 59,35 | 60,47 | 31,93 | |
| Larg. | 27,68 | 27,45 | 23,33 | 9,83 | |
| Espessura | 16,06 | 15,33 | 15,49 | 7,61 | |

Tab.7 - Comparações entre as 4 espécies (1. *M.brasiliensis*, 2. *M.discolor*, 3. *M.villosa*, 4. *M.tarumaensis*), em valores de t.

| CARACTERES | 1 - 2 | 1 - 3 | 1 - 4 | 2 - 3 | 2 - 4 | 3 - 4 |
|--------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Comprimento | | | | | | |
| Sd | -21.34 xxx | -13.41 xxx | + 1.79 ns | + 7.93 xxx | +20.35 xxx | +13.29 xxx |
| Sl | -21.13 xxx | -14.39 xxx | + 7.32 xxx | + 6.81 xxx | +24.76 xxx | +18.84 xxx |
| Pt | -23.16 xxx | -15.66 xxx | + 1.71 ns | + 6.82 xxx | +22.57 xxx | +15.72 xxx |
| L | -18.72 xxx | -12.03 xxx | + 3.33 xxx | + 5.83 xxx | +18.83 xxx | +13.20 xxx |
| Largura | | | | | | |
| Sd | - 9.48 xxx | + 5.39 xxx | +25.55 xxx | +13.50 xxx | +34.06 xxx | +15.71 xxx |
| Sl | - 6.78 xxx | + 3.25 xx | +25.04 xxx | + 9.40 xxx | +31.09 xxx | +19.08 xxx |
| Pt | - 8.92 xxx | - 0.16 ns | +13.42 xxx | + 7.45 xxx | +20.48 xxx | +10.63 xxx |
| L | + 2.14 x | -11.37 xxx | +10.03 xxx | - 8.49 xxx | +11.37 xxx | +21.19 xxx |
| Folha | | | | | | |
| Comprimento | + 5.66 xxx | - 5.25 xxx | +14.33 xxx | -10.01 xxx | + 7.25 xxx | +17.90 xxx |
| Largura base | - 1.94 ns | + 9.73 xxx | +40.38 xxx | +10.58 xxx | +31.11 xxx | +24.10 xxx |
| Larg. máxima | -10.37 xxx | + 2.51 x | +34.41 xxx | +11.47 xxx | +37.76 xxx | +30.04 xxx |
| Pseudobulbo | | | | | | |
| Comprimento | +17.03 xxx | +15.16 xxx | +43.86 xxx | - 0.85 ns | +28.09 xxx | +25.84 xxx |
| Largura | + 0.45 ns | + 9.71 xxx | +53.32 xxx | + 7.89 xxx | +41.02 xxx | +38.05 xxx |
| Espessura | + 1.84 ns | + 1.95 ns | +33.23 xxx | - 0.42 ns | +21.80 xxx | +33.92 xxx |

Tab.8 - Resultados das contagens de sementes provenientes de autofecundações na *M. villosa*.

| PLANTAS AUTO- FECUNDADAS | % DE SEMENTES SEM EMBRIÃO | % DE SEMENTES COM EMBRIÃO | | TOTAL DE SEMEN- TES CONTADAS | DIAS ENTRE POLINI- ZAÇÃO E COLHEITA |
|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|-------------|---------------------------------|--|
| | | BEM FORMADO | MAL FORMADO | | |
| 7.198 (1) | 39,22 | 58,68 | 2,10 | 334 | 210 |
| 7.198 (2) | 9,72 | 82,87 | 7,41 | 216 | 200 |
| 8.660 | 25,00 | 52,92 | 22,08 | 240 | 205 |
| 8.737 | 8,50 | 59,92 | 31,58 | 247 | 190 |
| 24.405 | 7,19 | 77,14 | 15,24 | 210 | 190 |
| 24.476 (1) | 27,31 | 64,32 | 8,37 | 227 | 195 |
| 24.476 (2) | 18,78 | 72,65 | 8,57 | 245 | 195 |
| 24.476 (3) | 31,65 | 62,39 | 5,96 | 218 | 198 |
| 24.478 (1) | 45,72 | 52,42 | 1,86 | 269 | 200 |
| 24.478 (2) | 23,24 | 70,12 | 6,64 | 241 | 205 |
| 25.040 (1) | 4,64 | 89,87 | 5,49 | 237 | 205 |
| 25.040 (2) | 8,04 | 87,44 | 4,52 | 199 | 212 |
| 25.041 | 10,23 | 87,44 | 2,33 | 215 | 205 |
| 25.043 | 12,50 | 60,94 | 26,56 | 256 | 200 |
| 25.052 | 9,68 | 87,56 | 2,76 | 217 | 203 |
| 25.329 | 4,50 | 93,50 | 2,00 | 200 | 210 |

Tab.9 - Resultados das contagens de sementes provenientes de cruzamentos de plantas de *M.villosa*:
A-da mesma localidade; B-de localidades diferentes e C-de cruzamentos interespecíficos.

| PLANTAS CRUZADAS | % DE SEMENTES | % DE SEMENTES COM EMBRIÃO | | TOTAL DE SEMEN TES CONTADAS | DIAS ENTRE POLINIZAÇÃO E COLHEITA |
|----------------------------------|---------------|---------------------------|-------------|--------------------------------|---|
| | SEM EMBRIÃO | BEM FORMADO | MAL FORMADO | | |
| A. Mesma localidade | | | | | |
| 25.044 x 25.048 | 4,74 | 95,88 | 0,00 | 194 | 200 |
| 24.478 x 24.404 | 6,78 | 81,36 | 11,86 | 236 | 222 |
| 8.660 x 24.478 | 10,27 | 89,73 | 0,00 | 185 | 222 |
| 24.478 x 8.659 | 8,51 | 89,36 | 2,13 | 188 | 215 |
| 8.659 x 8.660 | 7,49 | 83,96 | 8,56 | 187 | 215 |
| 25.048 x 24.478 | 3,22 | 94,62 | 2,15 | 186 | 195 |
| 25.578 x 25.048 | 0,00 | 89,22 | 10,78 | 167 | 198 |
| 24.404 x 25.578 | 6,74 | 87,64 | 5,62 | 178 | 200 |
| B. Localidades diferentes | | | | | |
| 7.198 x 26.527 | 0,48 | 97,64 | 1,89 | 212 | 210 |
| 7.198 x 8.659 | 2,79 | 94,88 | 2,33 | 215 | 212 |
| 2.096 x 7.198 | 2,16 | 97,84 | 0,00 | 231 | 208 |
| 8.659 x 7.198 | 11,88 | 83,17 | 4,95 | 101 | 205 |
| 9.073 x 24.699 | 0,00 | 94,40 | 5,60 | 250 | 210 |
| 8.718 x 9.073 | 7,14 | 89,80 | 3,06 | 196 | 205 |
| 8.660 x 9.262 | 5,58 | 80,00 | 14,42 | 215 | 210 |
| C. Interespecíficos | | | | | |
| 25.040 x 21.394 (tar) | 1,82 | 98,18 | 0,00 | 220 | 198 |
| 8.718 x 510 (bras) | 7,24 | 91,86 | 0,09 | 221 | 205 |
| 9.262 x 19.597 (disc) | 21,03 | 78,11 | 3,00 | 233 | 198 |
| 8.660 x 19.102 (disc) | 24,55 | 68,64 | 2,27 | 220 | 215 |
| 25.040 x 21.394 (tar) | 23,81 | 76,19 | 0,00 | 252 | 198 |

Tab.10 - Resultados das contagens de sementes provenientes de autofecundações na *M. discolor*.

| PLANTAS AUTO- FECUNDADAS | % DE SEMENTES SEM EMBRIÃO | % DE SEMENTES COM EMBRIÃO | | TOTAL DE SEM. N TES CONTADAS | DIAS ENTRE POLINI- ZAÇÃO E COLHEITA |
|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|-------------|------------------------------------|--|
| | | BEM FORMADO | MAL FORMADO | | |
| 19.851 | 2,23 | 94,41 | 3,35 | 179 | 212 |
| 13.234 | 2,99 | 94,03 | 2,99 | 201 | 212 |
| 13.231 | 4,08 | 95,92 | 0,00 | 196 | 210 |
| 13.228 | 0,00 | 100,00 | 0,00 | 199 | 215 |
| 19.590 | 1,24 | 98,84 | 0,04 | 241 | 215 |
| 13.234 | 3,17 | 90,48 | 6,35 | 189 | 218 |
| 17.899 | 8,74 | 86,89 | 4,37 | 183 | 208 |
| 18.448 | 6,74 | 87,64 | 5,62 | 178 | 215 |
| 13.231 | 3,41 | 95,59 | 0,00 | 176 | 220 |

Tab.11 - Resultados das contagens de sementes provenientes de cruzamentos de plantas de *M. discolor*: A-da mesma localidade; B-de localidades diferentes e C-de cruzamentos interespecíficos.

| PLANTAS CRUZADAS | % DE SEMENTES | % DE SEMENTES COM EMBRIÃO | | TOTAL DE SEMEN | DIAS ENTRE POLINIZAÇÃO E COLHEITA |
|----------------------------------|---------------|---------------------------|-------------|----------------|---|
| | SEM EMBRIÃO | BEM FORMADO | MAL FORMADO | TES CONTADAS | |
| A. Mesma localidade | | | | | |
| 13.230 x 19.595 | 9,78 | 82,61 | 7,61 | 184 | 212 |
| 19.591 x 19.590 | 6,63 | 90,06 | 3,31 | 181 | 215 |
| 19.595 x 19.505 | 6,77 | 91,15 | 2,08 | 192 | 210 |
| 19.605 x 19.591 | 2,16 | 96,22 | 1,62 | 185 | 205 |
| 19.582 x 19.601 | 6,80 | 91,60 | 1,60 | 250 | 205 |
| 13.230 x 13.231 | 1,26 | 96,64 | 2,10 | 238 | 210 |
| 13.231 x 19.582 | 3,57 | 95,54 | 0,89 | 224 | 212 |
| 19.592 x 19.851 | 2,35 | 97,65 | 0,00 | 170 | 215 |
| B. Localidades diferentes | | | | | |
| 18.449 x 13.231 | 4,55 | 92,05 | 3,41 | 176 | 215 |
| 19.851 x 18.243 | 6,86 | 90,20 | 2,94 | 204 | 208 |
| 19.101 x 13.230 | 0,00 | 100,00 | 0,00 | 121 | 210 |
| 19.592 x 19.851 | 2,35 | 97,65 | 0,00 | 170 | 210 |
| C. Interespecíficos | | | | | |
| 18.443 x 11.907 (bras) | 2,07 | 94,30 | 3,63 | 193 | 210 |
| 19.101 x 3.486 (bras) | 2,44 | 95,61 | 1,95 | 205 | 220 |
| 13.234 x 3.040 (bras) | 5,34 | 93,20 | 1,46 | 206 | 220 |
| 13.230 x 20.433 (bras) | 1,05 | 95,79 | 3,16 | 190 | 215 |
| 18.840 x 508 (bras) | 0,00 | 100,00 | 0,00 | 172 | 218 |
| 19.595 x 11.116 (bras) | 0,00 | 100,00 | 0,00 | 159 | 208 |
| 19.102 x 8.660 (vill) | 2,67 | 94,67 | 2,66 | 150 | 216 |
| 18.838 x 8.718 (vill) | 3,41 | 94,89 | 1,70 | 176 | 222 |
| 18.449 x 9.073 (vill) | 0,00 | 100,00 | 0,00 | 159 | 215 |
| 19.591 x 8.658 (vill) | 1,97 | 98,03 | 0,00 | 203 | 210 |

Tab.12 - Resultados das contagens de sementes provenientes de autofecundações na *M. tarumaensis*.

| PLANTAS AUTO- FECUNDADAS | % DE SEMENTES SEM EMBRIÃO | % DE SEMENTES COM EMBRIÃO | | TOTAL DE SEMEN TES CONTADAS | DIAS ENTRE POLINI- ZAÇÃO E COLHEITA |
|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|-------------|--------------------------------|--|
| | | BEM FORMADO | MAL FORMADO | | |
| 29.011 (1) | 13,87 | 69,36 | 22,54 | 173 | 215 |
| 29.013 | 30,14 | 58,90 | 10,96 | 146 | 220 |
| 29.469 | 44,24 | 31,52 | 24,24 | 165 | 215 |
| 29.016 | 24,15 | 60,87 | 14,98 | 207 | 210 |
| 29.481 | 16,51 | 80,28 | 3,21 | 218 | 208 |
| 28.915 | 41,12 | 50,00 | 8,88 | 214 | 210 |
| 29.481 | 11,00 | 87,08 | 1,92 | 209 | 220 |
| 29.011 (2) | 8,08 | 84,34 | 7,58 | 198 | 215 |
| 19.498 | 5,52 | 94,48 | 0,00 | 181 | 215 |
| 29.480 | 5,95 | 92,43 | 2,16 | 185 | 208 |
| 29.995 | 13,07 | 81,41 | 5,52 | 199 | 210 |

Tab.13 - Resultados das contagens de sementes provenientes de cruzamentos de plantas de *M. taru-*
maensis: A-da mesma localidade; B-de localidades diferentes e C-de cruzamentos interes-
pecíficos.

| PLANTAS CRUZADAS | % DE SEMENTES | | % DE SEMENTES COM EMBRIÃO | | TOTAL DE SEMEN- TES CONTADAS | DIAS ENTRE POLINIZAÇÃO E COLHEITA |
|----------------------------------|---------------|--|---------------------------|-------------|---------------------------------|---|
| | SEM EMBRIÃO | | BEM FORMADO | MAL FORMADO | | |
| A. Mesma localidade | | | | | | |
| 28.899 x 29.480 | 14,68 | | 81,75 | 3,57 | 252 | 212 |
| 28.878 x 28.899 | 10,89 | | 87,90 | 1,21 | 248 | 215 |
| 29.016 x 28.915 | 4,23 | | 95,77 | 0,00 | 169 | 210 |
| 29.480 x 29.481 | 6,84 | | 88,95 | 4,21 | 190 | 212 |
| 29.481 x 29.025 | 4,00 | | 96,00 | 0,00 | 200 | 218 |
| 29.011 x 28.907 | 6,52 | | 88,59 | 4,89 | 184 | 210 |
| 29.481 x 29.459 | 4,12 | | 95,88 | 0,00 | 170 | 212 |
| 29.480 x 29.016 | 0,00 | | 100,00 | 0,00 | 175 | 215 |
| B. Localidades diferentes | | | | | | |
| 29.716 x 19.466 | 4,32 | | 95,68 | 0,00 | 185 | 300 |
| 19.466 x 28.907 | 3,73 | | 93,17 | 3,10 | 161 | 195 |
| 29.492 x 19.601 | 15,84 | | 83,17 | 0,99 | 202 | 195 |
| C. Interespecíficos | | | | | | |
| 28.995 x 19.595 (disc) | 4,83 | | 91,30 | 3,86 | 207 | 200 |
| 26.844 x 13.234 (disc) | 10,63 | | 86,47 | 2,90 | 207 | 195 |
| 21.394 x 19.583 (disc) | 3,87 | | 94,84 | 1,29 | 155 | 185 |
| 29.492 x 19.601 (disc) | 6,50 | | 91,00 | 2,50 | 200 | 198 |
| 29.710 x 25.040 (vill) | 4,84 | | 93,01 | 2,15 | 186 | 185 |

Tab.14 - Resultados das contagens de sementes de *M.brasiliensis*, cujo desenvolvimento do ovário foi induzido por pólen da própria planta.

| PLANTAS AUTO-FECUNDADAS | % DE SEMENTES SEM EMBRIÃO | % DE SEMENTES COM EMBRIÃO | | TOTAL DE SEMENTES CONTADAS | DIAS ENTRE POLINIZAÇÃO E COLHEITA |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------|----------------------------|-----------------------------------|
| | | BEM FORMADO | MAL FORMADO | | |
| 3.486 | 3,06 | 96,94 | 0,00 | 196 | 185 |
| 6.578 | 9,50 | 89,14 | 1,36 | 221 | 180 |
| 17.899 | 13,76 | 78,84 | 7,40 | 189 | 175 |
| 20.280 (1) | 3,08 | 90,77 | 6,15 | 195 | 180 |
| 20.280 (2) | 8,22 | 81,74 | 10,04 | 219 | 180 |
| 10.222 | 9,55 | 84,09 | 6,36 | 220 | 173 |
| 26.896 | 9,73 | 85,95 | 4,32 | 185 | 178 |
| 3.285 (1) | 6,42 | 93,58 | 0,00 | 187 | 175 |
| 15.139 | 5,53 | 88,44 | 6,03 | 199 | 180 |
| 11.117 | 18,00 | 71,00 | 11,00 | 200 | 171 |
| 6.495 | 5,18 | 94,82 | 0,00 | 193 | 190 |
| 13.570 | 6,09 | 90,86 | 3,05 | 197 | 175 |
| 19.586 | 7,57 | 88,11 | 4,32 | 185 | 180 |
| 3.285 (2) | 3,26 | 92,39 | 4,35 | 184 | 180 |
| 10.259 | 3,21 | 96,79 | 0,00 | 187 | 180 |
| 9.675 | 3,30 | 96,70 | 0,00 | 182 | 175 |
| 11.114 | 14,08 | 83,50 | 2,42 | 206 | 173 |
| 1.701 | 9,33 | 87,56 | 3,11 | 193 | 173 |
| 20.195 | 4,21 | 93,68 | 2,11 | 190 | 180 |

Tab.15 - Resultado das contagens de sementes de *M.brasiliensis* cujo desenvolvimento do ovário foi induzido por pólen de outras plantas.

| PLANTAS USADAS | % DE SEMENTES COM EMBRIÃO | | TOTAL DE SEMEN TES CONTADAS | DIAS ENTRE POLINIZAÇÃO E COLHEITA | |
|----------------------------------|---------------------------|-------------|--------------------------------|---|-------------|
| | SEM EMBRIÃO | BEM FORMADO | | | MAL FORMADO |
| A. Mesma localidade | | | | | |
| 11.114 x 11.115 | 4,56 | 88,47 | 6,97 | 221 | 190 |
| 11.907 x 11.116 | 13,08 | 81,78 | 5,14 | 186 | 192 |
| 10.778 x 10.983 | 6,42 | 90,45 | 3,13 | 189 | 186 |
| 10.259 x 10.260 | 2,07 | 96,78 | 1,15 | 200 | 184 |
| 19.586 x 19.610 | 4,04 | 95,41 | 0,55 | 185 | 178 |
| B. Localidades diferentes | | | | | |
| 10.452 x 6.578 | 10,02 | 79,81 | 10,17 | 216 | 175 |
| 11.997 x 10.448 | 6,22 | 86,48 | 7,30 | 192 | 182 |
| 20.281 x 3.486 | 3,18 | 94,81 | 2,01 | 188 | 185 |
| 508 x 18.006 | 2,24 | 96,47 | 1,30 | 196 | 180 |
| C. Interspecíficos | | | | | |
| 17.895 x 8.718 (vill) | 4,18 | 92,68 | 3,14 | 204 | 182 |
| 17.894 x 9.031 (vill) | 1,40 | 96,42 | 2,18 | 208 | 196 |
| 3.040 x 19.585 (disc) | 3,52 | 86,74 | 9,74 | 192 | 192 |
| 6.578 x 13.231 (disc) | 6,99 | 79,89 | 13,12 | 185 | 202 |
| 18.005 x 13.230 (disc) | 10,22 | 88,53 | 1,25 | 179 | 185 |