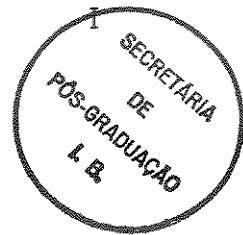


UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



**“Biologia reprodutiva e morfologia floral de espécies de
Orchidaceae em diferentes ambientes no Estado de São Paulo”**

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo (a) candidato (a) <i>Emerson Ricardo Pansarin</i> e aprovada pela Comissão Julgadora.

Emerson Ricardo Pansarin

Maria do Carmo E Amaral

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Carmo Estanislau do Amaral

Campinas

2000

UNICAMP

BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE



2010016

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	UNICAMP
	P195b
V.	Ex.
TOMBO BC/	43382
PROC.	16-392/0.1
C	☐
D	☒
PREC.	R\$ 99,00
DATA	06/01/01
N.º CPD	

CM-00153994-7

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

Pansarin, Emerson Ricardo

P195b

Biologia reprodutiva e morfologia floral de espécies de Orchidaceae em diferentes ambientes no Estado de São Paulo/Emerson Ricardo Pansarin. -- Campinas, SP:[s.n.], 2000.
146f. ilus.

Orientadora: Maria do Carmo E. do Amaral
Dissertação(mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia.

1. Orchidaceae. 2. Polinização. 3. Biologia-Reprodução. I. Amaral, Maria do Carmo E. do. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

DATA DA DEFESA: 25/09/2000

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Maria do Carmo Estanislau do Amaral

Maria do Carmo E. Amaral

Profa. Dra. Silvana Buzato

Silvana Buzato

Prof. Dr. George John Shepherd

George John Shepherd

Profa. Dra. Marlies Sazima

Dedico esta dissertação aos meus pais:

Osmar e Izaura

pelo apoio e compreensão durante todos

estes anos ...

... e a Profa. Maria do Carmo
pela orientação, pela amizade e principalmente
pela oportunidade concedida para a realização
deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

- À FAPESP pela concessão da bolsa de estudos durante esses anos;
- Ao CNPq pela concessão da bolsa durante os primeiros seis meses de estudo;
- À Profa. Dra. Maria do Carmo E. Amaral pela orientação e ao Dr. Volker Bittrich pela orientação informal neste trabalho;
- Aos professores Dr. Volker Bittrich, Dra. Malies Sazima e Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira pela leitura crítica e pelas sugestões durante a pré-banca que muito contribuíram para o enriquecimento deste trabalho;
- A todos os professores do Departamento de Botânica e Zoologia da UNICAMP pela contribuição dada à minha formação como pesquisador, principalmente à Dra. Maria do Carmo E. Amaral, Dr. Volker Bittrich, Dra. Marlies Sazima, Dr. George John Shepherd, Dra. Luiza S. Kinoshita, Dr. João Semir, e à Profa. Dra. Beatriz Apezatto da Glória da ESALQ;
- À Aparecida (Cida) pela grande amizade, companheirismo e pelo acompanhamento e participação dia a dia, durante todo o tempo, desde meu ingresso na UNICAMP;
- Ao Rodrigo pela amizade, discussões e sugestões que ajudaram muito a realização do meu trabalho;
- À Lidyanne (Lady Anne) pela amizade e companheirismo desde meu ingresso na UNICAMP;
- Ao André pelas discussões e sugestões dadas para montagem das pranchas;
- À Carla pela simpatia com que confecciona bloquinhos de historresina;
- À Tehra pela companhia e ajuda nas observações em *Polystachya* em Picinguaba;
- Ao Eduardo e ao Fábio de Barros pelas sugestões e empréstimo de muitas bibliografias;
- A todos os colegas do Departamento de Botânica, especialmente à Samantha, “Andréias”, Fabiola, Liana, Sônia, Cristina (Penelope), Kazue, Fábio, e Ingrid;

- Ao André (Baku) do Departamento de Zoologia da UNICAMP por me ajudar nas identificações dos lepidópteros;
- Aos funcionárias do Departamento de Microscopia da UNICAMP pela atenção e pelo auxílio no uso do Microscópio de Varredura;
- A equipe da Dra. Anita Marsaioli do departamento de Química da UNICAMP, principalmente à Mariza pela realização das análises dos voláteis e por me “aturar” nesses dois anos;
- Aos funcionários do Departamento de Botânica, especialmente ao Renato (Pezão) por conduzir-nos com segurança aos abismos mais distantes, ao João Carlos pela ajuda na revelação das fotos, ao Sebastião (Tião) pela colaboração no laboratório de Anatomia, Iara, Maria Lúcia, Zulmira (Dona ZuZu) e Josênia pela grande ajuda;
- Aos professores da graduação da PUCCAMP por serem responsáveis pela minha formação como biólogo, especialmente a professora Luiza pelo apoio e incentivo;
- Aos amigos de graduação que me incentivaram, principalmente a Dulce, que também me ajudou muito com a germinação das sementes de orquídeas, ao Milton (Jão) e Vanessa.
- A Base Ecológica da Serra do Japi, a Guarda Municipal de Jundiá e ao Instituto Florestal, pela concessão das autorizações para o desenvolvimento do trabalho na Serra do Japi e Picinguaba.

CONTEÚDO

	PÁGINA
RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO	3
ÁREAS DE ESTUDO E MÉTODOS	9
RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
1. HÁBITO, FENOLOGIA E MORFOLOGIA FLORAL	16
1.1. <i>Epidendrum secundum</i> Jacq.	16
1.2. <i>Polystachya estrellensis</i> Rchb. f.	24
1.3. <i>Psilochilus modestus</i> Barb. Rodr.	30
1.4. <i>Cirrhaea dependens</i> Rchb. f.	36
1.5. <i>Stanhopea lietzei</i> (Regel) Schltr.	40
1.6. <i>Stanhopea insignis</i> Frost ex Hook.	44
2. PROCESSOS DE POLINIZAÇÃO	49
2.1. <i>Epidendrum secundum</i>	49
2.2. <i>Polystachya estrellensis</i> e <i>P. concreta</i>	55
2.3. <i>Psilochilus modestus</i>	61
2.4. <i>Cirrhaea dependens</i>	67
Chave de identificação para espécies de <i>Cirrhaea</i> , em Picinguaba	71
2.5. <i>Stanhopea lietzei</i>	71
2.6. <i>Stanhopea insignis</i>	75
3. ANÁLISE DOS VOLÁTEIS FLORAIS	83
3.1. <i>Epidendrum secundum</i>	83
3.2. <i>Polystachya estrellensis</i> e <i>Psilochilus modestus</i>	85
3.3. <i>Cirrhaea dependens</i>	88
3.4. <i>Stanhopea lietzei</i>	90
3.5. <i>Stanhopea insignis</i>	92

4. SISTEMA REPRODUTIVO	96
4.1. <i>Epidendrum secundum</i>	96
4.2. <i>Polystachya estrellensis</i> e <i>P. concreta</i>	99
4.3. <i>Psilochilus modestus</i>	102
4.4. <i>Cirrhaea dependens</i>	105
4.5. <i>Stanhopea lietzei</i> e <i>S. insignis</i>	106
5. TAXA DE FRUTIFICAÇÃO EM CONDIÇÕES NATURAIS (CONTROLE)	108
6. SUCESSO REPRODUTIVO DAS ESPÉCIES EM AMBOS OS AMBIENTES	112
CONCLUSÕES	118
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121

ÍNDICE DAS FIGURAS E TABELAS

	PÁGINA
Figura 1: Localização das regiões de estudo no Estado de São Paulo.	9
Figura 2: A. Região de mata semidecídua de altitude, na Serra do Japi; B. Vista parcial do mangue, em Picinguaba.	12
Figura 3: Hábito e morfologia floral de <i>Epidendrum secundum</i>	18
Figura 4: A-B. Inflorescência e flor de <i>Epidendrum secundum</i> ; C. Flor de <i>Epidendrum fulgens</i> ; D. Flor de <i>Epidendrum denticulatum</i> ; E-F. Flores de formas híbridas entre <i>E. secundum</i> e <i>E. fulgens</i>	19
Figura 5: Eletromicrografias obtidas em MEV do nectário e peças florais de <i>Epidendrum secundum</i>	20
Figura 6: Cortes transversais do nectário e coluna de <i>Epidendrum secundum</i>	21
Figura 7: Hábito e morfologia floral de <i>Polystachya estrellensis</i>	25
Figura 8: Eletromicrografias obtidas em MEV do pseudopólen, polinário e pétala de <i>Polystachya estrellensis</i>	26
Figura 9: Cortes transversais do labelo e sépala de <i>Polystachya estrellensis</i>	27
Figura 10: Hábito e morfologia floral de <i>Polystachya concreta</i>	29
Figura 11: Hábito e morfologia floral de <i>Psilochilus modestus</i>	32
Figura 12: Eletromicrografias obtidas em MEV dos osmóforos e nectário de <i>Psilochilus modestus</i>	33
Figura 13: Cortes transversais de flores de <i>Psilochilus modestus</i> . Osmóforos e nectário.	34
Figura 14: Hábito e morfologia floral de <i>Cirrhaea dependens</i>	37
Figura 15: Eletromicrografias obtidas em MEV do labelo de <i>Cirrhaea dependens</i>	38
Figura 16: Cortes transversais do labelo de <i>Cirrhaea dependens</i>	39

Figura 17: Hábito e morfologia floral de <i>Stanhopea lietzei</i> .	42
Figura 18: Osmóforos de <i>Stanhopea lietzei</i> . A-B. Eletromicrografias obtidas em MEV do interior do hipoquilo do labelo; C-D. Cortes transversais do hipoquilo.	43
Figura 19: Hábito e morfologia floral de <i>Stanhopea insignis</i> .	47
Figura 20: Osmóforos de <i>Stanhopea insignis</i> . A-D. Eletromicrografias obtidas em MEV do interior do hipoquilo da flor; E-F. Cortes transversais do hipoquilo da flor.	48
Figura 21: Número de espécies de lepidópteros polinizadores de <i>E. secundum</i> na Serra do Japi e em Picinguaba.	53
Figura 22: A-D. Processo de polinização em <i>Epidendrum secundum</i> . A. <i>Heliconius sara</i> ; B-C. <i>Vettius</i> sp.; D. Probóscide de <i>Urbanus d. dorantes</i> com polinário; E. Frutos formados através de polinizações manuais; F. <i>Heliconius sara</i> visitando <i>Vernonia beyrichii</i> .	54
Figura 23: A. Hábito de <i>Polystachya concreta</i> ; B. Flor de <i>P. estrellensis</i> ; C. Aranha Tomisidae em <i>P. estrellensis</i> ; D. Plântula de <i>P. concreta</i> desenvolvendo-se no escapo floral; E-F. <i>Tetragonisca angustula</i> coletando pseudopólen.	58
Figura 24: A-D. Coleta de pseudopólen e polinização em <i>Polystachya</i> . A. Halictidae sp.; B. <i>Trigona spinipes</i> ; C. <i>Plebeia droryana</i> ; D. <i>Salpingogaster</i> sp.; E. <i>Trigona spinipes</i> com polinário; F. Fruto de <i>P. concreta</i> parasitado por larva de <i>Eurytoma</i> sp.	59
Figura 25: Variação floral e polinização em <i>Psilochilus modestus</i> . A. Flor (Serra do Japi); B. Flor (Picinguaba); C-D. Halictidae sp.1; E-F. Halictidae sp.2.	64
Figura 26: Polinização em <i>Psilochilus modestus</i> . A-B. <i>Trigona spinipes</i> ; C. <i>Plebeia droryana</i> ; D. Vespidae sp.; E. <i>Salpingogaster</i> sp.; F. <i>Heliconius ethila narcacea</i> .	65
Figura 27: <i>Cirrhaea dependens</i> . A. Hábito; B. Flor; C-D. <i>Euglossa aff. annectans</i> ; E-F. Posição dos polinários depositados em <i>Euglossa cordata</i> e <i>Eufriesea violacea</i> .	68
Figura 28: Diferenças morfológicas entre polinários das espécies de <i>Cirrhaea</i> em Picinguaba. A-C. <i>Cirrhaea saccata</i> ; D-F. <i>C. dependens</i> ; G-I. <i>C. loddigesii</i> .	69

Figura 29: <i>Stanhopea lietzeii</i> . A. Hábito; B-C. Extremos de variação de coloração observados na população da Serra do Japi; D-E. Polinização por <i>Eufriesea aff. pulchra</i> .	73
Figura 30: Efeito da desidratação do polinário de <i>Stanhopea lietzeii</i> no tamanho das polínias.	74
Figura 31: A-F. Seqüência do processo de polinização em <i>Stanhopea insignis</i> , por <i>Eufriesea purpurata</i> .	76
Figura 32: <i>Stanhopea insignis</i> . A-B. Variação de coloração na população; C-F. Processo de polinização por <i>Eufriesea purpurata</i> .	77
Figura 33: Efeito da desidratação do polinário de <i>Stanhopea insignis</i> no tamanho das polínias.	78
Figura 34: Número de frutos formados para cada tratamento em <i>Epidendrum secundum</i> .	98
Figura 35: Número de frutos formados por tratamento em <i>Polystachya estrellensis</i> e <i>Polystachya concreta</i> .	102
Figura 36: Número de frutos formados por tratamento em <i>Psilochilus modestus</i> .	104
Figura 37: Número de frutos formados para cada tratamento em <i>Stanhopea lietzeii</i> e <i>Stanhopea insignis</i> .	107
Figura 38: Taxa de frutificação em condições naturais das espécies investigadas, na Serra do Japi e em Picinguaba.	108
Tabela 1: Polinizadores e número de visitas realizadas por espécie de lepidóptero em <i>Epidendrum secundum</i> na Serra do Japi.	52
Tabela 2: Polinizadores e número de visitas realizadas por espécie de lepidóptero em <i>Epidendrum secundum</i> na região de Picinguaba.	53
Tabela 3: Visitantes florais de <i>Polystachya estrellensis</i> na Serra do Japi.	57
Tabela 4: Visitantes florais de <i>Polystachya estrellensis</i> em Picinguaba.	60
Tabela 5: Visitantes florais de <i>Polystachya concreta</i> em Picinguaba.	60

Tabela 6: Relação dos polinizadores associados com o tipo de recompensa floral em <i>Psilochilus modestus</i> , na Serra do Japi e em Picinguaba.	66
Tabela 7: Composição química da fragrância floral de <i>Epidendrum secundum</i> .	84
Tabela 8: Composição química da fragrância floral de <i>Polystachya estrellensis</i> .	86
Tabela 9: Composição química da fragrância floral de <i>Psilochilus modestus</i> .	87
Tabela 10: Composição química da fragrância floral de <i>Cirrhaea dependens</i> .	89
Tabela 11: Composição química da fragrância floral de <i>Stanhopea lietzei</i> .	91
Tabela 12: Composição química da fragrância floral de <i>Stanhopea insignis</i> .	93
Tabela 13: Tratamentos realizados em <i>Epidendrum secundum</i> na Serra do Japi.	97
Tabela 14: Tratamentos realizados em <i>Epidendrum secundum</i> na região de Picinguaba.	97
Tabela 15: Cruzamentos interespecíficos com <i>Epidendrum secundum</i> .	99
Tabela 16: Tratamentos realizados em <i>Polystachya estrellensis</i> na Serra do Japi.	100
Tabela 17: Tratamentos realizados em <i>Polystachya concreta</i> na região de Picinguaba.	101
Tabela 18: Tratamentos realizados em <i>Psilochilus modestus</i> na Serra do Japi.	103
Tabela 19: Tratamentos realizados em <i>Psilochilus modestus</i> na região de Picinguaba.	104
Tabela 20: Tratamentos realizados em <i>Cirrhaea dependens</i> na Serra do Japi.	105

Tabela 21: Tratamentos realizados em <i>Stanhopea lietzei</i> na Serra do Japi.	106
Tabela 22: Tratamentos realizados em <i>Stanhopea insignis</i> na região de Picinguaba.	107
Tabela 23: Sucesso reprodutivo das espécies investigadas, na Serra do Japi e em Picinguaba.	116

RESUMO

Foram estudadas a biologia reprodutiva e morfologia floral de quatro espécies de Orchidaceae: *Cirrhaea dependens* Rchb. f., *Epidendrum secundum* Jacq., *Polystachya estrellensis* Rchb. f. e *Psilochilus modestus* Barb. Rodr. que ocorrem tanto em matas de altitude do interior do Estado de São Paulo (Serra do Japi, Jundiá e Pedra Grande, Atibaia) quanto em matas superúmidas da planície litorânea (Picinguaba, Ubatuba). Na região de Picinguaba foi investigada ainda a biologia reprodutiva de *Polystachya concreta* (Jacq.) Garay & H.R. Sweet, e a especificidade dos agentes polinizadores de mais duas espécies do gênero *Cirrhaea*, *C. saccata* Lindl. e *C. loddigesii* Lindl. Com a presença de uma espécie distinta de *Stanhopea* para cada ambiente, sendo que *Stanhopea lietzei* (Regel) Schltr. ocorre na Serra do Japi e *S. insignis* Frost ex Hook. em Picinguaba, foram também realizados estudos comparativos entre as duas espécies. As espécies que oferecem pólen (*P. modestus*), pseudopólen (*P. estrellensis*) e néctar (*E. secundum* e *P. modestus*) são mais generalistas em relação aos agentes polinizadores. Das espécies que oferecem óleos voláteis como recompensa, ambas as espécies de *Stanhopea* apresentam alta especificidade, por outro lado, *C. dependens* e *C. saccata* apresentam baixo grau de especificidade. O grupo de polinizadores das espécies investigadas tende a ser o mesmo em ambos os ambientes. Entretanto, diferenças marcantes existem quando comparamos os microhabitats onde as plantas ocorrem. Exceto para *C. dependens*, todas as espécies são autocompatíveis, e algumas exibem mecanismos prevenindo autopolinização. Os tratamentos indicam que, em condições experimentais, as espécies produzem mais frutos em relação às populações controle. Desse modo, a abundância e frequência dos polinizadores nas flores é fator limitante no sucesso reprodutivo das espécies, exceto para *P. estrellensis*, na qual a maioria das flores são cleistógamas. A fragrância das flores é muito importante na especificidade dos agentes polinizadores das Stanhopeinae. Para as demais espécies, a fragrância atua como um atrativo secundário no processo de polinização. Apesar de terem sido observadas diferenças na morfologia das flores de ambos os ambientes, estas diferenças não são relevantes para a polinização das espécies. A ocorrência de *E. secundum* na região de Picinguaba está relacionada à ação antrópica, tornado-a simpátrica com *E. fulgens* Brongn. Nesta área, é observada a presença de diversas formas híbridas entre as duas espécies.

ABSTRACT

The floral morphology and pollination biology of four orchid species: *Cirrhaea dependens* Rchb. f., *Epidendrum secundum* Jacq., *Polystachya estrellensis* Rchb. f. and *Psilochilus modestus* Barb. Rodr., were studied. These species occur either in montane mesophytic forests (Serra do Japi, Jundiá and Pedra Grande, Atibaia) or in Atlantic Rain Forests *sensu stricto* (Picinguaba, Ubatuba) as well. In Picinguaba, the floral and reproductive biology (including pollinator specificity) of other three orchid species: *Polystachya concreta* (Jacq.) Garay & H.R. Sweet, *Cirrhaea saccata* Lindl. and *Cirrhaea loddigesii* Lindl., was also studied. Comparative studies between two *Stanhopea* species were also performed. *Stanhopea lietzei* (Regel) Schltr. occurring in Serra do Japi and *S. insignis* Frost ex Hook., in Picinguaba. Orchid species offering pollen (*P. modestus*), pseudopollen (*P. estrellensis*) or nectar (*E. secundum* and *P. modestus*) as rewards for pollinators, have quite generalistic pollen vectors. Among the orchid species which offer aromatic compounds as a reward, the two *Stanhopea* spp. showed quite specific pollination systems. In comparison, both *Cirrhaea dependens* and *C. saccata* showed much lower pollinator specificity. The groups of pollinators, as a whole, tend to remain the same in both principal study areas. With the exception of *C. dependens*, all the species studied are self-compatible, some exhibiting mechanisms to avoid non automatic self-pollination. Plants of all species studied, except *P. estrellensis*, showed an increased fruit set than those at control, free-living populations. Therefore, the abundance and frequency of pollinators is the limiting-factor for reproductive success, except for *P. estrellensis*. Most flowers of the last-named species are cleistogamous. Whereas, flower fragrances are very important for the pollinator-specificity in the Stanhopeinae, they play a secondary role in the other species studied. Flower morphological variations between populations are not relevant in the context of pollination biology. The antropogenic habitat perturbation seems to be responsible for the occurrence of *E. secundum* in Picinguaba, where it is sympatric with *E. fulgens* Brongn. Various hybrid forms between these species were recorded.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae abrange cerca de 7% das angiospermas, sendo considerada como uma das maiores famílias deste grupo (Dressler 1993). Segundo Atwood (1986), a família apresenta mais de 19.000 espécies distribuídas por todo o mundo, sendo na maioria epífitas.

As flores de Orchidaceae são geralmente zigomorfas, possuindo três sépalas, três pétalas, sendo que a mediana apresenta forma diferenciada, muitas vezes formando um labelo. Os órgãos reprodutivos são fundidos em uma estrutura, a coluna, com uma ou mais raramente duas ou três anteras e uma região estigmática, formada pela fusão dos três estigmas (Dressler 1981). Em muitas Orchidaceae, a antera apresenta a forma de um capuz (capuz da antera), que envolve as polínias, e o estipe, quando presente (Pijl & Dodson 1966). Apesar da construção floral das orquídeas ser uniforme em número e arranjo das partes, há variação em detalhes estruturais, na forma e tamanho dos componentes básicos, levando ao surgimento de estruturas muito complexas (Pijl & Dodson 1966). Os grãos de pólen, na maioria das Orchidaceae, são reunidos em duas ou mais polínias. As polínias em conjunto com o viscidio (e estipe em alguns gêneros), que é a extremidade adesiva responsável pela fixação ao polinizador, formam o polinário. O polinário é separado do estigma por uma região denominada rostelo (Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981, 1993).

A importância dos polinizadores na evolução da família Orchidaceae é refletida na complexidade das características dos mecanismos de polinização (Garay 1960, Pijl & Dodson 1966). As relações entre orquídeas e seus polinizadores têm resultado em grande diversidade da morfologia floral, e também na especialização de seus polinizadores (Dressler 1981).

A especialização floral para polinizadores específicos e a conseqüente diminuição da diversidade dos polinizadores, pode propiciar uma redução do custo de energia da planta no sucesso da transferência de pólen entre indivíduos (Herrera 1989). Uma conseqüência dessa especialização floral é a redução do número de espécies de polinizadores visitando a flor, o que, inevitavelmente, reduz o número de visitas florais por espécies não especializadas,

podendo garantir a respectiva eficiência na polinização (Tremblay 1992). A redução na diversidade de polinizadores, e a adaptação morfológica das flores para polinizadores específicos, reduzem o gasto com a produção de gametas (Pijl & Dodson 1966, Tremblay 1992). Herrera (1989) relata que, na família Orchidaceae, a abundância de polinizadores não especializados raramente é eficiente no processo de polinização.

De modo geral, um grupo que apresente uma diversidade muito grande de agentes polinizadores tem menos oportunidade de desenvolver barreiras prevenindo hibridação (Pijl & Dodson 1966). Em Orchidaceae, hibridação é evitada principalmente devido à existência de barreiras de pré-polinização. Estas barreiras podem ser mecânicas pela presença de mecanismos na própria flor, ecológicas através da separação temporal da floração ou pela presença de polinizadores específicos, e até mesmo barreiras geográficas (Dodson 1962, 1969, Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981, Paulus & Gack 1990). Quando estas barreiras são quebradas, a formação de híbridos pode ocorrer (Dodson 1962, 1969, Pijl & Dodson 1966, Schrenk 1978, Romero & Carnevali 1990, 1991a, 1991b, 1992).

Muitas espécies em Orchidaceae apresentam uma grande distribuição geográfica e não necessariamente possuem o mesmo espectro de agentes polinizadores em cada local de ocorrência (Pijl & Dodson 1966, Tremblay 1992). Exemplos de espécies de Orchidaceae com ampla distribuição geográfica podem ser encontradas no Estado de São Paulo. Algumas destas espécies pertencem a diferentes grupos dentro da família. Elas podem ser encontradas ocupando tanto áreas de matas semidecíduas de altitude do interior, como áreas de mata superúmida da planície litorânea do Estado de São Paulo. Dentre as espécies que ocorrem em ambos os ambientes estão *Epidendrum secundum* Jacq., *Polystachya estrellensis* Rchb. f., *Psilochilus modestus* Barb. Rodr. e *Cirrhaea dependens* Rchb. f.. Cada uma destas espécies representa um nível hierárquico dentro da subfamília Epidendroideae (*sensu* Dressler 1993). Em cada região de estudo é possível encontrar uma espécie do gênero *Stanhopea*, sendo que a espécie que ocorre em uma região não é encontrada na outra e vice-versa. *Stanhopea lietzei* (Regel) Schltr. ocorre apenas em matas semidecíduas de altitude e pode ser encontrada na Serra do Japi e *Stanhopea insignis* Frost ex Hook. ocorre exclusivamente em matas de planície litorânea e pode ser encontrada em Picinguaba. Como *Stanhopea* é considerado um dos gêneros mais especializados dentro da

subfamília Epidendroideae, com relação a sua morfologia e sistema de polinização (Pijl & Dodson 1966, Dressler 1968) foi comparado o sistema reprodutivo e especificidade dos agentes polinizadores de ambas as espécies. Em Picinguaba foram ainda estudados o sistema reprodutivo e polinização de *Polystachya concreta* (Jacq.) Garay & H.R. Sweet, e a especificidade dos agentes polinizadores de *Cirrhaea saccata* Lindl. e *C. loddigesii* Lindl..

Epidendroideae é a maior subfamília entre as Orchidaceae e ultimamente está dividida em dois grandes grupos: as Epidendroideae basais (“lower epidendroids”) compreendem um grupo cujas polínias possuem pólen livre e anteras eretas ou suberetas, onde se inclui o gênero *Psilochilus*. As demais Epidendroideae (“high epidendroids”) apresentam polínias revestidas por viscina e antera incumbente (Cameron *et al.* 1999). Dressler (1993) reconhece dois clados na subfamília Epidendroideae, baseando-se em caracteres vegetativos e florais: “cymbidioid phylad”, no qual se inclui a subtribo Stanhopeinae, e “epidendroid phylad”. O “epidendroid phylad” é dividido em dois grandes grupos separados principalmente pelo tipo de velame, número de polínias e forma dos corpos de sílica das células: Epidendroideae I é composto principalmente de gêneros americanos, como por exemplo *Epidendrum*, e Epidendroideae II que é representado na sua grande maioria por gêneros asiáticos, porém, algumas vezes incluindo gêneros pantropicais, como *Polystachya*.

O gênero *Epidendrum* L. inclui aproximadamente 1000 espécies e distribui-se por toda América tropical e Argentina (Morrison 1997). *Epidendrum secundum* Jacq. (subfamília Epidendroideae, tribo Epidendreae, subtribo Laeliinae) é uma espécie distribuída entre a América Central e do Sul, comumente encontrada em ambientes alterados, ao longo de rodovias (Dunsterville 1979, Dressler 1989). Esta espécie pertence a um complexo de aproximadamente doze espécies denominado “complexo *Epidendrum secundum*”, um grupo taxonomicamente muito confuso (Dunsterville 1979, Dressler 1981, 1989, Hágsater 1993). Dodson & Frymire (1961) observaram *Urbanus proteus* (Hesperiidae) como polinizador de *E. secundum* na América Central. Dodson (1962) indicou que espécies de borboletas da família Hesperiidae são co-polinizadores de *E. secundum*, e os verdadeiros polinizadores seriam beija-flores. Pijl & Dodson (1966) relataram uma espécie não identificada de Hesperiidae e *Papilio polyxemes* (Papilionidae) como polinizadores de *E.*

secundum na Costa Rica. Algumas espécies de *Epidendrum* do “complexo *Epidendrum secundum*”, *E. ibaguense* e *E. radicans*, não produzem néctar e mimetizam espécies de *Lantana* e *Asclepias*, sendo polinizadas por engano (Boyden 1980, Bierzychudeck 1981a).

Polystachya Hook. é um gênero pantropical com aproximadamente 150 espécies (Morrison 1997). *Polystachya estrellensis* Rchb. f. (subfamília Epidendroideae, tribo Polystachyeae, subtribo Polystachyinae) é uma espécie de ampla distribuição, sendo encontrada em ambientes bastante diversos (Pabst 1950). Algumas espécies de *Polystachya* são polinizadas por pequenas abelhas que coletam pseudopólen nas flores (Dressler 1993). *P. concreta* (Jacq.) Garay & H.R. Sweet, apresenta distribuição pantropical, sendo polinizada por *Dialictus aff. creberrimus* (Halictidae), na Flórida (Ackerman 1995). Pseudopólen é derivado da fragmentação de tricomas (Pijl & Dodson 1966), estando presente em outros grupos vegetais (Simpson & Neff 1981) e em outros gêneros de orquídeas (Pijl & Dodson 1966). Ainda não é conhecido se o pseudopólen é nutritivo para as abelhas (Pijl & Dodson 1966, Simpson & Neff 1981, Ackerman 1986).

Psilochilus Barb. Rodr. possui duas espécies terrestres encontradas principalmente nas florestas úmidas da Mata Atlântica do sudeste do Brasil (Miller *et al.* 1996). Este gênero pertence à tribo Triphoreae, um grupo basal na subfamília Epidendroideae (Dressler 1993, Cameron *et al.* 1999). A posição taxonômica de *Psilochilus* é bastante controversa. De um modo geral, o gênero apresenta características das Orchidoideae, mas suas células subsidiárias indicam relação com as Epidendroideae e até mesmo Vandoideae (Dressler 1981). Ackerman (1995) sugere que as espécies do gênero *Psilochilus* apresentem flores cleistógamas. No entanto, não existem observações de campo ou evidências experimentais para comprovar essa característica. Para *Psilochilus modestus* Barb. Rodr. (subfamília Epidendroideae, tribo Triphoreae) não existem estudos sobre seu sistema reprodutivo.

A subtribo Stanhopeinae apresenta 22 gêneros distribuídos na América tropical, dentre os quais incluem-se *Cirrhaea* e *Stanhopea* (Dressler 1993). Flores das espécies de orquídeas das subtribos Catasetinae, Stanhopeinae e algumas espécies de Zygopetalinae, Lycastinae, Maxillariinae, Ornithocephalinae e Oncidiinae não produzem néctar, e são visitadas exclusivamente por machos de abelhas da tribo Euglossini. Estas abelhas são primariamente atraídas até a flor por substâncias aromáticas voláteis, principalmente

terpenóides e ácidos aromáticos, totalizando aproximadamente 60 compostos conhecidos (Braga 1976, Williams & Dodson 1972). A relação das abelhas da tribo Euglossini na polinização de espécies de orquídeas é conhecida (Dodson & Frymire 1961, Vogel 1963, Pijl & Dodson 1966, Dressler 1967, 1968, Braga 1976, Ackerman 1983a, 1989b). Conforme a composição da substância odorífera, ocorrerá a atração de uma a várias espécies de abelhas Euglossini. Esta especificidade tem grande importância nos mecanismos de isolamento e especiação das orquídeas (Williams & Dodson 1972). As abelhas Euglossini são capazes de percorrer grandes distâncias, o que permite uma dispersão muito efetiva do pólen das espécies que estas abelhas polinizam (Janzen 1971, Williams & Dodson 1972).

O gênero *Cirrhaea* L. possui 6 espécies distribuídas na América do Sul (Miller *et al.* 1996). Pijl & Dodson (1966) indicam que o gênero apresenta um tipo de polinização incomum, no qual espécies dos gêneros *Euplusia* e *Euglossa* (Euglossini) pousam no labelo ereto e tocam o viscidio com as patas, local onde fica aderido o polinário. Hoehne (1933) relata a polinização em *Cirrhaea* sp. por *Euplusia violacea* e *Euglossa mandibularis*. Kinsey (1982, *apud* R. L. Dressler com. pess.) aponta *Eufriesea venusta* como polinizador de *Cirrhaea viridipurpurea* Lindl.. Para *Cirrhaea dependens* Rchb. f., *C. saccata* Lindl. e *C. loddigesii* Lindl. (subfamília Epidendroideae, tribo Cymbidieae, subtribo Stanhopeinae), não existem dados a respeito da biologia reprodutiva e polinização das espécies.

Stanhopea Frost ex Hook. é um gênero com cerca de 40 espécies distribuídas desde o México até o Brasil (Morrison 1997). Muitas espécies do gênero são conhecidas quanto ao seu sistema de polinização (Pijl & Dodson 1966, Dressler 1968, Braga 1976), porém, para *Stanhopea lietzei* (Regel) Schltr. e *Stanhopea insignis* Frost ex Hook. (subfamília Epidendroideae, tribo Cymbidieae, subtribo Stanhopeinae) não existem estudos. Ambas as espécies apresentam o labelo dividido em hipoquilo, mesoquilo e epiquilo. O hipoquilo é a porção basal do labelo, que encontra-se adjacente à coluna da flor. O mesoquilo é a porção mediana do labelo, que apresenta duas projeções laterais, também chamadas de “chifres” do labelo. O epiquilo é a porção terminal do labelo (Dressler 1981, 1993). Estas três divisões do labelo, bem como a forma dos osmóforos, caracterizam o “complexo *insignis*”, o grupo mais evoluído no gênero *Stanhopea* (Curry *et al.* 1991).

O fato de tais espécies de Epidendroideae ocorrerem em matas superúmidas da planície litorânea e em matas semidecíduas de altitude do interior do Estado de São Paulo levou-nos a formular algumas perguntas:

A fenologia das plantas é mantida quando comparamos os ambientes?

Há variação morfológica nas flores de ambos os ambientes? As possíveis variações podem ser relacionadas ao ambiente ou a conduta dos agentes polinizadores?

Os polinizadores são os mesmos em ambientes distintos?

A especificidade dos agentes polinizadores está relacionada com o tipo de recompensa floral? O tipo de ambiente e a morfologia floral apresenta alguma relação com o grau de especificidade?

Existe alguma relação direta ou indireta entre a fragrância emitida pelas flores e a atração dos agentes polinizadores?

O gênero *Stanhopea* é considerado muito específico quanto a número de agentes polinizadores por espécie. Em *Stanhopea lietzei* e *S. insignis*, essa especificidade também é observada? Que fatores garantem a especificidade para cada uma das espécies?

Existem mecanismos prevenindo autopolinização para as espécies estudadas? Esses mecanismos têm influência na taxa de frutificação das espécies?

A diversidade, a conduta e a frequência dos polinizadores nas flores em cada ambiente influenciam no sucesso reprodutivo de cada espécie?

Quais fatores podem favorecer o isolamento reprodutivo das espécies estudadas em ambos os ambientes?

ÁREAS DE ESTUDO E MÉTODOS

As espécies foram estudadas em matas superúmidas da planície litorânea de Picinguaba (Ubatuba-SP) e em matas semidecíduas de altitude do interior do Estado de São Paulo, na Serra do Japi (Jundiaí) e Pedra Grande (Atibaia) (Fig. 1).

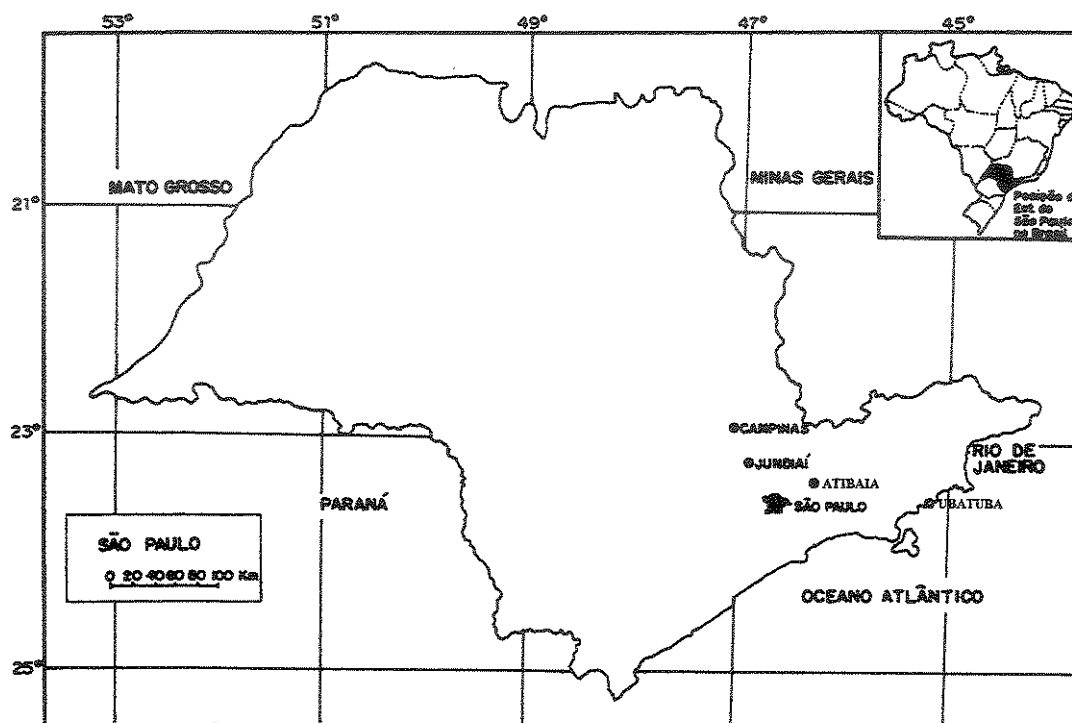


Fig. 1. Localização das regiões de estudo no Estado de São Paulo.

A Serra do Japi é caracterizada por altitudes que variam entre 700 e 1300 m, o que condiciona temperaturas médias anuais entre 15,7°C e 19,2°C, nas partes mais altas e mais baixas respectivamente. Pode-se observar um gradiente negativo de precipitação anual, à medida que se desloca no sentido São Paulo - Campinas. Essa variação vai de 1907 mm anuais, no município de Cajamar, para cerca de 1500 mm a nordeste e 1367 mm a noroeste e, o que é mais significativo, corresponde a 226 dias de chuvas anuais em Cajamar que decrescem para aproximadamente 95 dias em Jundiaí. Essas chuvas, concentradas principalmente no período de primavera-verão, são causadas, em cerca de 70% dos casos,

pela atividade da frente polar atlântica, com incidência de ventos sul a montante do Japi. Esta região apresenta a ocorrência de florestas mesofíticas semidecíduas, florestas semidecíduas de altitude (Fig. 2A) e esparsos enclaves de lageados rochosos. Ao longo das florestas mesofíticas semidecíduas ocorre um variado número de espécies que podem ser encontradas em regiões de Mata Atlântica, isto sucedendo particularmente com espécies que demonstram preferência pelas regiões mais altas da Serra do Japi. Os lageados rochosos têm composição florística própria, sem influência das florestas da região, o que foi interpretado como sendo relictos de climas mais secos (Morellato 1992). Observações próprias revelaram que na Serra do Japi, em uma área correspondente a 354 Km², a família Orchidaceae está representada por mais de 100 espécies distribuídas em 49 gêneros.

A Pedra Grande, no município de Atibaia, está situada a aproximadamente 30 Km de Jundiá, sua altitude máxima alcança cerca de 1600 m e apresenta clima semelhante ao da Serra do Japi. Na região da Pedra Grande e matas próximas, em uma área de aproximadamente 30 Km², a família Orchidaceae está representada por mais de 30 espécies distribuídas em aproximadamente 18 gêneros.

Um exemplo de mata pluvial superúmida é o que ocorre na planície de Picinguaba, que apresenta pouca variação em seu relevo, tendo como ponto mais alto o Morro do Corsário com aproximadamente 50 m de altitude. O clima é quente e superúmido, com temperaturas médias superiores a 18°C (Nimer 1977). Estudos realizados pela Estação Experimental de Ubatuba constatarem que, no período observado entre o ano de 1961 a 1990, ocorreu uma diminuição da pluviosidade apenas no inverno, enquanto os verões foram muito úmidos. Neste período, as médias anuais de precipitação pluviométrica foram de 2624 mm, e as médias mensais de temperatura foram de 21,2°C, com época mais quente e chuvosa entre dezembro e março (médias de 24,1°C e 331,7 mm de precipitação), e a mais fria e seca entre abril e agosto (médias de 18,1°C e 97,6 mm de precipitação). A restinga, também designada como planície litorânea, de acordo com Suguio & Martin (1990), apresenta árvores altas (15-20 m) até nas proximidades da praia. O solo arenoso e úmido encontra-se geralmente coberto por uma camada de serapilheira, sendo em diversas áreas sazonalmente inundado. Em outras áreas a inundação pode ser permanente, ocorrendo então os chamados cachetais (formações com predominância de *Tabebuia cassinoides* DC.). Ao longo dos rios,

algumas áreas estão sujeitas a inundações diárias, os manguesais (Fig. 2B), conforme o movimento das marés (Moraes 1997). Na região da planície de Picinguaba foi feito um levantamento das Orchidaceae, tendo sido registradas 77 espécies distribuídas em 45 gêneros (Ribeiro 1992).

Excursões ao campo foram realizadas em ambos os ambientes no decorrer do trabalho para observação da fenologia das espécies. As visitas foram intensificadas no período de floração de cada espécie, para realização das observações e obtenção de registro fotográfico do processo de polinização.

A descrição morfológica, bem como a confecção dos desenhos das plantas de cada espécie, foram realizados a partir de material fresco, coletado no campo ou em cultivo em casa de vegetação. As flores e peças florais foram desenhadas com o auxílio de estereomicroscópio acoplado à câmara clara.

A localização dos osmóforos foi realizada com flores frescas mergulhadas em solução de vermelho neutro, em uma diluição de 1:10.000 (Vogel 1962).

O estudo anatômico das espécies foi realizado com material coletado no campo e fixado em álcool 70%. A região da flor a ser estudada foi emblocada em historresina. Os cortes foram obtidos com o auxílio de micrótomo rotativo, distendidos sobre a lâmina com água destilada e secos em estufa por 48 horas. Em seguida, os cortes foram corados com azul de toluidina (solução alcoólica) e secos em estufa por mais 48 horas. As lâminas foram, em seguida, cobertas com resina e laminula, e secas à temperatura ambiente. Com as espécies *Stanhopea lietzei* e *S. insignis*, os estudos anatômicos foram realizados com material fresco cortado com auxílio de um micrótomo de congelamento. Os cortes foram corados com safranina e azul de astra ou com azul de toluidina (solução aquosa), montados e fotografados no mesmo dia.

As eletromicrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura foram realizadas com material desidratado em sílica-gel ou fixado em álcool 70% e desidratado pelo processo de ponto crítico. A metalização do material foi realizada com ouro-paládium durante um período que variou entre 120 a 150 segundos, sob uma corrente de 40 mA. As



Figura 2: A. Região de mata semidecídua de altitude na Serra do Japi; B. Vista parcial do mangue na planície litorânea de Picinguaba.

estruturas foram observadas e micrografadas em microscópio eletrônico de varredura sob uma tensão de 10 kv.

Para análise dos voláteis, foram coletados óleos florais das espécies em estudo utilizando a técnica de headspace dinâmico, usando como adsorvente fibras porapak-Q (Silva *et al.* 1999). A coleta foi realizada durante um período que variou entre 3 e 21 horas e, em seguida, os voláteis foram extraídos com diclorometano p.A. A análise dos aromas florais foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM). A identificação dos constituintes das fragrâncias florais foram realizadas por comparação do espectro de massas obtido em cada substância com espectros de massas encontrados na biblioteca Wiley, e por comparação do índice de retenção calculado com o índice de retenção da literatura (Adams 1995). Os índices de retenção foram calculados a partir da coinjeção da fragrância floral com a mistura padrão de hidrocarbonetos, C₁₁-C₃₀ e com a aplicação da equação de Dool & Kratz (1963). Foi realizada ainda, a coinjeção da fragrância floral com padrões sintéticos comerciais, para confirmar a presença destes padrões na amostra.

Em *Epidendrum secundum*, também foram realizados testes para detecção de alcalóides. Flores de *E. secundum* foram submetidos a estes testes, pois, alcalóides pirrolizidínicos são importantes na atração de lepidópteros às flores de *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (DeVries & Stiles 1990). Para a análise foram utilizadas flores de várias idades, coletadas no campo e congeladas. Os testes realizados foram o de Dragendorff (Munur & Machebaueuf 1951) e Meyer (Abish & Reichstein 1960), indicados para análise de alcalóides totais.

A observação do processo de polinização em *Cirrhaea dependens* foi realizado, na Serra do Japi, entre 05 a 07/12/1997 e 17 a 24/12/1998, e totalizou 36 horas. O período de observação estendeu-se das 07:30 h às 16:30 h.

Para observação do processo de polinização em *Epidendrum secundum*, em matas do interior do Estado de São Paulo (Serra do Japi - Jundiá e Pedra Grande - Atibaia), foram realizadas 43 horas, distribuídas entre os dias 20 a 28/03/1998, 03 a 17/04/1998, 29 a 31/07/1998, 21 a 23/11/1998 e 02 a 04/12/1999. Em matas da planície litorânea do Estado

de São Paulo (Picinguaba), as observações ocorreram nos dias 21 a 26/07/1998, 23 a 25/04/1999 e 09 a 13/11/1999, totalizando 37 horas. O período de observação estendeu-se das 08:30 h às 16:30 h.

A observação do processo de polinização em *Polystachya estrellensis* na Serra do Japi, ocorreu entre os dias 17 a 19/12/1998, 18 a 25/01/1999, 21 a 23/02/1999 e 07 a 09/01/2000, totalizando 42 horas. Em Picinguaba foram realizadas observações de 11 a 13/01/2000, totalizando 16 horas. Para ambos os ambientes, o período de observação estendeu-se das 07:30 h às 17:30 h.

Para verificação do processo de polinização de *Polystachya concreta* em Picinguaba, foram realizadas 43 horas de observação, distribuídas entre os dias 14 a 16/01/1999, 03 a 08/02/1999 e 25 a 26/02/2000. O período de observação estendeu-se das 07:30 h às 17:00 h.

Para observação do processo de polinização de *Psilochilus modestus* na Serra do Japi, foram realizadas 38 horas de observação, distribuídas entre os dias 15 a 17/01/1998, 17 a 20/02/1998, 18 a 20/02/1999, 02 a 03/03/1999 e 20/02/2000. Em Picinguaba foram realizadas 36 horas de observação, distribuídas entre os dias 06/03/1998, 12 a 13/01/1999, 25 a 26/01/2000 e 23 a 24/02/2000. Para ambos os ambientes, o período de observação estendeu-se desde a antese das flores (aproximadamente 07:30 h) até 18:00 h.

Para verificação do processo de polinização em *Stanhopea lietzei* na Serra do Japi, foram realizadas 39 horas de observação, entre os dias 23 a 27/11/1998, 22 a 30/11/1999 e 30/01 a 15/02/2000. As observações ocorreram entre 09:00 h e 16:00 h.

As observações em *Stanhopea insignis* em Picinguaba foram realizadas entre os dias 22 a 26/02/2000, somando um total de 41 horas, sendo realizadas entre 08:30 h e 16:30 h.

A administração de iscas-odores foi realizada no período de floração das espécies de Stanhopeinae para captura dos machos de abelhas da tribo Euglossini com polinários das espécies estudadas, e adquirir dados sobre a preferência por fragrância dessas abelhas. As substâncias usadas como iscas-odores foram: vanilina, eucaliptol, eugenol e salicilato de metila. Essas substâncias têm sido frequentemente utilizadas em estudos envolvendo abelhas

Euglossini em outras regiões (Ackerman 1983a, Oliveira & Campos 1996, Peruquetti *et al.* 1999).

Os tratamentos para verificação do sistema reprodutivo foram realizados em casa de vegetação para *Epidendrum secundum*, *Polystachya estrellensis* e *P. concreta*. Devido à baixa produção de flores por indivíduo, para as demais espécies os tratamentos foram realizados no campo. Para cada espécie, em cada ambiente, os tratamentos realizados foram: autopolinização espontânea, autopolinização manual, emasculação e polinização cruzada. O número de flores utilizadas para cada tratamentos variou, dependendo do número de flores disponíveis para cada espécie. O número de flores utilizadas por tratamento estão demonstrados de maneira detalhada para cada espécie no item “sistema reprodutivo”.

A taxa de frutificação para cada espécie em condições naturais foi investigado, quando possível, quando os frutos se apresentavam deiscentes. A contagem variou, dependendo do número de flores produzidas para cada espécie. O número amostrado, bem como os respectivos meses em que as contagens foram realizadas encontram-se detalhados no item “taxa de frutificação em condições naturais”.

O material-testemunho botânico está depositado no herbário UEC, na Universidade Estadual de Campinas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. HÁBITO, FENOLOGIA E MORFOLOGIA FLORAL

1.1. *Epidendrum secundum* Jacq.

Epidendrum secundum ocorre preferencialmente como rupícula ou terrestre em áreas abertas de matas semidecíduas do interior do Estado de São Paulo, onde forma densas populações. Em Picinguaba ocorre como terrestre em áreas perturbadas à beira da rodovia Prestes Maia, ou raramente como epífita no dossel da mata, onde é possível encontrar indivíduos solitários (Ribeiro 1992). Em ambos os ambientes, o tamanho das plantas pode variar. A variação no tamanho das plantas pode estar relacionada principalmente com a intensidade de luz incidente no ambiente. Na Serra do Japi, os indivíduos que ocorrem em afloramentos expostos ao sol pleno florescem com aproximadamente 30 cm de altura. A poucos metros, nestes mesmos afloramentos, indivíduos na borda da mata, em lugares mais sombreados, florescem ao atingir aproximadamente 2 m. Em Picinguaba, os indivíduos só florescem quando ultrapassam a camada densa de *Gleichenia* sp., e podem variar entre 80 cm a 1,80 m de altura.

Em ambos os ambientes, indivíduos de *E. secundum* estão em flor e em diversas fases de frutificação durante o ano todo. Períodos de floração mais intensa podem ser observados no outono e inverno, entre os meses de junho a agosto. Neste período, nas áreas perturbadas em Picinguaba, algumas espécies da família Asteraceae como *Vernonia beyrichii* Less. (Fig. 22F) também estão em plena floração. Os indivíduos de *E. secundum* ocorrem entre os indivíduos de *V. beyrichii* e compartilham os mesmos agentes polinizadores (ver processos de polinização). Quando em cultivo, plantas de *E. secundum* apresentam dois picos mais intensos de floração, um no outono e outro na primavera. Estas mesmas plantas cultivadas não florescem entre os meses de fevereiro e março, período em que boa parte dos frutos formados em condições naturais tornam-se deiscentes. A antese das flores é diurna e após sete dias, em média, entram em processo de fenescência.

E. secundum possui uma única inflorescência terminal que é elevada por um pedúnculo de até 54 cm (Fig. 3A). Frequentemente racemos secundários e brotos desenvolvem-se

lateralmente ao longo do pedúnculo. As flores não são ressupinadas e em geral apresentam coloração rósea (Fig. 4A, B). A sépala dorsal é simetricamente elíptica e mede aproximadamente 14 mm de comprimento por 4 mm de largura. As sépalas laterais são assimetricamente elípticas com suas dimensões aproximadamente iguais às da sépala dorsal. As pétalas são elíptico-lanceoladas e medem aproximadamente 12 mm de comprimento por 3 mm de largura (Fig. 3B, C). As sépalas, pétalas e lobos do labelo são recobertos por escamas (Fig. 5E). A função dessas escamas pode ser a de refletir os raios solares, intensificando a coloração da flor e aumentando a atração visual por parte dos agentes polinizadores (A. A. Cocucci, com. pess.). O labelo trilobado apresenta-se adnato à coluna (Fig. 3E), formando um estreito canal (Fig. 3D). Este canal é um nectário que se estende paralelamente ao ovário. A superfície do nectário é revestida por epiderme com papilas recobertas por uma espessa cutícula, que impede a liberação direta do néctar (Fig. 5A, C; 6B, C). A região mediana do nectário apresenta grandes papilas, e as primeiras camadas de células parecem ser secretoras, possivelmente transferindo o néctar para as papilas (Fig. 6B). Na porção superior do nectário as papilas são menores e as camadas de células subepidérmicas aparentemente não são secretoras (Fig. 6C). A grande calosidade central do labelo, de coloração diferenciada das demais partes da flor (Fig. 4B), não apresenta escamas (Fig. 5F). O capuz da antera mede aproximadamente 1,5 mm de comprimento por 1 mm de largura (Fig. 3F), apresenta coloração esverdeada e sua superfície é recoberta por papilas (Fig. 5B). O polinário possui quatro polínias amarelas unidas a uma caudícula por filamentos de elastoviscina. As duas polínias superiores são de tamanho menor que as inferiores (Fig. 3G). É possível ainda, verificar um número muito grande de escamas recobrendo a caudícula (Fig. 3G; 5D). Essas escamas apresentaram a mesma coloração das polínias, tanto no material vivo como nos cortes anatômicos realizados (Fig. 6A). Em algumas dessas escamas observa-se núcleos, semelhantes aos encontrados nos grãos de pólen, nas polínias. A região adesiva do viscidio prolonga-se por toda a região ventral do polinário, sob a caudícula.

Epidendrum secundum apresenta ampla variação morfológica, refletindo diferenças marcantes na forma da calosidade do labelo e coloração das flores (Dressler 1989, Dunsterville 1979). No Estado de São Paulo *E. secundum* encontra-se amplamente

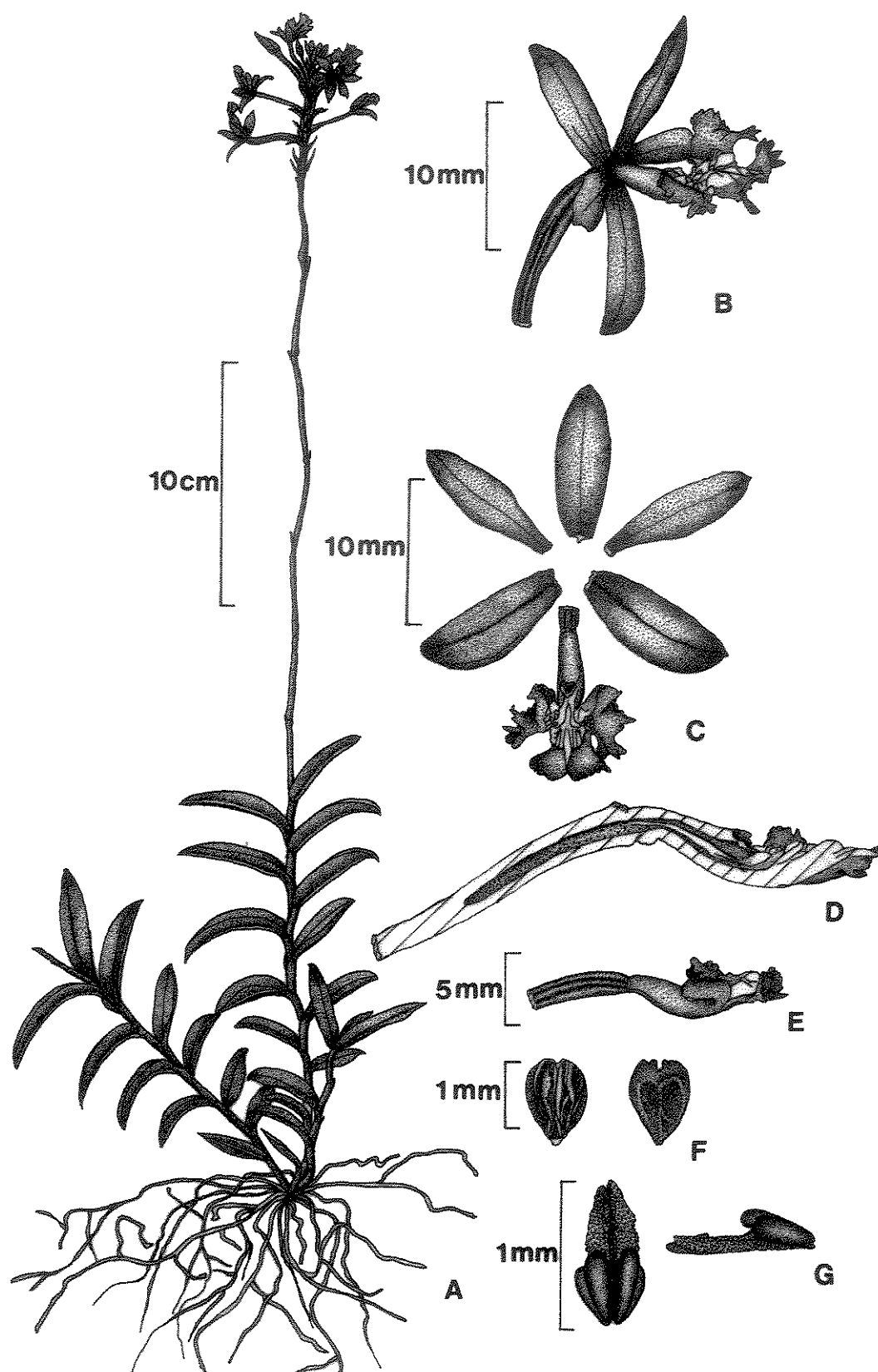


Figura 3: *Epidendrum secundum*. A. Hábito; B. Flor em vista lateral; C. Perianto; D. Flor em corte longitudinal; E. Labelo e coluna em vista lateral; F. Capuz da antera em vistas ventral e dorsal; G. Polinário em vistas dorsal e lateral. E.R. Pansarin 190. Desenho E. R. Pansarin.

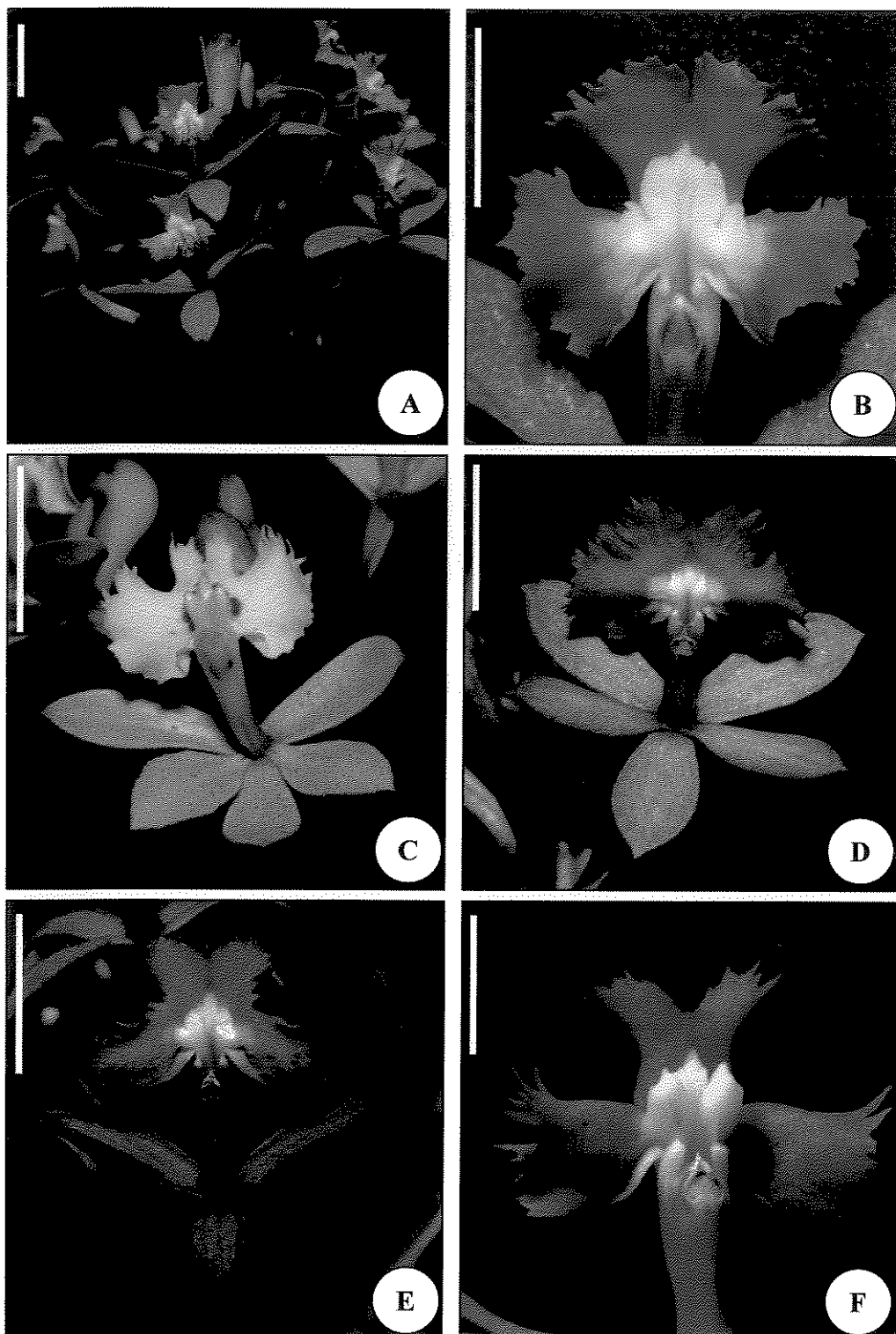


Figura 4: A-B. *Epidendrum secundum*. A. Inflorescência; B. Detalhe do labelo. Note a larga calosidade central característica da espécie; C. Flor de *Epidendrum fulgens*; D. Flor de *Epidendrum denticulatum*; E. Flor de um dos indivíduos encontrados na região de Picinguaba, provavelmente um híbrido entre *E. secundum* e *E. fulgens*; F. Detalhe do labelo de uma das formas híbridas entre *E. fulgens* e *E. secundum*. Note as características das calosidades muito semelhantes a *E. fulgens*. Barras de escala: A = 1 cm, B = 5 mm, C-E = 1 cm, F = 5 mm. A-B. E.R. Pansarin 190, C. 712, D. 479, E. 713, F. 210.

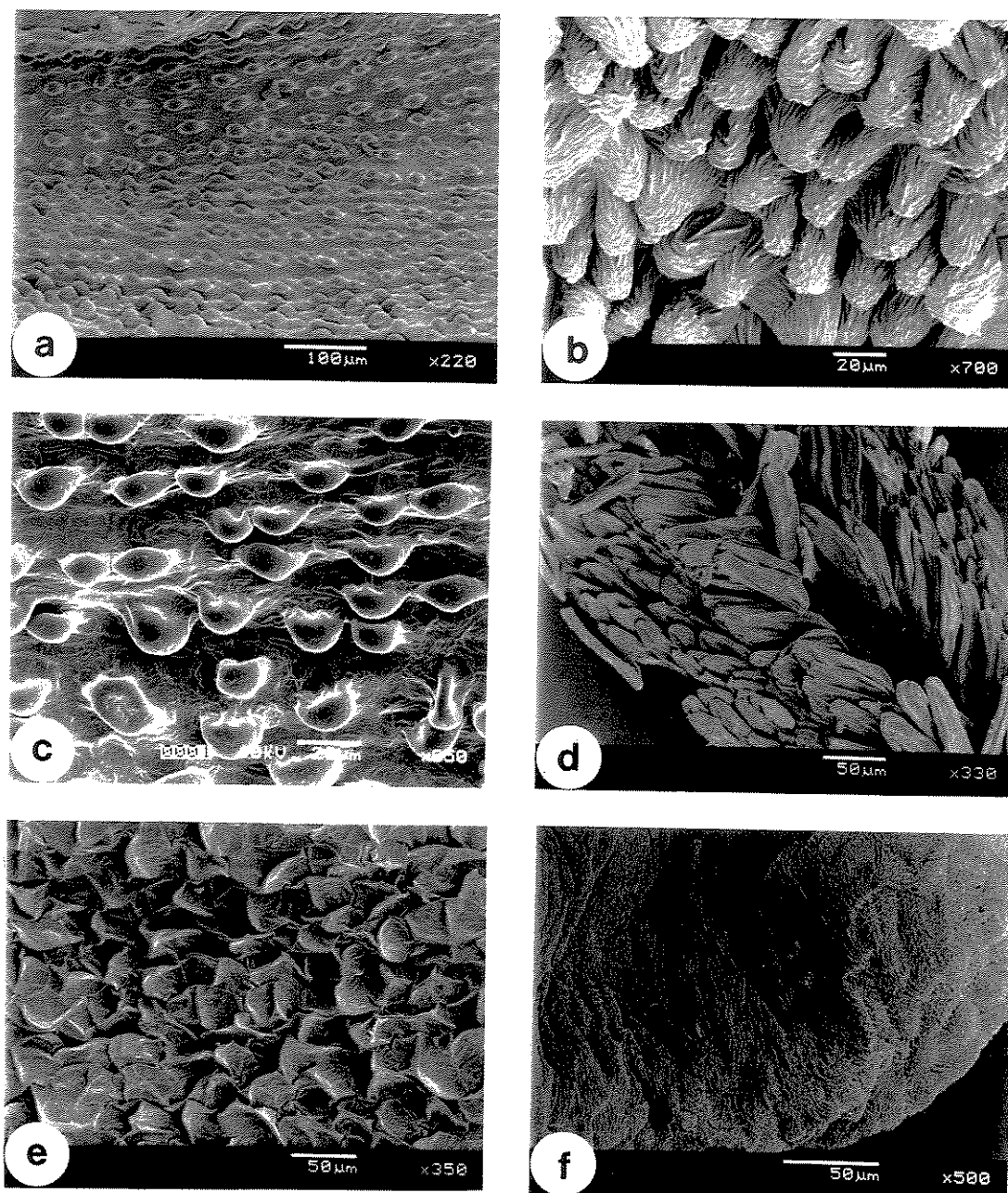


Figura 5: Eletromicrografias obtidas em MEV de flores de *Epidendrum secundum*. **a.** Vista geral da superfície do nectário; **b.** Detalhe das papilas do capuz da antera; **c.** Detalhe das papilas do nectário; **d.** Detalhe das escamas do polinário; **e.** Escamas da superfície da sépala dorsal; **f.** Detalhe da calosidade do labelo. *E.R. Pansarin 190.*

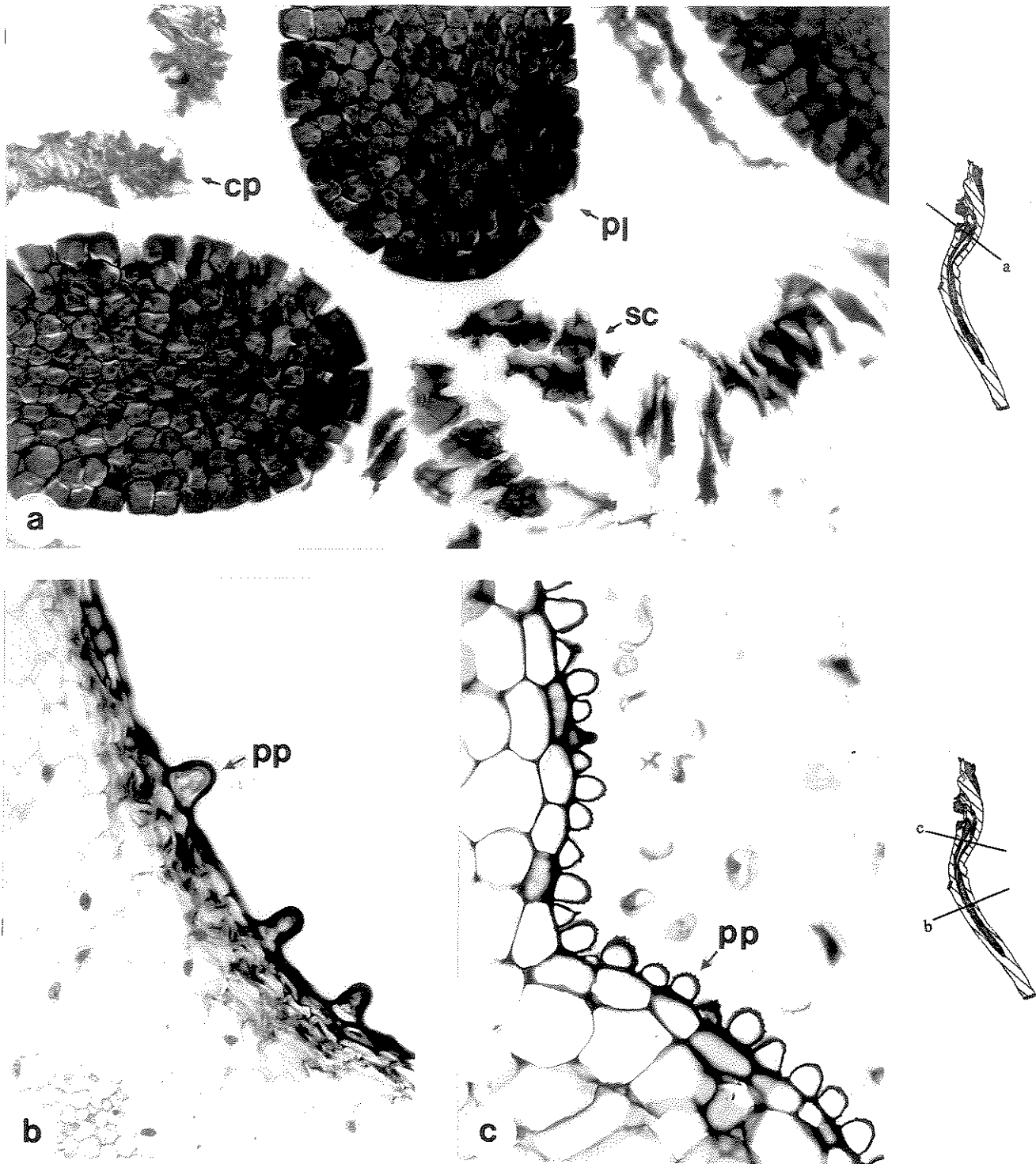


Figura 6: Cortes transversais de flores de *Epidendrum secundum*. **a.** Antera: polínias (pl), escamas do polinário (sc) e capuz da antera (cp) x20; **b.** Vista parcial da porção mediana do nectário. Observe o néctar sob a cutícula das papilas (pp) e as camadas subjacentes de células secretoras x20; **c.** Vista parcial do início do nectário. Note que as papilas (pp) estão vazias e as camadas subjacentes de células não são secretoras x20. *E.R. Pansarin 190.*

distribuído, e essa mesma variação morfológica pode ser observada quando são comparadas flores de diferentes populações. No entanto, a morfologia das flores, de um modo geral, tende a ser mais estável quando se compara indivíduos de apenas uma população. Variação morfológica em flores de *E. secundum* tem sido observada quando se compara populações distintas em outras regiões (Dunsterville 1979).

Na região de Picinguaba, além de *E. secundum*, é possível encontrar *Epidendrum fulgens* Brongn., outra espécie que pertence ao “complexo *Epidendrum secundum*” (*sensu* Dressler 1981). Indivíduos de *E. fulgens* (Fig. 4C) ocorrem na restinga, em solo arenoso ou sobre rochas, próximos à praia, com alguns raros indivíduos ocupando o mesmo microhabitat que *E. secundum*, na encosta. Nesta região, freqüentemente são encontrados indivíduos com flores que apresentam características intermediárias entre *E. secundum* e *E. fulgens*, principalmente quanto à coloração e forma das calosidades do labelo. A forma das calosidades do labelo é um dos principais caracteres morfológicos usados para diferenciar as espécies do “complexo *Epidendrum secundum*” (Dressler 1981).

Em Picinguaba, *Epidendrum secundum* e *E. fulgens* são simpátricos, apresentam o mesmo período de floração e quando ocorrem no mesmo microhabitat, compartilham o mesmo grupo de agentes polinizadores (ver processos de polinização). Além disso, as espécies são intercompatíveis, produzindo sementes viáveis (ver sistema reprodutivo). Em Picinguaba, a existência de indivíduos morfológicamente intermediários ocorrendo entre *E. secundum* e *E. fulgens*, indica que esteja ocorrendo hibridação entre as espécies. O estabelecimento de híbridos entre as espécies parentais e a grande variação morfológica encontrada nas flores da região, são fortes indícios que esteja ocorrendo introgressão na população. Quando há estabelecimento de formas híbridas dentro da população dos parentais, introgressão algumas vezes pode ocorrer (Pijl & Dodson 1966, Linder 1990, Romero & Carnevali 1990).

Dentre os híbridos observados, alguns apresentam características das calosidades muito próximas de *E. secundum* (Fig. 4B, E). Outros, exibem grande semelhança com as calosidades do labelo de *E. fulgens* (Fig. 4C, F), sugerindo que diferentes graus de introgressão possa estar ocorrendo na população. Híbridos entre espécies de *Epidendrum* pertencentes ao “complexo *Epidendrum secundum*” têm sido observados em outras regiões

(Dressler 1989), bem como híbridos entre raças distintas de *Epidendrum secundum* em uma mesma população (Pijl & Dodson 1966).

Tanto na Serra do Japi como em Atibaia, não há diferenças relevantes na morfologia das flores de *E. secundum*. As figuras 4A e 4B referem-se a um indivíduo coletado na Serra do Japi. Nesta região ocorrem cinco outras espécies de *Epidendrum*, porém, não pertencem ao “complexo *Epidendrum secundum*” e não são polinizadas pelos mesmos agentes polinizadores de *E. secundum* (Pansarin, dados inéditos). A única espécie polinizada por lepidópteros diurnos que ocorre na região é *E. paniculatum* H.B.K.. No entanto, esta espécie ocupa um microhabitat diferente de *E. secundum* (regiões com maior concentração de umidade, denominadas “bolsões”, no interior da mata). *E. paniculatum*, por ocorrer em um microhabitat distinto de *E. secundum*, não compartilha os mesmos grupos de borboletas como agentes polinizadores (Pansarin, dados inéditos), além de ambas as espécies serem interincompatíveis (ver sistema reprodutivo).

A estabilidade morfológica das flores de *E. secundum* na Serra do Japi e Atibaia pode estar relacionada com a inexistência de outra espécie de *Epidendrum* pertencente ao “complexo *Epidendrum secundum*” no ambiente, já que como observado em Picinguaba, quando as espécies tornam-se simpátricas e compartilham os mesmos polinizadores a formação de híbridos pode ocorrer. Na família Orchidaceae, barreiras de pré-polinização como diferenças morfológicas, especificidade dos agentes polinizadores e separação temporal da floração são os fatores mais importantes para garantir o isolamento reprodutivo das espécies (Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981). Quando essas barreiras de pré-polinização são fortes, híbridos são raros ou inexistentes (Linder 1990, Rossi *et al.* 1992, Steiner *et al.* 1994). Por outro lado, quando estas barreiras são inexistentes ou são quebradas, a formação de híbridos naturais pode ocorrer (Pijl & Dodson 1966, Dodson 1969, Schrenk 1978, Romero & Carnevali 1990, 1991a, 1991b, 1992, Borba & Semir 1999).

Epidendrum secundum, no Estado de São Paulo, ocorre em afloramentos rochosos de regiões de altitude e em áreas perturbadas por ação antrópica. Em Picinguaba, a ocorrência de *E. secundum* pode estar relacionada principalmente devido a abertura de estradas. Deste modo, o contato de *E. secundum* com *E. fulgens* foi possível devido a quebra da barreira

natural, ou seja, a mata evitava o contato entre *E. secundum* e *E. fulgens*. Com a derrubada da mata, indivíduos de *E. secundum*, que ocorrem naturalmente como rupícolas em regiões de altitude na Serra do Mar, se estabeleceram na região tornando-se simpátricos com *E. fulgens*. Padrão semelhante de contato entre populações de espécies do gênero *Catasetum* pela quebra de barreiras naturais, como a derrubada de matas nativas pelo homem, têm promovido o aparecimento de híbridos naturais em outras regiões (Dodson 1969).

Alguns dos híbridos entre *E. secundum* e *E. fulgens* observados em Picinguaba (Fig. 4F) apresentam características das calosidades do labelo muito semelhantes às observadas em *Epidendrum denticulatum* Barb. Rodr. (Fig. 4D). *E. denticulatum* também pertence ao “complexo *Epidendrum secundum*” e ocorre principalmente no Estado de Minas Gerais, tendo sido coletado no município de Delfinópolis-MG. A introdução dessas formas híbridas em herbários, poderia causar confusão de taxonomistas que certamente, baseando-se em caracteres morfológicos, as classificariam como *E. denticulatum*. Outro problema existente no “complexo *Epidendrum secundum*”, é que as espécies são descritas com base em poucos caracteres morfológicos do labelo da flor (Dunsterville 1979, Dressler 1981, 1989, Hágsater 1993). Estes mesmos caracteres são muito variáveis quando comparadas flores de diferentes populações, nas quais, muitas vezes, pode-se encontrar indivíduos com características intermediárias entre as espécies deste complexo. Desse modo, algumas das espécies descritas para o “complexo *Epidendrum secundum*” podem tratar-se apenas de raças locais de uma espécie ao longo de sua distribuição.

1.2. *Polystachya estrellensis* Rchb. f.

Polystachya estrellensis é encontrada como epífita ou raramente rupícola em matas semidecíduas do interior do Estado de São Paulo e exclusivamente como epífita em matas da planície litorânea, em Picinguaba. O tamanho dos indivíduos pode variar dentro de uma mesma população, sendo possível verificar indivíduos com cerca de 5 cm até indivíduos com aproximadamente 20 cm de altura quando estão em plena floração. Em ambas as regiões, na primavera, cada indivíduo produz um pseudobulbo por segmento de rizoma que logo emite um escapo floral terminal, dando origem a um racemo ou uma panícula.

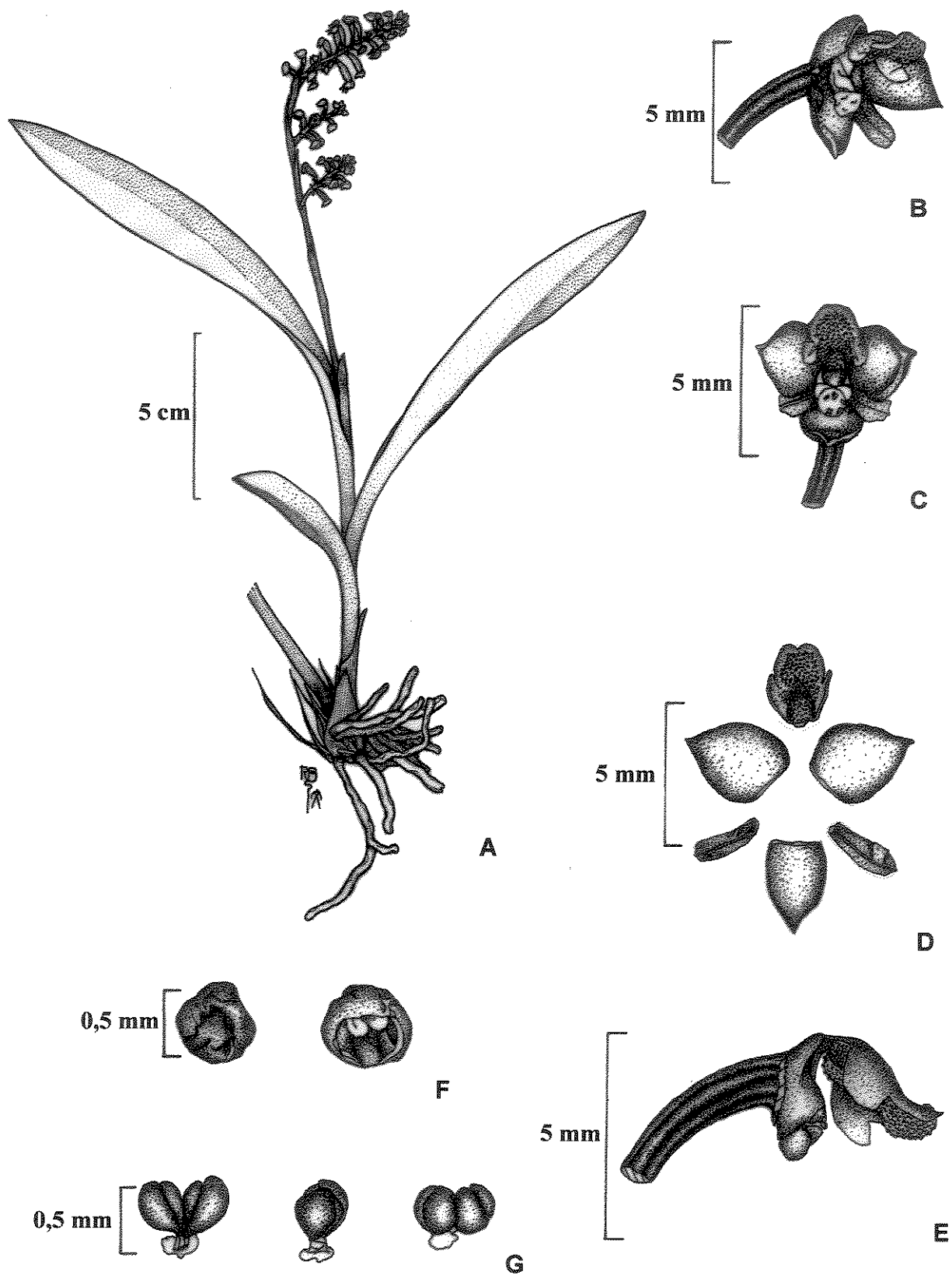


Figura 7: *Polystachya estrellensis*. A. Hábito; B. Flor em vista lateral; C. Flor em vista frontal; D. Perianto; E. Labelo articulado com a coluna; F. Capuz da antera em vistas dorsal e ventral; G. Polinário em vistas dorsal, lateral e ventral. E.R. Pansarin 245. Desenho E. R. Pansarin.

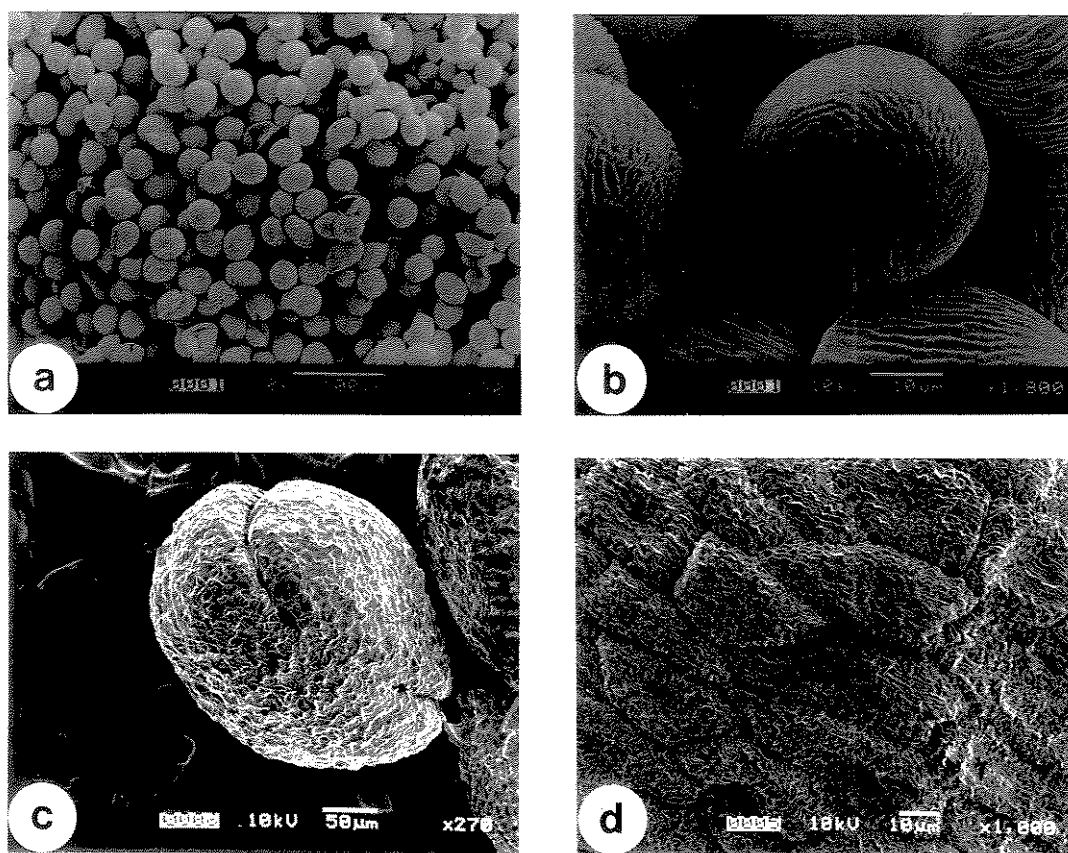


Figura 8: Eletromicrografias obtidas em MEV de flores de *Polystachya estrellensis*. **a.** Vista geral da superfície do labelo mostrando o pseudopólen; **b.** Detalhe dos grãos de pseudopólen na superfície do labelo; **c.** Detalhe de uma das polínias do polinário; **d.** Superfície de uma das sépalas mostrando a cutícula. *E.R. Pansarin 245.*

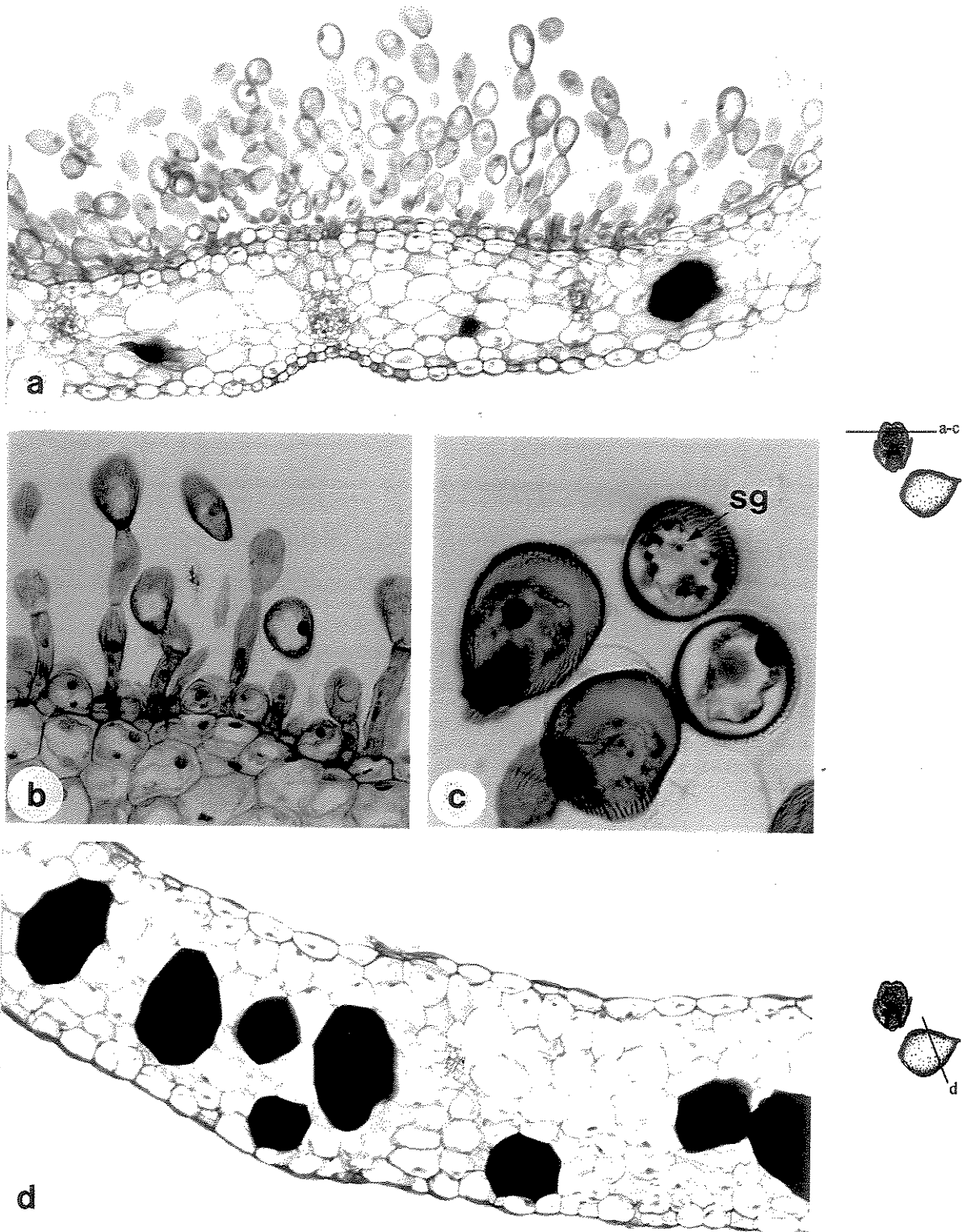


Figura 9: Cortes transversais de flores de *Polystachya estrellensis*. a. Vista geral da porção apical do labelo mostrando o pseudopólen x10; b. Detalhe da fragmentação dos tricomas x20; c. Detalhe do pseudopólen. Note os grãos de amido no interior das células (sg) x40; d. Áreas com deposição de tanino em uma das sépalas x20. E.R. Pansarin 245.

Na Serra do Japi, a floração de *P. estrellensis* ocorre entre os meses de dezembro e janeiro e a frutificação se estende de junho a julho, quando os frutos se tornam deiscentes. Em Picinguaba, a floração acontece no início do mês de janeiro, estendendo-se até fevereiro e a frutificação se estende de julho a agosto. As flores apresentam antese diurna, fenecendo a partir do segundo ou terceiro dia após a antese.

As flores de *P. estrellensis* são reunidas em densas inflorescências com até mais de 150 flores (Fig. 7A). As flores são glaucas a verde-amareladas (Fig. 23B), não ressupinadas, e medem aproximadamente 5 mm (Fig. 7B, C). A sépala dorsal é simetricamente oval com o ápice agudo e mede aproximadamente 3 mm de comprimento por 2,5 mm de largura. As sépalas laterais são assimetricamente ovais com o ápice agudo e dimensões semelhantes às da sépala dorsal. As três sépalas são adnatas à base da coluna formando uma extensão da base da flor, chamada de “mentum” (Dressler 1993). As pétalas são linear-lanceoladas com ápice agudo a obtuso e medem aproximadamente 2,7 mm de comprimento por 1 mm de largura (Fig. 7B, C, D). A superfície das pétalas e sépalas é recoberta por uma cutícula espessa (Fig. 8D). O labelo, que apresenta a superfície com aspecto pulverulento é trilobado. Os lobos laterais do labelo são triangulares, falcados e com uma protuberância na base (Fig. 7D, E). O aspecto pulverulento do labelo deve-se à presença de pseudopólen (Fig. 8A, B), que se apresenta na forma de células esféricas, derivadas de fragmentação de tricomas (Fig. 9A, B), conforme proposto por Pijl & Dodson (1966). O pseudopólen provavelmente possui valor nutritivo para as abelhas, como proposto por Beck em 1914 (*apud* Simpson & Neff 1981), uma vez que as células são nucleadas, com citoplasma denso e numerosos grãos de amido (Fig. 9B, C). A coluna da flor apresenta-se disposta de maneira mais ou menos perpendicular em relação ao labelo (Fig. 7E). O capuz da antera é branco, com forma mais ou menos arredondada, e mede aproximadamente 0,6 mm (Fig. 7F). O polinário possui duas polínias globosas amarelo-pálidas e bipartidas (Fig. 7G; 8C), o que difere da maioria das espécies de *Polystachya*, que apresentam quatro polínias (Dressler 1981, 1993). Nas pétalas, sépalas e coluna observa-se a deposição de taninos em diversas áreas (Fig. 9A, C). Taninos são metabólitos secundários conhecidos por conter a predação de vegetais. As flores emitem suave fragrância, perceptível apenas nas horas mais quentes do dia.

UNICAMP

BIBLIOTECA CENTRAL

SEÇÃO CIRCULANTE

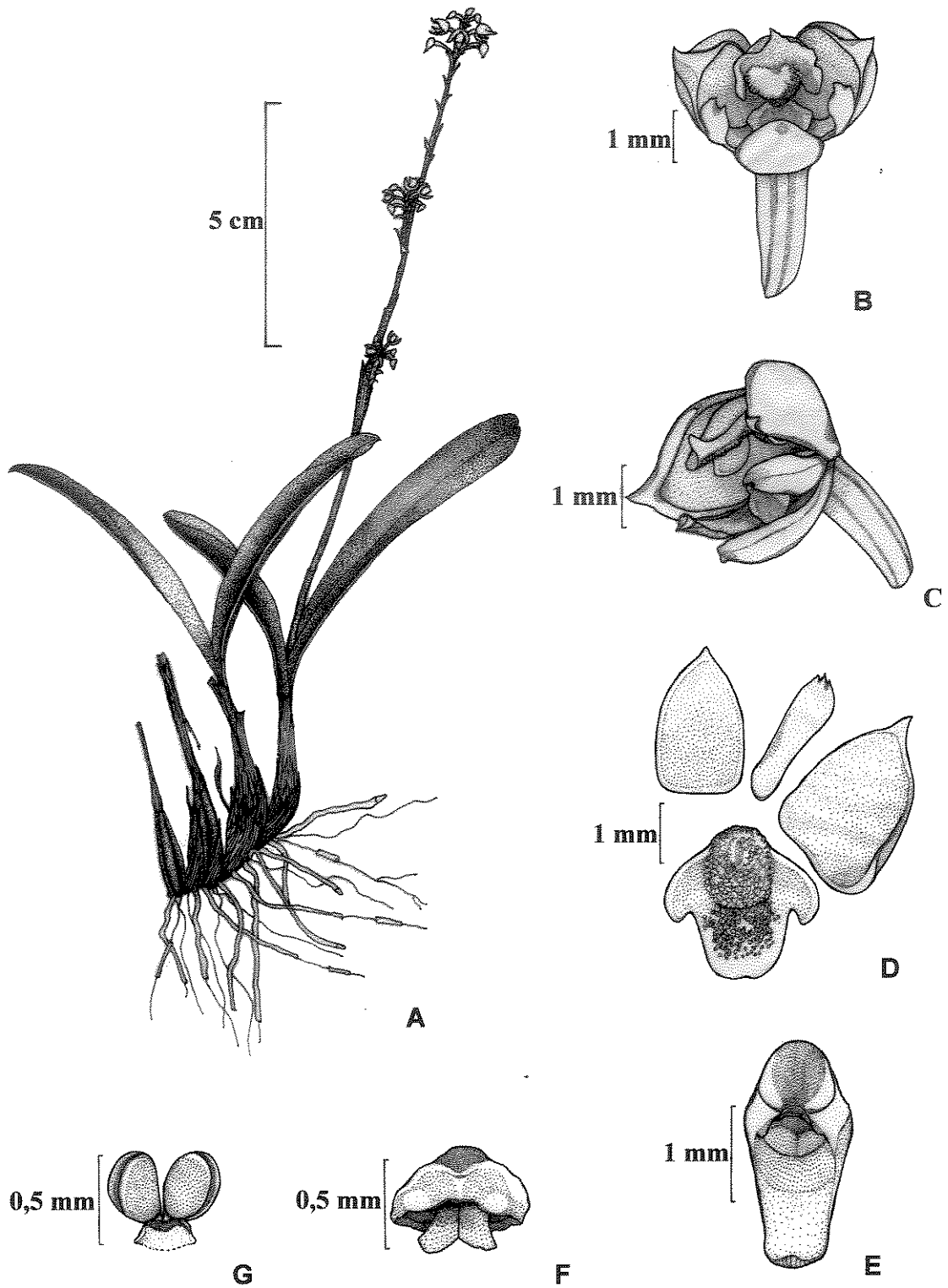


Figura 10: *Polystachya concreta*. A. Hábito; B. Flor em vista frontal; C. Flor em vista lateral; D. Perianto; E. Coluna; F. Capuz da antera; G. Polinário. E.R. Pansarin 712.

A morfologia das flores de *Polystachya estrellensis* é constante quando comparado ambos os ambientes. Nesta espécie a maioria das flores são cleistógamas, com apenas algumas flores de cada inflorescências sendo casmógamas. O grau de cleistogamia também é semelhante quando se compara indivíduos de ambos os ambientes.

Em Picinguaba, *P. estrellensis* ocorre somente no interior da mata. Na região de mangue, foi observado apenas a ocorrência de *Polystachya concreta*. Assim como *P. concreta*, outras espécies de orquídeas como *Brassavola tuberculata* Hook., ocorrem exclusivamente na região de mangue em Picinguaba, não sendo encontrada em nenhuma outra parte da planície litorânea (Ribeiro 1992). *P. concreta* é distinguida de *P. estrellensis* por alguns caracteres vegetativos e florais. *P. concreta* apresenta tamanho menor quando comparado com *Polystachya estrellensis* (Fig. 10A, 23A). As folhas de *P. concreta* são verde-amareladas (Fig 23A). As flores apresentam o ápice das pétalas mais afilados, detalhe mais evidente no labelo (Fig. 10B, C, D). Os lobos laterais do labelo são subquadráticos (Fig. 10B). A morfologia do polinário, capuz da antera e coluna não diferem de *P. estrellensis* (Fig 10E, F, G).

Apesar de *Polystachya concreta* apresentar características morfológicas muito próximas às de *P. estrellensis*, diferenças mais evidentes foram observadas na fenologia e biologia reprodutiva das espécies. O período de floração de *P. concreta* inicia-se entre o final do mês de fevereiro e início de março, momento em que *P. estrellensis* está no final do período de floração. Os frutos tornam-se deiscentes entre os meses de agosto e setembro. Em novembro, na região de mangue, as sementes de *Polystachya* germinam, sendo possível encontrar plântulas até nos escapos florais (Fig. 23D). Nas populações de *P. estrellensis*, tanto do interior do Estado de São Paulo como em Picinguaba, a maioria das flores são cleistógamas. Em *P. concreta*, ao contrário, todas as flores de cada inflorescência chegam a atingir a antese ficando disponíveis aos polinizadores (ver sistema reprodutivo).

1.3. *Psilochilus modestus* Barb. Rodr.

Psilochilus modestus é encontrada como terrestre, desenvolvendo-se entre a serrapilheira no interior da mata, tanto em matas semidecíduas do interior do Estado de São

Paulo como na planície litorânea de Picinguaba. As plantas são eretas e medem até 54 cm de altura. As folhas medem aproximadamente 75 mm de comprimento por 46 mm de largura, são elíptico-lanceoladas com a face abaxial verde nas populações de Picinguaba e oval-lanceoladas com a face abaxial verde-arroxeadas nas populações da Serra do Japi.

Em ambos os ambientes, é possível encontrar plantas em diferentes estádios vegetativos durante todo o ano. Na Serra do Japi, a floração ocorre entre os meses de dezembro a março e os frutos se tornam deiscentes entre junho e julho, quando os frutos tornam-se deiscentes. Em Picinguaba, a floração ocorre entre os meses de janeiro a maio, com algumas poucas flores sendo produzidas até junho, e a frutificação estendendo-se até agosto. As flores de *P. modestus* possuem antese diurna, abrindo ao amanhecer, quando os primeiros raios de sol atingem as plantas. No dia posterior, as flores estão parcialmente fechadas e inicia-se o processo de fenescência. Os estigmas ficam receptivos somente no dia que ocorreu a antese.

As flores de *Psilochilus modestus* são ressupinadas, medem aproximadamente 37 mm de comprimento (Fig. 11B) e apresentam-se dispostas em racemos terminais com até 6 flores (Fig. 11A). As inflorescências possuem brácteas foliáceas persistentes. O racemo que floresceu no período anterior pode eventualmente continuar a produzir flores na próxima temporada. Isso é relativamente raro na família Orchidaceae, onde geralmente um caule (ou pseudobulbo) produz flores uma única vez. As sépalas são branco-esverdeadas, carnosas, livres e medem aproximadamente 2 cm de comprimento por 5 mm de largura. A sépala dorsal é lanceolada e as laterais são falcadas (Fig. 11B, C). As pétalas são espatuladas, branco-hialinas, às vezes com as extremidades róseas, principalmente nas flores das populações de Picinguaba. O labelo é obovado, trilobado, mede aproximadamente 2 cm de comprimento (Fig. 11B, C), e é branco com as extremidades róseas. No centro do labelo é possível observar faixas amareladas ou brancas (Fig. 25A, B). A coluna delgada e convexa mede aproximadamente 21 mm de comprimento (Fig. 11D). O capuz da antera apresenta-se unido à coluna. O polinário é composto por quatro polínias brancas (Fig. 11F), de consistência farinácea (Fig. 12A). Na face ventral do polinário existe um viscidio hialino e rudimentar, na forma de “U” (Fig. 11F). O polinário é de consistência farinácea por não apresentar uma camada de viscina envolvendo as polínias. Ausência de viscina pode

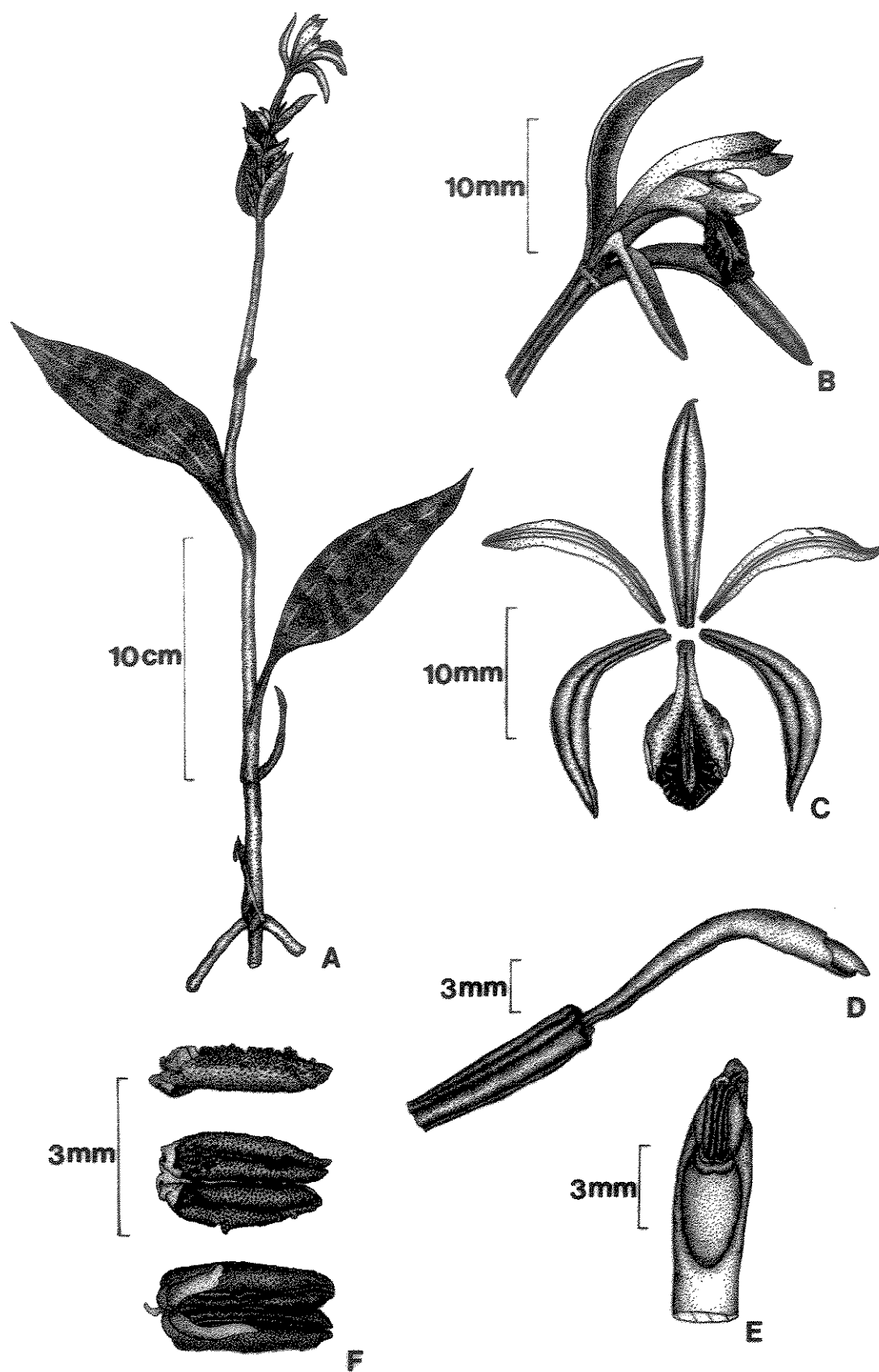


Figura 11: *Psilochilus modestus*. A. Hábito; B. Flor em vista lateral; C. Perianto; D. Coluna; E. Coluna em detalhe mostrando o polinário e estigma; F. Polinário em vistas lateral, dorsal e ventral. E.R. Pansarin 132. Desenho E. R. Pansarin.

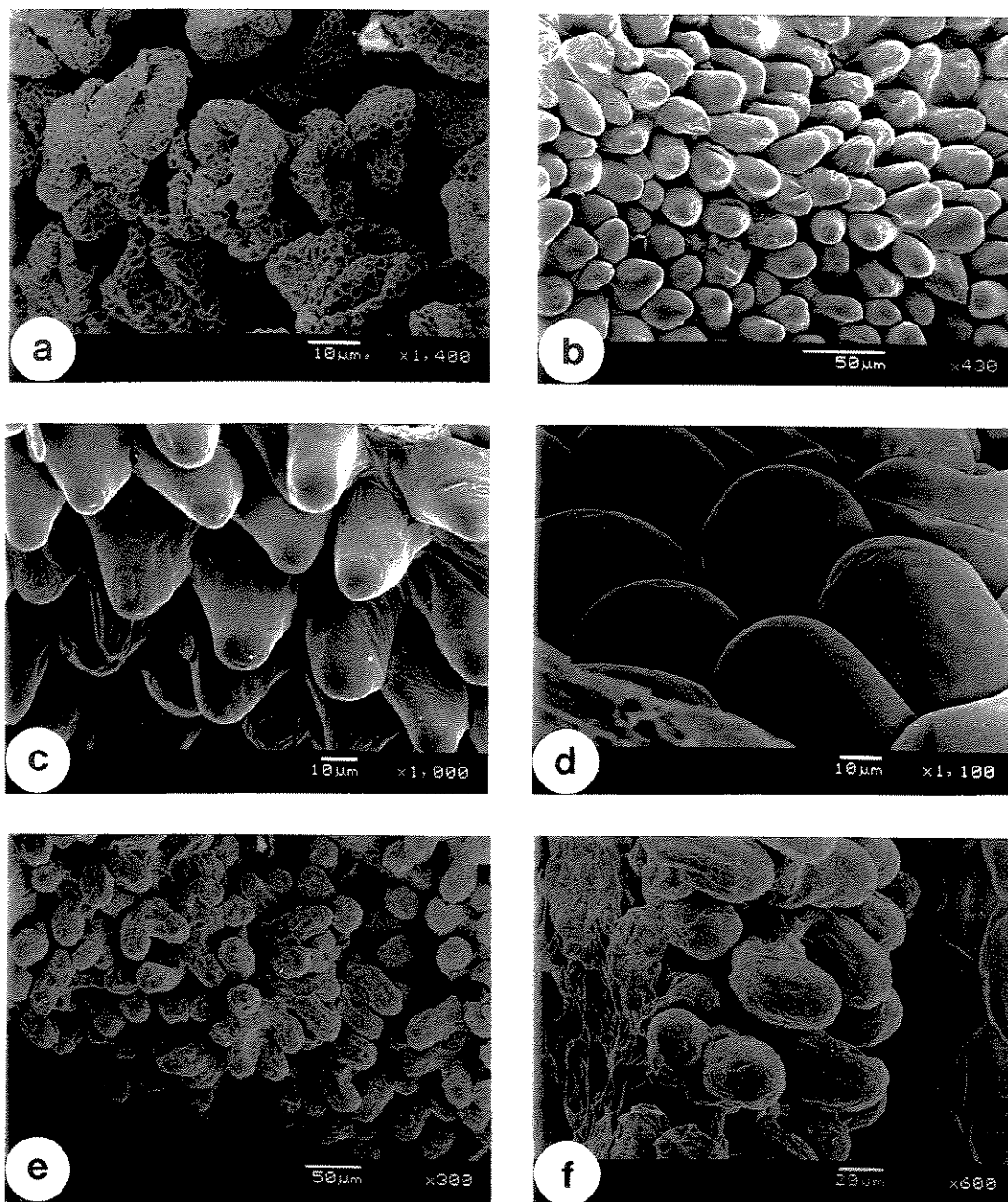


Figura 12: Eletromicrografias obtidas em MEV de flores de *Psilochilus modestus*. **a.** Grãos de pólen em tétrades; **b.** Vista geral das papilas do ápice do labelo; **c.** Detalhe das papilas do ápice do labelo; **d.** Detalhe das papilas da base do labelo; **e.** Vista geral das papilas do nectário; **f.** Detalhe das papilas do nectário. *E.R. Pansarin 132.*

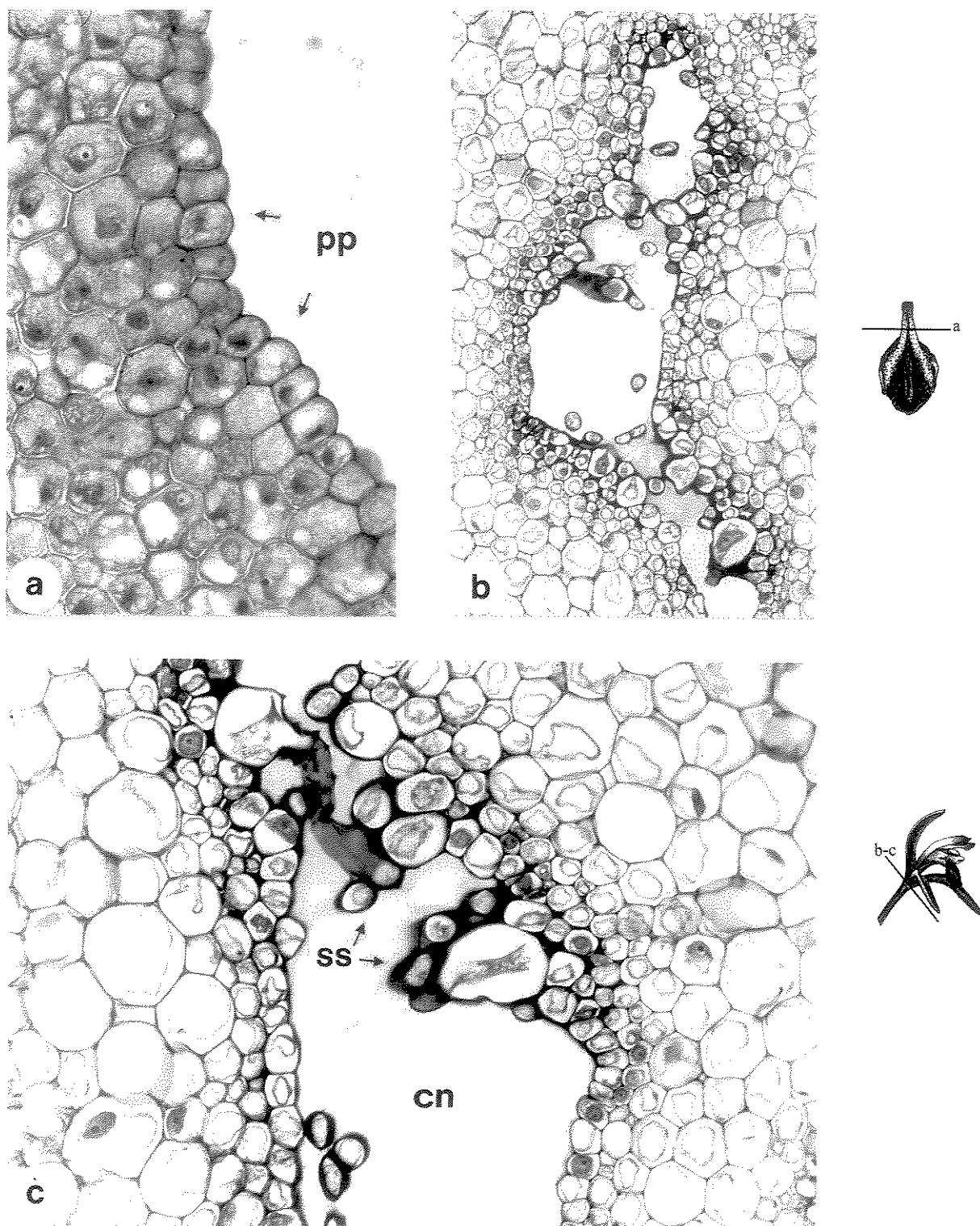


Figura 13: Cortes transversais de flores de *Psilochilus modestus*. a. Papilas da base do labelo (pp) x20; b. Vista geral do nectário e câmara nectarífera x10; c. Detalhe da superfície secretora do nectário (ss) e câmara nectarífera (cn) x20. E.R. Pansarin 132.

ocorrer em polinários de grupos mais primitivos em Orchidaceae (Gregg 1989, Dressler 1993). O estigma oval mede aproximadamente 4 mm de comprimento por 2,5 mm de largura e é separado do polinário por um rostelo delgado (Fig. 11E). Na base do labelo, estendendo-se até o início do ovário, existe um nectário cuja superfície apresenta um grande número de papilas (Fig. 12E, F). O néctar é liberado no lúmen do nectário (Fig. 13B, C). O nectário possui células epidérmicas grandes, provavelmente secretoras, e células subepidérmicas com citoplasma denso e núcleos grandes, que provavelmente estão relacionadas com o processo de secreção (Fig. 13C). As flores liberam suave fragrância principalmente nas horas mais quentes do dia. A fragrância é liberada através de um número muito grande de papilas epidérmicas distribuídas por toda a superfície do labelo. As papilas do ápice do labelo (Fig. 12B, C) são menores e mais abundantes que as papilas da base do labelo (Fig. 12D). Tanto as células epidérmicas quanto as células subepidérmicas do labelo possuem o mesmo padrão de coloração, e ambas parecem estar envolvidas com o processo de secreção de fragrâncias (Fig. 13A).

Psilochilus modestus não possui diferenças morfológicas relevantes quando comparadas flores de ambas as regiões. As maiores diferenças estão no labelo das flores. As flores dos indivíduos de Picinguaba têm labelo mais recortado e guias de néctar mais evidentes quando comparado com os indivíduos da Serra do Japi.

Em ambos os ambientes, os indivíduos de *P. modestus* apresentam picos de floração, que podem se repetir em intervalos de 7 a 21 dias, durante o período de floração, em cada região. A floração é sincrônica, com todos os indivíduos florescendo em um mesmo dia dentro de uma mesma população. Populações da Serra do Japi podem florescer no mesmo dia ou com apenas um dia de atraso ou antecedência em relação às populações de Picinguaba. Deste modo, parece haver um sincronismo de floração destas populações nos dois ambientes. Sincronismo de floração em Orchidaceae também tem sido observado em algumas espécies do gênero *Cleistes* (Miller *et al.* 1996). Assim como *P. modestus*, flores de *Cleistes* spp. ficam disponíveis por apenas um dia (Miller *et al.* 1996). A pluviosidade pode ser um fator que leva a sincronização da floração (Opler *et al.* 1976, Melampy 1987, Wright 1991). Como na Serra do Japi e em Picinguaba a floração ocorre no verão, onde a precipitação é quase diária, e os picos de floração podem ocorrer tanto em dias chuvosos

como em dias ensolarados, torna-se difícil relacionar o sincronismo da floração com a pluviosidade, em ambos os ambientes.

1.4. *Cirrhaea dependens* Rchb. f.

Cirrhaea dependens é comumente encontrada como epífita em locais pouco iluminados na planície litorânea de Picinguaba. Na Serra do Japi, a espécie ocorre como rupícola, onde forma densas touceiras nas bordas dos paredões rochosos, no interior da mata (Fig. 27A).

Na Serra do Japi, *C. dependens* floresce entre os meses de dezembro e janeiro, após a maturação do pseudobulbo que iniciou seu desenvolvimento no ano anterior. Em Picinguaba, a floração ocorre entre os meses de fevereiro e março. O período de floração de *Cirrhaea dependens* em Picinguaba coincide com os dados obtidos por Miller *et al.* (1996) para a região de Macaé de Cima – RJ. Em *C. dependens*, todas as flores da inflorescência abrem no mesmo dia. As flores são pouco duráveis e entram em processo de fenescência 3 a 5 dias após a antese.

As inflorescências de *Cirrhaea dependens* são laterais e pêndulas, com até 17 flores (Fig. 14A). As flores não são ressupinadas (Fig. 14B, D; 27B), medem aproximadamente 3 cm de comprimento e são de coloração róseo-esverdeada. Várias manchas de coloração vinácea estão presentes nas pétalas, sépalas e coluna (Fig. 27B). Esse padrão de coloração nem sempre é constante, e é utilizado para caracterizar as subespécies de *C. dependens* (Hoehne 1946). A sépala dorsal é elíptica, as laterais são elíptico-lanceoladas e medem aproximadamente 2 cm de comprimento por 0,8 cm de largura. As pétalas são falcadas e medem aproximadamente 2 cm de comprimento por 0,5 cm de largura (Fig. 14B, C). O labelo mede aproximadamente 2 cm de comprimento por 0,8 cm de largura e apresenta uma fenda central na porção inferior, que se estende até a porção mediana. Logo acima da fenda, o labelo possui uma protuberância de aproximadamente 2 mm, de formato globoso, e uma região afilada na porção apical (Fig. 14C, D). As características do labelo da flor são utilizadas para separar as demais espécies do gênero (Hoehne 1946, Morrison 1997). A coluna é ereta e mede aproximadamente 1,5 cm de comprimento (Fig. 14D). O polinário é

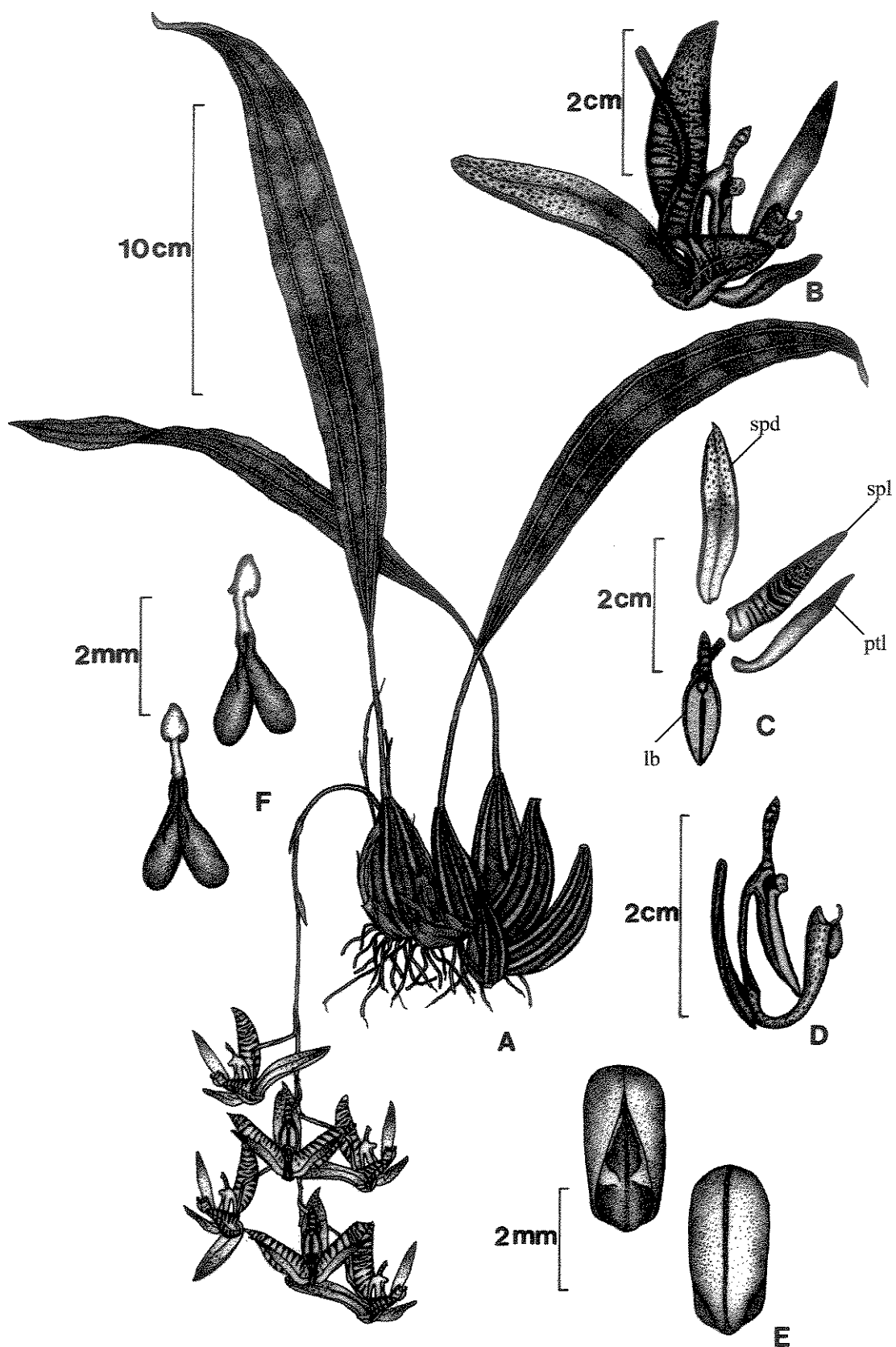


Figura 14: *Cirrhaea dependens*. A. Hábito; B. Flor em vista lateral; C. Perianto: sépala dorsal (spd), sépala lateral (spl), pétala lateral (ptl), labelo (lb); D. Coluna e labelo em vista lateral; E. Capuz da antera em vistas ventral e dorsal; F. Polinário em vistas dorsal e ventral. E.R. Pansarin 95. Desenho E. R. Pansarin.

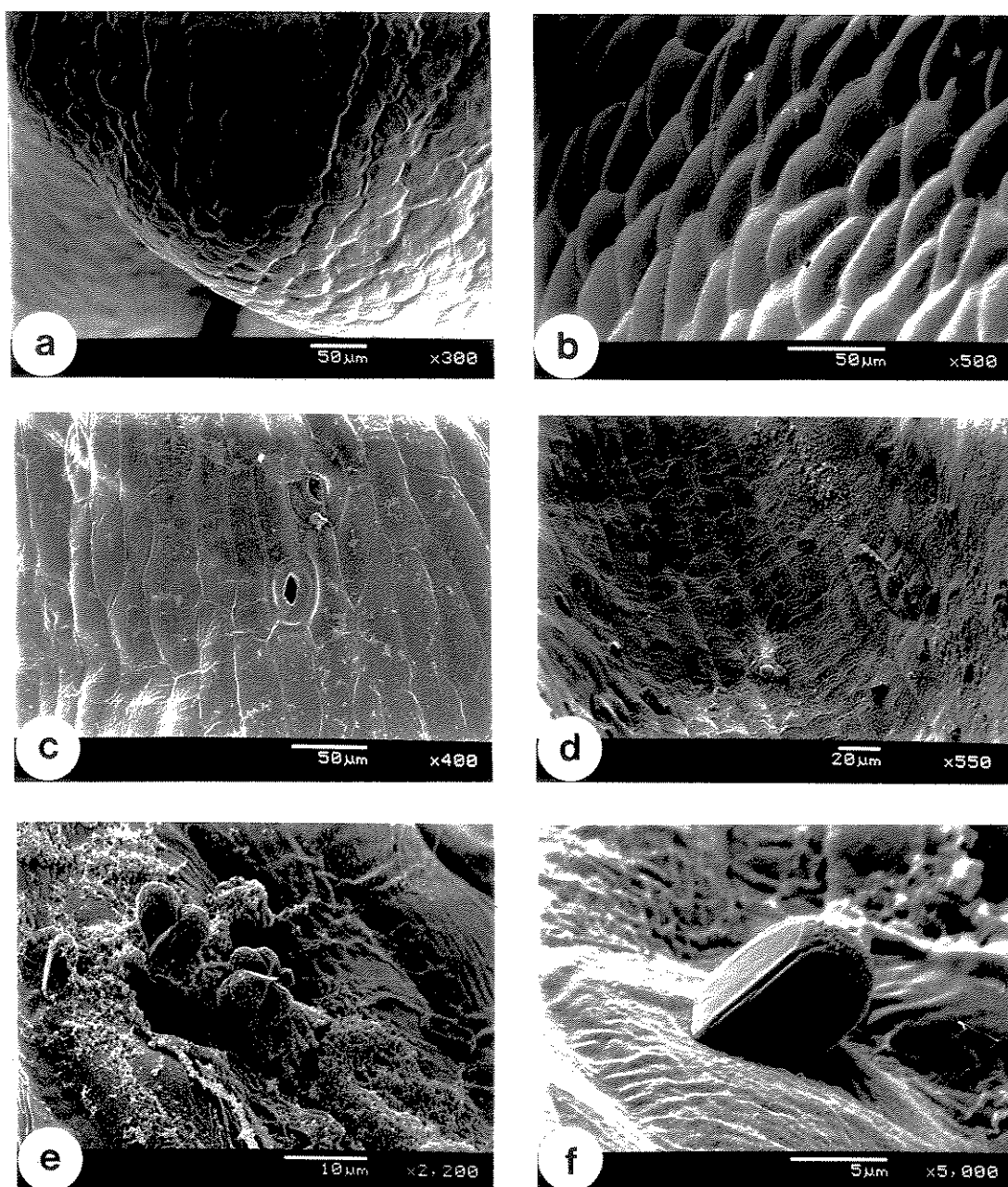


Figura 15: Eletromicrografias obtidas em MEV do labelo de *Cirrhaea dependens*. **a.** Vista geral da superfície da protuberância; **b.** Detalhe da cutícula na superfície da protuberância; **c.** Estômato na superfície da protuberância do labelo; **d.** Cristalóides sobre a cutícula do labelo; **e.** Lacuna deixada pela saída dos cristais na cutícula; **f.** Cristalóide parcialmente exposto na cutícula. *E.R. Pansarin 95.*

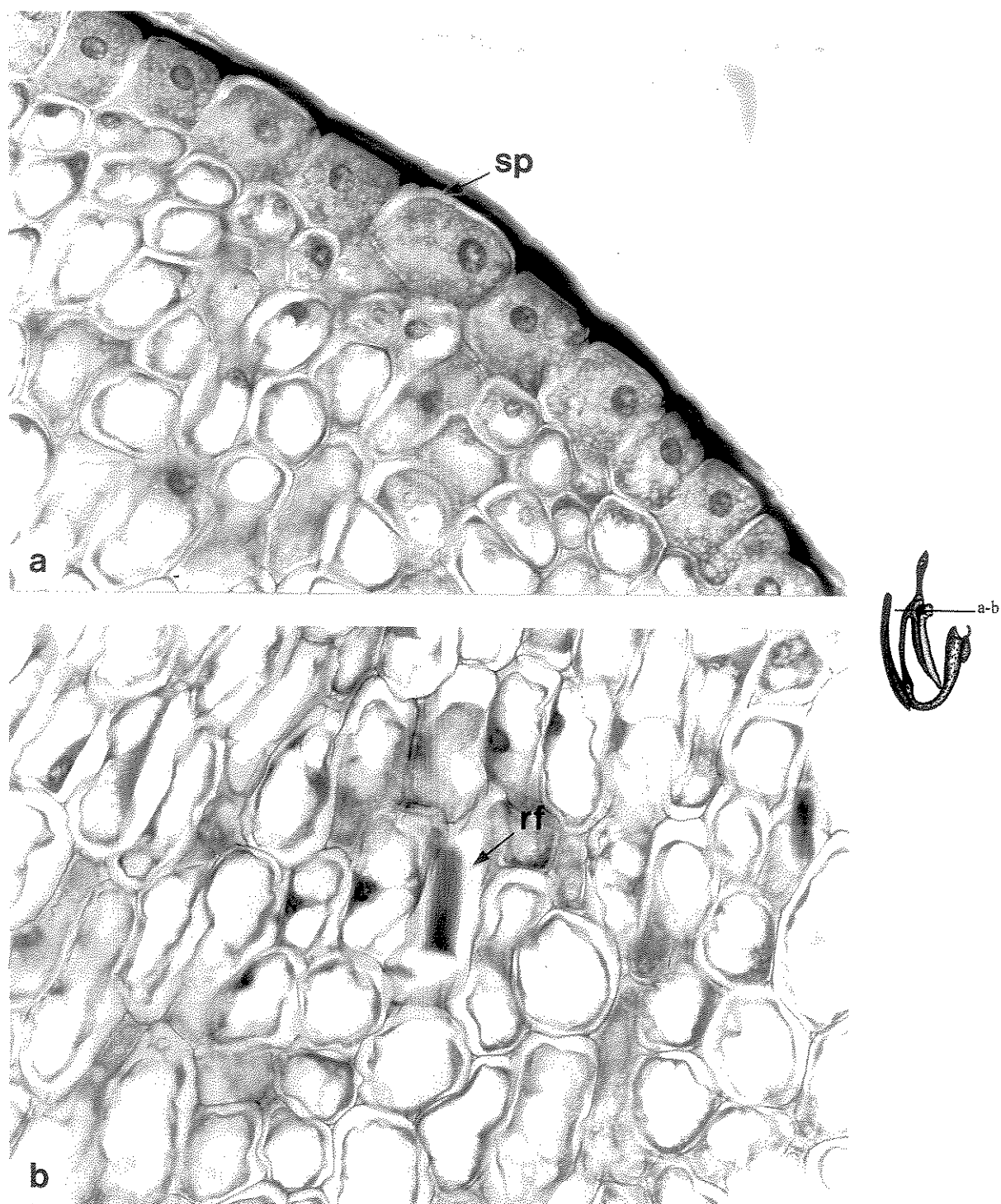


Figura 16: Cortes transversais do labelo de *Cirrhaea dependens*. a. Células epidérmicas e subepidérmicas da protuberância do labelo. Note a cutícula espessa e o espaço existente entre a cutícula e a célula da epiderme (sp) x20; b. Rafideos em células do parênquima da protuberância (rf) x20. E.R. Pansarin 95.

formado por duas polínias amarelas de aproximadamente 3 a 4 mm de comprimento e comprimidas lateralmente, um estipe alongado e hialino, e um viscidio hialino terminal de formato arredondado, adesivo na porção ventral (Fig. 14F). O capuz da antera é branco-hialino, de formato mais ou menos oval e mede aproximadamente 3mm de comprimento por 1,5 mm de largura (Fig. 14E). As flores são fragrantas, principalmente no dia em que ocorre a antese e nas horas mais quentes do dia. A fragrância é produzida no labelo da flor, principalmente em sua porção mediana. O labelo é recoberto por cutícula espessa, sem ornamentação (Fig. 15A, B; 16A). Aparentemente a secreção é efetuada por células epidérmicas que apresentam citoplasma denso e núcleos muito grandes, e os óleos voláteis são armazenados na região subcuticular (Fig. 16A). A epiderme do labelo não possui papilas, e eventualmente apresenta estômatos (Fig. 15 C). Notável é a ocorrência de cristalóides encontrados perfurando a cutícula da calosidade do labelo, na região mediana da flor (Fig. 15E, F). Nesta região, os osmóforos apresentam-se em maior número (Fig. 16A). Os cristalóides deixam lacunas na cutícula (Fig. 15E) e podem ficar depositados na depressão existente entre a calosidade e o corpo do labelo (Fig. 15D). Nos cortes anatômicos, os cristalóides não puderam ser detectados. Somente rafídeos foram observados no parênquima da calosidade do labelo (Fig. 16B). A visualização desses cristalóides somente na microscopia de varredura, pode indicar que sua presença seja um artefato da técnica utilizada. As flores não oferecem outro recurso a não ser óleos voláteis.

1.5. *Stanhopea lietzei* (Regel) Schltr.

Stanhopea lietzei é encontrada em matas semidecíduas do interior, na Serra do Japi e em Atibaia, como rupícola no interior da mata, onde ocorrem vários indivíduos agrupados ao longo dos paredões rochosos (Fig. 29A).

O período de floração de *S. lietzei* inicia-se em outubro e estende-se até dezembro, com alguns indivíduos podendo florescer até janeiro. A deiscência dos frutos inicia-se no mês de julho e estende-se até agosto. A antese das flores é diurna abrindo ao amanhecer e o processo de fenescência inicia-se no terceiro dia após a antese. Todas as flores da inflorescência abrem simultaneamente.

As inflorescências de *Stanhopea lietzei* são laterais e pendentes, podendo produzir até quatro flores por inflorescência (Fig. 17A). As flores medem aproximadamente 10 cm de comprimento, são brancas ou de diversos tons de laranja. Diferenças na coloração é observada na população existente na região da Serra do Japi, onde plantas dispostas lado a lado podem apresentar flores de coloração diferente (Fig. 29B, C). A sépala dorsal é elíptica e mede aproximadamente 6 cm de comprimento por 2,5 cm de largura. As sépalas laterais são elíptico-lanceoladas e medem aproximadamente 5,5 cm de comprimento por 3 cm de largura. As pétalas são elíptico lanceoladas e medem aproximadamente 5 cm de comprimento por 1,5 cm de largura. As sépalas e pétalas, no final do primeiro dia da antese, assumem uma posição mais ou menos ereta em relação à flor (Fig. 17B, C). O labelo carnoso mede aproximadamente 5,5 cm e apresenta o hipoquilo côncavo e semi fechado (Fig. 17D), no qual estão contidos os osmóforos. Os osmóforos, em forma de papilas (Fig. 18A, B), são pluricelulares, e no interior de cada célula existem vesículas impregnadas de óleos (Fig. 18C, D). O mesoquilo apresenta um sulco central e duas projeções laterais (“chifres”) curvadas e voltadas para o ápice do labelo (Fig. 17D). As projeções do mesoquilo são sempre brancas e às vezes com pontuações vináceas na porção inferior. O epiquilo é triangular, côncavo na porção central e branco, mesmo nas flores alaranjadas, e geralmente apresentam pontuações vináceas na face superior (Fig. 17D, 29B). O pedicelo e o ovário são de cor creme e envoltos por brácteas de coloração marrom clara. A coluna delgada e recurvada é branca com alas laterais branco-hialinas e mede aproximadamente 5,2 cm de comprimento (Fig. 17E). A coluna estende-se paralelamente ao labelo até o epiquilo da flor (Fig. 17C, 29B, C). A fenda estigmática disposta perpendicularmente no ápice da coluna, mede cerca de 3,5 mm de comprimento por 0,8 mm de largura (Fig. 30E). O polinário mede aproximadamente 9 mm de comprimento por 3 mm de largura e é composto por duas polínias amarelas comprimidas lateralmente. A espessura das polínias varia entre 0,5 e 0,8 mm, dependendo da turgidez (Fig. 17G; 30B, D). O polinário apresenta ainda, um estipe alongado e um viscidio branco, terminal e de aspecto cordiforme (Fig. 17G). O capuz da antera é branco e mede aproximadamente 6,5 mm de comprimento por 4,5 mm de largura (Fig. 17F). As flores exalam forte fragrância que pode ser percebida na ocasião da antese. A fragrância se torna mais intensa a partir de aproximadamente 09:30 h e principalmente entre 11:00 h e 14:30 h, quando os raios de sol atingem as plantas,

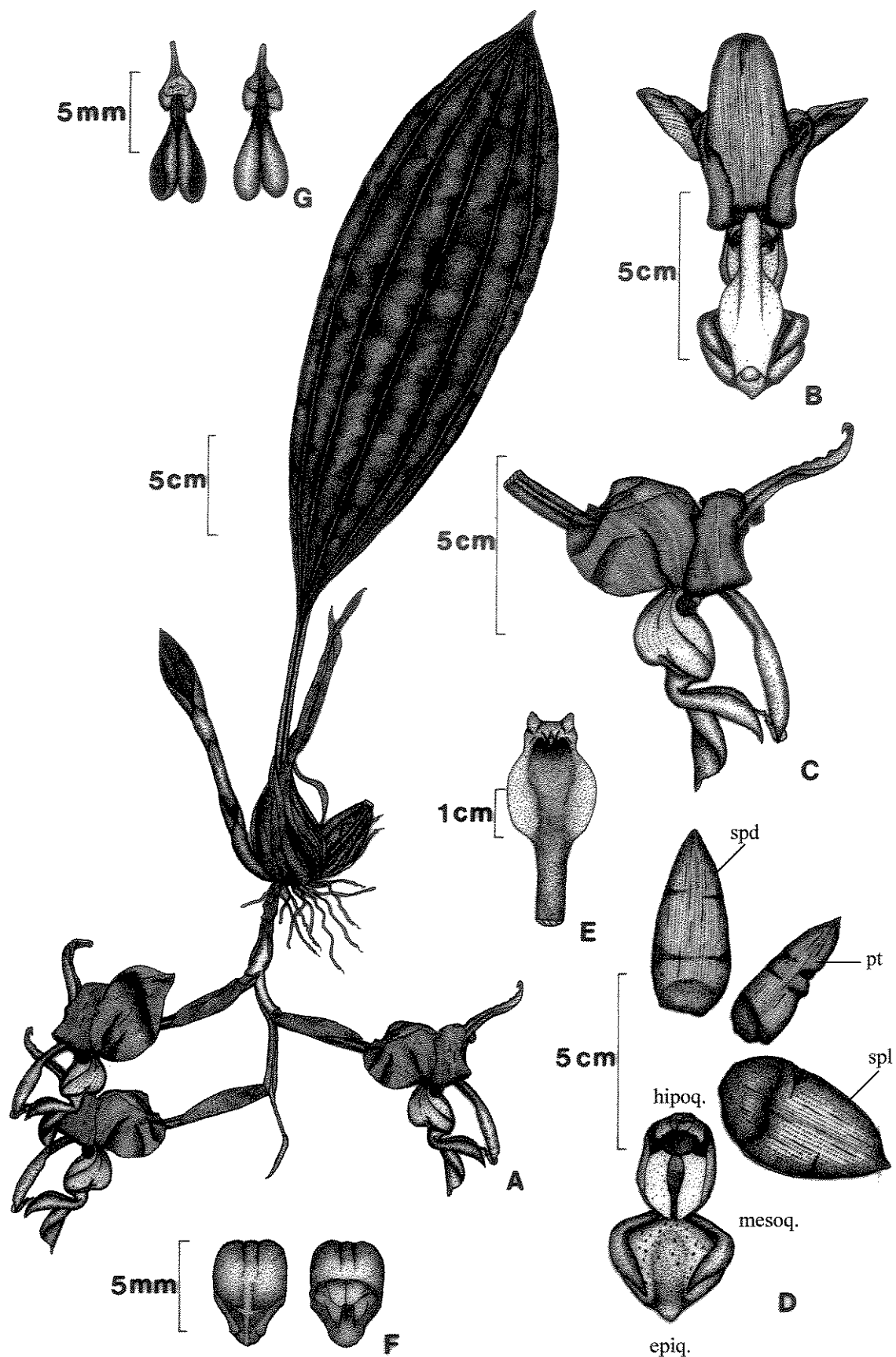


Figura 17: *Stanhopea lietzei*. A. Hábito; B. Flor em vista frontal; C. Flor em vista lateral; D. Perianto: sépala dorsal (spd), sépala lateral (spl), pétala (pt); E. Coluna; F. Capuz da antera em vistas dorsal e ventral; G. Polinário em vistas ventral e dorsal. E.R. Pansarin 88. Desenho E. R. Pansarin.

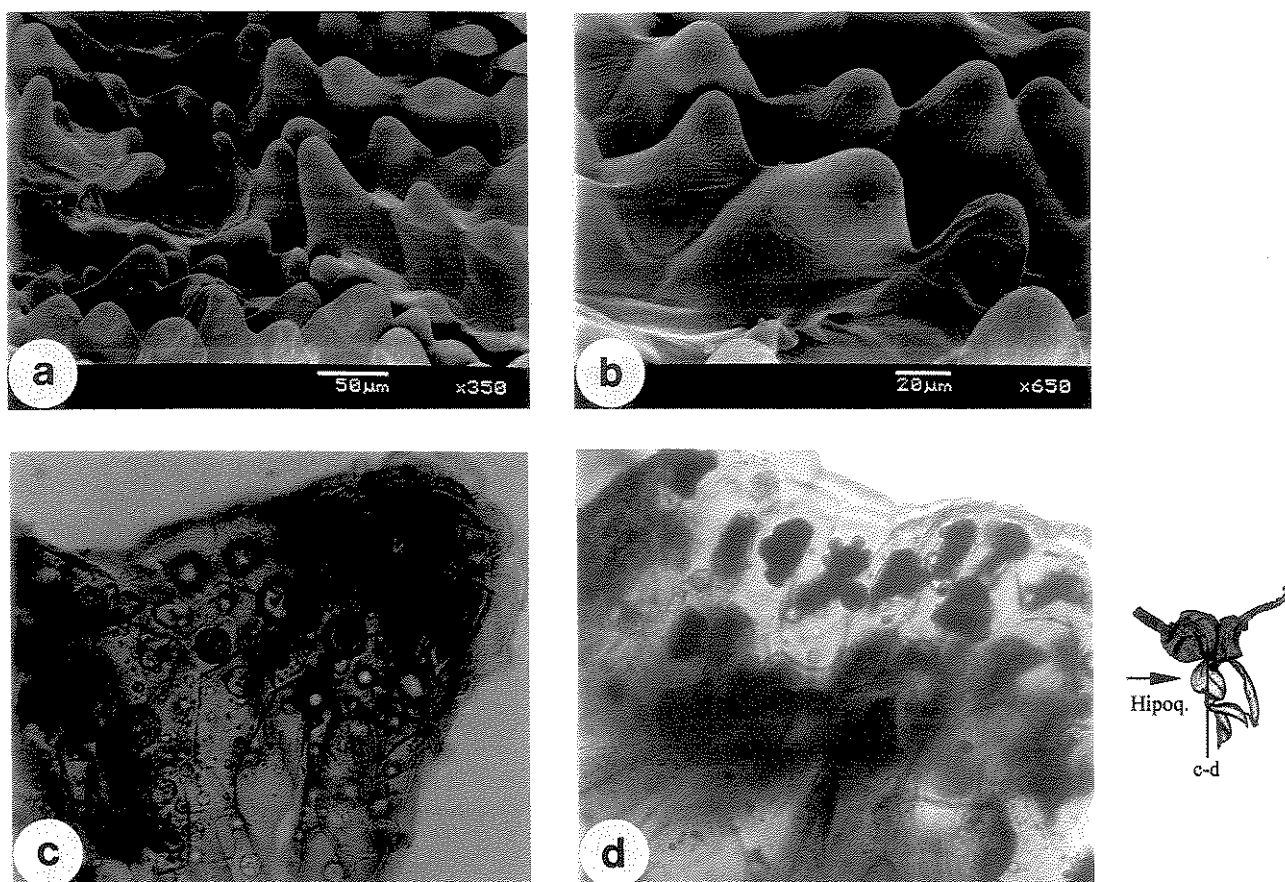


Figura 18: Hipoquilo de *Stanhopea lietzei*. a-b. Eletromicrografias obtidas em MEV do interior do hipoquilo da flor. a. Vista geral dos osmóforos (papilas pluricelulares); b. Detalhe dos osmóforos. c-d. Cortes transversais do hipoquilo da flor. c. Uma das papilas corada com safranina e azul de astra. Note as gotas de óleo no interior das células x20; d. Detalhe de uma região entre duas papilas corada com azul de toluidina. Observe que nesta região também há um número muito grande de células secretoras x20. E.R. Pansarin 88.

aquecendo as flores e intensificando o odor. As flores não oferecem outro recurso a não ser óleos voláteis.

1.6. *Stanhopea insignis* Frost ex Hook.

Stanhopea insignis ocorre como epífita na planície litorânea, em árvores próximas a regiões alagadas no interior da mata, onde podem receber maior umidade relativa.

O período de floração em *S. insignis* ocorre entre os meses de fevereiro a março e a deiscência dos frutos entre outubro a novembro. As flores, como em *S. lietzeii*, entram em processo de fenescência no terceiro dia após a antese. Neste período é possível perceber uma suave fragrância, que se intensifica nas horas mais quentes do dia. Todas as flores de uma única inflorescência de *S. insignis* abrem simultaneamente logo ao amanhecer (aproximadamente 7:30 h)

A inflorescência lateral de *Stanhopea insignis* é pêndula e pode conter até quatro flores, sendo mais comum encontrar indivíduos com duas a três flores dispostas próximo ao ápice da inflorescência (Fig. 19A). As flores medem cerca de 11 cm de comprimento, são brancas com pontuações vináceas ou de cor creme com grandes manchas vináceas (Fig. 32A, B). A sépala dorsal mede aproximadamente 6,5 cm de comprimento por 2,5 cm de largura. As sépalas laterais medem em torno de 6,5 cm de comprimento por 4 cm de largura e são de coloração creme com pontuações vináceas. As pétalas medem aproximadamente 5,5 cm de comprimento por 2 cm de largura, (Fig 19B, C, D) e apresentam o mesmo padrão de cor das sépalas, porém em alguns casos, exibem coloração mais escura (Fig. 32A, B). No final do primeiro dia de antese as pétalas assumem uma posição mais ou menos ereta em relação à flor. O labelo mede aproximadamente 6,5 cm de comprimento e apresenta características semelhantes às do labelo de *S. lietzeii*. Porém, a abertura do hipoquilo e a largura do mesoquilo e hipoquilo são maiores, quando comparado com *S. lietzeii* (Fig. 19D). Os osmóforos são semelhantes aos encontrados em *S. lietzeii*, formando papilas (Fig. 20A, B). As papilas são pluricelulares e podem apresentar grande número de células impregnadas com óleos (Fig. 20F). As camadas de células abaixo das papilas também são secretoras e células cheias de óleo podem ser observadas (Fig. 20E). A coluna mede

aproximadamente 5,5 cm de comprimento, é curva, branca com pontuações vináceas e alas laterais hialinas. Como em *S. lietzei*, a coluna encontra-se disposta paralelamente ao labelo e seu comprimento alcança a porção média do epiquilo (Fig. 19C; 32A, B). A fenda estigmática mede 5,2 mm de comprimento por 0,9 mm de largura e encontra-se disposta na região apical da coluna e perpendicular a esta (Fig. 19E, 33E). O polinário mede aproximadamente 10 mm de comprimento por 4 mm de largura. A espessura das polínias varia em torno de 0,6 a 1,2 mm dependendo da turgidez (Fig. 19G; 33B, D). O capuz da antera é branco com as extremidades branco-hialinas e mede cerca de 7,5 mm de comprimento por 6 mm de largura (Fig. 19F). O pedicelo e o ovário, como em *S. lietzei*, são de cor creme e estão envolvidos por brácteas que também são de coloração creme. A fragrância emitida pelas flores de *S. insignis*, que é bem distinta e muito mais suave quando comparado com a fragrância emitida pelas flores de *S. lietzei*. O óleo volátil é o único recurso oferecido aos visitantes florais.

As espécies da tribo Stanhopeinae estudadas (*C. dependens*, *S. lietzei* e *S. insignis*) apresentaram variação na coloração das flores. Entretanto, a morfologia floral é relativamente constante, especialmente quanto a forma do labelo. Dodson & Frymire (1961) sugerem que os caracteres florais intimamente associados com a polinização devem sofrer forte pressão seletiva. No entanto, caracteres menos importantes para polinização podem ser mais variáveis entre indivíduos de uma mesma espécie (Dodson & Frymire 1961). A grande variabilidade na coloração observada nas espécies estudadas é um exemplo de variação em um caracter pouco relevante para a polinização em Stanhopeinae.

O labelo é a região da flor mais utilizada na taxonomia do gênero *Stanhopea*, devido à sua variabilidade e complexidade estrutural, que permite a identificação de numerosos caracteres usados na delimitação de espécies. A morfologia do labelo, bem como características dos osmóforos de Stanhopeinae, têm sido utilizados em estudos cladísticos (Curry *et al.* 1991) e para determinar complexos de espécies no grupo (Dodson & Frymire 1961, Curry *et al.* 1991).

As observações de campo nas espécies investigadas revela como é problemática a utilização de padrões de coloração para delimitar espécies de *Stanhopea*. Porém, González

& Mora (1996), têm realizado estudos taxonômicos baseando-se principalmente em padrões de coloração.

A presença de labelo dividido em hipoquilo, mesoquilo e epiquilo, e a existência de osmóforos com papilas multicelulares, como as que ocorrem em *Stanhopea lietzei* e *S. insignis*, têm sido observadas em outras espécies de *Stanhopea*, e constituem caracteres evoluídos no gênero (Curry *et al.* 1991). Em *S. anfracta* e *S. pulla*, a aquisição de superfícies papilosas envolve a presença de células subepidérmicas, formando um tecido homogêneo (Curry *et al.* 1988), como observado em ambas as espécies estudadas.

Em *Stanhopea lietzei* e *S. insignis*, os osmóforos estão concentrados no interior do hipoquilo e, em *S. lietzei*, algumas vezes nas pétalas e sépalas, não existindo osmóforos em nenhuma outra parte do labelo. Braga (1976) observou osmóforos no epiquilo do labelo e nos “chifres” do mesoquilo, além do hipoquilo, em *Stanhopea candida* Barb. Rodr.. Este mesmo autor concluiu que a concentração destes osmóforos em maior e menor número ao longo das divisões do labelo constituem guias de odores, similares aos guias de néctar observados em outras orquídeas (Braga 1976).

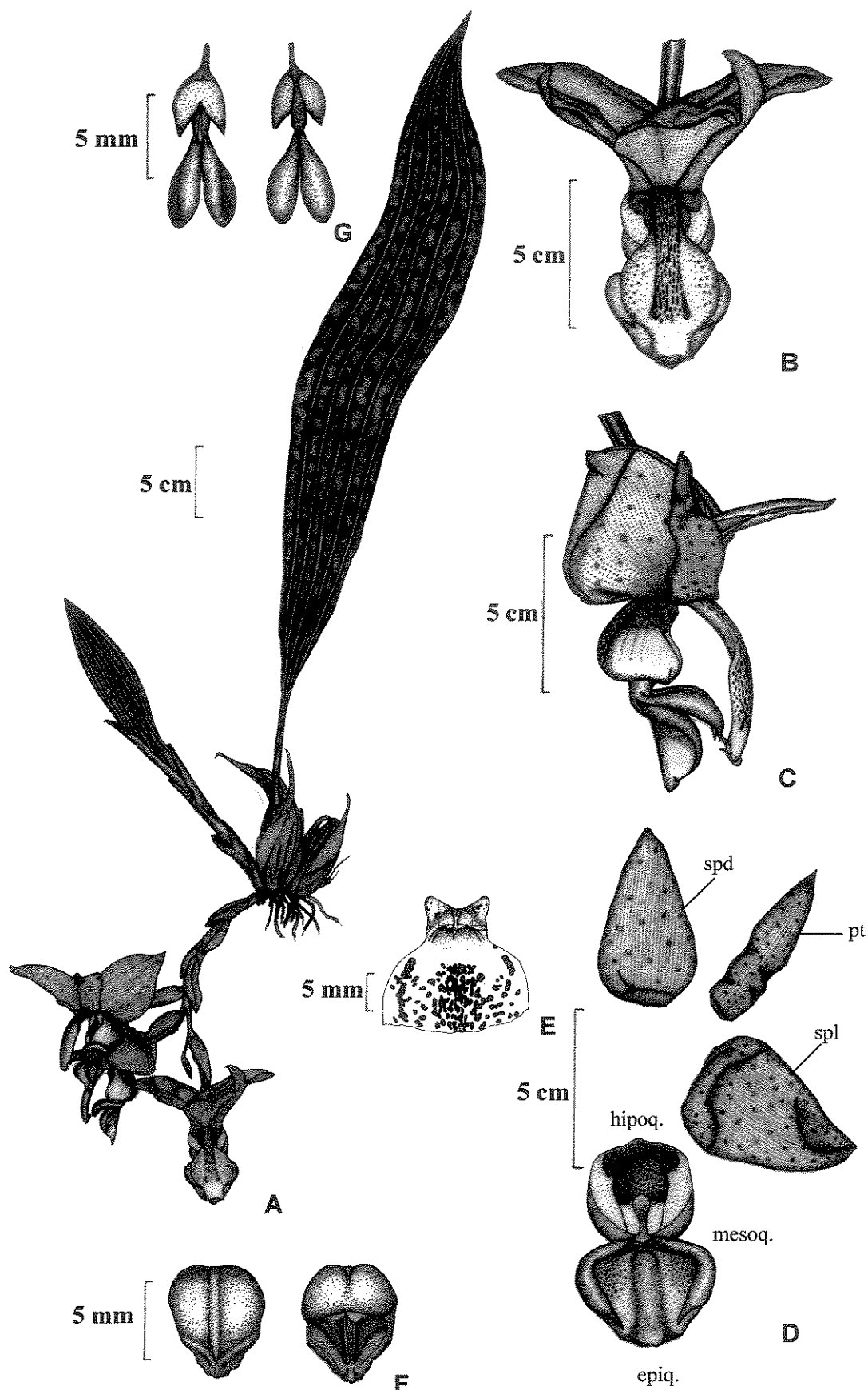


Figura 19: *Stanhopea insignis*. A. Hábito; B. Flor em vista frontal; C. Flor em vista lateral; D. Perianto: sépala dorsal (spd), sépala lateral (spl), pétala (pt); E. Coluna; F. Capuz da antera em vistas dorsal e ventral; G. Polinário em vistas ventral e dorsal. E.R. Pansarin 710. Desenho E. R. Pansarin.

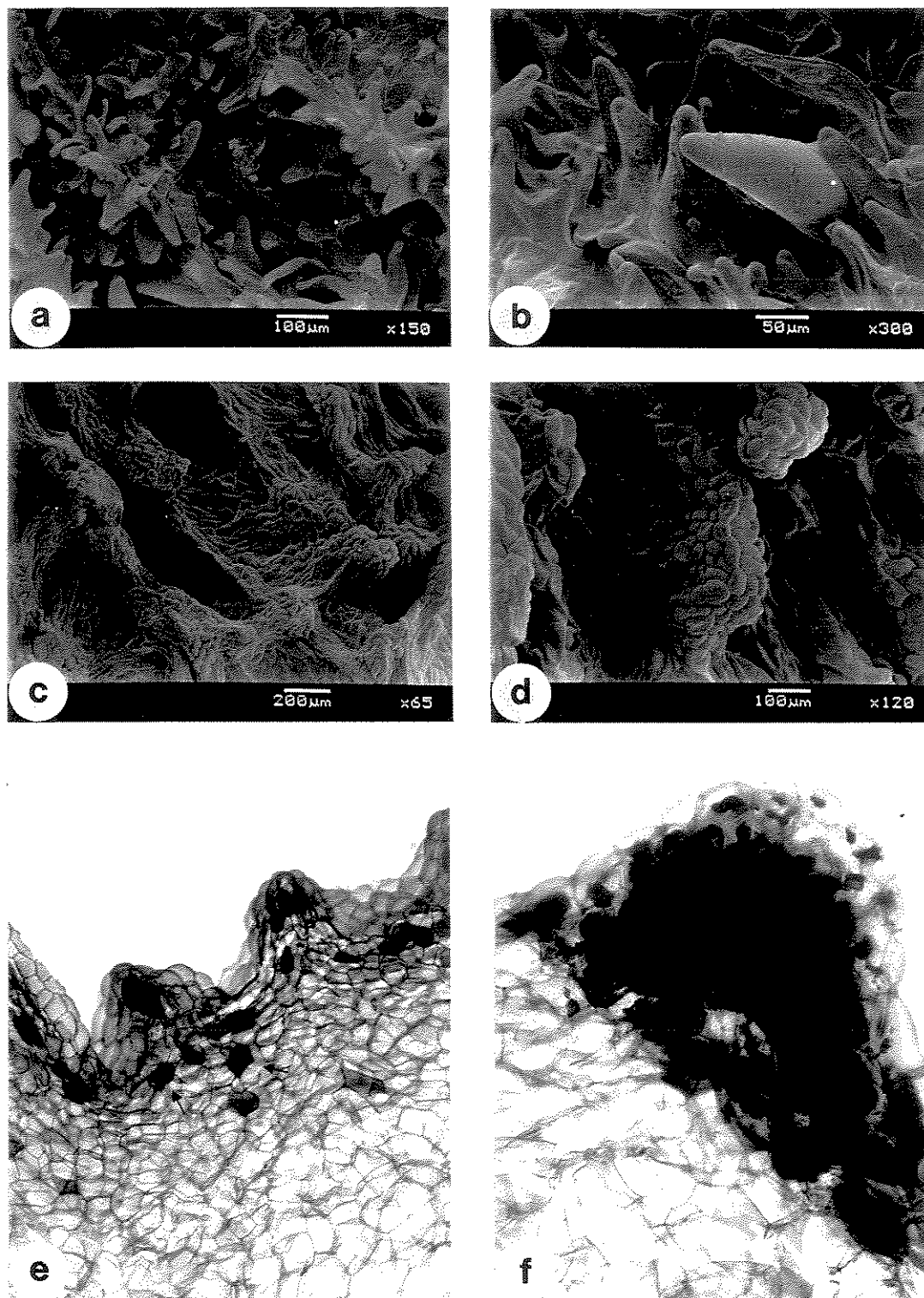


Figura 20. Hipoquilo de *Stanhopea insignis*. a-d. Eletromicrografias obtidas em MEV do interior do hipoquilo da flor. a. Vista geral dos osmóforos (papilas pluricelulares) de uma flor não visitada; b. Detalhe dos osmóforos de uma flor não visitada. Note que as papilas estão túrgidas; c. Vista geral dos osmóforos de uma flor visitada; d. Detalhe dos osmóforos de uma flor visitada. Note que as células das papilas estão colapsadas. e-f. Cortes transversais do hipoquilo da flor. e. Vista geral da região secretora. Observe que algumas células abaixo das papilas também são secretoras x10; f. Detalhe de uma das papilas x20. E.R. Pansarin 710.

2. PROCESSOS DE POLINIZAÇÃO

2.1. *Epidendrum secundum*

Tanto em matas semidecíduas do interior de Estado de São Paulo como na planície litorânea de Picinguaba, os principais visitantes florais de *Epidendrum secundum* são lepidópteros diurnos e abelhas do gênero *Bombus*. Na Serra do Japi, nos meses de dezembro e janeiro, é também observada uma espécie não identificada de mosca da família Bombyllidae visitando as flores.

Dentre os lepidópteros visitantes de *E. secundum*, várias espécies de borboletas da família Hesperiidae são os principais agentes polinizadores, em ambos os ambientes (Tabelas 1 e 2, Fig. 21). A atividade dos agentes polinizadores ocorre principalmente entre 10:00 h e 14:00 h, quando os raios de sol atingem as flores, acentuando sua coloração e tornando-as possivelmente mais atrativas. A grande maioria das visitas acontece enquanto os raios de sol atingem as flores. A atração dos lepidópteros para as flores de *E. secundum* parece ser estritamente visual. O animal, ao forragear o ambiente, provavelmente em busca de alimento, percebe as flores evidenciadas pelos raios de sol e desloca-se rapidamente para elas, onde muitas vezes muda sua rota de vôo para poder visitá-las. Em alguns casos, indivíduos de Hesperiidae que estão pousados em folhas de outras plantas ao sol, dirigem-se de forma muito rápida e direta às flores de *E. secundum*.

Os polinizadores pousam na inflorescência de *Epidendrum secundum* utilizando uma ou mais flores como apoio, dependendo do seu tamanho (Fig. 22A, B, C). Em seguida, desenrola a probóscide e a introduz no lúmen do nectário através das calosidades do labelo, que atuam como guias de néctar. Como dito anteriormente, o nectário apresenta papilas em toda sua extensão, porém, as papilas da entrada do nectário não parecem apresentar conteúdo algum sob a cutícula, e as células subepidérmicas aparentemente não são secretoras. Desta forma, o lepidóptero precisa introduzir uma porção considerável da probóscide no canal do nectário da flor para obter o néctar e, como consequência, tocar o polinário. Como o néctar não é liberado diretamente no lúmen do nectário, a borboleta precisa romper a cutícula das papilas com a probóscide para acessá-lo. No momento em

que o inseto inicia o processo de retirada da probóscide do canal do nectário para abandonar a flor é que ocorre a aderência do polinário (Fig. 22B). O polinário é depositado na face ventral da probóscide, principalmente no terço superior (Fig. 22C, D). Porém, não é raro observar deposição de polinário na extremidade da probóscide, no terço inferior. A deposição de polinários na face ventral da probóscide, é observada em mariposas que polinizam algumas espécies do gênero *Angraecum* (Orchidaceae), em Madagascar (Nilsson 1978, 1983, Nilsson *et al.* 1985).

O polinário oferece resistência ao ser retirado (Fig. 22B), e alguns lepidópteros, dependendo de seu tamanho, podem ficar até 25 segundos presos à flor, até se libertarem. Flores de *E. secundum* com pedaços de probóscides presos ao polinário foram vistos em populações da Serra do Japi. Em outras espécies de *Epidendrum*, como *E. paniculatum* Ruíz & Pavón, alguns lepidópteros podem permanecer vários minutos presos pela probóscide, e outros, de tamanho diminuto, podem até morrer presos ao polinário (Pansarin, dados inéditos). Ao deixar a flor, a conduta dos lepidópteros pode variar. O indivíduo pode visitar outra flor da mesma inflorescência, ou dirigir-se a inflorescências próximas, polinizando-as ou não, ou até mesmo distanciar-se da população. Um determinado polinizador é potencialmente capaz de polinizar quatro flores com um único polinário, que é constituído de quatro polínias em *E. secundum*. A cada visita, uma ou mais polínias podem ser depositadas na região estigmática.

Espécies de abelhas do gênero *Bombus* somente foram vistas pela manhã, visitando as flores de *E. secundum* entre o nascer do sol e até aproximadamente 10:00 h. Em nenhuma ocasião estas abelhas foram vistas retirando ou carregando polinários. Na Serra do Japi, apenas uma vez o mesmo indivíduo de *Bombus atratus* (Franklin 1913) foi visto visitando cinco flores da mesma inflorescência. Em Picinguaba, *Bombus* sp. é freqüente nas flores de *E. secundum*, retornando à população em intervalos regulares no período da manhã, iniciando as visitas por volta das 7:30 h e cessando por volta das 10:30 h. Na Serra do Japi, no período de primavera e verão, uma espécie de mosca da família Bombyllidae visita flores de *E. secundum* em vôo, sem remover polinários. Desta forma, assim como *Bombus* spp., a espécie de Bombyllidae atua apenas como pilhadora de néctar. Alguns lepidópteros, como *Aeria o. olena* (Weymer 1875), *Cymaenes gisca* (Evans 1955) e *Arawacus* sp., entre

outros, podem permanecer na inflorescência sugando apenas os exsudados na base dos botões florais.

Espécies de *Heliconius* (Tabelas 1 e 2), principalmente *Heliconius ethila narcacea* na Serra do Japi, e *Heliconius sara apseudes*, em Picinguaba, visitam flores de *E. secundum* com frequência, mas raramente removem polinários das flores. Dois dos indivíduos de *Heliconius* capturados nas flores, sendo um *Heliconius ethila narcacea* e um *Heliconius besckey*, apresentaram os polinários parcialmente digeridos em suas probóscides. O gênero *Heliconius* é conhecido por se alimentar de pólen em flores (Brown-Jr 1981). Desta forma, *Heliconius* spp., só atuariam como polinizadores de *E. secundum* quando visitassem outras flores logo em seguida, ou seja, enquanto o polinário ainda não estivesse digerido. Raramente foram observadas duas visitas simultâneas por espécies do gênero *Heliconius* em flores de *E. secundum*, portanto raramente atuam como polinizadores da espécie.

Na Serra do Japi e em Picinguaba, foram marcadas inflorescências de *E. secundum* no final de cada dia de observação (aproximadamente 17:30 h) e checadas na manhã do dia seguinte para verificação de eventuais polinizações noturnas. Em Picinguaba, no dia 24/07/1998, foram marcadas 3 inflorescências, que continham um total de 28 flores disponíveis aos visitantes florais. Estas inflorescências foram marcadas às 17:30 h na tarde do dia anterior, e quando checadas na manhã seguinte (7:00 h), apresentaram remoção de três polinários. Estes três polinários podem ter sido removidos por lepidópteros crepusculares ou mariposas noturnas. Apesar terem sido realizadas observações noturnas em *E. secundum*, nenhum visitante floral foi observado neste período. Entretanto, não se pode descartar a hipótese que lepidópteros noturnos também possam atuar como polinizadores desta espécie.

Epidendrum secundum é pouco específico em relação ao número de agentes polinizadores. Duas famílias de lepidópteros foram comuns para ambos os ambientes. Espécies da família Pieridae só foram observadas em Picinguaba e espécies de Lycaenidae só na Serra do Japi (Fig. 21). Nem todas as borboletas que removeram polinários de *E. secundum* (Tabelas 1 e 2) foram observadas retornando com polinários às flores. Devido a inconstância desses lepidópteros nas flores de *E. secundum*, a maioria das polínias acabam sendo perdidas. No entanto, algumas espécies como *Vettius* sp., *Lychnuchus celsus*,

Tabela 1. Polinizadores e número de visitas realizadas por espécie em *Epidendrum secundum* na Serra do Japi:

Espécies	Nº de visitas	Pol. removidos
<i>Dryadula phaetusa</i> (L. 1758) (Nymphalidae, Nymphalinae)	1	*
<i>Heliconius beskey</i> (Mén. 1857) (Nymphalidae, Nymphalinae)	2	x
<i>Heliconius erato phyllis</i> (F. 1775) (Nymphalidae, Nymphalinae)	3	x
<i>Heliconius ethila narcacea</i> (Godt. 1819) (Nymphalidae, Nymphalinae)	12	x
<i>Euphyes d. derasa</i> (Herr. -Sch. 1870) (Hesperiidae, Hesperinae)	2	x
<i>Lychnuchus celsus</i> (F. 1793) (Hesperiidae, Hesperinae)	4	x
<i>Miltomiges cinnamomea</i> (Herr. -Sch. 1869) (Hesperiidae, Hesperinae)	19	x
<i>Vehilius s. stietomenes</i> (Butler 1877) (Hesperiidae, Hesperinae)	1	x
<i>Vettius</i> sp.1 (Hesperiidae, Hesperinae)	2	x
<i>Vettius</i> sp.2 (Hesperiidae, Hesperinae)	1	x
<i>Heliopterus a. arsalte</i> (L. 1758) (Hesperiidae, Pyrginae)	2	x
<i>Urbanus d. dorantes</i> (Stoll 1790) (Hesperiidae, Pyrginae)	3	x
<i>Urbanus simplicioides</i> (Stoll 1790) (Hesperiidae, Pyrginae)	1	x
<i>Gesta g. gesta</i> (Herr. Sch. 1863) (Hesperiidae, Pyrginae)	3	x
<i>Eurybia pergaea</i> (Geyer 1832) (Lycaenidae, Riodininae)	1	x

x - espécies que foram observadas removendo polinários

* - espécies que não foram observadas removendo polinários, mas são potencialmente polinizadores

Miltomiges cinnamomea e *Urbanus d. dorantes* (Hesperiidae), *Heliconius ethila narcacea* e *H. beskey* (Nymphalidae), e *Phoebis p. philea* (Pieridae) foram vistas chegando com polinários às flores de *E. secundum*. Estas espécies representam três das quatro subfamílias de borboletas observadas removendo polinários das flores (Fig. 21). Como o tipo probóscide é semelhante entre espécies de uma mesma família de borboletas, as demais espécies que foram observadas removendo polinários podem ser polinizadoras se retornarem às flores. A inespecificidade de *E. secundum* também é observada em outras

Tabela 2: Polinizadores e número de visitas realizadas por espécie em *Epidendrum secundum* na região de Picinguaba:

Espécies	Nº de visitas	Pol. removidos
<i>Melinaea ludivica paraiya</i> (Reakirt 1866) (Nymphalidae, Ithomiinae)	2	x
<i>Heliconius sara apseudes</i> (Hbn. 1806) (Nymphalidae, Nymphalinae)	3	x
<i>Decinia decinia antus</i> (Mab. 1895) (Hesperiidae, Hesperinae)	2	x
<i>Niconiades nikko</i> (Hayward 1848) (Hesperiidae, Hesperinae)	2	x
<i>Vettius</i> sp. (Hesperiidae: Hesperinae)	3	x
<i>Urbanus d. dorantes</i> (Stoll 1790) (Hesperiidae, Pyrginae)	6	x
<i>Gesta g. gesta</i> (Herr. Sch. 1863) (Hesperiidae, Pyrginae)	4	x
<i>Archonias t. tereas</i> (Godt. 1819) (Pieridae, Pierinae)	4	x
<i>Phoebis</i> sp. (Pieridae, Pierinae)	1	x
<i>Phoebis p. philea</i> (L. 1763) (Pieridae, Pierinae)	2	x

x - espécies que foram observadas removendo polinários

* - espécies que não foram observadas removendo polinários, mas são potencialmente polinizadores

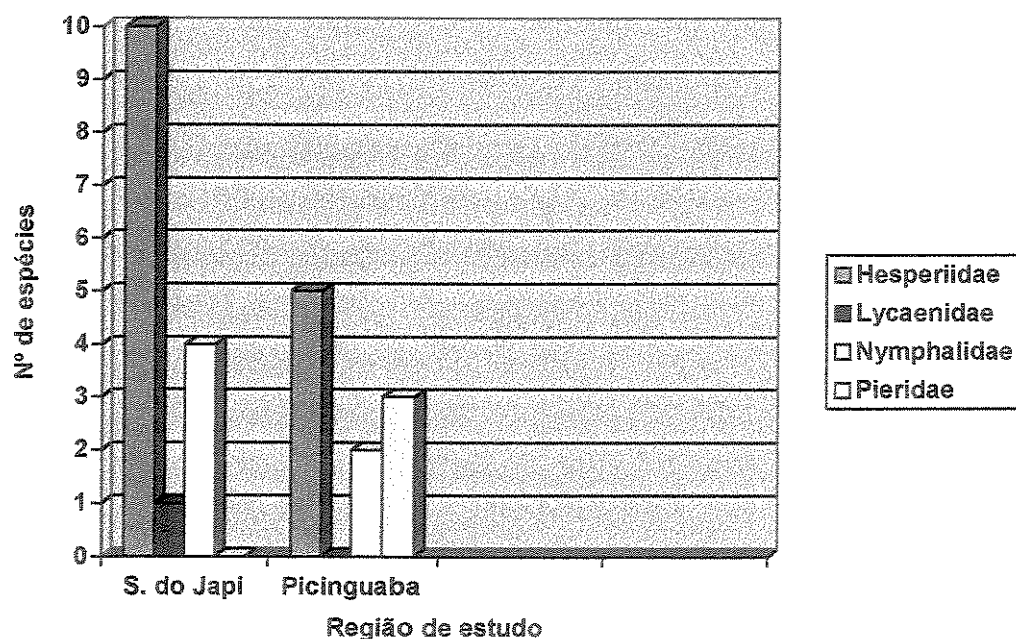


Figura 21. Número de espécies de polinizadores observados em *Epidendrum secundum*, em ambos os ambientes.



Figura 22: A-E. *Epidendrum secundum*. A. *Heliconius sara* visitando algumas das flores; B. *Vettius* sp. Note a probóscide tencionada devido a resistência oferecida pelo polinário ao ser retirado; C. *Vettius* sp. Observe o polinário aderido na porção ventral da probóscide; D. Detalhe da probóscide de *Urbanus d. dorantes* com polinário; E. Frutos formados através de polinizações manuais. Observe que os quatro frutos superiores são maiores devido ao maior número de polínias depositadas; F. *Heliconius sara* visitando *Vernonia beyrichii*. Barras de escala: A = 2 cm, B-C = 1 cm, D = 0,5 mm, E-F = 2 cm.

regiões. Dodson (1962) relata que *E. secundum* é polinizado por beija-flores na América Central. Pijl & Dodson (1966) relataram uma espécie não identificada de HesperIIDae e *Papilio polyxemes* (Papilionidae) como polinizadores de *E. secundum* na Costa Rica. Beija-flores e borboletas da família Papilionidae não foram observados visitando *E. secundum* nas regiões estudadas.

Epidendrum ibaguense H.B.K. que, como *E. secundum*, pertence ao “complexo *Epidendrum secundum*”, também parece ser generalista quanto ao grupo de agentes polinizadores. *E. ibaguense* quando introduzido no município de Várzea Paulista, no Estado de São Paulo, é polinizado pelo beija-flor *Eupetomena macroura* e pelo Passeriforme *Coereba flaveola*. Esta mesma espécie, em condições naturais, é polinizada por lepidópteros na Costa Rica (Bierzychudek 1981a) e no Panamá (Boyden 1980).

2.2. *Polystachya estrellensis* e *P. concreta*

As flores de *Polystachya estrellensis* são visitadas por alguns grupos de pequenas abelhas e algumas espécies de *Salpingogaster* (Diptera: Syrphidae), mas apenas os himenópteros atuam como polinizadores (Tabelas 3 e 4). A atividade dos visitantes florais ocorre durante todo o dia, desde aproximadamente 7:00 h até 18:00 h, quando ainda é possível observar indivíduos de *Trigona spinipes* e *Plebeia droryana* visitando as flores. *Plebeia droryana*, *Trigona spinipes* e *Tetragonisca angustula* são as espécies mais frequentes nas flores de *P. estrellensis* na Serra do Japi. Em Picinguaba, *Trigona spinipes* e *Plebeia droryana* foram as espécies mais frequentes visitando *P. estrellensis*. Nesta região, *Trigona spinipes* é muito eficiente na polinização de *P. estrellensis*.

Em ambos os ambientes, a visita sempre ocorre com a abelha pousando na parte superior da flor. Como as flores de *Polystachya estrellensis* não são ressupinadas, é necessário que a abelha se agarre no labelo com as patas medianas e posteriores para ficar com a porção ventral do tórax em contato com o pseudopólen (Fig. 23E, F; 24A, B, C). O pseudopólen é coletado com as patas dianteiras. A coleta sempre se processa da extremidade do labelo para a base, onde existe uma calosidade. Somente quando o inseto coleta o pseudopólen na região da calosidade é que torna-se possível o contato da cabeça da

abelha com o viscidio do polinário. A deposição do polinário ocorre sempre na cabeça da abelha, geralmente na região do clipeo (Fig. 23F, 24E). Em geral, são necessárias várias visitas para que ocorra a deposição de um polinário, embora alguns indivíduos possam receber polinários logo na primeira visita. *Trigona spinipes* (Fig. 24B) e *Tetragonisca angustula* (Fig. 23E, F) foram observadas carregando até quatro polinários por indivíduo. Em ambos os ambientes, as abelhas visitam algumas flores de cada inflorescência e inflorescências próximas, até que o enchimento de suas corbículas com pseudopólen. Abelhas marcadas comprovaram que os mesmos indivíduos, em intervalos mais ou menos regulares para cada espécie, tendem a retornar às mesmas inflorescências visitadas anteriormente. Na Serra do Japi, foi observada uma visita por *Melipona* sp. e outra por Halictidae sp. às flores de *P. estrellensis*, sem que ocorresse retirada de polinários. Algumas espécies de *Salpingogaster* (Syrphidae) são conhecidos, na Serra do Japi, por se alimentarem de pólen em algumas espécies das famílias Commelinaceae, Begoniaceae e Asteraceae. Eventualmente, indivíduos de *Salpingogaster* spp. visitam as flores de *P. estrellensis*, onde se alimentam de pseudopólen, porém, não removem polinários das flores (Fig. 24D).

Os polinizadores de *Polystachya concreta* na região de mangue, em Picinguaba, são *Plebeia* sp., *Tetrapedia* sp., *Trigona spinipes* e Halictidae sp. (Tabela 5). Dentre esses polinizadores, o mais freqüente é Halictidae sp., correspondendo à 73% das visitas. Esta abelha visita as flores de *Polystachya* somente no período da manhã, em intervalos mais ou menos regulares. As visitas iniciam-se a partir das 7:30 h aproximadamente. Neste horário, as visitas são freqüentes, acontecendo em intervalos de aproximadamente 12 minutos. A partir das 9:30 h aproximadamente, as visitas se tornam cada vez menos freqüentes e cessam completamente entre 12:00 h e 13:00 h. O mecanismo de polinização de *P. concreta* é semelhante à observada em *P. estrellensis*. Goss (1977) observou a polinização em *Polystachya flavescens* (Blume) J. J. Smith por *Dialictus* aff. *creberrimus* (Halictidae) que coleta pseudopólen das flores, na Flórida. Ackerman (1995) considera *P. flavescens* um sinônimo de *P. concreta*. Halictidae sp., o mais comum visitante floral de *Polystachya concreta*, estabelece rotas de forrageamento dentro da população do mangue, em Picinguaba. Abelhas marcadas foram observadas retornando às flores em intervalos

regulares. Esses mesmos indivíduos visitam de uma a poucas flores de uma inflorescência, e logo dirigem-se para outras, percorrendo grandes distâncias dentro da população. Esse comportamento proporciona maior possibilidade da ocorrência de polinização cruzada entre os indivíduos.

Tabela 3. Visitantes florais de *Polystachya estrellensis* na Serra do Japi:

Espécies	Polinários removidos
Halictidae sp.	*
<i>Melipona</i> sp. (Apidae: Meliponini)	*
<i>Plebeia droryana</i> (Friesse 1900) (Apidae: Meliponini)	x
<i>Tetragonisca angustula</i> (Latreille 1836) (Apidae: Meliponini)	x
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius 1793) (Apidae: Meliponini)	x
<i>Salpingogaster</i> spp. (Syrphidae)	o

* espécies potencialmente polinizadoras (não foram observadas removendo polinários)

x - espécies que atuam como agentes polinizadores de *P. estrellensis*

o - espécies que não atuam como agentes polinizadores

A coleta ativa por parte dos polinizadores verificada através de abelhas marcadas no campo, a presença de sirfídeos se alimentando nas flores e a presença de grãos de amido nas células (ver também morfologia floral) indica que os animais não são enganados ao coletarem grãos de pseudopólen. Estas evidências discordam da hipótese de Vogel (1978). Vogel (1978) sugere que o pseudopólen seria constituído por células vazias e sem valor nutritivo, enganando os polinizadores. Ackerman (1986) utiliza termo “fraude” e não “engano” quando se refere ao pseudopólen, pelo fato dessas estruturas apenas se assemelharem com pólen, mas serem potencialmente nutritivas devido a existência de grãos de amido nas células. Pseudopólen tem sido observado em outros gêneros de Orchidaceae (Dodson & Frymire 1961, Pijl & Dodson 1966, Dafni & Ivri 1981, Simpson & Neff 1981, Ackerman 1986), bem como em outras famílias (Simpson & Neff 1981). Em algumas espécies do gênero *Maxillaria* (Orchidaceae) foi observada a presença de grãos de amido

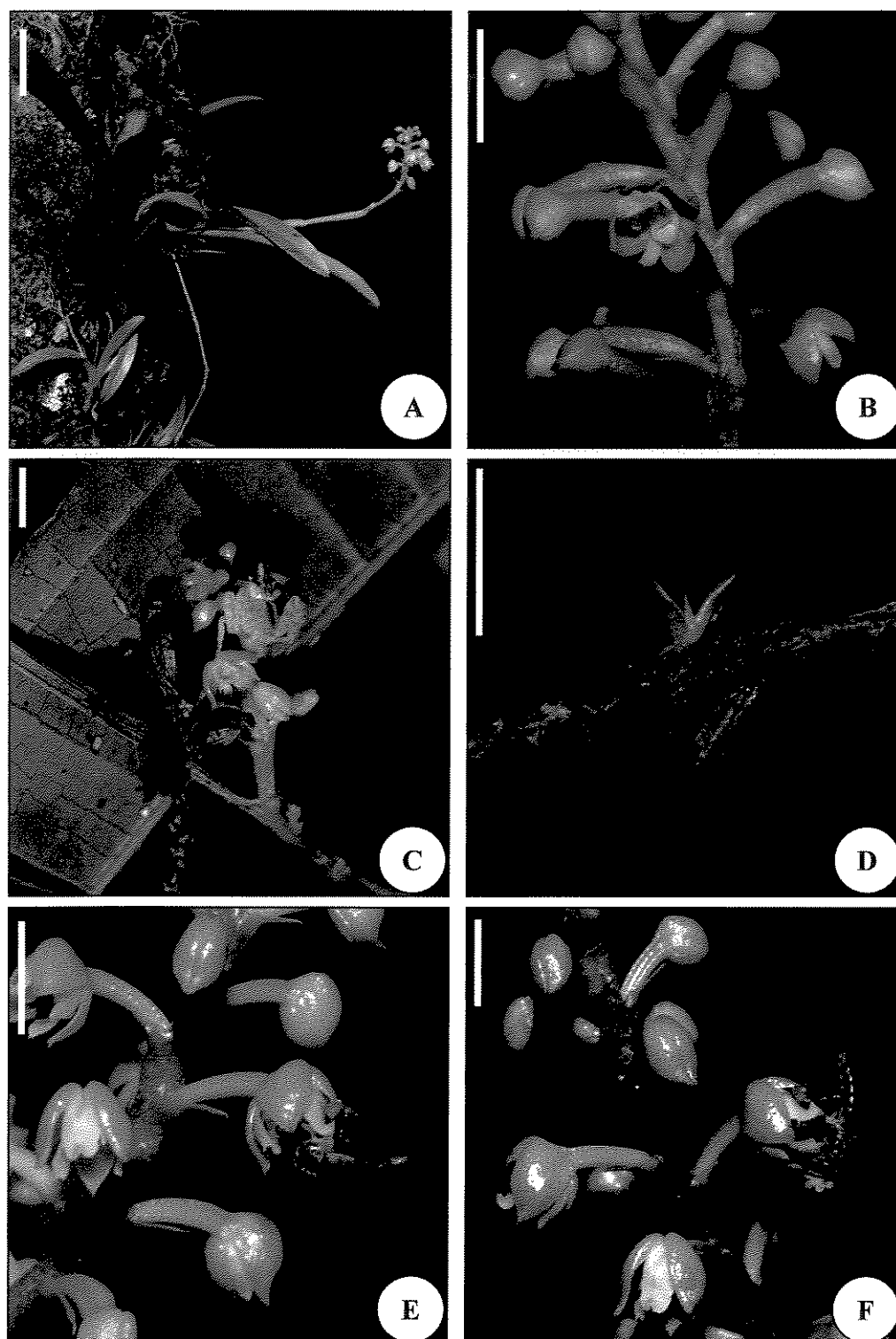


Figura 23: *Polystachya*. **A.** Hábito de *Polystachya concreta*; **B.** Flor de *P. estrellensis*; **C.** Aranha Tomisidae em *P. estrellensis* a espera de visitantes florais; **D.** Plântula de *P. concreta* desenvolvendo-se no escapo floral; **E.** *Tetragonisca angustula* coletando pseudopólen em *P. concreta*; **F.** *T. angustula* com três polinários de *P. concreta* no clipeo. Barras de escala: **A** = 5 cm, **B-F** = 1 cm.

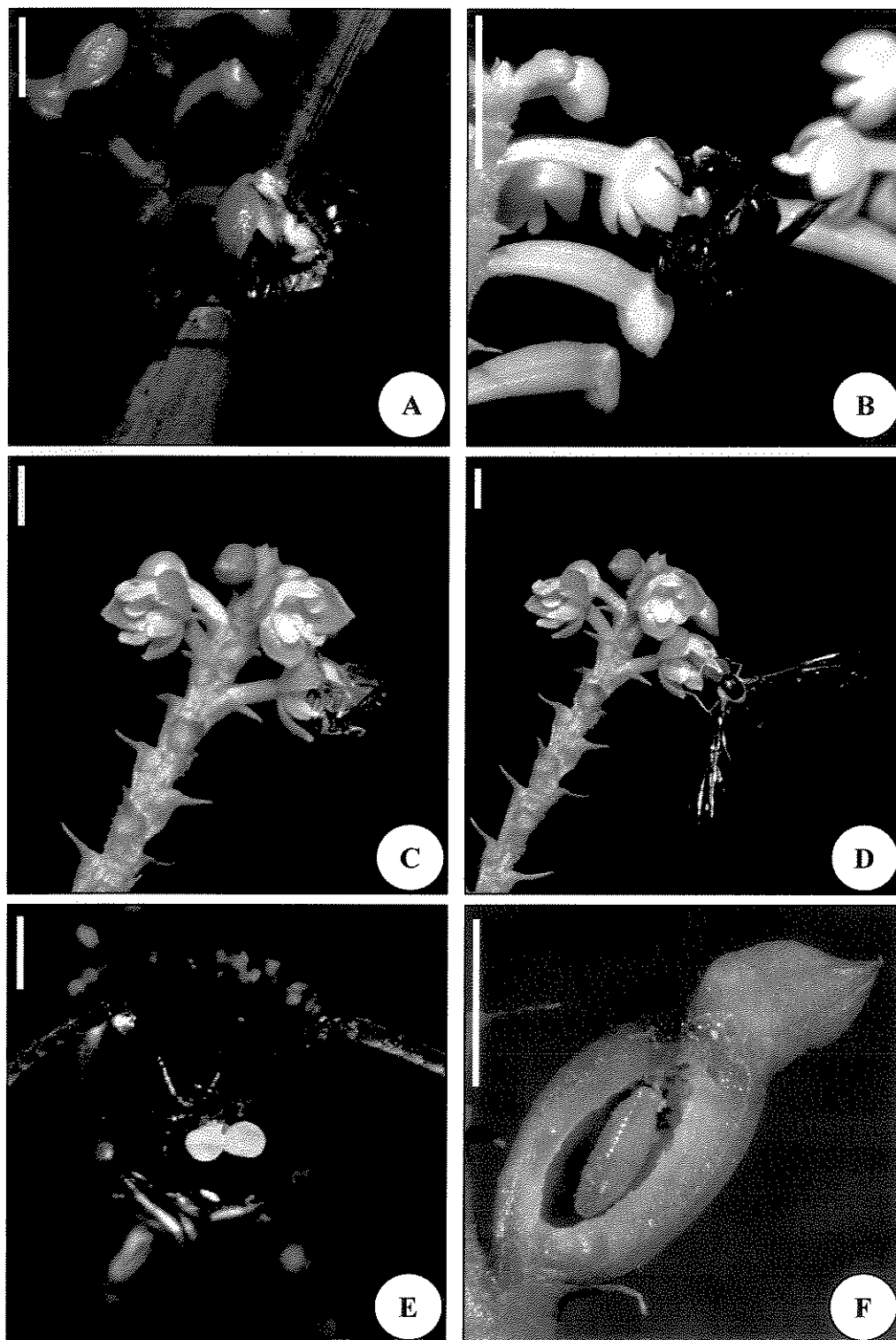


Figura 24: *Polystachya*. A. Halictidae sp. coletando pseudopólen em *Polystachya concreta*; B. *Trigona spinipes* coletando pseudopólen em *Polystachya estrellensis*; C. *Plebeia droryana* coletando pseudopólen em *P. concreta*; D. *Salpingogaster* sp. alimentando-se de pseudopólen em *P. concreta*; E. *Trigona spinipes* com polinário de *P. estrellensis*; F. Ovário de *P. concreta* parasitado por larva de *Eurytoma* sp. Barras de escala: A-D = 1 cm, E-F = 5 mm.

nas células de pseudópólen (Dodson 1962, Pijl & Dodson 1966, Davies *et al.* 2000).

Tabela 4. Visitantes florais de *Polystachya estrellensis* em Picinguaba:

Espécies	Polinários removidos
<i>Plebeia droryana</i> (Friese 1900) (Apidae: Meliponini)	x
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius 1793) (Apidae: Meliponini)	x
x - espécies que atuaram como agentes polinizadores de <i>P. estrellensis</i>	

Tabela 5. Visitantes florais de *Polystachya concreta* no mangue, em Picinguaba:

Espécies	Polinários removidos
<i>Plebeia</i> sp. (Apidae: Meliponini)	x
<i>Tetrapedia</i> sp. (Apidae: Tetrapediini)	x
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius 1793) (Apidae: Meliponini)	x
Halictidae sp.	x
x - espécies que atuaram como agentes polinizadores de <i>P. concreta</i>	

Em Picinguaba, foram realizados testes, levando alguns indivíduos de *Polystachya concreta* para o interior da mata, onde ocorre apenas *P. estrellensis*. Nesta situação, nenhum indivíduo de Halictidae sp. visitou as flores, como ocorre na região do mangue. *P. concreta* quando levada experimentalmente para o interior da mata, é polinizada por *Plebeia droryana* e *Trigona spinipes*, como observado para *P. estrellensis*. Indivíduos de *P. concreta*, também foram levados à Serra do Japi. Neste ambiente, as flores de *P. concreta* atraem os mesmos polinizadores observados para *P. estrellensis*. Portanto, as espécies de polinizadores não são específicas para cada espécie de *Polystachya*. Apenas os agentes polinizadores tendem a permanecer em microhábitats distintos. A conduta dos polinizadores em permanecerem em seus microhábitats, adicionado ao fato de que as

plantas apresentam períodos de floração distintos, podem ser fatores importantes em evitar hibridação entre as espécies, em Picinguaba.

2.3. *Psilochilus modestus*

Pequenas abelhas, vespas e sirfídeos são os principais visitantes florais de *Psilochilus modestus*, sendo as espécies de pequenas abelhas as responsáveis pela polinização da espécie, em ambos os ambientes. A atividade dos visitantes florais é verificada a partir da antese da flor, pela manhã, estendendo-se até as 18:00 h aproximadamente.

Psilochilus modestus oferece tanto pólen quanto néctar como recompensa, que são explorados de maneira distinta para cada espécie de visitante floral (Tabela 6). No entanto, pode ocorrer exploração de ambos os recursos por uma só espécie, como acontece com *Halictidae* sp.2, que coleta tanto pólen como néctar nas populações da Serra do Japi (Fig. 25E, F). Quando as abelhas, de um modo geral, visitam as flores procurando pólen, inicialmente pousam sobre a coluna da flor. Em seguida, se agarram com as patas traseiras e medianas na coluna, ficando com a porção ventral do corpo em contato com o polinário (Fig. 25E; 26B, C). Com as patas anteriores, e algumas vezes com as patas medianas, o animal retira porções de pólen do polinário, depositando-as nas cerdas do tórax, e em seguida transferindo-as para as tíbias posteriores.

Quando as abelhas coletam pólen, são necessárias algumas condições especiais para que possa ocorrer a polinização. Abelhas do gênero *Plebeia* são diminutas em relação ao tamanho da flor de *Psilochilus modestus*. Assim, a polinização ocorre quando o animal, com as patas impregnadas de pólen, se desloca sobre a região estigmática (situação que é observada na maioria das visitas), autopolinizando a flor (Fig. 26C). Abelhas do gênero *Plebeia* foram os polinizadores mais abundantes coletando pólen em *P. modestus* na Serra do Japi. Indivíduos de *Plebeia droryana* foram observadas visitando *P. modestus* logo pela manhã (aproximadamente 7:30 h), ocasião em que ocorre a antese das flores. Inicialmente, poucos indivíduos começam a coletar o pólen das flores. No decorrer do dia, cada vez mais indivíduos dirigem-se às flores, retirando o polinário em pequenas porções da maioria delas. De um modo geral, *Plebeia droryana*, tende a retornar aos mesmos indivíduos

visitados anteriormente, realizando autopolinizações ou geitonogamia na maioria das flores. *Trigona* spp., tanto na Serra do Japi como em Picinguaba, também restringiram-se à coleta de pólen nas flores. Estas abelhas podem atuar como polinizadoras ou não, dependendo de sua conduta, sua abundância no ambiente e frequência de visitas nas flores. Em ambos os ambientes, *Trigona* spp. começam a coletar os grãos de pólen do ápice para a base do polinário, pousando no labelo (Fig. 26A) ou agarrando-se na coluna, como descrito anteriormente (Fig. 26B). As abelhas que pousam no labelo para coletar o pólen geralmente não contactam a região estigmática. Somente quando as abelhas se agarram à coluna é que se torna possível a polinização. Como em *Plebeia droryana*, as espécies de *Trigona* removem o polinário em pequenas porções, do ápice para a base. Estas abelhas só polinizam a flor quando coletam o pólen na base do polinário, contactando o estigma acidentalmente. A coleta de pólen por Halictidae sp.2 ocorre de maneira semelhante ao processo descrito para *Plebeia droryana* e *Trigona* spp. Para coletar pólen, os indivíduos de Halictidae sp.2 posicionam o tórax na porção mediana do polinário e, com as patas anteriores e medianas, deslocam grande porção de pólen de encontro às cerdas do tórax, onde os grãos de pólen se aderem (Fig. 25E). Em seguida, os grãos de pólen são transferidos para as tíbias posteriores do animal. A polinização ocorre durante a coleta o pólen, ao contactar o estigma com as patas dianteiras impregnadas com pólen.

Quando as abelhas visitam as flores para obtenção do néctar, a visita inicia-se com o inseto pousando no labelo. A seguir, as abelhas dirigem-se até a base do labelo para acessar o néctar (Fig. 25C). Como as flores de *P. modestus* são ressupinadas, a posição do labelo atua como plataforma de pouso para os visitantes florais. Os visitantes são orientados até a base do labelo pelos guias de néctar, que são de coloração amarelada na maioria das flores (Fig. 25B). Ao deixarem a flor, as abelhas contactam o viscidio com a região dorsal do corpo, e o polinário se adere ao escudo dos animais. Indivíduos de Halictidae sp.2 inicialmente visitam as flores pousando no labelo (Fig. 25F), mas após várias visitas, as abelhas “descobrem” que o recurso pode ser acessado também através da base das sépalas, e as visitas posteriores só ocorrem deste modo. Outra espécie de Halictidae (Halictidae sp.1) e *Melipona* sp. foram observadas na Serra do Japi, visitando flores de *P. modestus* à procura de néctar e removendo polinários. Ambas as espécies obtém o néctar da base do

labelo, e em nenhuma ocasião foram vistas pilhando néctar. *Melipona* sp. raramente visita as flores de *P. modestus*. As raras visitas realizadas por *Melipona* sp. restringiram-se às flores localizadas na borda da mata. Halictidae sp.1 é mais freqüente quando comparado com *Melipona* sp., e somente foi visto visitando flores no interior da mata (Fig. 25C, D). Abelhas *Osiris* sp., uma espécie comumente vista forrageando em áreas abertas no interior da mata em Picinguaba, visitam as flores de *P. modestus* apenas para obtenção do néctar na base do labelo e, como consequência, removem polinários. Em nenhum momento estas abelhas foram vistas pilhando o néctar das flores. Ainda em Picinguaba, uma espécie não identificada de Vespidae (Vespidae sp.) visita as flores para tomar néctar. Como descrito para Halictidae sp.2, a espécie de vespa visita a flor pousando no labelo e acessa o néctar na sua base. Entretanto, quando “descobre” que o néctar pode ser acessado através da base das sépalas, as visitas posteriores só ocorrem desta forma (Fig. 26D). Somente uma vez essa espécie de vespa foi vista removendo o polinário de uma flor.

Algumas vezes, em ambos os ambientes, foram observadas espécies de sirfídeos do gênero *Salpingogaster* apenas alimentando-se do pólen nas extremidades das polínias das flores, sem que tocassem a região do estigma (Fig. 26E). Duas espécies de *Heliconius*, *H. ethila narcacea* (Fig. 26F) e *H. erato phyllis*, visitam as flores de *Psilochilus* na Serra do Japi, apenas atuando como pilhadores de néctar.

Coleta de pólen como recompensa floral aos agentes polinizadores é um fenômeno raro na família Orchidaceae (Williams 1982), e foi sugerida para as Apostasioidae (subfamília mais primitiva entre as Orchidaceae), que apresentam anteras poricidas (Dressler 1993). O único registro de coleta, ainda que secundária, de pólen em Orchidaceae é mencionado por Gregg (1991b), para *Cleistes divaricata* no oeste do Estado de Virginia, U.S.A. Esta espécie não apresenta recompensa aos visitantes, e as visitas (principalmente abelhas do gênero *Bombus*) acontecem por engano, como em muitas outras Orchidaceae. As abelhas, ao visitarem a flor, provavelmente à procura de néctar, recebem pólen na região dorsal do corpo. Esse pólen é utilizado posteriormente pelo inseto de forma secundária, isto é, ao se limpar, a abelha recolhe o pólen que é depositado em suas corbículas (Gregg 1991b). Em *Cleistes* o pólen é coletado de forma secundária, ou seja, os visitantes florais aproveitam o pólen residual aderido a seus corpos (Gregg 1991b). Portanto, *Psilochilus*



Figura 25: *Psilochilus modestus*. **A.** Flor (Serra do Japi); **B.** Flor (Picinguaba). Note que a margem do lobo apical do labelo é mais recortada quando comparado com a flor da Serra do Japi, e os guias de néctar são mais amarelos; **C.** Halictidae sp.1 tomando néctar na base do labelo; **D.** Halictidae sp.1 tentando se livrar do polinário; **E.** Halictidae sp.2 coletando pólen; **F.** Halictidae sp.2 recuando para deixar a flor após obter o néctar na base do labelo. Barras de escala: A-F = 1 cm.

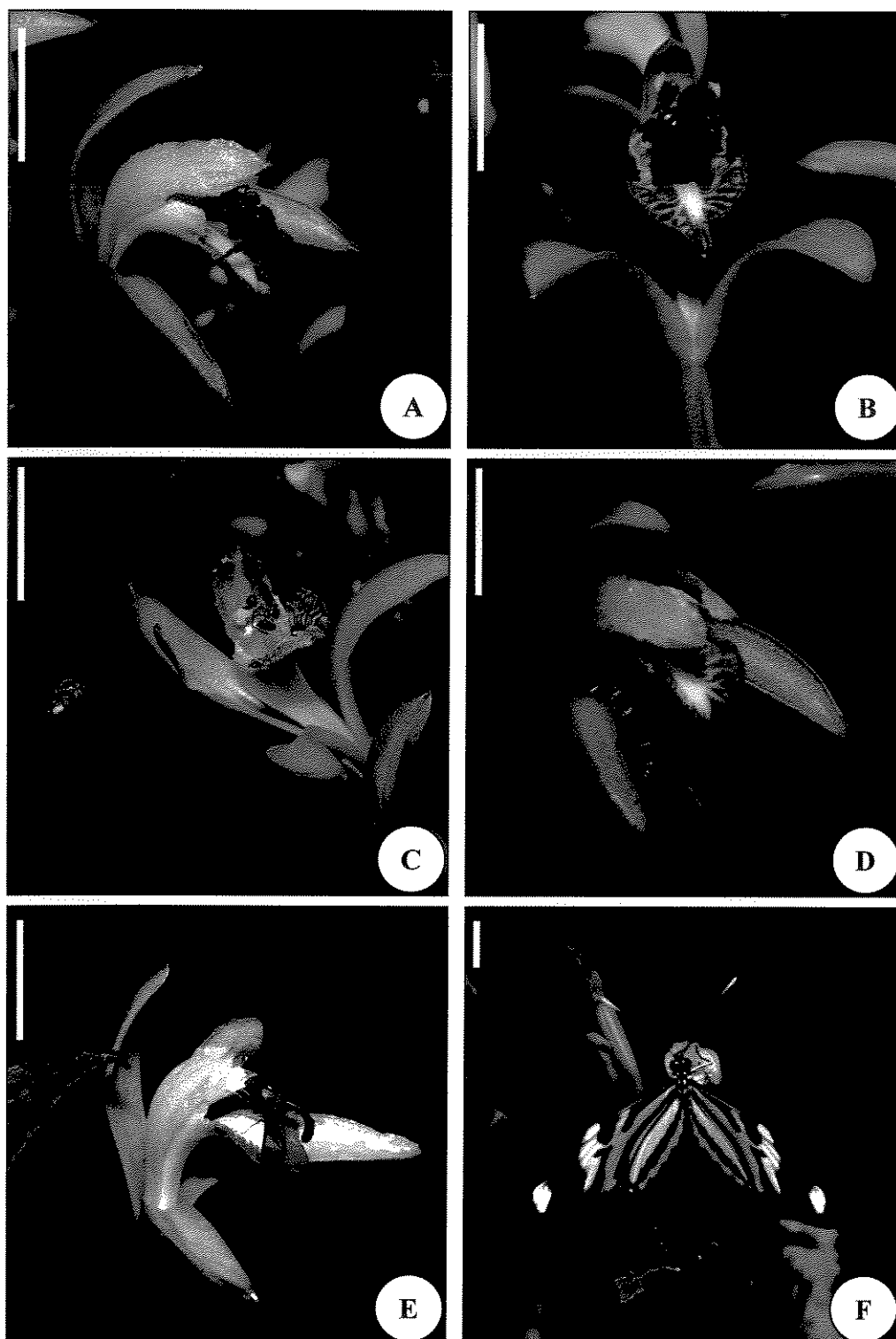


Figura 26: *Psilochilus modestus*: A-B. *Trigona spinipes* coletando pólen. A. Note que nesta posição o animal não toca o estigma da flor; B. Observe que nesta posição o inseto pode tocar o estigma com as patas dianteiras; C. *Plebeia droryana* coletando pólen. Note a posição que a abelha fica sobre o polinário e também outra abelha chegando com as tíbias posteriores impregnadas de pólen; D. Uma espécie não identificada de Vespidae pilhando néctar; E. *Salpingogaster* sp. alimentando-se de pólen; F. *Heliconius ethila narcacea* tomando néctar. Barras de escala: A-F = 1 cm.

modestus torna-se o primeiro caso documentado de coleta ativa de pólen como recompensa em Orchidaceae.

Tabela 6. Polinizadores de *Psilochilus modestus* e tipo de recompensa floral utilizada em cada ambiente:

Espécies	Região		Recompensa	
	S. do Japi	Picinguaba	Pólen	Néctar
Halictidae sp.1	x			x
Halictidae sp.2	x		x	x
<i>Melipona</i> sp.	x			x
<i>Osiris</i> sp.		x		x
<i>Plebeia droryana</i> (Friesse 1900)	x		x	
<i>Trigona spinipes</i> (Fabricius 1793)	x	x	x	
<i>Trigona</i> sp.		x	x	
Vespididae sp.		x		x

As flores de *P. modestus* das populações de Picinguaba apresentam guias de néctar mais evidentes quando comparados com os guias de néctar das flores das populações da Serra do Japi (ver morfologia floral). Coincidentemente, na região de Picinguaba, a maioria das visitas aconteceram por indivíduos explorando néctar nas flores, ao invés de pólen, como foi observado na Serra do Japi. Baseando-se neste fato, testes foram realizados para comprovar se os guias de néctar poderiam estar relacionados com a preferência por pólen ou néctar, em ambos os ambientes. Para este experimento, plantas provenientes das populações de Picinguaba foram levadas para a Serra do Japi, no dia em que foi observado o pico de floração dos indivíduos. Com a realização deste teste foi observado que as flores são visitadas, principalmente, por abelhas que exploram pólen como recurso nas flores, como nas populações locais. Deste modo, a existência de guias de néctar mais evidentes nas flores das populações de Picinguaba, não parece, necessariamente, condicionar o comportamento das abelhas à procura de néctar nas flores.

2.4. *Cirrhaea dependens*

Na Serra do Japi, as espécies de abelhas Euglossini, *Euglossa aff. annectans* (Dressler 1982) e *Eufriesea violacea* (Blanchard 1840) são os principais visitantes florais de *Cirrhaea dependens*. A atividade das abelhas ocorre entre 07:30 h e 15:30 h. As visitas por *Euglossa aff. annectans* são observadas pela manhã, entre 07:30 h e 09:00 h, logo após a antese das flores. *Eufriesea violacea*, espécie mais comum vista nas flores na Serra do Japi, visita as flores preferencialmente nas horas mais quentes do dia, entre 10:00 h e 14:00 h.

Em *C. dependens*, a visita inicia-se com a abelha pairando em frente à flor e dirigindo-se, ainda em vôo, ao labelo ereto (Fig. 27C), no qual o animal coleta a fragrância. As pétalas laterais direcionam a abelha para acessar o labelo e contactar o viscidíio, que se encontra na porção mais apical da coluna. Para obter fragrância, a abelha apoia-se na coluna com as patas traseiras e, com as patas dianteiras, raspa o labelo, principalmente na região da protuberância. Em intervalos mais ou menos regulares, a abelha paira e transfere o conteúdo para as patas medianas e, em seguida, para as tíbias posteriores. No momento em que a abelha abandona a flor ou pousa para raspar o labelo, ela pode receber o polinário que fixa-se na região ventral do seu corpo (Fig. 27D). Quando a fixação do polinário ocorre no momento em que o animal abandona a flor, a fixação ocorre nos primeiros segmentos do primeiro e segundo pares de patas (coxa, trocânter e fêmur), como em espécies de *Euglossa* (Fig. 27D, E). Em *Eufriesea violacea* a fixação do polinário ocorre no primeiro e segundo segmentos do abdômen (Fig. 27F), quando a abelha se apoia sobre a coluna para coletar fragrância no labelo. Cada abelha pode visitar várias flores de uma mesma inflorescência ou inflorescências próximas, retirando polinários. É comum observar abelhas com mais de um polinário aderido nas patas (*Euglossa*) ou no abdômen (*Eufriesea*). O polinário, no momento em que é retirado da flor, está túrgido e apresenta espessura igual a largura da fenda estigmática. Polinários túrgidos de *C. dependens* oferecem dificuldade para serem depositados na fenda estigmática. Após prévia desidratação das polínias, que reduz suas dimensões devido a perda de água, é que sua deposição no estigma é facilitada. As flores permanecem receptivas por no máximo cinco dias, e atraem visitantes nos primeiros dois dias. É possível perceber a liberação de fragrâncias logo pela manhã. O aroma torna-se mais intenso nas horas mais quentes do dia, entre 10:00 h e 14:00 h, quando foi observada a



Figura 27: *Cirrhaea dependens*. **A.** Hábito e inflorescência; **B.** Detalhe de uma das flores; **C.** *Euglossa* aff. *annectans* pairando em frente à flor; **D.** *E. aff. annectans* coletando fragrância. Note um polinário de *C. dependens* depositado em uma das patas do inseto e outra polínia no estigma da flor; **E.** *Euglossa cordata* com dois polinários aderidos ao trocânter de uma pata mediana; **F.** *Eufriesea violacea* com dois polinários aderidos entre o primeiro e segundo segmentos do abdômen. Barras de escala: **A** = 5 cm, **B-D** = 1 cm, **E-F** = 1 mm.

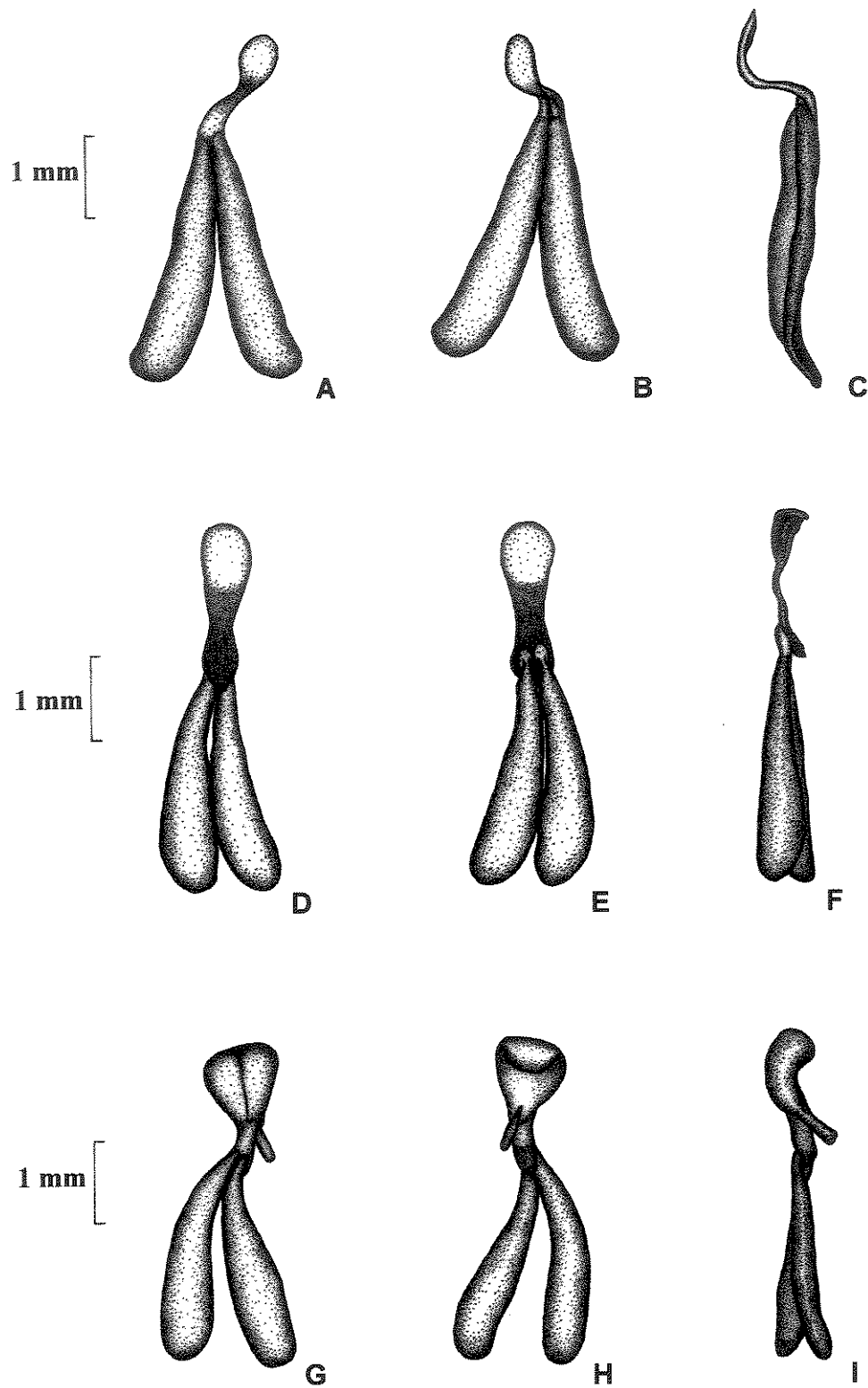


Figura 28: A-C. Polinário de *Cirrhaea saccata*. A. Vista dorsal; B. Vista ventral; C. Vista lateral. D-F. Polinário de *C. dependens*. D. Vista dorsal; E. Vista ventral; F. Vista lateral. G-I. Polinário de *C. loddigesii*. G. Vista dorsal; H. Vista ventral; I. Vista lateral. Desenho E. R. Pansarin.

maioria das visitas.

Na Serra do Japi, além das observações nas flores, foram realizadas observações adicionais com administração de iscas-odores no período de floração de *C. dependens*. Das duas espécies de abelhas que visitam as flores de *C. dependens* no ambiente, apenas machos de *Eufriesea violacea* foram atraídos por vanilina e eucaliptol, carregando polinários desta orquídea. Indivíduos de *Euglossa aff. annectans*, que se dirigiram para as iscas-odores, em nenhum momento foram observadas com polinário de *C. dependens*. Além de *Eufriesea violacea* e *Euglossa aff. annectans*, outras espécies de abelhas da tribo Euglossini foram atraídas para as iscas, sem no entanto, carregarem polinários de *C. dependens*.

Machos de *E. violacea* também são responsáveis pela polinização de outras espécies de Orchidaceae que florescem aproximadamente na mesma época que *C. dependens* na Serra do Japi, como *Gongora bufonia* Lindl., *Catasetum cernuum* (Lindl.) Rchb. f. e *Bifrenaria harrisoniae* (Hook.) Rchb. f.. Na Serra do Japi, *E. violacea* mostra nítida preferência pela fragrância emitida pelas flores de *G. bufonia* e *C. cernuum*, onde é mais comum vê-las nesta época, e são destas espécies a maioria dos polinários carregados por estas abelhas (Pansarin, dados inéditos). Deste modo, a baixo número de visitas observadas em *C. dependens* por *E. violacea*, na Serra do Japi, podem estar relacionadas com a preferência pela fragrância emitida por *C. cernuum* e *G. bufonia*. Preferência por fragrâncias em abelhas Euglossini foi documentada em outras regiões de ambientes sazonais (Ackerman 1983a, 1989b).

Em Picinguaba, não foram realizadas observações diretamente nas flores. As observações foram realizadas somente com a administração de iscas-odores, no período de floração de *C. dependens*. Com a administração das iscas-odores no ambiente, foram observadas *Eulaema nigrita* (Lepeletier 1841), *Euglossa cordada* (Linnaeus 1758), *Euglossa sapphirina* (Moure 1968), *Euglossa calybeata iopecila* (Dressler 1982) e *Euglossa aff. cyaneae* (Dressler 1982) carregando polinários de *Cirrhaea*. Como na região de Picinguaba ocorrem pelo menos três espécies de *Cirrhaea* (*C. dependens*, *C. saccata* e *C. loddigesii*), os polinários das abelhas capturadas foram comparados com polinários das três espécies em cultivo no Orquidário do Jardim Botânico de São Paulo. Os polinários das

espécies de *Cirrhaea* são perfeitamente distinguíveis (Fig. 28A-I). Com isso, foi possível relacionar cada espécie de *Cirrhaea* com seus respectivos polinizadores. *Eulaema nigrita* e *Euglossa calybeata* somente foram capturadas carregando polinários de *C. saccata*. *Euglossa cordata*, *E. sapphirina* e *E. aff. cyaneae* carregam somente polinários de *C. dependens*. Nenhuma abelha apresentou polinário de *C. loddigesii*. Com a verificação da constância morfológica dos polinários das espécies de *Cirrhaea*, foi elaborada uma chave para identificar os polinários nas abelhas capturadas.

Chave de identificação para polinários de *Cirrhaea* da região de Picinguaba

- | | | |
|--|----------------------|---|
| 1. Estipe evidente, de coloração escura e proeminente | <i>C. dependens</i> |  |
| 1. Estipe rudimentar, hialino. | | |
| 2. Viscídio delgado, simples, protuberância na face abaxial ausente | |  |
| | <i>C. saccata</i> | |
| 2. Viscídio espesso, com ápice recurvado, protuberância na face abaxial presente | |  |
| | <i>C. loddigesii</i> | |

As ilustrações dos polinários das três espécies estão detalhadas na figura 28.

2.5. *Stanhopea lietzei*

Stanhopea lietzei apresenta apenas machos de abelhas da tribo Euglossini como visitantes florais. *Euglossa cordata* (Linnaeus 1758), *Euglossa annectans* (Dressler 1982) e *Eufriesea aff. pulchra* (F. Smith 1854) foram os visitantes florais de *S. lietzei*, sendo *Eufriesea aff. pulchra* o único polinizador desta espécie. A atividade dos agentes polinizadores ocorre entre 11:00 h e 15:00 h, sendo que o período de maior atividade ocorre entre 12:30 h e 14:00 h, período em que foram observados até três indivíduos visitando simultaneamente uma única flor.

Os visitantes de *S. lietzei* orientam-se na mata pela forte fragrância emitida pelas suas flores nas horas mais quentes do dia. A abordagem da abelha inicia-se sempre com o inseto

pairando em frente à flor. Em seguida, pousa no labelo, agarrando-se na coluna e no hipoquilo ou apenas no hipoquilo. A abelha não entra completamente na cavidade do labelo, e coleta a fragrância nas bordas da abertura do hipoquilo (Fig. 29D, E). Cada abelha permanece na flor por 50 segundos, em média, escovando a região do hipoquilo com as patas dianteiras. Em seguida, a abelha paira e transfere em vôo o conteúdo das patas anteriores para as medianas, e posteriormente para as tíbias posteriores, nas quais armazena os óleos voláteis. Cada indivíduo repete este processo por diversas vezes, tendo sido observadas até 14 visitas consecutivas pela mesma abelha. Na ocasião em que coleta fragrância, ou ao abandonar a flor, o animal pode escorregar, caindo pelo labelo e sendo direcionado pelos “chifres” da região do mesoquilo até o epiquilo. No epiquilo, a região dorsal da abelha contacta o viscidio do polinário, que fica aderido ao escutelo. No momento em que o viscidio se adere, a abelha pode debater-se por até 3 segundos até que ocorra a retirada do polinário do capuz da antera. Na grande maioria das visitas, as abelhas não escorregam pelo labelo, e saem da flor agarrando-se na coluna e bordas do hipoquilo. Aparentemente, somente os indivíduos mais jovens, ou seja, “inexperientes”, caem pelo labelo. Na grande maioria das vezes, a abelha que retira o polinário, continua visitando a mesma flor por várias vezes. O processo de autopolinização, neste caso, tende a ser evitado pelo fato do polinário recém retirado estar túrgido, e sua espessura apresentar dimensões maiores (1,4 mm) que a largura da fenda estigmática (0,8 mm). Somente após dessecação das polínias, que reduz sua espessura para 0,6 mm, é que se torna possível sua deposição na fenda estigmática (Fig. 30A-E). Geralmente os insetos retornam à mesma flor visitada anteriormente, o que foi observado em abelhas marcadas, que retiraram polinários e retornaram às mesmas flores em visitas posteriores, no decorrer do dia. Deste modo, mesmo que a flor apresente um mecanismo que evite autopolinização, as abelhas podem ainda realizar autopolinizações nas flores em visitas posteriores. O retorno das abelhas às mesmas flores pode estar relacionado com a escassez de flores disponíveis no ambiente.

Euglossa cordata e *E. annectans* foram observadas esporadicamente visitando flores de *S. lietzei*, porém, apenas coletando fragrância nas sépalas e na porção inferior do hipoquilo do labelo e, conseqüentemente, sem retirar polinários. Mesmo que *E. cordata* e *E. annectans* manipulassem de modo correto a flor, o que não ocorreu em nenhuma das



Figura 29: *Stanhopea lietzei*. A. Hábito; B-C. Extremos de variação de coloração observados na população da Serra do Japi; D. *Eufriesea aff. pulchra* coletando fragrância na cavidade do hipoquilo da flor; E. *E. aff. pulchra* coletando fragrância do lado externo do labelo. Barras de escala: A = 5 cm, B-E = 2 cm.

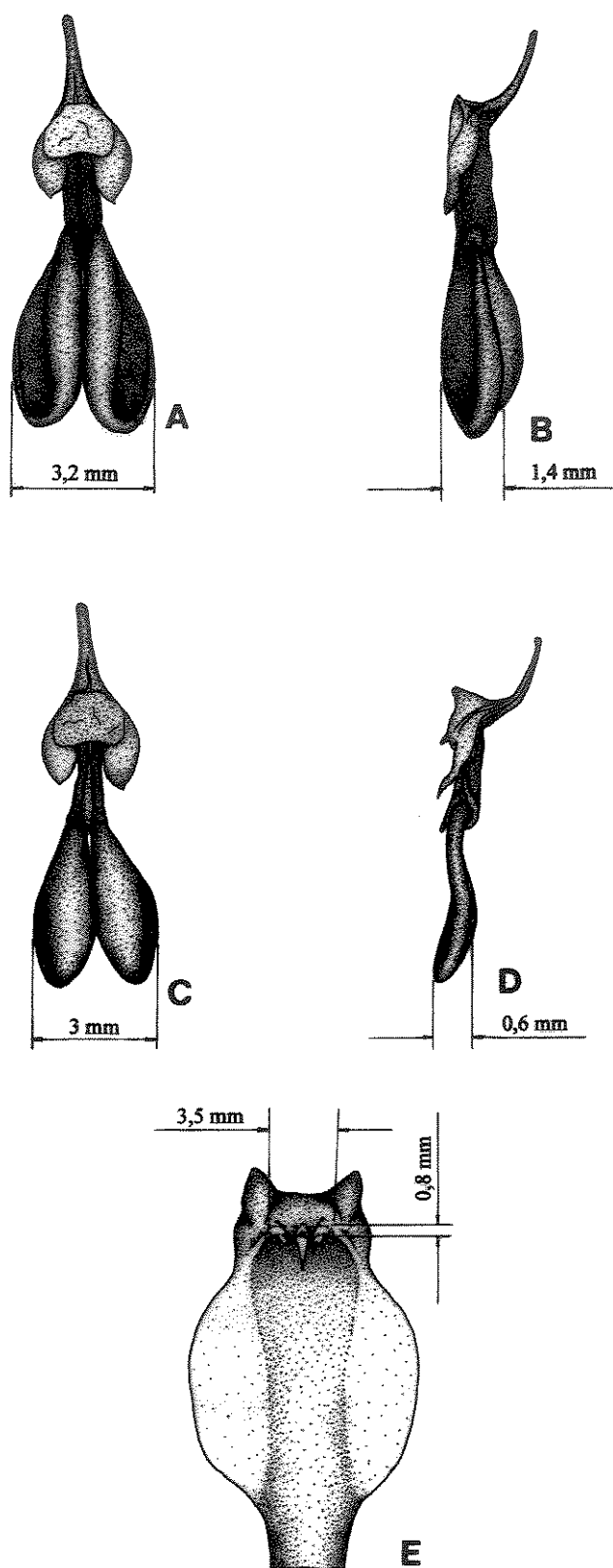


Figura 30: *Stanhopea lietzei*. A-B. Polinário túrgido em vistas ventral e lateral; C-D. Polinário desidratado em vistas ventral e lateral; E. Coluna. Desenho E. R. Pansarin.

visitas, o tamanho destas abelhas não é suficiente para retirar o polinário. Desta forma, atuam apenas como “ladrões” de odor.

Durante o período de floração de *S. lietzeii*, e também em outras épocas do ano, foram administradas iscas-odores, que em nenhum momento atraíram *Eufriesea aff. pulchra*. Em outras áreas, *E. pulchra* é atraída para iscas-odores como cineol, eugenol e metil salicilato (Kinsey 1982, Ackerman 1989b, Oliveira & Campos 1996). *E. aff. pulchra* pode não ter sido atraída para o odor das iscas na Serra do Japi, pois, abelhas Euglossini podem preferir uma determinada fragrância que não necessariamente é a mesma de uma região para outra (Jansen *et al.* 1980, Pearson & Dressler 1985, Ackerman 1989b). As espécies de abelhas Euglossini que foram atraídas para as iscas-odores na Serra do Japi, em nenhuma ocasião foram observadas carregando polinários de *S. lietzeii*. *Euglossa annectans* e *E. cordata*, que algumas vezes são visitantes florais de *S. lietzeii* (furtam odores), têm preferência por eucaliptol e vanilina durante todo o ano, inclusive no período de floração da espécie.

2.6. *Stanhopea insignis*

Machos das espécies de abelhas Euglossini, *Eufriesea purpurata* (Mocsáry 1896) e *Eulaema cingulata* (Fabricius 1804) foram os visitantes florais de *Stanhopea insignis* na planície litorânea de Picinguaba, mas apenas *Eufriesea purpurata* é o efetivo polinizador para a espécie. A atividade dos polinizadores ocorre entre 08:30 h e 17:00 h, sendo que o período de maior atividade ocorre entre 10:00 h e 13:00 h. Durante alguns dias, foi observada grande atividade de polinizadores por volta das 16:30 h.

O processo de polinização de *Stanhopea insignis* se assemelha ao relatado em *S. lietzeii*, porém com algumas particularidades. Como em *S. lietzeii*, o polinizador orienta-se na mata através da fragrância emitida pelas flores. No entanto, a fragrância de *S. insignis* é muito diferente e suave quando comparada com a de *S. lietzeii* (ver análise dos voláteis florais). A abordagem ocorre com a abelha pairando em frente a flor (Fig. 31A). Em seguida, pousa no labelo agarrando-se na coluna e no hipoquilo ou apenas no hipoquilo (Fig. 31B, C). Ao contrário do que ocorre em *S. lietzeii*, em *S. insignis* a abelha entra na cavidade do hipoquilo do labelo (Fig. 31D), dirigindo-se à base desta estrutura, onde estão

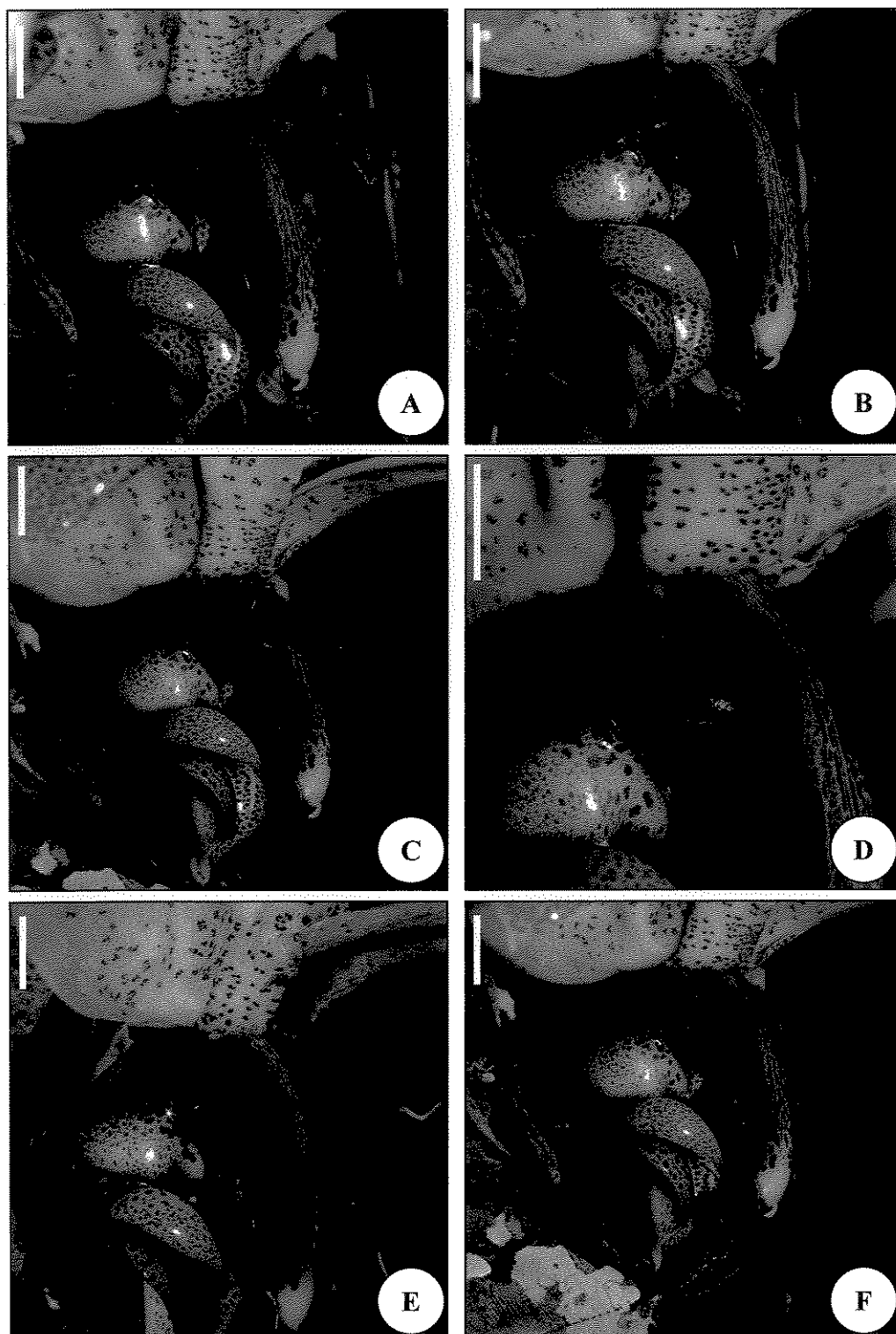


Figura 31: *Stanhopea insignis*. A-F. Seqüência do processo de polinização por *Eufriesea purpurata*. A. Pairando; B. Pousando no labelo; C. Entrando no labelo pela coluna; D. Coletando fragrância no interior do hipoquilo. Note um polinário depositado no escutelo da abelha; E. Escorregando pelo mesoquilo; F. Saindo pelo epiquilo da flor. Barras de escala: A-F = 1 cm.

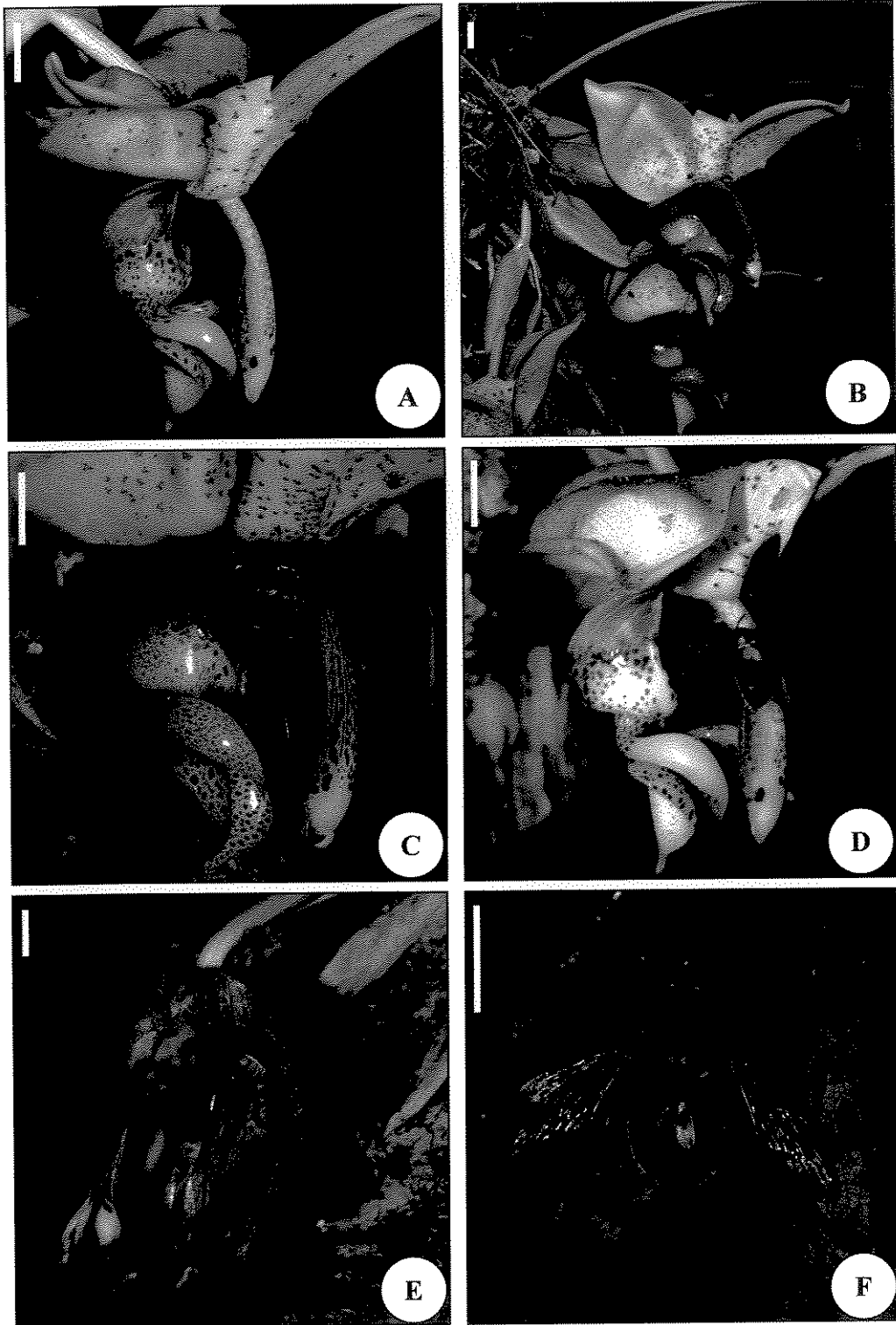


Figura 32: *Stanhopea insignis*. A-B. Extremos de variação de coloração observados dentro da população; C. *E. purpurata* saindo da flor pela coluna; D. *E. purpurata* pairando com polinário retirado da mesma flor minutos antes; E. *E. purpurata* retirando fragrância de uma flor em estado de decomposição; F. *E. purpurata* capturada com polinário. Note o polinário depositado no escutelo. Barras de escala: A-F = 1 cm.

37

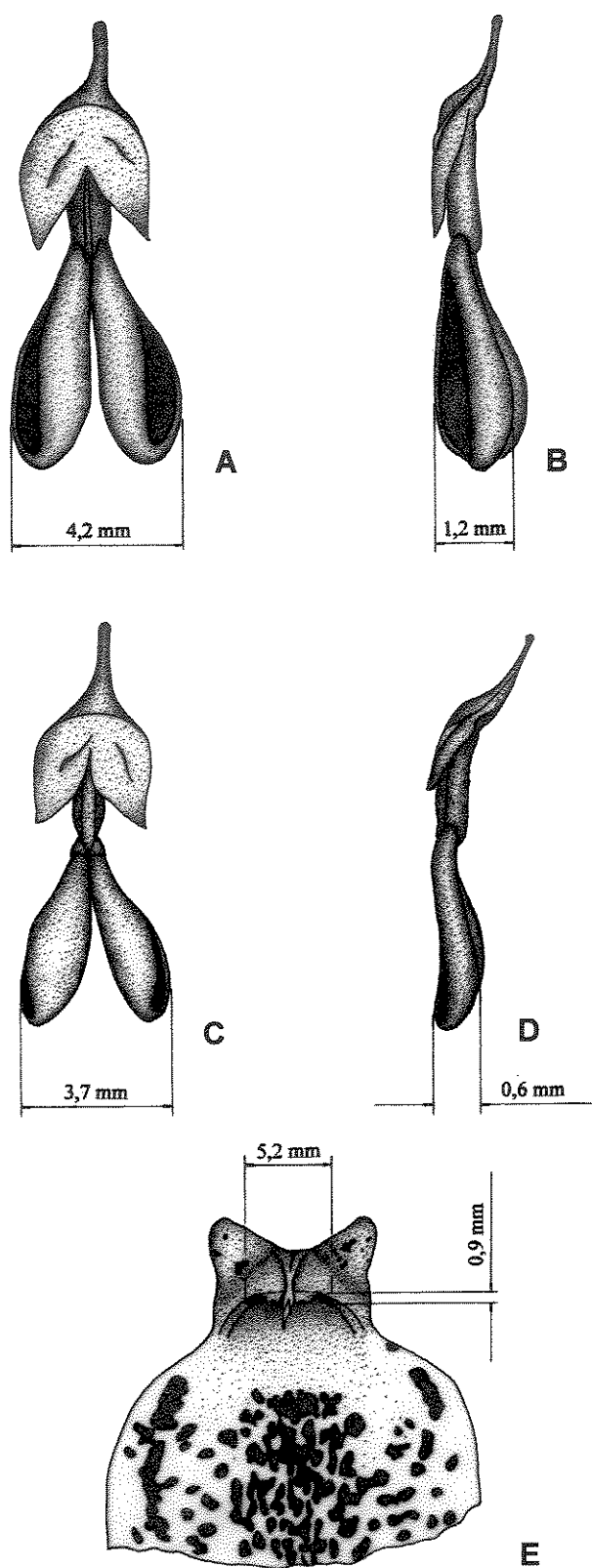


Figura 33: *Stanhopea insignis*. A-B. Polinário túrgido em vistas ventral e lateral; C-D. Polinário desidratado em vistas ventral e lateral; E. Coluna. Desenho E. R. Pansarin.

os osmóforos. O inseto raspa diretamente as papilas, danificando-as para obter o óleo volátil. É possível perceber os danos que as abelhas causam às papilas, comparando micrografias obtidas em MEV de flores visitadas pelas abelhas e flores intactas (Fig. 20A-D). Cada abelha pode permanecer dentro do hipoquilo da flor por mais de um minuto, escovando as papilas com as patas dianteiras. Em seguida, o inseto paira e transfere em vôo o conteúdo das patas anteriores para as medianas, e posteriormente para as tíbias posteriores, onde armazena o óleo. Como em *S. lietzei*, cada indivíduo repete este processo por diversas vezes, sendo observadas até 21 visitas consecutivas pela mesma abelha, na mesma flor. O mecanismo de polinização processa-se de maneira semelhante a *S. lietzei*, com o animal escorregando ao tentar abandonar a flor (Fig. 31E, F) e com o polinário sendo aderido ao escutelo da abelha (Fig. 32D, F). Em *S. insignis*, também se observa que, na maioria das visitas, as abelhas se agarram na coluna ao abandonar a flor, não se deixando cair pelo labelo (Fig. 32C). Somente os indivíduos aparentemente mais jovens e “inexperientes” deixam-se cair pelo labelo da flor. Em *S. insignis*, a abelha que retira o polinário, em geral, continua visitando a flor por diversas vezes (Fig. 32D). A autopolinização, como em *S. lietzei*, tende a ser evitada devido ao polinário, recém retirado estar túrgido, e sua espessura apresentar dimensões maiores (1,2 mm) que a largura da fenda estigmática (0,9 mm). Somente após dessecação das polínias, que reduz sua espessura para 0,6 mm, é que se torna possível sua deposição na fenda estigmática (Fig. 33A-E). As abelhas geralmente retornam às mesmas flores visitadas anteriormente, o que foi observado em abelhas marcadas enquanto coletavam fragrância nas flores. Como em *S. lietzei*, mesmo que a flor apresente um mecanismo que evite autopolinização, as abelhas podem ainda realizar autopolinizações nas flores.

Eulaema cingulata, apesar de apresentar as dimensões do corpo aproximadas às de *Eufriesea purpurata*, foi observada apenas visitando esporadicamente flores de *S. insignis*. Foram verificadas apenas duas visitas de *E. cingulata* em dias distintos. Estas visitas restringiram-se apenas à região externa do hipoquilo, e em nenhuma ocasião removeram polinários. Os visitantes florais, em geral, visitam as flores nos primeiros três dias, enquanto as flores ainda estão receptivas. No entanto, algumas abelhas podem coletar fragrância de flores com até seis dias após a antese (Fig. 32E).

Com a administração de iscas-odores, pode-se observar que *Eufriesea purpurata* mostra preferência por vanilina. No entanto, no período de floração de *S. insignis*, *E. purpurata* raramente é atraída pelo odor das iscas, o que pode indicar preferência pela fragrância da flor. A preferência das abelhas por um determinado tipo de fragrância é o fator responsável pela alta especificidade dos agentes polinizadores em espécies de *Stanhopea* (Pijl & Dodson 1966, Dodson 1970, Williams & Dodson 1972)

Na família Orchidaceae, a maioria das espécies polinizadas por machos de abelhas Euglossini são autocompatíveis, embora a polinização cruzada pareça ser a regra (Dressler 1968). A maioria das espécies da subtribo Catasetinae têm flores unissexuais, com flores masculinas e femininas apenas ocasionalmente ocorrendo simultaneamente na mesma planta. Neste caso, a polinização cruzada é quase obrigatória (Pijl & Dodson 1966, Dressler 1968). Embora flores de *Stanhopea lietzei* e *S. insignis* apresentem um mecanismo que tende a evitar autopolinização, no qual polínias túrgidas não podem ser depositadas na fenda estigmática, polínias desidratadas provindas de outros indivíduos podem ser depositadas no estigma da flor. Baseados neste mesmo sistema de dessecação das polínias, Dodson & Frymire (1961) e Pijl & Dodson (1966), consideram as flores de *Stanhopea* como sendo dicógamas. Pijl & Dodson (1966) ainda, consideram que o sistema de polinização da “aliança *Stanhopea*” é baseado no mesmo princípio das Catasetinae, mas com a separação dos sexos sendo em tempo e não em espaço. Borba & Semir (1999) relatam um padrão semelhante ao observado em *Stanhopea* de desidratação de polínias prevenindo autopolinização em espécies do gênero *Bulbophyllum*. Muitos outros gêneros em Orchidaceae apresentam barreiras que tendem a evitar autopolinização. Um dos mecanismos mais comuns é o de retenção do capuz da antera pelas polínias (Adams & Goss 1976, Stoutamire 1978, Catling & Catling 1991, Singer & Coccuci 1999). Em alguns casos, o estipe permanece torcido ou aderido ao polinizador, no momento da remoção do polinário. Nestes casos, a polinização só é possível após prévia desidratação do polinário (Dodson & Frymire 1961, Dressler 1968). Bloqueio do estigma pelo rostelo também pode ocorrer (Ackerman & Mesler 1979).

Em ambas as espécies de *Stanhopea* estudadas, como em *Cirrhaea dependens*, todas as flores de um mesma inflorescência abrem simultaneamente. O período de floração

dessas espécies é relativamente longo, estendendo-se por mais de dois meses. Em contraste, as flores são relativamente efêmeras e tendem a atrair visitantes florais apenas nos primeiros três dias de antese. Quando existem flores recém abertas e flores com dois ou três dias de antese disponíveis simultaneamente no ambiente, as abelhas visitam preferencialmente as mais jovens. Esse comportamento provavelmente aumenta a possibilidade da ocorrência de polinização cruzada nas espécies de *Stanhopeinae* investigadas. A tendência que as espécies de *Stanhopea* apresentam em produzirem flores efêmeras, com todas as flores de uma inflorescência abertas simultaneamente e um extenso período de floração, pode favorecer a polinização cruzada entre plantas distantes na população (Dressler 1968). Abelhas Euglossini podem garantir a polinização dessas plantas distantes, pois são conhecidas por percorrer longas distâncias e garantir uma dispersão efetiva dos genes (Jansen 1971, Williams & Dodson 1972, Krodsma 1975).

Em *Cirrhaea dependens*, que como ambas as espécies de *Stanhopea* também apresenta estigma em forma de fenda, não foi observado mecanismo de desidratação das polínias evitando autopolinização. Embora a desidratação das polínias favoreça sua entrada na fenda estigmática, polínias ainda túrgidas podem ser depositadas no estigma das flores dessa espécie. Em *C. dependens*, além dos fatores como baixa durabilidade das flores em relação ao período de floração da espécie, a formação de frutos derivados de autopolinizações tende a ser evitada devido ao alto grau de autoincompatibilidade desta espécie (ver sistema reprodutivo).

Apesar de existirem mecanismos que tendem a evitar autopolinização nas espécies de *Stanhopeinae* investigadas, o comportamento dos agentes polinizadores, em retornar às flores, pode proporcionar a formação de frutos por autopolinização. Em ambas as espécies de *Stanhopea*, quando as abelhas foram marcadas no campo, notou-se que há uma tendência das abelhas a voltarem às flores visitadas anteriormente. O retorno das mesmas abelhas às flores pode estar relacionado com a baixa quantidade de flores disponíveis no ambiente. Quando no ambiente existem poucas flores disponíveis, as únicas flores abertas atraem grande quantidade de agentes polinizadores. Outro fator importante observado nas espécies de *Stanhopea* e *Cirrhaea* é a preferência dos agentes polinizadores em visitar plantas localizadas em estratos mais altos, ou mais próximas à borda da mata.

Provavelmente, quando as plantas estão melhor posicionadas no ambiente ou em áreas mais abertas, a dispersão dos voláteis é mais efetiva, atraindo um maior número de visitantes florais. Um estudo realizado por Oliveira & Campos (1996) demonstra que algumas espécies de abelhas Euglossini, inclusive *Eufriesea pulchra*, que poliniza *S. lietzei* na Serra do Japi, mostram preferência por estratos mais altos no ambiente

Ambas as espécies de *Stanhopea* investigadas, mostraram alta especificidade em relação aos seus polinizadores, cada uma delas com apenas uma espécie, respectivamente. Já para as espécies de *Cirrhaea*, mais de uma espécie de abelha pode atuar como agente polinizador. Em *Cirrhaea*, como a deposição das polínias ocorre na porção ventral do animal, o tamanho da abelha não é um fator limitante para que o processo de polinização ocorra. Assim, abelhas de diversos tamanhos podem atuar como polinizadores para as espécies (como observado em *C. saccata*, polinizada por *Euglossa calybeata* e *Eulaema nigrita*). No gênero *Stanhopea*, cujas polínias se aderem no dorso do animal, e existe uma determinada distância entre o labelo e a coluna (dependendo da espécie), o tamanho do inseto torna-se um fator limitante para que o processo de polinização ocorra. Além do tamanho do polinizador, em espécies de *Stanhopea*, a fragrância das flores é um dos principais fatores responsáveis pela especificidade dos polinizadores (Pijl & Dodson 1966, Dressler 1968, Williams & Dodson 1972).

3. ANÁLISE DOS VOLÁTEIS FLORAIS

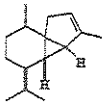
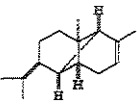
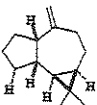
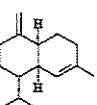
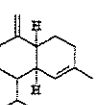
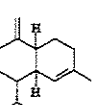
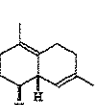
A composição química das fragrâncias florais pode apresentar ampla variação em relação ao número e tipo de composto, de uma espécie para outra. As fragrâncias compreendem classes de compostos, incluindo isoprenóides, derivados de ácidos graxos, benzenóides e compostos aminóides. As classes de compostos que predominam em muitas fragrâncias florais são compostos isoprenóides, especialmente monoterpenos, sesquiterpenos e compostos aromáticos (Dobson 1994). No presente trabalho, as substâncias que compõem a fragrância de cada espécie investigada foram identificadas, conforme será tratado a seguir.

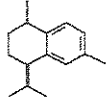
3.1. *Epidendrum secundum*

Os compostos identificados na fragrância floral de *Epidendrum secundum* foram vários momo e sesquiterpenos (tabela 7). Dentre os sesquiterpenos encontrados em *E. secundum*, α -Copaeno é conhecido por ocorrer frequentemente em espécies esfingófilas (Knudsen & Tollsten 1993). Segundo Knudsen & Tollsten (1993), monoterpenos e sesquiterpenos são muito difundidos nos aromas de espécies polinizadas por borboletas e mariposas.

Em *Epidendrum secundum*, apesar de terem sido detectados voláteis florais, eles não são perceptíveis para humanos. Além disso, baseado na observação da conduta das borboletas às flores de *E. secundum*, pode-se verificar que a atração parece ser estritamente visual. Desse modo, a fragrância floral parece não exercer influência na atração dos agentes polinizadores para a espécie (ver processos de polinização). Estudos com borboletas raramente demonstram que a fragrância das flores é um fator de influência na atração dos agentes polinizadores (Dobson 1994). Uma das exceções é o estudo realizado por Pellmyr (1986). Pellmyr (1986) demonstrou, em um experimento realizado com borboletas da família Nymphalidae, que a presença de voláteis florais parece ser o fator mais importante na atração de borboletas para flores em raças distintas de *Cimicifuga simplex* (Ranunculaceae). Em Orchidaceae, apenas alguns estudos realizados com orquídeas polinizadas por mariposas, demonstram que a fragrância pode ser fundamental na atração dos polinizadores (Goss & Adams 1976, Nilsson 1978, Nilsson *et al.* 1985, Moya & Ackerman 1993).

Tabela 7. Composição química da fragrância floral de *Epidendrum secundum*:

Substância	IR _a	IR _b	Abundância relativa (%)	Método de identificação
 Undecano	1100	1100	2,3	IR, EM
 α-Cubebeno	1348	1351	4,0	IR, EM
 α-Copaeno	1373	1376	16,3	IR, EM
 α-Patchuleno	1450	1456	t	IR, EM
 Alo-aromadendreno	-	1461	6,5	EM
 σ-Muroleno	1476	1477	4,3	IR, EM
 α-Muroleno	-	1499	5,3	EM
 σ-Cadineno	1515	1513	5,8	IR, EM
 δ-Cadineno	1525	1524	29,3	IR, EM

Substância	IR _a	IR _b	Abundância relativa (%)	Método de identificação
 Trans-Calameneno	1533	1532	t	IR, EM
Identificados	-	-	73,9	-

IR_a - Índice de Retenção calculado (Dool & Kratz 1963)

IR_b - Índice de Retenção da literatura (Adams 1995)

EM - Espectro de Massas

CP - Coinjeção de Padrão

t - traço (concentrações não estimadas)

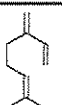
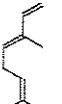
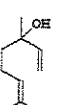
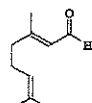
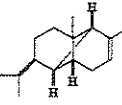
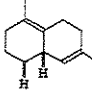
As análises para detecção de alcalóides a que foram submetidas as flores de *E. secundum*, revelaram ausência de alcalóides para a espécie, nas populações da Serra do Japi. Em *Epidendrum paniculatum*, uma espécie polinizada por lepidópteros diurnos, a fragrância pode ser o principal fator responsável pela atração dos polinizadores (Pliske 1975a, 1975b, DeVries & Stiles 1990). DeVries & Stiles (1990) sugerem a presença de alcalóides nas flores de *E. paniculatum* baseando-se apenas no grupo de lepidópteros que atuam como polinizadores da espécie. Entretanto, alcalóides não foram detectados em *Epidendrum floribundum* H.B.K., que hoje é considerado um sinônimo de *E. paniculatum* (Lüning 1964).

3.2. *Polystachya estrellensis* e *Psilochilus modestus*

Em *Polystachya estrellensis* e *Psilochilus modestus*, os principais constituintes da fragrância das flores são monoterpenos (Tabela 8 e 9), com sesquiterpenos sendo menos relevantes. Compostos aromáticos foram identificados apenas em *P. modestus* (Tabela 9). A atração dos polinizadores para ambas as espécies (*P. modestus* e *P. estrellensis*) parece ser visual. No entanto, não se pode descartar a hipótese de que a fragrância emitida por ambas as espécies, também possa influenciar na atração dos agentes polinizadores. A presença de voláteis florais é geralmente considerada como efetiva na atração de abelhas sociais a curtas distâncias (Dobson 1994). A atração das abelhas a longas distâncias é principalmente visual. A presença de fragrância nas flores pode promover maior especificidade na atração dos visitantes florais, quando comparado com atração estritamente visual (Dobson 1994). Experimentos realizados com abelhas sociais, principalmente as do gênero *Apis*, revelam que estas abelhas podem discriminar fragrâncias quando associadas com alimento. Estudos de comportamento,

aliados às análises químicas das fragrâncias florais, revelam que apenas uma fração dos compostos são perceptíveis para as abelhas, e que esses compostos são principalmente monoterpenos (Dobson 1994).

Tabela 8. Composição química da fragrância floral de *Polystachya estrellensis*:

Substância	IR _a	IR _b	Abundância relativa (%)	Método de identificação
 β-Mirceno	-	0991	18,3	EM
 E-β-Ocimeno	1030	1050	6,8	IR, EM
 Linalol	1047	1098	49,3	IR, EM
 Geranial	1268	1270	11,1	IR, EM
 α-Copaeno	1368	1376	9,8	IR, EM
 δ-Cadineno	1516	1524	t	IR, EM
Identificados	-	-	95,3	-

IR_a - Índice de Retenção calculado (Dool & Kratz 1963)

IR_b - Índice de Retenção da literatura (Adams 1995)

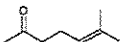
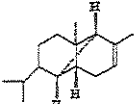
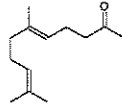
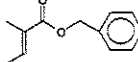
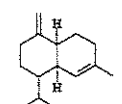
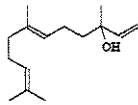
EM - Espectro de Massas

CP - Coinjeção de Padrão

t - traço (concentrações não estimadas)

Flores de *Polystachya estrellensis* oferecem pseudopólen como recompensa aos visitantes

Tabela 9. Composição química da fragrância floral de *Psilochilus modestus*:

Substância	IR _a	IR _b	Abundância relativa(%)	Método de identificação
 6-metil-5-hepten-2-ona	-	-	5,7	EM
 Álcool Benzílico	-	1032	9,4	IR, EM, CP
 α-Ylangeno	1373	1372	3,0	IR, EM
 E-Geraniacetona	1447	1453	t	IR, EM
 Tiglato de benzila	1498	1496	37,2	IR, EM
 σ-Cadineno	1515	1513	5,36	EM
 Nerolidol	1561	1564	11,0	IR, EM, CP
Identificados	-	-	71,6	-

IR_a - Índice de Retenção calculado (Dool & Kratz 1963)IR_b - Índice de Retenção da literatura (Adams 1995)

EM - Espectro de Massas

CP - Coinjeção de Padrão

t - traço (concentrações não estimadas)

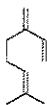
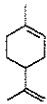
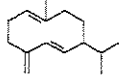
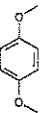
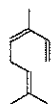
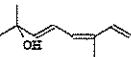
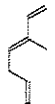
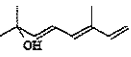
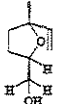
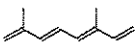
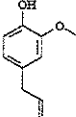
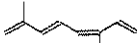
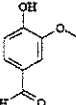
florais (ver morfologia floral). A análise dos voláteis florais desta espécie revelou concentrações consideráveis de geraniol, entre outros monoterpenos, constituindo sua

fragrância (Tabela 8). Alguns estudos realizados demonstram que a fragrância existente no pólen de algumas angiospermas difere da fragrância de outras partes da mesma flor (Dobson *et al.* 1990, 1996), sendo perceptível para algumas espécies de abelhas (Dobson 1987, 1994). Knudsen & Tollsten (1993) relatam que a fragrância do pólen de espécies do gênero *Rosa* (Rosaceae) é rica em compostos geranólicos. Dobson *et al.* (1987) demonstram que geranial está presente no pólen de *Rosa rugosa*. Espécies de *Rosa* oferecem pólen como recompensa aos visitantes florais. Para afirmar se geranial atua como atrativo para os agentes polinizadores de *P. estrellensis*, é preciso testar as substâncias no campo. No entanto, é interessante, e de certo modo intrigante, a presença de substâncias que ocorrem no aroma do pólen de algumas espécies, estarem presentes em uma espécie que “imita” pólen para atração de seus agentes polinizadores.

3.3. *Cirrhaea dependens*

Segundo Kaiser (1993), os principais constituintes da fragrância floral de *Cirrhaea dependens* são monoterpenos, como (E)-ocimeno e mirceno, com vários outros mono e sesquiterpenos presentes em menores concentrações (Tabela 10). Ocimeno foi encontrado na fragrância floral de várias espécies do gênero *Gongora* (Williams & Whitten 1983). Duas dessas espécies, *G. quinquinervis* Ruiz & Pavón e *G. armeniaca* (Lindl.) Rehb. f., são polinizadas por *Euglossa cordata* e *E. viridissima*, respectivamente (Pijl & Dodson 1966). Mirceno é encontrado nos aromas florais de várias espécies de *Stanhopea*, além de outros gêneros da subtribo Stanhopeinae. Mirceno quando administrado isoladamente como isca-odor no campo, atrai algumas espécies dos gêneros *Euglossa*, *Eulaema* e *Eufriesea* (Williams & Whitten 1983). *C. dependens* apresenta ainda, eugenol e eucaliptol em baixas concentrações (Tabela 10). Estas duas substâncias foram usadas como iscas-odores nas regiões de estudo, atraindo grande quantidade de espécies de abelhas Euglossini, algumas com polinários de *C. dependens* (ver processos de polinização). Eucaliptol (1,8-cineol) e eugenol, quando usados como iscas-odores, são substâncias responsáveis por atrair o maior número de espécies de abelhas Euglossini em algumas áreas (Williams & Dodson 1972, Ackerman 1989b, Becker *et al.* 1991, Peruquetti *et al.* 1999).

Tabela 10. Composição química da fragrância floral de *Cirrhaea dependens*, segundo Kaiser (1993):

Substância	Abundância relativa (%)	Substância	Abundância relativa (%)
 α-Pinoeno	2,0	 Linalol	m
 Mirceno	15,0	 Cariofileno	2,5
 Limoneno	3,5	 Germacreno-D	1,5
 Eucaliptol	9,5	 4-metoxi-Anisol	2,5
 Z-Ocimeno	1,0	 (E, Z)-2, 6-dimetil- 3, 5, 7-Octatrien-2-ol	*
 E-Ocimeno	55,0	 (E, E)-2, 6-dimetil- 3, 5, 7-Octatrien-2-ol	*
 p-Cimeno	1,0	 Epóxido de Cariofileno	m
 (E, Z)-2, 6-dimetil-1, 3, 5, 7-Octatetraeno	*	 Eugenol	1,5
 (E, E)-2, 6-dimetil-1, 3, 5, 7-Octatetraeno	*	 Vanilina	m
		Identificados	95

m - substâncias com concentração inferior a 1%

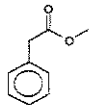
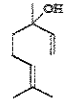
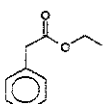
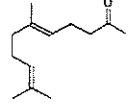
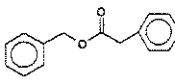
* - Concentrações não estimadas

3.4. *Stanhopea lietzei*

As espécies da subtribo Stanhopeinae investigadas oferecem fragrância como recompensa aos visitantes florais e são polinizadas exclusivamente por machos de abelhas Euglossini (ver processos de polinização). Dentre as substâncias identificadas com a análise da fragrância de *S. lietzei*, as mais representativas foram benzoato de benzila, indol e linalol, respectivamente (tabela 11). Benzoato de benzila também é encontrada em outras espécies de *Stanhopea*, sendo a substância mais abundante em *S. panamensis* Dodson (Williams & Whitten 1983). Williams & Whitten (1983) e Ackerman (1989b), trabalhando com a administração de benzoato de benzila como isca-odor, observaram indivíduos de *Eufriesea ornata* (Mocsary 1896) carregando polinários de *S. panamensis*. *E. ornata* é uma espécie com distribuição desde a América Central até o Norte e Nordeste brasileiros (Kinsey 1982), raramente ocorrendo até Minas Gerais (Peruquetti *et al.* 1999). *E. ornata* não foi observada na região de estudo, e portanto não pode ser investigado se as flores de *S. lietzei* atrairiam esta espécie de abelha.

Linalol, um constituinte relativamente abundante na fragrância de *S. lietzei* (Tabela 11), está presente na fragrância de outras espécies de *Stanhopea*, em baixas concentrações (Hills *et al.* 1968, Kaiser 1993). Ackerman (1989b), em um experimento realizado com a administração de várias substâncias como iscas-odores, observou que *E. pulchra* é atraída por linalol, no Panamá. *E. aff. pulchra* é o agente polinizador de *S. lietzei*, na Serra do Japi (ver processos de polinização). Apesar de linalol estar presente na fragrância de *S. lietzei*, e atrair *E. pulchra* em outras áreas, ainda é necessário realizar testes no campo, para comprovar se esta substância está envolvida na atração de *E. aff. pulchra* na Serra do Japi. Espécies de abelhas Euglossini mostram preferência de por uma determinada substância. Entretanto, essa substância não necessariamente é a mesma de uma região para outra (Ackerman 1989, Peruquetti *et al.* 1999).

Tabela 11. Composição química da fragrância floral de *Stanhopea lietzei*:

Substância	IR _a	IR _b	Abundância relativa (%)	Método de identificação
 Álcool benzílico	1032	1032	t	IR, EM, CP
 trans-óxido-linalol	1083	1088	t	IR, EM
 Benzoato de etila	1091	1091	t	IR, EM
 Linalol	1097	1098	4.0	IR, EM, CP
 Cânfora	-	1143	t	EM
 Benzoato de etila	1170	1170	t	IR, EM
 Indol	1295	1288	17.8	IR, EM, CP
 E-Geraniol	1449	1453	0.4	IR, EM
 Benzoato de benzila	1769	1762	49.4	IR, EM
Identificados	-	-	71.6	-

IR_a - Índice de Retenção calculado (Dool & Kratz 1963)

IR_b - Índice de Retenção da literatura (Adams 1995)
EM - Espectro de Massas
CP - Coinjeção de Padrão
t - traço (concentrações não estimadas)

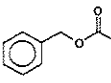
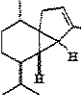
3.5. *Stanhopea insignis*

Stanhopea insignis é polinizada exclusivamente por *Eufriesea purpurata* em Picinguaba, onde a fragrância é a única recompensa oferecida pela espécie (ver processos de polinização). A substância predominante na fragrância de *S. insignis* é o álcool benzílico, sendo que outros compostos ocorrem em menores concentrações (Tabela 12). Álcool benzílico também é encontrado em outras espécies de *Stanhopea* e *Catasetum* (Williams & Whitten 1983). Poucos estudos têm usado álcool benzílico como isca-odor na atração de abelhas Euglossini (Peruquetti *et al.* 1999). Entretanto, acetato de benzila, substância presente em baixas concentrações na fragrância de *S. insignis*, tem sido muito utilizada (Williams & Dodson 1972, Kinsey 1982, Ackerman 1989b, Armbruster & McCormick 1990, Peruquetti *et al.* 1999), atraindo grande quantidade de espécies de abelhas Euglossini. Acetato de benzila também pode estar presente na fragrância floral de muitas outras espécies de *Stanhopea* (Hills *et al.* 1968, Williams & Whitten 1983, Kaiser 1993). Benzaldeído, outro composto minoritário presente na fragrância floral de *S. insignis*, também é muito encontrado na fragrância de outras espécies de *Stanhopea* (Williams & Whitten 1983).

Como todas as espécies das subtribos Stanhopeinae e Catasetinae (Williams 1982, Williams & Whitten 1983), *C. dependens*, *S. lietzei* e *S. insignis* são polinizadas exclusivamente por machos de abelhas euglossine. Assim como a maioria das espécies de *Stanhopea*, *S. lietzei* e *S. insignis* são altamente específicas na atração de polinizadores (ver processos de polinização). O alto grau de especificidade observado em *Stanhopea*, pode estar relacionado com a produção de uma fragrância singular para cada espécie. Essa fragrância única é obtida através da combinação de várias substâncias produzidas em cada espécie. Hills *et al.* (1968), Dodson (1970) e Williams & Whitten (1983) revelam que a combinação de algumas substâncias presentes na fragrância floral de espécies de *Stanhopea*, atrai os mesmos polinizadores responsáveis pela polinização das respectivas espécies na natureza. Algumas substâncias podem estar presentes na fragrância de muitas espécies em Orchidaceae. Contudo,

cada espécie parece emitir uma fragrância única, diferindo das demais espécies (Hills *et al.* 1968, Dodson 1970, Williams & Dodson 1972, Williams *et al.* 1981). Experimentos realizados com constituintes dos aromas florais de espécies de *Stanhopea* revelam que, quando são isolados e administrados individualmente no campo como iscas-odores, atraem grande quantidade de espécies de abelhas Euglossini. Quando essas mesmas substâncias são combinadas e novamente administradas no campo, ocorre atração de um menor número de espécies de abelhas (Hills *et al.* 1968, Williams & Dodson 1972, Williams & Whitten 1983).

Tabela 12. Composição química da fragrância floral de *Stanhopea insignis*:

Substância	IR _a	IR _b	Abundância relativa (%)	Método de identificação
 Benzaldeído	-	961	1,1	EM
 Álcool benzílico	1059	1060	97,5	IR, EM
 Acetato de benzila	1165	1163	0,5	IR, EM
 α-Cubebeno	1342	1351	t	IR, EM
Identificados	-	-	99,1	-

IR_a - Índice de Retenção calculado (Dool & Kratz 1963)

IR_b - Índice de Retenção da literatura (Adams 1995)

EM - Espectro de Massas

CP - Coinjeção de Padrão

t - traço (concentrações não estimadas)

Algumas substâncias que atraem grande quantidade de espécies de abelhas Euglossini, como eugenol e eucaliptol (Hills *et al.* 1968, Williams & Dodson 1972, Ackerman 1989b, Becker *et al.* 1991, Peruquetti *et al.* 1999), estão presentes na fragrância floral de *C. dependens* (tabela 6). As substâncias eugenol e eucaliptol, quando administradas como iscas-

odores nas regiões de estudo, também atraem um grande número de espécies de abelhas Euglossini. Apesar de eugenol e eucaliptol estarem presentes na fragrância floral de *C. dependens*, o número de espécies de abelhas atraídas pela sua fragrância é significativamente menor que o número de espécies que são atraídas quando essas mesmas substâncias são administradas isoladamente no campo.

As espécies investigadas do gênero *Cirrhaea* são menos específicas quanto ao número de espécies de agentes polinizadores quando comparado com as espécies de *Stanhopea* investigadas (ver processos de polinização). Entretanto, as abelhas que polinizam *C. dependens* em Picinguaba, nunca foram coletadas com polinário de *C. saccata*, que ocorre na mesma região e floresce simultaneamente. Do mesmo modo, os polinizadores de *C. saccata*, em nenhuma ocasião apresentaram polinários de *C. dependens* (ver processos de polinização). Neste caso, o odor parece ser o principal fator na atração de visitantes florais distintos, consequentemente evitando hibridação entre estas espécies.

Stanhopea lietzei, além de ocorrer em matas semidecíduas do interior do Estado, também pode ser encontrada em regiões de altitude na Serra do Mar (F. Pinheiro, com. pess.). Mesmo com a possibilidade de *S. lietzei* ocorrer próximo à planície litorânea, ambiente onde ocorre *S. insignis*, a hibridação entre ambas as espécies dificilmente deve ocorrer, devido à produção de odores e à atração de polinizadores distintos. A fragrância floral é muito importante na atração de polinizadores específicos. Consequentemente, também é importante no isolamento reprodutivo e na especiação em Orchidaceae (Williams & Dodson 1972), principalmente nos gêneros *Stanhopea* e *Gongora* (Dressler 1968).

Apesar da maioria das substâncias voláteis que compõem a fragrância de cada espécie de Stanhopeinae ter sido identificada, ainda não é possível afirmar com certeza qual ou quais substâncias são responsáveis pela atração dos agentes polinizadores, em cada caso. Mesmo existindo substâncias que predominam na fragrância de algumas espécies, não é possível afirmar que a substância mais abundante é responsável pela atração do agente polinizador. Em *S. lietzei*, por exemplo, os dois compostos mais abundantes são benzoato de benzila e indol, respectivamente. No entanto, linalol, que também está presente na fragrância de *S. lietzei* em baixas concentrações, quando usada como isca-odor, é responsável pela atração de *Eufriesea pulchra* no Panamá (Ackerman 1989b). Com o atual conhecimento das substâncias voláteis de

cada espécie, e a existência dessas substâncias disponíveis comercialmente, torna-se possível administrá-las isoladamente, ou até mesmo combiná-las em diferentes concentrações e levá-las ao campo, no ambiente onde as plantas ocorrem. Hills *et al.* (1968) aponta que, somente quando os componentes identificados são testados no campo, é que se torna possível determinar qual substância é responsável pela atração da espécie de abelha responsável pela polinização de uma determinada espécie de orquídea.

Uma pergunta bastante intrigante é, porque em *Psilochilus modestus*, que apresenta uma proporção considerável de álcool benzílico, que também é usado como isca-odor na atração de machos de abelhas Euglossini, não atrai espécies desse grupo às suas flores nos ambientes estudados?

Estudos experimentais com a administração das substâncias isoladas ou combinadas em diferentes concentrações e levadas ao campo, em ambos os ambientes, deverão ser realizadas para responder algumas perguntas sobre a atração dos insetos às flores.

4. SISTEMA REPRODUTIVO

Os tratamentos experimentais indicam que todas as espécies estudadas, exceto *Cirrhaea dependens*, são autocompatíveis. A necessidade de um agente polinizador para que ocorra a formação de frutos foi observada em todas as espécies, exceto para *Polystachya estrellensis*, na qual a grande maioria das flores são cleistógamas, como será tratado a seguir.

4.1. *Epidendrum secundum*

Nos experimentos realizados com *Epidendrum secundum*, o número de frutos formados através das autopolinizações manuais foi semelhante aos valores obtidos nas polinizações cruzadas (Tabelas 13 e 14). Nas autopolinizações manuais, como nas polinizações cruzadas, valores acima de 80% de frutos deiscentes foram obtidos em plantas de ambos os ambientes (Fig. 34). Em estudos experimentais preliminares, nos quais foram polinizadas todas as flores da inflorescência, foi observado que indivíduos de *E. secundum* conseguem suportar muito menos frutos em relação ao número total de flores produzidas (abaixo de 35%). Por isso, para a realização dos tratamentos, em cada indivíduo foi utilizado um número limitado de flores (Tabelas 13 e 14). Em condições naturais, mesmo que um indivíduo de *E. secundum* possa produzir mais de 130 flores por inflorescência, é pouco provável que ocorra polinização de todas as flores, devido à conduta e inconstância dos agentes polinizadores. A produção de inflorescências grandes com um elevado número de flores (Firmage & Cole 1988, Ackerman 1989a, Zimmerman & Aide 1989, Calvo 1990b, Rodríguez-Robles *et al.* 1992), assim como a produção de flores em sequência nestas inflorescências, de modo que o período de floração seja extenso e existam sempre flores disponíveis aos polinizadores (Ackerman 1989a, Preston 1991), podem garantir a produção de pelo menos alguns poucos frutos por indivíduo (Rodríguez-Robles *et al.* 1992).

A quantidade de pólen (polínias em *Epidendrum*) depositada no estigma influencia na quantidade de sementes produzidas e consequentemente no tamanho de cada fruto. Em *E. secundum*, alguns frutos produzidos experimentalmente com o dobro do número de polínias

(2 polinários) apresentam aproximadamente o dobro de tamanho quando comparados com frutos produzidos com apenas um polinário (Fig. 22E). Para evitar possíveis erros de interpretação, como problemas de alocação de recursos na planta ou devido ao tempo de maturação, os frutos com o dobro de polínias foram produzidos no ápice da inflorescência. Portanto, mesmo os frutos apicais sendo mais jovens apresentam o dobro do tamanho em relação aos frutos formados com apenas um polinário, logo abaixo (Fig. 22E). Em Orchidaceae, na subfamília Epidendroideae, os óvulos são produzidos após o evento de polinização, e são proporcionais ao número de tubos polínicos que atingem o ovário (Dressler 1981, 1993).

Tabela 13. Tratamentos realizados em *Epidendrum secundum* (Serra do Japi). Nesta tabela, como nas demais, células vazias indicam ausência de dados:

Número de frutos formados por tratamento									
Planta	Nº flores	Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emasculação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos
A	20	5	0	5	5	5	0	5	5
B	20	5	0	5	5	5	0	5	3
C	20	5	0	5	5	5	0	5	4
D	20	5	0	5	5	5	0	5	3
E	20	5	0	5	4	5	0	5	4
F	20	5	0	5	4	5	0	5	4
G	20	5	0	5	4	5	0	5	5
H	20	5	0	5	5	5	0	5	4
Total	160	40	0	40	37	40	0	40	32

Tabela 14. Tratamentos realizados em *Epidendrum secundum* (Picinguaba):

Número de frutos formados por tratamento									
Planta	Nº flores	Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emasculação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos
A	20	5	0	5	4	5	0	5	5
B	20	5	0	5	4	5	0	5	5
C	20	5	0	5	3	5	0	5	5
D	20	5	0	5	4	5	0	5	5
E	20	5	0	5	4	5	0	5	5
F	20	5	0	5	5	5	0	5	5
G	20	5	0	5	4	5	0	5	5
H		5	0	5	5	5	0	5	5
I	20	5	0	5	5	5	0	5	4
Total	180	45	0	45	38	45	0	45	44

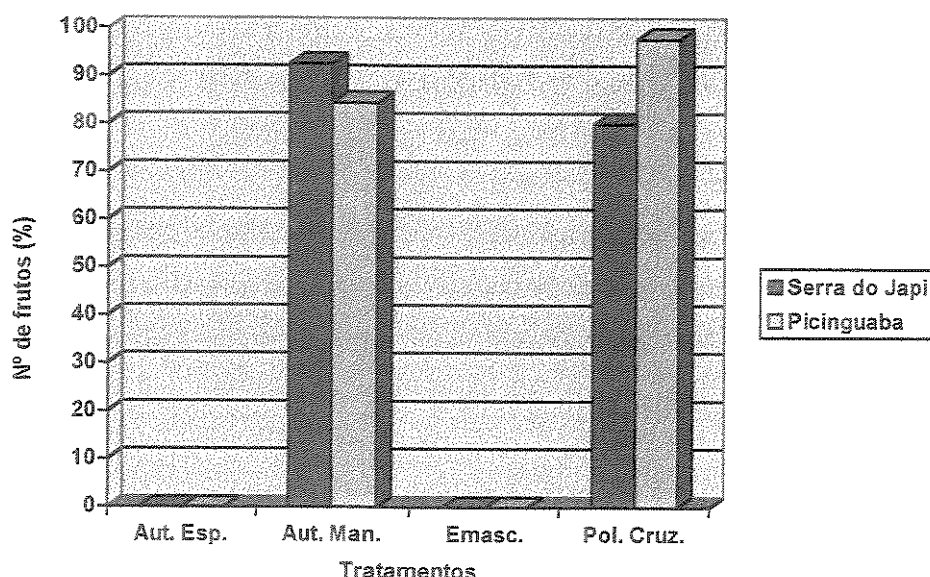


Figura 34: Proporção de frutos formados em relação ao número de flores utilizadas por tratamento em *Epidendrum secundum* na Serra do Japi e em Picinguaba.

Para *Epidendrum secundum* foram realizados ainda, cruzamentos interespecíficos envolvendo três espécies do “complexo *Epidendrum secundum*” (*E. denticulatum*, *E. fulgens* e *E. aff. ibaguense*) e *E. paniculatum*, uma espécie autoincompatível que não pertence a este complexo e ocorre em ambos os ambientes, no interior da mata.

As espécies de *Epidendrum* utilizadas nos experimentos que pertencem ao “complexo *Epidendrum secundum*” são intercompatíveis com *E. secundum* (Tabela 15). A pequena taxa de aborto obtida nos cruzamentos entre *E. secundum* e *E. denticulatum*, e entre *E. aff. ibaguense* e *E. secundum* (20%), aparentemente é irrelevante, uma vez que mais ou menos a mesma porcentagem de aborto é verificada nos cruzamentos intraespecíficos (Tabelas 13 e 14). Algumas das formas híbridas coletadas na população em Picinguaba (ver morfologia floral), quando cruzadas com *E. secundum*, também promovem frutificação (Tabela 15). As sementes dos frutos produzidas entre *E. secundum* e *E. fulgens*, e entre *E. secundum* e algumas das formas híbridas são férteis. Os cruzamentos interespecíficos envolvendo *E. paniculatum* não chegaram a desenvolver frutos (Tabela 15). Híbridos interespecíficos em condições experimentais têm sido produzidos no gênero *Cattleya* (Stort 1976, 1983, 1986,

Stort & Galdino 1984). O gênero *Cattleya* assim como *Epidendrum*, pertence à subtribo Laeliinae (Dressler 1981, 1993).

Tabela 15. Cruzamentos interespecíficos em *Epidendrum secundum*:

Cruzamentos	Nº flores	Nº frutos
<i>E. secundum</i> x <i>E. fulgens</i>	5	5
<i>E. fulgens</i> x <i>E. secundum</i>	5	5
<i>E. secundum</i> x <i>E. denticulatum</i>	5	4
<i>E. denticulatum</i> x <i>E. secundum</i>	5	5
<i>E. secundum</i> x <i>E. aff. ibaguense</i>	5	5
<i>E. aff. ibaguense</i> x <i>E. secundum</i>	5	4
<i>E. secundum</i> x <i>E. paniculatum</i>	5	0
<i>E. paniculatum</i> x <i>E. secundum</i>	5	0
<i>E. secundum</i> x <i>E. xsecundum</i>	5	5

4.2. *Polystachya estrellensis* e *P. concreta*

Em *Polystachya estrellensis*, a grande maioria das flores (96,7%) são cleistógamas. (Tabela 16). Dos frutos formados por cleistogamia, 77,4% chegam a ficar deiscentes (Tabela 16, Fig. 35). As flores que chegam a atingir a antese (em média 3,2% da inflorescência) necessitam de um agente polinizador para que ocorra a formação de frutos. Exemplos de espécies que produzem tanto flores cleistógamas quanto casmógamas são observados em alguns gêneros da família Poaceae e Cyperaceae (Clay 1983) e em *Ruellia brevifolia* (Pohl) C. Ezcurra (Acanthaceae) (M. Sazima, com. pess.). Clay (1982) demonstrou ainda, que o grau de cleistogamia pode ser geneticamente variável entre indivíduos de uma mesma espécie.

Em *P. estrellensis*, tanto os frutos formados através de cleistogamia como os frutos derivados de polinizações cruzadas apresentam taxas semelhantes de aborto. O aborto dos frutos em *P. estrellensis* provavelmente está relacionado à alta taxa de frutificação de cada indivíduo, uma vez que principalmente os frutos apicais são abortados. Em Picinguaba, no

interior da mata, também foi observado, embora não tenha sido quantificado, indivíduos de *Polystachya estrellensis* com a maioria dos frutos sendo formados por cleistogamia.

Tabela 16. Tratamentos realizados em *Polystachya estrellensis* (Serra do Japi):

Número de frutos formados por tratamento											
Planta	Nº flores	Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emasculação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos	Cleistogamia	Nº Frutos
1	59									59	48
2	138	2	0	1	1			1	1	134	112
3	72			2	1			2	1	68	61
4	49									49	39
5	60									60	49
6	74			1	0	1	0			72	63
7	89			4	2					85	60
8	42									42	19
9	119	1	0	1	0					117	79
10	98			1	1			3	3	94	78
11	54							2	1	52	36
12	61			1	0					60	33
13	51									51	31
14	140	1	0	5	5	1	0	3	3	130	97
15	16	1	0			1	0			14	14
16	97									97	77
17	131	1	0	1	0	1	0			128	102
18	41									41	28
19	231	10	0	5	3	2	0	4	1	210	144
20	154	2	0					1	1	151	97
21	170	1	0							169	116
Total	1946	19	0	22	13	6	0	16	11	1883	1383

Autogamia tem sido considerada como uma forma de reprodução que promove baixa variabilidade genética (Faegri & Pijl 1979). Entretanto, algumas espécies autógamas possuem uma grande diversidade genética e presumivelmente uma grande adaptabilidade (Allard *et al.* 1968). Em *P. estrellensis*, as poucas flores casmógamas produzidas, podem ser polinizadas com pólen de outros indivíduos. Assim, a ocorrência de alguns frutos formados através de polinização cruzada podem aumentar a variabilidade genética de *P. estrellensis* em relação à plantas estritamente autógamas. A autogamia tem sido interpretada como tendo evoluído de espécies alógamas e tende a ser evitada, devido à expressão de genes deletéricos recessivos (depressão por “inbreeding”) (Lange & Schenske 1985a). Entretanto, vários fatores podem favorecer autogamia em plantas, como

Tabela 17: Tratamentos realizados em *Polystachya concreta* (Picinguaba):

Número de frutos formados por tratamento											
Planta	Nº flores	Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emasculação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos	Cleistogamia	Nº Frutos
1	40	10	0	10	9	10	0	10	9	0	0
2	40	10	0	10	10	10	0	10	10	0	0
3	40	10	0	10	8	10	0	10	8	0	0
4	30	10	0	10	9	10	0			0	0
5	40	10	0	10	8	10	0	10	8	0	0
6	40	10	0	10	9	10	0	10	9	0	0
7	40	10	0	10	8	10	0	10	10	0	0
8	40	10	0	10	8	10	0	10	9	0	0
9	40	10	0	10	9	10	0	10	10	0	0
10	40	10	0	10	8	10	0	10	8	0	0
11	40	10	0	10	9	10	0	10	8	0	0
12	40	10	0	10	10	10	0	10	8	0	0
13	40	10	0	10	10	10	0	10	9	0	0
14	40	10	0	10	7	10	0	10	8	0	0
15	40	10	0	10	7	10	0	10	10	0	0
16	40	10	0	10	9	10	0	10	9	0	0
17	30	10	0	10	6	10	0			0	0
18	40	10	0	10	8	10	0	10	10	0	0
19	40	10	0	10	10	10	0	10	10	0	0
20	40	10	0	10	7	10	0	10	8	0	0
21	40	10	0	10	10	10	0	10	9	0	0
Total	820	210	0	210	179	210	0	190	170	0	0

colonização de novas áreas por um a poucos indivíduos, ausência de polinizadores e seleção para adaptação local (Baker 1955, Stebbins 1957, Pijl & Dodson 1966, Lloyd 1979, Lange & Schenske 1985b).

Polystachya concreta não produz flores cleistógamas, como verificado em *P. estrellensis*. *P. concreta* é autocompatível e a proporção de frutos deiscentes, derivados de polinizações cruzadas, é aproximadamente igual à de frutos derivados de autopolinizações manuais nos tratamentos experimentais (Tabela 17, Fig. 35).

Em *Polystachya estrellensis*, a ocorrência de poucas flores casmógamas em cada inflorescência, pode induzir as abelhas a visitarem outros indivíduos para coletar pseudopólen até o enchimento de suas corbículas. Esse fator pode aumentar as chances de que essas poucas flores abertas sejam polinizadas com pólen provindo de outros indivíduos. Já para *P. concreta*, onde em nenhum momento foram observadas flores cleistógamas, a

polinização cruzada é favorecida pela própria conduta do agente polinizador, que estabelece rotas de forrageamento dentro da população (ver processos de polinização).

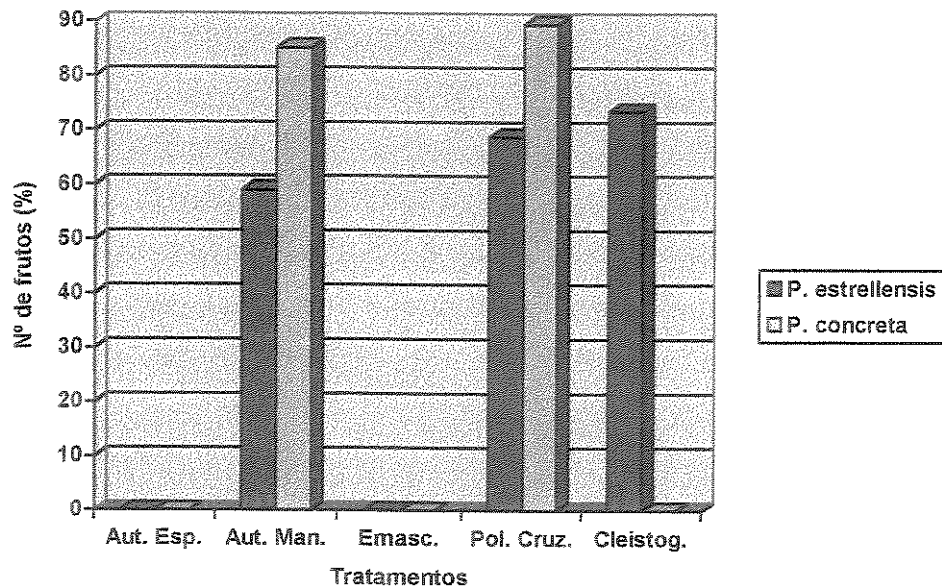


Figura 35: Proporção de frutos formados em relação ao número de flores utilizadas por tratamento em *Polystachya estrellensis* na Serra do Japi e *P. concreta* em Picinguaba.

4.3. *Psilochilus modestus*

Os tratamentos realizados para *Psilochilus modestus*, em ambos os ambientes, revelaram que o número de frutos formados por autopolinização manual é semelhante ao número de frutos formados através de polinização cruzada (Tabelas 18 e 19, Fig. 36). Devido à consistência farinácea do polinário, em cada evento de polinização é possível depositar apenas uma pequena porção de pólen no estigma da flor. Deste modo, uma pequena porção do polinário contendo um número reduzido de tétrades pode promover frutificação em *Psilochilus*. O alto grau de autocompatibilidade e a formação de frutos a partir de um baixo número de tétrades, proporciona que abelhas diminutas em relação ao tamanho da flor, como *Plebeia droryana*, atuem como polinizadoras para a espécie. Testes foram realizados em algumas plantas em cultivo depositando-se apenas um quarto do polinário no estigma da flor (nestes testes o número de tétrades não foi quantificado). O

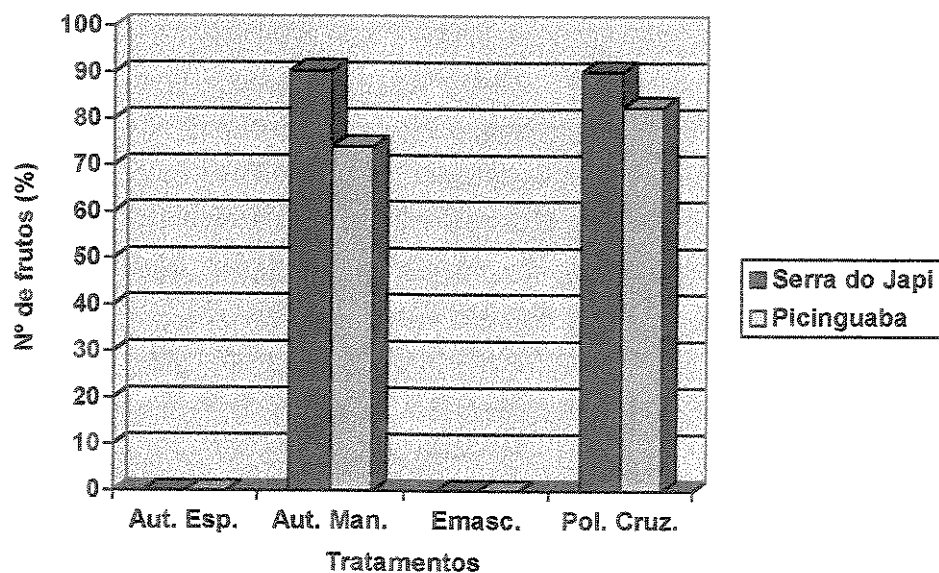
Tabela 18. Tratamentos realizados em *Psilochilus modestus* (Serra do Japi):

Número de frutos formados por tratamento									
Planta	Nº flores	Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emasculação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos
1	7	3	0	1	1	1	0	2	1
2	9	4	0	1	1	1	0	3	3
3	5	3	0	1	1	1	0		
4	2	1	0					1	1
5	3	3	0						
6	4	1	0	2	2	1	0		
7	2	1	0	1	1				
8	4	3	0					1	1
9	5	1	0	2	2	2	0		
10	4	1	0					3	3
11	7	4	0			1	0	2	2
12	5	2	0			1	0	2	2
13	2	1	0			1	0		
14	5	1	0	1	1	1	0	2	1
15	6	2	0	2	2	2	0		
16	6	1	0	2	2	1	0	2	2
17	3	1	0	1	1	1	0		
18	3	1	0	1	1	1	0		
19	4	2	0	1	1	1	0		
20	3			2	2	1	0		
21	3	2	0					1	1
22	4	2	0	1	1	1	0		
23	2			1	1	1	0		
24	3	1	0	1	0	1	0		
25	4	1	0	1	1	2	0		
26	4			2	2	2	0		
27	9	1	0	3	3	3	0	2	2
28	8			2	2	2	0	4	3
29	7	1	0	2	1	1	0	3	3
30	8	3	0	1	1	1	0	3	3
31	3	1	0			2	0		
32	4	1	0	2	2	1	0		
33	2			1	1			1	1
34	4	1	0	2	1	1	0		
35	6	2	0			1	0	3	2
36	8	2	0	2	1	2	0	2	2
37	6			2	2	2	0	2	2
38	3	1	0	1	1			1	1
39	1							1	1
Total	178	55	0	42	38	40	0	41	37

tamanho dos frutos produzidos foi semelhante ao dos frutos obtidos nos tratamentos em que todo o polinário foi utilizado. Em outras espécies de orquídeas que apresentam pólen

Tabela 19. Tratamentos realizados em *Psilochilus modestus* (Picinguaba):

Número de frutos formados por tratamento									
Planta	Nº flores	Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emascu lação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos
1	3	1	0	2	2				
2	3	1	0					2	2
3	6			4	3			2	2
4	5	1	0	3	2			1	1
5	3			3	3				
6	3					2	0	1	1
7	6	1	0	3	2			2	1
8	4			2	2			2	1
9	7			2	1	3	0	2	2
10	3	2	0	1	1				
11	5			3	1			2	1
12	6	1	0			2	0	3	3
13	3			1	1			2	1
14	4			2	1			2	2
16	2			1	1			1	1
17	3					2	0	1	1
Total	66	7	0	27	20	9	0	23	19

Figura 36: Proporção de frutos formados em relação ao número de flores utilizadas por tratamento em *Psilochilus modestus* na Serra do Japi e Picinguaba.

farináceo, como em *Psilochilus*, um baixo número de tétrades depositados no estigma da flor pode levar a formação de um fruto. No entanto, o tamanho dos frutos e o número de sementes presentes em cada fruto são proporcionais ao número de grãos de pólen depositados nos estigmas (Mehrhoff 1983, Gregg 1991a).

4.4. *Cirrhaea dependens*

Em *Cirrhaea dependens* foram produzidos apenas frutos através de polinizações cruzadas. Todos os frutos em formação derivados de autopolinizações manuais abortaram nos primeiros sete dias de desenvolvimento (Tabela 20). No campo, durante as observações do processo de polinização, foram observadas duas flores autopolinizadas pelos próprios agentes polinizadores (Fig. 27D). Dessas duas flores autopolinizadas naturalmente, nenhum fruto foi formado e o aborto ocorreu no mesmo intervalo de tempo observado nas autopolinizações experimentais. Os dados obtidos nos tratamentos indicam um alto grau de autoincompatibilidade para *C. dependens*. Nesta espécie, mesmo apresentando estigma em forma de fenda, como nas espécies de *Stanhopea* (ver processos de polinização), a existência de um mecanismo prevenindo autopolinização não pode ser observado, e a autoincompatibilidade parece ser a principal maneira de evitar formação de frutos derivados de autopolinizações. Na família Orchidaceae, autogamia é evitada principalmente por barreiras de pré-polinização (Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981). No entanto, barreiras genéticas como a presença de alelos recessivos letais pode induzir aborto em autopolinizações (Johansen 1990, Tremblay 1994).

Tabela 20. Tratamentos realizados em *Cirrhaea dependens* (Serra do Japi):

Número de frutos formados por tratamento									
Planta	Nº flores	Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emasculação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos
A	10	2	0	3	0	2	0	3	2
B	12	3	0	3	0	3	0	3	1
C	7	5	0					2	0
Total	29	10	0	6	0	5	0	8	3

4.5. *Stanhopea lietzei* e *S. insignis*

Ambas as espécies de *Stanhopea*, *S. lietzei* e *S. insignis*, são autocompatíveis. Em *Stanhopea lietzei*, tanto nas autopolinizações manuais quanto nas polinizações cruzadas, foi verificado o aborto de frutos no início do desenvolvimento. Nesta espécie a taxa de aborto reduz o número de frutos deiscentes para 55,55% em autopolinizações manuais e 50% nas polinizações cruzadas (Tabela 21, Fig. 37). Em *S. lietzei* o índice de aborto em ambos os tratamentos foi semelhante, e a disponibilidade de recursos no ambiente (provavelmente nutrientes do solo), parece limitar a quantidade de frutos por indivíduo. Em *Stanhopea insignis*, 100% das autopolinizações manuais e polinizações cruzadas chegaram a formar frutos (Tabela 22, Fig. 37).

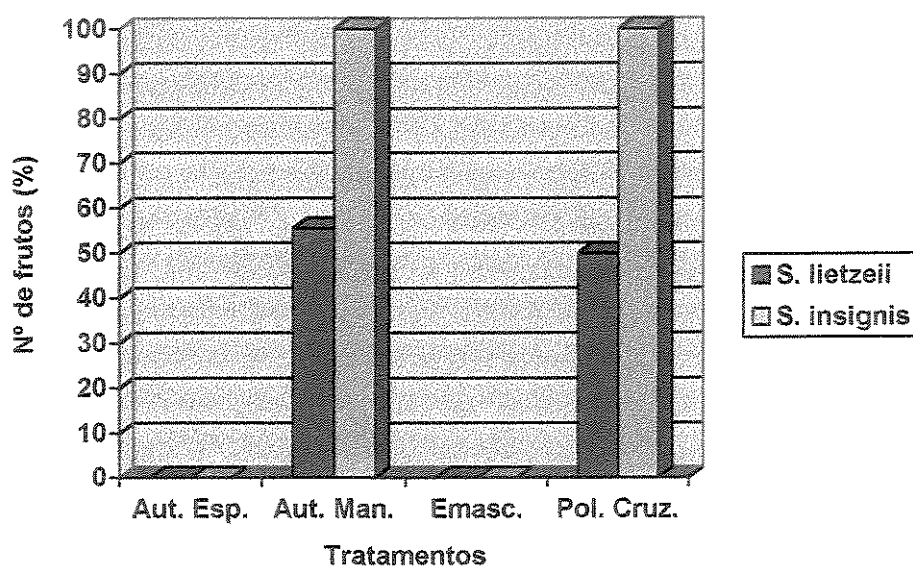
Tabela 21. Tratamentos realizados em *Stanhopea lietzei* (Serra do Japi):

Número de frutos formados por tratamento									
Planta	Nº flores	Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emasculação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos
A	2	2	0						
B	3			3	2				
C	2							2	0
D	2			2	2				
E	2	1	0	1	1				
F	2					2	0		
G	3	1	0	2	1				
H	2							2	1
I	2							2	2
J	1			1	1				
K	3			3	1				
L	2							2	1
M	4			3	2	1	0		
N	3			3	0				
Total	33	4	0	18	10	3	0	8	4

No presente trabalho, os tratamentos na maioria das espécies foram realizados no campo. Somente em *P. concreta*, *P. estrellensis* e *E. secundum* os tratamentos foram realizados em casa de vegetação, onde os espécimes estavam em cultivo há pelo menos um ano. Portanto, nas espécies estudadas, a taxa de aborto verificada nos experimentos não parece estar relacionada com condição de estresse dos indivíduos. Em Orchidaceae, a

Tabela 22. Tratamentos realizados em *Stanhopea insignis* (Picinguaba):

Planta	Nº flores	Número de frutos formados por tratamento							
		Autopol. Espont.	Nº Frutos	Autopol. Manual	Nº Frutos	Emasc. lação	Nº Frutos	Pol. Cruzada	Nº Frutos
A	3			3	3				
B	2							2	2
C	2							2	2
D	2			2	2				
E	3					3	0		
F	1			1	1				
G	3	3	0						
H	2							2	2
I	2							2	2
J	2			2	2				
K	2	2	0						
Total	24	5	0	8	8	3	0	8	8

**Figura 37:** Proporção do número de frutos formados em relação ao número de flores utilizadas por tratamento em *Stanhopea lietzei* (Serra do Japi) e *Stanhopea insignis* (Picinguaba).

condição de estresse causada pelo transplante dos indivíduos utilizados em experimentos pode induzir aborto de frutos (Lloyd 1980, Stephenson 1981, Borba *et al.* 1999). No entanto, experimentos realizados com espécies de orquídeas em ambiente natural, com frequência também podem apresentar elevada incidência de aborto de frutos (Mehrhoff 1983, Ackerman & Oliver 1985, Gonzáles-Dias & Ackerman 1988). Nesses experimentos,

de um modo geral, o acréscimo no número de frutos por indivíduo resulta em uma redução no futuro desenvolvimento da planta e na reprodução sexuada em algumas espécies (Montalvo & Ackerman 1987, Snow & Whighan 1989, Zimmerman & Aide 1989). As espécies rupícolas, como *E. secundum*, *C. dependens* e *S. lietzei*, apresentaram um maior número de aborto de frutos quando comparado com as espécies epífitas (*P. estrellensis*, *P. concreta* e *S. insignis*) e terrestre (*P. modestus*). Em espécies que vivem diretamente sobre rochas, um grande número de abortos de frutos tem sido observado com frequência. Este alto índice de aborto tem sido relacionado a limitação de recursos no ambiente (Biezychudek 1981b, Montalvo & Ackerman 1987, Ackerman 1989a, Zimmerman & Aide 1989, Borba *et al.* 1999).

5. TAXA DE FRUTIFICAÇÃO EM CONDIÇÕES NATURAIS (CONTROLE)

Os dados da taxa de frutificação das espécies em cada ambiente estão representados na figura 38.

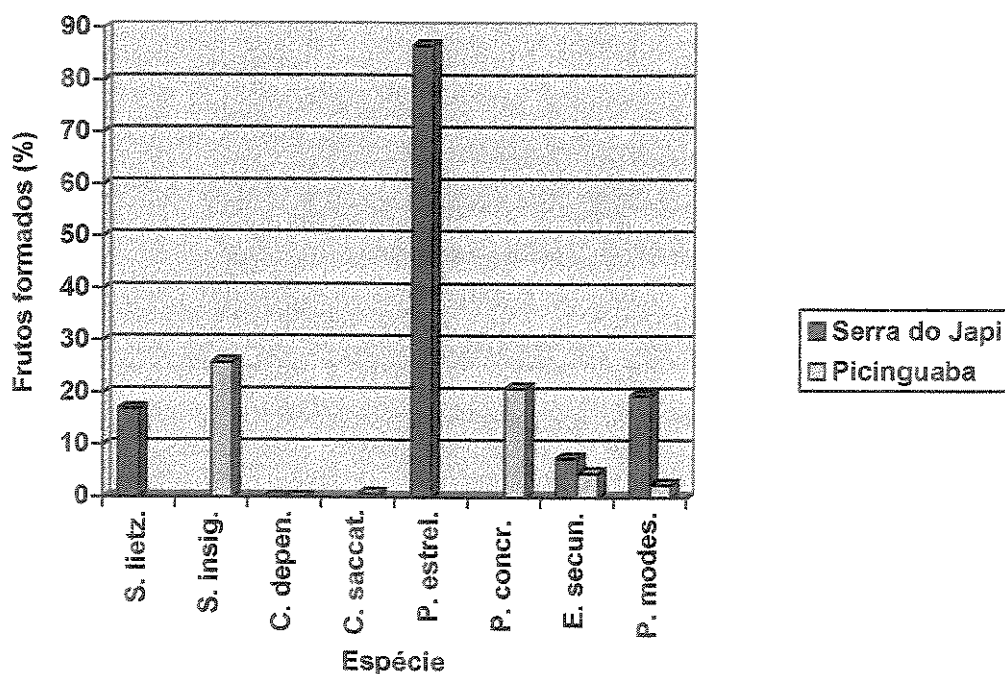


Figura 38: Proporção de frutos formados em relação ao número de flores produzidas para cada espécie em ambos os ambientes. Dados obtidos nas florações dos anos de 1999 e 2000.

Na Serra do Japi foram amostradas 12 inflorescências de *Cirrhaea dependens*, somando um total de 96 flores produzidas em dezembro de 1998, com nenhum fruto sendo produzido neste período. Na floração do ano anterior um fruto pôde ser observado, embora não tenha sido quantificado o número de flores. Em Picinguaba foi amostrada apenas uma inflorescência, que produziu 17 flores entre fevereiro e março de 1999, na qual nenhum fruto foi formado. Para *Cirrhaea saccata* (Picinguaba) foram verificados 15 indivíduos que produziram um total de 151 flores. Deste total de flores, apenas 1 (0,65%) fruto foi formado.

Em *Epidendrum secundum*, na Serra do Japi, foram amostradas 23 inflorescências de indivíduos distintos de uma população, em agosto de 1999. Das 623 flores produzidas, um total de 47 (7,5%) frutos foram formados. Em Picinguaba foi realizada a amostragem de 14 inflorescências, distribuídas entre quatro indivíduos, em novembro de 1999. Ao todo foram verificados a produção de 21 (4,6%) frutos para um total de 504 flores.

Em matas do interior do Estado de São Paulo foram amostradas 12 inflorescências em indivíduos distintos de *Polystachya estrellensis*, sendo que dois foram de Atibaia, oito de Nazaré Paulista e dois da Serra do Japi, somando um total de 965 flores. Destas flores, 844 (86,6%) frutos foram formados. Em Picinguaba foram amostradas 46 inflorescências de indivíduos distintos, que produziram 4.015 flores. Destas flores, 835 (20,8%) frutos foram formados. A quantificação da taxa de frutificação foi realizada em novembro de 1999 em ambos os ambientes.

Em *Psilochilus modestus*, na Serra do Japi, foram amostradas 34 inflorescências, que juntas produziram 113 flores. Destas flores, 22 (19,5%) frutos foram formados. A taxa de frutificação foi investigada em julho de 1999, período em que os frutos apresentavam-se deiscentes. Em Picinguaba a taxa de frutificação neste mesmo ano não pode ser quantificada de maneira inequívoca, pelo fato da maioria dos ovários das flores estarem parasitadas por larvas de *Eurytoma* sp. A taxa de frutificação em Picinguaba foi investigada em março de 2000, com a presença dos frutos ainda em desenvolvimento. Das 126 flores produzidas nesse período, apenas 3 (2,4%) frutos foram formados.

Em *Stanhopea lietzei*, na floração do ano de 1999/ 2000, foram produzidas 53 flores por 22 indivíduos. Destas flores, 9 (16,9%) frutos foram formados. No ano anterior, estes mesmos 22 indivíduos investigados produziram 48 flores, com apenas 1 (2%) fruto sendo formado.

Em *Stanhopea insignis* foram amostrados 13 indivíduos, que juntos produziram um total de 31 flores entre fevereiro e março de 2000. Deste total de flores, 8 (25,8%) frutos foram formados.

Nas espécies estudadas, exceto *Polystachya estrellensis*, a taxa de frutificação em condições naturais (controle) é muito inferior, quando se compara com o número de frutos formados em condições experimentais. Estudos mostram que, em condições experimentais, ocorre um aumento na produção de frutos quando comparado com as populações em ambiente natural de muitas espécies em Orchidaceae (Schenske 1980, Janzen et al. 1980, Ackerman & Montalvo 1987, 1990, Ackerman & Oliver 1985, Zimmerman & Aide 1989).

Flores de *Polystachya estrellensis* e *P. concreta*, assim como ocorre em *Psilochilus modestus*, podem apresentar seus ovários parasitados por larvas de *Eurytoma* sp. (Fig. 24F). As fêmeas de *Eurytoma* sp. ovipositam nos botões florais em início de desenvolvimento, através do ápice dos botões. A presença destas larvas não impede que a flor abra e fique disponível aos polinizadores. No entanto, mesmo que a polinização ocorra, o interior do ovário é danificado pela larva e a produção de sementes é totalmente comprometida. Em *P. estrellensis*, na região de Picinguaba, foram observados alguns indivíduos de aranhas Tomisidae predando os visitantes florais. A conduta dos polinizadores, que retornam às mesmas flores, acaba atraindo estas aranhas, que se posicionam sobre as flores para capturá-los (Fig. 23C). Nas espécies estudadas, em que as flores estão diretamente em contato com o substrato, como em *C. dependens* e *S. lietzei* (Fig. 27A, 29A), a produção de flores é comprometida principalmente pela predação por lesmas e lagartas. Já em *Epidendrum secundum* as flores não são comprometidas, porém, gafanhotos podem danificar completamente frutos em formação. Estudos mostram que em condições naturais, alguns fatores como herbivoria (Stephenson 1981, Marquis 1984, Elmqvist et al. 1987, Snow & Stanton 1988), predação de frutos e sementes (Boucher & Sork 1979, Arnold

1982, Haddock & Chaplin 1982), entre outros, podem influenciar negativamente a produção de frutos em algumas espécies de orquídeas.

Como foi apresentado, diversos fatores como disponibilidade e alocação de recursos, predação e herbivoria, autoincompatibilidade genética, entre outros, contribuem para uma diminuição do número de frutos deiscentes nas espécies estudadas. O baixo índice de frutos produzidos nas populações controle contrasta com o elevado número de frutos que cada indivíduo produz em condições experimentais. Deste modo, a escassez de polinizadores e o baixo número de visitas parecem ser fatores limitantes para a baixa taxa de frutificação de todas as espécies (exceto para *P. estrellensis*), em ambos os ambientes. A produção de frutos em espécies de orquídeas não autógamas geralmente é baixa, como consequência da transferência de pólen deficiente entre indivíduos (Janzen *et al.* 1980, Schemske 1980, Ackerman & Montalvo 1990, Calvo 1990a).

Como foi observado para todas as espécies não autógamas estudadas, o número de frutos produzidos nas populações controle foi baixo, quando comparado ao número de frutos que um indivíduo pode produzir em condições experimentais, em ambos os ambientes. No entanto, quando comparamos as espécies separadamente, podemos observar diferenças na taxa de frutificação de um ambiente para outro (Fig. 38). Cruden (1972) observou que a produção de frutos em plantas que apresentam insetos como agentes polinizadores decresce a medida que a altitude aumenta. Quando comparamos *P. modestus* e *E. secundum* em ambos os ambientes, os resultados apontam o inverso. Deste modo, a altitude não parece influenciar no declínio do número de agentes polinizadores, e consequentemente na produção de frutos das espécies investigadas.

6. SUCESSO REPRODUTIVO DAS ESPÉCIES EM AMBOS OS AMBIENTES

Campbell (1987) aponta os problemas causados por generalizações realizadas em estudos de polinização desenvolvidos em uma única área. No entanto, poucos estudos de biologia reprodutiva vem sendo realizados envolvendo mais de uma localidade (Heithaus *et al.* 1982, Galen 1985, Campbell 1987). Apesar do crescente aumento dos estudos de biologia reprodutiva em Orchidaceae, inclusive no Brasil, poucos estudos comparativos têm sido realizados. Estudos comparativos são importantes, principalmente em espécies com ampla distribuição, pois podem revelar diferenças no grupo e na abundância dos polinizadores. Essas diferenças podem afetar o sucesso reprodutivo das espécies. Tremblay (1992) relata que, em Orchidaceae, apenas raramente são mencionados todos os possíveis polinizadores de uma espécie ao longo de sua distribuição. Porém, quando o número de polinizadores de uma mesma espécie é quantificado em mais de uma localidade, são observadas diferenças qualitativas e quantitativas quando comparadas essas localidades (Smith & Snow 1976, Nilsson 1978, Cole & Firmage 1984).

Em todas as espécies investigadas, o sucesso reprodutivo é comprometido por alguns fatores, como disponibilidade de recursos no ambiente, herbivoria das flores, e predação de frutos e sementes. Entretanto, a baixa taxa de frutificação das espécies não autógamas está relacionada principalmente à baixa transferência de pólen entre os indivíduos, onde a escassez dos agentes polinizadores parece ser o fator limitante.

Poucos trabalhos comparam o sucesso reprodutivo das espécies em ambientes distintos. Cruden (1972) menciona que a altitude pode estar relacionada à diminuição no número e frequência dos agentes polinizadores nas flores. Já outros estudos mostram que a composição do solo altera a quantidade da produção de néctar em algumas regiões, e os polinizadores respondem de modo proporcional ao aumento ou diminuição na produção do néctar (Campbell 1987). Para as espécies investigadas, tais padrões relacionados à altitude não puderam ser observados. A composição do solo e a disponibilidade hídrica não foram analisadas. No entanto, a frequência dos agentes polinizadores observados em cada espécie estudada, e o conseqüente comprometimento no sucesso reprodutivo, apresenta variações

quando comparados os ambientes como será descrito detalhadamente a seguir. Os dados do sucesso reprodutivo de cada espécie encontram-se resumidos na tabela 23.

Em *Epidendrum secundum*, a baixa taxa de frutificação observada pode estar relacionada com o próprio comportamento dos lepidópteros no ambiente, como a conduta e infreqüência de visitas nas flores. As borboletas exploram vários recursos no mesmo ambiente. No período de maior produção de flores em *E. secundum*, algumas espécies da família Asteraceae, como *Vernonia beyrichii* em Picinguaba, estão em plena floração, e aparentemente são as principais fontes de alimento para os lepidópteros. Desta forma, não obrigatoriamente os borboletas necessitam retornar à população de *E. secundum* para obterem seu alimento. O fato dos lepidópteros não necessitarem retornar às flores de *E. secundum*, acaba resultando em uma grande perda de pólen para a espécie. Como na maioria das Orchidaceae o pólen é reunido em polínias, a remoção do polinário por um polinizador ineficiente resulta em um grande desperdício de pólen que pode influenciar negativamente no sucesso reprodutivo das espécies (Tremblay 1992).

Em *Polystachya estrellensis* a alta taxa de frutos formados deve-se principalmente ao grande número de flores cleistógamas. Já em *P. concreta*, a baixa taxa de frutificação observada pode estar relacionada com a conduta do polinizador. O principal agente polinizador da espécie (Halictidae sp.) “aprende” a manipular as flores, como descrito para as espécies de *Stanhopea*, evitando que o polinário seja depositado na maioria das visitas. Outro fator importante é o desperdício de pólen causado quando ocorre a deposição de dois ou mais polinários em um único visitante floral. O possível incômodo causado pela deposição dos polinários na cabeça das abelhas, faz com elas se limpem com freqüência e as polínias são perdidas.

Psilochilus modestus apresenta picos de floração nas populações de ambos os ambientes, as flores são efêmeras e permanecem disponíveis por apenas um dia. Em ambientes sazonais, como na Serra do Japi, onde provavelmente os recursos sejam mais escassos, os polinizadores aproveitam melhor o recurso oferecido pela espécie (principalmente pólen), quando comparado com Picinguaba. O maior aproveitamento dos recursos florais têm como consequência um aumento no número de visitas nas populações

da Serra do Japi, levando a um aumento na polinização e consequentemente na taxa de frutificação dos indivíduos, quando comparado com Picinguaba.

Nas espécies de Stanhopeinae, em plantas situadas em locais mais abertos, ocorre dispersão mais efetiva dos voláteis florais no ambiente e, como consequência, um maior número de agentes polinizadores é atraído para esses indivíduos. Assim, os polinizadores acabam concentrando-se em apenas algumas plantas, enquanto as outras, que estão no interior da mata, são visitados apenas raramente. A visita preferencial em plantas localizadas na borda da mata pode ser observada apenas quando há vários indivíduos em flor. Alguns estudos indicam que fatores abióticos, como por exemplo o vento, influenciam a dispersão dos voláteis e consequentemente a orientação dos insetos às flores (Dobson 1994).

Das espécies de Stanhopeinae investigadas, *Cirrhaea dependens* apresentou um alto grau de autoincompatibilidade. Como geralmente os polinizadores tendem a retornar às flores realizando autopolinizações, a taxa de frutificação é muito comprometida, quando comparado com as espécies autocompatíveis investigadas. Em plantas com flores hermafroditas autoincompatíveis, os índices de formação de frutos podem chegar a ser 3,5 vezes menores que os encontrados em espécies com flores hermafroditas autocompatíveis (Sutherland 1986). Em *C. saccata*, mesmo não tendo sido realizados tratamentos para verificação do sistema reprodutivo, a baixíssima taxa de frutificação dos indivíduos dá indícios que a espécie deva ser autoincompatível, como *C. dependens*.

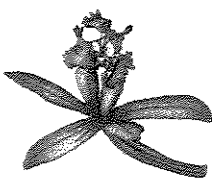
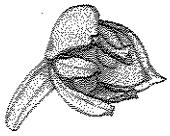
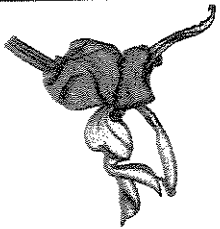
Para *Stanhopea lietzei* e *S. insignis*, alguns fatores em conjunto contribuem para a baixa taxa de formação de frutos. Tanto para *S. lietzei* como para *S. insignis*, a localização das plantas no ambiente influencia na atração dos polinizadores. Em *S. lietzei*, que se desenvolve sobre paredões rochosos, a inflorescência algumas vezes não assume a posição pêndula, quando o indivíduo se encontra afastado da borda do paredão. Com isso, o labelo da flor fica posicionado horizontalmente e o processo de “queda” da abelha não acontece, e como consequência as flores não são polinizadas. Outro fator observado em *S. insignis* e *S. lietzei*, é que os polinizadores, após escorregarem algumas vezes pelo labelo, “aprendem” a manipular as flores, não se deixando cair nas visitas posteriores. A maioria das flores é polinizada por indivíduos aparentemente “inexperientes”, que caem nas primeiras visitas à

flor (ver processos de polinização). Como ocorre em *S. insignis* e *S. lietzei*, também em outras espécies de Orchidaceae o processo de polinização é realizado por polinizadores “inexperientes”, ou seja, jovens recém emergidos (Nilsson 1980, Ackerman 1981, Ackerman 1983b, Ackerman 1986).

Nas espécies investigadas, quando a fragrância das flores atua como fator primário na atração dos polinizadores, a especificidade tende a ser maior, quando comparado com as espécies que produzem fragrância com um fator secundário na atração. Em *Epidendrum secundum*, no qual a fragrância aparentemente não apresenta função na atração dos polinizadores, a inespecificidade é ainda maior. Dobson (1994) argumenta que a fragrância floral pode aumentar a eficiência dos insetos para encontrar suas fontes de alimento. No caso das espécies de Stanhopeinae, que não oferecem alimento aos polinizadores, e a única recompensa é o próprio óleo volátil, a combinação de duas ou mais substâncias pode ser responsável pela alta especificidade observada (Dressler 1968, Hills *et al.* 1968, Williams & Dodson 1972, Dobson 1994).

As espécies de Stanhopeinae, principalmente *Stanhopea*, apresentam uma alta especificidade de polinizadores. Entretanto, isso não significa um aumento na taxa de frutificação em relação às demais espécies estudadas. *Psilochilus modestus*, por exemplo, que possui quatro espécies de polinizadores na Serra do Japi, pode apresentar taxas formação de frutos em condições naturais superiores às registradas para *S. lietzei*, que apresenta apenas uma espécie de polinizador no mesmo ambiente. Do mesmo modo, *Epidendrum secundum*, que apresenta 15 espécies de polinizadores na Serra do Japi, mostra taxas de frutificação superiores às de *Cirrhaea dependens*, que possui apenas duas espécies de polinizadores na mesma região. Assim, a redução do número de espécies de polinizadores nem sempre garante a eficiência de polinização em Orchidaceae. Esses dados contrariam a opinião de Tremblay (1992), que relaciona especificidade com eficiência na polinização.

Tabela 23. Sucesso reprodutivo das espécies estudadas em ambos os ambientes: Células vazias indicam ausência de dados. Recomp. = Recompensa floral; N.º Polin. = Número de polinizadores; Frut. / Trat. = Frutos formados em relação ao número de flores utilizadas por tratamento (somente os tratamentos onde foi observada a produção de frutos estão representados); Tax. Frut. = Taxa de frutificação em condições naturais (controle). As espécies investigadas foram *Cirrhaea dependens*, *Epidendrum secundum*, *Polystachya estrellensis*, *Polystachya concreta*, *Psilochilus modestus*, *Stanhopea insignis* e *Stanhopea lietzei* :

	Recomp.	Atração	Serra do Japi			Picinguaba		
			N.º Polin.	Frut. / Trat.	Tax. Frut.	N.º Polin.	Frut. / Trat.	Tax. Frut.
 <i>E. secundum</i>	Néctar	Visual	15	Aut. Man. 92,5% Pol. Cruz. 80%	7,5%	10	Aut. Man. 84,44% Pol. Cruz. 97,77%	4,6%
 <i>P. estrellensis</i>	Pseudo pólen	Visual 1ªmária Odor 2ªdária	5	Aut. Man. 59,09% Pol. Cruz. 68,75% Cleistog. 73,44%	86,6%	2		
 <i>P. concreta</i>	Pseudo pólen	Visual 1ªmária Odor 2ªdária				4	Aut. Man. 85,23% Pol. Cruz. 89,47%	20,8%
 <i>P. modestus</i>	Pólen e néctar	Visual 1ªmária Odor 2ªdária	5	Aut. Man. 97,47% Pol. Cruz. 90,24%	19,5%	4	Aut. Man. 74,07% Pol. Cruz. 82,6%	2,4%
 <i>C. dependens</i>	Fragrância	Odor 1ªmária Visual 2ªdária	2	Pol. Cruz. 37,5%	0	3		0
 <i>S. lietzeii</i>	Fragrância	Odor 1ªmária Visual 2ªdária	1	Aut. Man. 55,55% Pol. Cruz. 50%	16,9%			
 <i>S. insignis</i>	Fragrância	Odor 1ªmária Visual 2ªdária				1	Aut. Man. 100% Pol. Cruz. 100%	25,8%

Para todas as espécies estudadas, as taxas de frutificação em condições naturais foram baixas. Em algumas delas, como *Epidendrum secundum* e *Cirrhaea dependens* em ambos os ambientes e *Psilochilus modestus* em Picinguaba, os valores foram comparáveis aos encontrados em espécies de orquídeas que não oferecem recompensa aos visitantes florais (Montalvo & Ackerman 1987, Ackerman 1989a, Zimmerman & Aide 1989). Em *Epidendrum secundum*, como o néctar não é liberado diretamente no canal do nectário, a interpretação da verdadeira função do nectário só foi possível com a realização dos cortes anatômicos. Sem a análise anatômica do nectário, as flores de *E. secundum* poderiam ter sido consideradas como se não oferecessem néctar. Consequentemente, isso levaria à interpretação errônea de que a espécie fosse polinizada por engano dos polinizadores. Muitas espécies em Orchidaceae apresentam nectários onde não foi verificada a produção de néctar, e a polinização foi interpretada como ocorrendo por engano dos agentes polinizadores (Ackerman 1986, Montalvo & Ackerman 1987, Ackerman & Montalvo 1990, Calvo 1990b, Christensen 1992).

CONCLUSÕES

Em relação a fenologia, todas as espécies estudadas, exceto *Epidendrum secundum*, florescem no verão, no período mais quente e úmido do ano. *E. secundum*, que produz flores o ano todo, apresenta um pico de floração que coincide com o período mais frio e seco do ano, entre o outono e o inverno. Em matas semidecíduas de altitude, foi observado um adiantamento de aproximadamente um mês, em média, na floração em todas as espécies estudadas em relação a mata da planície litorânea de Picinguaba.

Quanto a morfologia floral, todas as espécies estudadas, de um modo geral, apresentaram uma pequena variação, quando comparadas as populações de ambos os ambientes. As diferenças mais significativas na morfologia das flores foram observadas em *Epidendrum secundum* e *Psilochilus modestus*. A hibridação de *E. secundum* com *E. fulgens*, em Picinguaba, proporciona o aparecimento de flores com diversas formas morfológicamente intermediárias entre ambas as espécies. Em *P. modestus* as principais diferenças estão na forma do labelo e coloração dos guias de néctar. Para as demais espécies, as diferenças restringiram-se basicamente na coloração das flores. As diferenças morfológicas das flores, quando comparados ambos os ambientes, aparentemente não causam influência no processo de polinização das espécies.

O grupo de polinizadores, de um modo geral, tende a ser o mesmo para cada espécie, em ambos os ambientes. A mesma variação no grupo de agentes polinizadores observados cada espécie de planta em um único ambiente é verificada quando comparados ambos os ambientes.

Foi observado que a especificidade dos agentes polinizadores está relacionada com o tipo de recompensa floral. As espécies que oferecem tanto pólen (incluindo pseudopólen), quanto néctar, mostraram-se mais generalistas quanto ao número de polinizadores, quando comparado com as espécies que oferecem fragrância como recompensa. A especificidade dos polinizadores aparentemente não está relacionada com o ambiente. No entanto, a morfologia das flores pode influenciar na especificidade. Flores das espécies de *Stanhopea* não podem ser polinizadas se o visitante floral não tiver as dimensões do corpo compatíveis

com a distância formada pelo labelo e a coluna. Em contraste, flores de *Cirrhaea dependens* e *Epidendrum secundum* podem ser polinizadas por visitantes de vários tamanhos.

A relação entre a fragrância emitida pelas flores e a atração dos polinizadores variou dependendo de cada espécie estudada. Quando fragrância atua como fator primário na atração dos agentes polinizadores, a especificidade tende a ser muito maior, quando comparado com as espécies que produzem fragrância com um fator secundário. A maior inespecificidade é observada em *Epidendrum secundum*, onde a fragrância aparentemente não apresenta função na atração dos polinizadores.

Stanhopea lietzei e *S. insignis* mostraram-se altamente específicas quanto ao número de agentes polinizadores, com apenas um polinizador para cada espécie. Essa alta especificidade está relacionada principalmente a preferência do polinizador pela fragrância emitida pelas flores. Adicionado à fragrância, a distância entre o labelo e a coluna impede que visitantes com tamanho incompatível à morfologia da flor retirem (ou depositem) polinários e, como consequência, polinizem as flores.

Mecanismos prevenindo autopolinização só puderam ser observados nas espécies de *Stanhopea* estudadas. Nestas espécies, polinários recém retirados, por estarem túrgidos, não podem ser depositados no estigma, pois apresentam dimensões maiores que a fenda estigmática. Para *Cirrhaea dependens*, o mecanismo de dessecação das polínias não foi observado. Porém, em *C. dependens*, não ocorre a produção de frutos derivados de autopolinizações, devido ao alto grau de autoincompatibilidade da espécie.

Foi observado que o sucesso reprodutivo das espécies não autógamas é afetado principalmente devido a baixa transferência de pólen entre os indivíduos, estando relacionada à escassez de agentes polinizadores. A grande quantidade de pólen perdida, principalmente devido a conduta dos polinizadores, também influi negativamente no sucesso reprodutivo das espécies. A diversidade dos agentes polinizadores em cada ambiente aparentemente não está relacionada com baixa formação de frutos apresentadas pelas espécies.

Diversos fatores podem garantir o isolamento reprodutivo das espécies investigadas. Um dos principais fatores é a existência de barreiras geográficas separando as espécies. Diferenças de microhabitats também podem contribuir para o isolamento reprodutivo das espécies, como observado para *Polystachya estrellensis* e *P. concreta*. Neste caso, a tendência que os agentes polinizadores têm de permanecerem em microhabitats distintos, e a produção de flores em diferentes épocas, são os principais fatores que garantem o isolamento entre ambas as espécies. Nas Stanhopeinae, o principal fator que garante o isolamento entre as espécies é a produção de fragrâncias, capazes de atrair diferentes polinizadores. Esse fator é claramente verificado nas três espécies de *Cirrhaea*, que mesmo sendo simpátricas e florescerem simultaneamente, atraem polinizadores distintos às suas flores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abish, E. & Reichstein, T. 1960. Reactivo de Meyer. *Helv. Chem. Acta* 43: 1844.
- Ackerman, J.D. 1981. Pollination biology of *Calypso bulbosa* var. *occidentalis* (Orchidaceae): a food deception system. *Madroño* 28: 101-110.
- Ackerman, J.D. 1983a. Specificity and mutual dependency of the orchid-euglossine bee interaction. *Biol. J. Linn. Soc.* 20: 301-314.
- Ackerman, J.D. 1983b. Euglossine bee pollination of the orchid, *Cochleanthes lipscombiae*: a food source mimic. *Amer. J. Bot.* 70(6): 830-834.
- Ackerman, J.D. 1986. Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination systems in orchids. *Lindleyana* 1(2): 108-113.
- Ackerman, J.D. 1989a. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Syst. Bot.* 14(1): 101-109.
- Ackerman, J.D. 1989b. Geographic and seasonal variation in fragrance choices and preferences of male euglossine bees. *Biotropica* 21(4): 340-347.
- Ackerman, J.D. 1995. An orchid flora of Puerto Rico and the Virgin Islands. v. 73. New York: NYBG.
- Ackerman, J.D. & Mesler, M.R. 1979. Pollination biology of *Listera cordata* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 66: 820-824.
- Ackerman, J.D. & Montalvo A.M. 1990. Short- and long-term limitations to fruit production in a tropical orchid. *Ecology* 71(1): 263-272.
- Ackerman, J.D. & Oliver, J.C. 1985. Reproductive biology of *Oncidium variegatum*: moon phases, pollination, and fruit set. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 54: 326-329.
- Adams, R.M. 1995. Identification of essential oil by gas chromatography/mass spectroscopy. Illinois: Allured Publishing Co.

- Adams, R.M. & Goss, G.J. 1976. The reproductive biology of the epiphytic orchids of Florida III. *Epidendrum anceps* Jacq. Amer. Orchid Soc. Bull. 45: 488-492.
- Allard, R.W.; Jain, S.K. & Workman, P.L. 1968. The genetics of inbreeding species. Adv. Genet. 14: 55-131.
- Armbruster, W.S. & McCormick, K.D. 1990. Diel foraging patterns of male euglossine bees: ecological causes and evolutionary response by plants. Biotropica 22(2): 160-171.
- Arnold, R.M. 1982. Pollination, predation and seed set in *Linaria vulgaris* (Scrophulariaceae). Am. Midl. Nat. 107: 360-369.
- Atwood, J.T. 1986. The size of the Orchidaceae and the systematic distribution of epiphytic orchids. Selbyana 9: 171-186.
- Baker, H.G. 1955. Self-compatibility and establishment after "long distance" dispersal. Evolution 9: 347-349.
- Becker, P.; Moure, J.S. & Peralta, F.J. 1991. More about euglossine bees in amazonian forest fragments. Biotropica 23(4b): 586-591.
- Bierzychudek, P. 1981a. *Asclepias*, *Lantana* and *Epidendrum*: a floral mimicry complex? Biotropica 54-81.
- Bierzychudek, P. 1981b. Pollinator limitation of plant reproductive effort. Am. Nat. 117: 838-840.
- Borba, E.L. & Semir, J. 1999. Temporal variation in pollinarium size after its removal in species of *Bulbophyllum*: a different mechanism preventing self-pollination in Orchidaceae. Plant Syst. Evol. 217: 197-204.
- Borba, E.L.; Shepherd, G. & Semir, J. 1999. Reproductive systems and crossing potential in three species of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) occurring in Brazilian "campos rupestres" vegetation. Plant Syst. Evol. 217: 205-214.
- Boucher, D.H. & Sork, V.L. 1979. Early drop of nuts in response to insect infestation. Oikos 33: 440-443.

- Boyden, T.C. 1980. Floral mimicry by *Epidendrum ibaguense* (Orchidaceae) in Panama. *Evolution* 34: 135-136.
- Braga, P.I. 1976. Estudos da flora orquidológica do Amazonas. I- Descrição e observação da biologia floral de *Stanhopea candida* Barb. Rodr. *Acta Amazonica* 6(4): 433-438.
- Brown-Jr., K.S. 1981. The biology of *Heliconius* and related genera. *Ann. Rev. Entomol.* 26: 427-456.
- Calvo, R.N. 1990a. Four-year growth and reproduction of *Cyclopogon cranichoides* (Orchidaceae) in South Florida. *Amer. J. Bot.* 77(6): 736-741.
- Calvo, R.N. 1990b. Inflorescence size and fruit production among individuals in three orchid species. *Amer. J. Bot.* 77(10): 1378-1381.
- Cameron, K.M.; Chase, M.W.; Whitten, W.M.; Kores, P.J.; Jarrell, D.C.; Albert, V.A.; Yukawa, T.; Hills, H.G. & Goldman, D.H. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *Amer. J. Bot.* 86(2): 208-224.
- Campbell, D.R. 1987. Interpopulational variation in fruit production: the role of pollination-limitation in the Olympic Mountains. *Amer. J. Bot.* 74(2): 269-273.
- Catling, P.M. & Catling, V.R. 1991. Anther-cap retention in *Tipularia discolor*. *Lindleyana* 6:113-116.
- Chaplin, S.J. & Walker, J.L. 1982. Energetic constraints and adaptive significance of the floral display of a forest milkweed. *Ecology* 63:1857-1870.
- Christensen, D.E. 1992. Notes on the reproductive biology of *Stelis argentata* Lindl. (Orchidaceae: Pleurothallidinae) in eastern Ecuador. *Lindleyana* 7: 28-33.
- Clay, K. 1982. Environmental and genetic determinants of cleistogamy in a natural population of the grass *Danthonia spicata*. *Evolution* 36: 734-741.
- Clay, K. 1983. Variation in the degree of cleistogamy within and among species of the grass *Danthonia*. *Amer. J. Bot.* 70(6): 835-843.
- Cole, F.R. & Firmage, D.H. 1984. The floral ecology of *Platanthera blephariglottis*. *Amer. J. Bot.* 71: 700-710.

- Cruden, R.W. 1972. Pollinators in high-elevation eco-systems: the relative effectiveness of birds and bees. *Science* 176: 1439-1440.
- Curry, K.J. 1987. Initiation of terpenoid synthesis in osmophores of *Stanhopea anfracta* (Orchidaceae): a cytochemical study. *Amer. J. Bot.* 74: 1332-1338.
- Curry, K.J.; McDowell, L.M.; Judd, W.S. & Stern, W.L. 1991. Osmophores, floral features, and systematics of *Stanhopea* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 78(5): 610-623.
- Dafni, A. & Ivri, Y. 1981. The flower biology of *Cephalanthera longifolia* (Orchidaceae) – Pollen imitation and facultative floral mimicry. *Plant Syst. Evol.* 137: 229-240.
- Davies, K.L.; Winters, C. & Turner, M.P. Pseudopollen: its struture and development in *Maxillaria* (Orchidaceae). *Ann. Bot.* 85: 887-895.
- DeVries, P.J. & Stiles, F.G. 1990. Attraction of pirrolizidine alkaloid seeking lepidoptera to *Epidendrum paniculatum* orchids. *Biotropica* 22(3): 290-297.
- Dobson, H.E. 1987. Role of flower and pollen aromas in host-plant recognition by solitary bees. *Oecologia* 72: 618-623.
- Dobson, H.E. 1994. Floral volatiles in insect biology. In E. A. Bernays (ed.) *Insect-Plant Interactions*. Vol. V. Boca Raton: CRC Press.
- Dobson, H.E.; Bergström, J.; Bergström, G. & Groth, I. 1987. Pollen and flower volatiles in two *Rosa* species. *Phytochemistry* 26: 3171-3173.
- Dobson, H.E.; Bergström, G. & Groth, I. 1990. Differences in fragrance chemistry between flower parts of *Rosa rugosa* Thunb. (Rosaceae). *Isr. J. Bot.* 39: 143-156.
- Dobson, H.E.; Groth, I. & Bergström, G. 1996. Pollen advertisement: chemical contrasts between whole-flower and pollen odors. *Amer. J. Bot.* 83(7): 877-885.
- Dodson, C.H. 1962. The importance of pollination in the evolution of the orchids of tropical America. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 31: 525-534, 641-649, 731-735.
- Dodson, C.H. 1969. Pollination and variation in the subtribe Catasetinae (Orchidaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 39: 35-56.

- Dodson, C.H. 1970. The role of chemical attractants in orchid pollination. In K. L. Chambers (Ed.) Biochemical coevolution. Oregon: Oregon State University Press.
- Dodson, C.H. & Frymire, G.P. 1961. Preliminary studies in the genus *Stanhopea*. Ann. Missouri Bot. Gard. 48: 137-172.
- Dool, H. van der & Kratz, P.D. 1963. A generalization of retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J. Chrom. 11: 463.
- Dressler, R.L. 1967. Why do euglossine bees visit orchids flowers? Atlas Simp. Biota Amazonica. 5: 171-180.
- Dressler, R.L. 1968. Pollination by euglossine bees. Evolution 22: 202-210.
- Dressler, R.L. 1981. The orchids: natural history and classification. Cambridge: Harvard University Press.
- Dressler, R.L. 1989. Will the real *Epidendrum ibaguense* please stand up? Am. Orchid Soc. Bull. 58(8): 796-800.
- Dressler, R.L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Cambridge: Cambridge University Press.
- Dunsterville, G.C. 1979. Orchids of Venezuela – *Epidendrum elongatum*. Amer. Orchid Soc. Bull. 48(5): 447-454.
- Elmqvist, T.; Ericson, L.; Danell, K. & Salomonson, A. 1987. Flowering, shoot production, and vole bark herbivory in a boreal willow. Ecology 68: 1623-1629.
- Faegri, K. & Pijl, L. van der. 1979. The principles of pollination ecology. 3^a ed. New York: Pergamon Press.
- Firmage, D.H. & Cole, F.R. 1988. Reproductive success and inflorescence size of *Calopogon tuberosus* (Orchidaceae). Amer. J. Bot. 75(9): 1371-1377.
- Galen, C. 1985. Regulation of seed-set in *Polemonium viscosum*: Floral scents, pollination, and resources. Ecology 66: 792-797.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

- Garay, L.A. 1960. On the origin of the Orchidaceae. Bot. Mus. Leaflet. Harv. Univ. 19: 57-96.
- González, M.I. & Mora, D.E. 1996. El color de las flores en la taxonomía de cuatro especies de *Stanhopea* (Orchidaceae). Rev. Biol. Trop. 44(2): 525-539.
- González-Díaz, N. & Ackerman, J.D. 1988. Pollination, fruit set, and seed production in the orchid, *Oeceoclades maculata*. Lindleyana 3(3): 150-155.
- Goss, G.J. 1977. The reproductive biology of the epiphytic orchids of Florida 6. *Polystachya flavescens* (Lindley) J.J. Smith. Amer. Orchid Soc. Bull. 46: 990-994.
- Goss, G.J. & Adams R.M. 1976. The reproductive biology of epiphytic orchids of Florida IV. Sexually selective attraction of moths to the floral fragrance of *Epidendrum anceps* Jacquin. Amer. Orchid Soc. Bull. 45: 997-1001.
- Gregg, K.B. 1989. Reproductive biology of the orchid *Cleistes divaricata* (L.) Ames var. *bifaria* Fernald growing in a West Virginia Meadow. Castanea 54(2): 57-78.
- Gregg, K.B. 1991a. Reproductive strategy of *Cleistes divaricata* (Orchidaceae). Amer. J. Bot. 78(3): 350-360.
- Gregg, K.B. 1991b. Defrauding the deceitful orchid: Pollen collection by pollinators of *Cleistes divaricata* and *C. bifaria*. Lindleyana 6(4): 214-220.
- Haddock, R.C. & Chaplin, S.J. 1982. Pollination and seed production in two phenologically divergent prairie legumes (*Baptisia leucophaea* and *B. eucantha*) Amer. Midl. Nat. 108: 175-186.
- Hágsater, E. 1993. *Epidendrum anceps* or *Epidendrum secundum*? Orquidea (Méx.) 13(1-2): 153-158.
- Heithaus, E.R.; Stashko, E. & Anderson, P.K. 1982. Cumulative effects of plant-animal interactions on seed production by *Bauhinia ungulata*, a neotropical legume. Ecology 63: 1294-1302.
- Herrera, C. 1989. Pollinator abundance, morphology, and flower visitation rate: analysis of the "quantity" component in plant - pollinator system. Oecologia 80: 241-148.

- Hills, H.G.; Williams, N.H. & Dodson, C.H. 1968. Identification of some orchid fragrance. Amer. Orchid Soc. Bull. 37(11): 967-971.
- Hoehne, F.C. 1933. Contribuição para o conhecimento do gênero *Catasetum*, especialmente hermaphroditismo e trimorfismo das suas flores. Bol. Agric. Brasil. 133-196.
- Hoehne, F.C. 1946. Iconografia de Orquidaceas do Brasil. São Paulo: S. A. Indústrias "Graphicars-F. Lanzara".
- Janzen, D.H. 1971. Euglossine bees as long distance pollinators of tropical plants. Science 171: 203-205.
- Janzen, D.H.; DeVries, P.; Gladstone, D.E.; Higgins, M.L. & Lewinsohn, T.M. 1980. Self- and cross-pollination of *Encyclia cordigera* (Orchidaceae) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. Biotropica 12(1): 72-74.
- Johansen, B. 1990. Incompatibility in *Dendrobium* (Orchidaceae). Bot. J. Linn. Soc. 103: 165-196.
- Kaiser, R. 1993. The scent of the orchids. Olfactory and chemical investigations. Amsterdam: Elsevier.
- Kimsey, L.S. 1982. Systematics of bees of the genus *Eufriesea* (Hymenoptera, Apidae). Berkeley: University of California Press.
- Knudsen, J.T. & Tollsten, L. 1993. Trends in floral scent chemistry in pollination syndromes: floral scent composition in moth-pollinated taxa. Bot. J. Linn. Soc. 113: 263-284.
- Krodsma, D.E. 1975. Flight distances of male euglossine bees in orchid pollination. Biotropica 7(1): 71-72.
- Lange, R. & Schenske, D.W. 1985a. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I. Genetic Models. Evolution 39:24-40.
- Lange, R. & Schenske, D.W. 1985b. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. Evolution 39: 41-52.
- Linder, H.P. 1990. Hybrids in *Disa* (Diseae-Orchidaceae). Lindleyana 5(4): 224-230.

- Lloyd, D.G. 1979. Some reproductive factors affecting the selection of self-fertilization in plants. *Amer. Nat.* 113: 67-97.
- Lloyd, D.G. 1980. Sexual strategies in plants. I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. *New Phytol.* 86: 69-79.
- Lüning, B. 1964. Studies on Orchidaceae alkaloids I. *Acta Chem. Acad.* 18(6): 1507-1516.
- Marquis, R.J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226: 537-539.
- Mehrhoff, L.A. 1983. Pollination in the genus *Isotria* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 70(10): 1444-1453.
- Melampy, M.N. 1987. Flowering phenology, pollen flow and fruit production in Andean shrub *Befaria resinosa*. *Oecologia* 73: 293-300.
- Miller, D.; Warren, R. & Miller, I.M. 1996. Orquídeas do alto da Serra. 2ª ed. Rio de Janeiro: Salamandra.
- Montalvo, A.M. & Ackerman, J.D. 1987. Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *Biotropica* 19(1): 24-31.
- Moraes, M.D. 1997. A família Asteraceae na planície litorânea de Picinguaba, município de Ubatuba - São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas. Área de Biologia Vegetal). Universidade Estadual de Campinas. Campinas: UNICAMP.
- Morellato, L.P. 1992. História natural da Serra do Japi. Campinas: Editora da UNICAMP/FAPESP.
- Morrison, A. 1997. *Cirrhaea*, *Epidendrum*, *Polystachya* e *Stanhopea*. In A. Pridgeon (ed.) The illustrated encyclopedia of orchids. Oregon: Timber Press.
- Moya S. & Ackerman, J.D. 1993. Variation in the floral fragrance of *Epidendrum ciliare* (Orchidaceae). *Nord. J. Bot.* 13: 41-47.
- Munur, R. & Machebaeuf, M. 1951. *Bull. Soc. Chem. Biol.* 33: 846.

- Nilsson, L.A. 1978. Pollination ecology and adaptation in *Platanthera chlorantha* (Orchidaceae). Bot. Not. 131: 35-51.
- Nilsson, L.A. 1980. The pollination ecology of *Dactylorhiza sambucina* (Orchidaceae). Bot. Not. 133: 367-385.
- Nilsson, L.A. 1983. Anthecology of *Orchis mascula* (Orchidaceae). Nord. J. Bot. 3: 157-179.
- Nilsson, L.A.; Jonsson, L.; Rason, L. & Johany, E.R. 1985. Monophily and pollination mechanisms in *Angraecum arachnites* Schltr. (Orchidaceae) in a guild of long-tongued hawk-moths (Sphingidae) in Madagascar. Biol. J. Linn. Soc. 26: 1-19.
- Nimer, E. 1977. Climatologia da região sudeste do Brasil. Rev. Bras. Geogr. 34: 3-48.
- Oliveira, M.L. & Campos, L.A. 1996. Preferência por estratos florestais e por substância odoríferas em abelhas Euglossinae (Hymenoptera, Apidae). Revta. Bras. Zool. 13(4): 1075-1085.
- Opler, P.A.; Frankie, G.W. & Baker, H.G. 1976. Rainfall as a factor in the release, timing, and synchronization of anthesis by tropical trees and shrubs. J. Biogeog. 3: 231-236.
- Pabst, G. 1950. Notas sobre "*Polystachya estrellensis*, Rchb. f.º". Orquidea (R.J.) 12(5): 167-169.
- Paulus, H.F. & Gack, C. 1990. Pollination of *Ophrys* (Orchidaceae) in Cyprus. Plant Syst. Evol. 169: 177-207.
- Pearson, D.L. & Dressler, R.L. 1985. Two-year study of male orchid bee (Hymenoptera, Apidae, Euglossini) attraction to chemical baits in lowland south-eastern Peru. J. Trop. Ecol. 1: 37-54.
- Pellmyr, O. 1986. Three pollination morphs in *Cimicifuga simplex*: incipient speciation due to inferiority in competition. Oecologia 68: 304.
- Peruquetti, R.C.; Campos, L.A.; Coelho, C.D.; Abrantes, C.V. & Lisboa, L.C. 1999. Abelhas Euglossini (Apidae) de áreas de Mata Atlântica: abundância, riqueza e aspectos biológicos. Revta. Bras. Zool. 16(supl. 2): 101-118.

- Pijl, L. van der & Dodson, C.H. 1966. Orchid flowers: their pollination and evolution. Coral Gables, Florida: University of Miami.
- Pliske, T.E. 1975a. Attraction of Lepidoptera to plants containing pyrrolizidine alkaloids. *Environ. Entomol.* 4: 455-473.
- Pliske, T.E. 1975b. Pollination of pyrrolizidine alkaloid-containing plants by male Lepidoptera. *Environ. Entomol.* 4: 474-479.
- Preston, R.E. 1991. The intrafloral phenology of *Streptanthus tortuosus* (Brassicaceae). *Amer. J. Bot.* 78: 1044-1053.
- Ribeiro, J.E. 1992. Florística e padrões de distribuição da família Orchidaceae na planície litorânea do núcleo de desenvolvimento Picinguaba, município de Ubatuba, Parque Estadual da Serra do Mar, SP. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas. Área de Biologia Vegetal) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista. Rio Claro: UNESP.
- Rodriguez-Robles J.A.; Meléndez E.J. & Ackerman, J.D. 1992. Effects of display size, flowering phenology, and nectar availability on effective visitation frequency in *Compsetia falcata* (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 79(9): 1009-1017.
- Romero G.A. & Carnevali, G. 1990. *Catasetum* natural hybrids from southern Venezuela – 1. *Catasetum xtapiriceps* Reichb. f. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 59(12): 1214-1220.
- Romero G.A. & Carnevali, G. 1991a. *Catasetum* natural hybrids from southern Venezuela – 2. *Catasetum xdunstervillei* G. Romero & Carnevali. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 60(2): 115-120.
- Romero G.A. & Carnevali, G. 1991b. *Catasetum* natural hybrids from southern Venezuela – 3. *Catasetum xroseo-album* (Hook) Lindley and *C. wendlingeri* Foldats. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 60(8): 770-774.
- Romero G.A. & Carnevali, G. 1992. *Catasetum* natural hybrids from southern Venezuela – IV. Biology and nomenclature. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 61(4): 334-360.
- Rossi, W. *et al.* 1992. A new natural hybrid in the genus *Orchis* L.: genetic data and description. *Lindleyana* 7(3): 121-126.

- Sanford, W.W. 1974. The ecology of orchids. In Withner, C.L. (ed.) The orchids. Scientific studies. New York: John Wiley & Sons.
- Schenske, D.W. 1980. Evolution of floral display in the orchid *Brassavola nodosa*. *Evolution* 34(3): 489-493.
- Schrenk, W.J. 1978. North American platantheras: evolution in the making. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 47: 429-437.
- Silva, U.F.; Borba, E.L.; Semir, J. & Marsaioli, A. 1999. A simple solid injection device for the analyses of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) volatiles. *Phytochemistry* 50: 31-34.
- Simpson, B.B. & Neff, J. 1981. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Ann. Missouri. Bot. Gard.* 68: 301-322.
- Singer, R.B. & Cocucci, A.A. 1999. Pollination mechanisms in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* 14(1): 47-56.
- Smith, G. & Snow, G. 1976. Pollination ecology of *Platanthera ciliaris* (*Habenaria*) and *P. blephariglottis* (Orchidaceae). *Bot. Gaz.* 137: 133-140.
- Snow, A.A. & Stanton, M.L. 1988. Aphids limit fecundity of a weedy annual (*Raphanus sativus*). *Amer. J. Bot.* 75:589-593.
- Snow, A.A. & Whighan, D.F. 1989. Costs of flower and fruit production in *Tipularia discolor* (Orchidaceae). *Ecology* 70: 1286-1293.
- Stebbins, G.L. 1957. Self-fertilization and population variability in higher plants. *Amer. Nat.* 91: 337-354.
- Steiner, K.E.; Whitehead, V.B. & Johnson, J.D. 1994. Floral and pollinator divergence in two sexually deceptive South African orchids. *Amer. J. Bot.* 81(2): 185-194.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 12: 253-279.
- Stort, M.N. 1976. Estudos em híbridos F₁ artificiais de orquídeas. *Ciênc. Cult.* 24: 847-851.
- Stort, M.N. 1983. Cruzamentos artificiais envolvendo espécies do gênero *Cattleya*, subgêneros *Monophyllae* e *Cattleya* (Orchidaceae). *Ciênc. Cult.* 35(10): 1481-1486.

- Stort, M.N. 1986. Fertilidade de cruzamentos e relação filogenética entre algumas espécies do gênero *Cattleya* (Orchidaceae). *Revta brasil. Bot.* 9: 69-73.
- Stort, M.N. & Galdino, G.L. 1984. Self and cross-pollination in some species of the genus *Laelia* Lindl. (Orchidaceae). *Rev. Brasil. Genet.* 7(4): 671-676.
- Stoutamire, W. 1978. Pollination of *Tipularia discolor*, an orchid with modified symmetry. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 47(5): 413-415.
- Suguio, K. & Martin, L. 1990. Geomorfologia das restingas. In *Anais do II Simpósio de Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileiras*. ACIESP, Águas de Lindóia. 3: 185-206.
- Sutherland, S. 1986. Patterns of fruit-set: what controls fruit-flower ratios in plants? *Evolution* 40(1): 117-128.
- Tremblay, R.L. 1992. Trends in pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Can. J. Bot.* 70: 642-650.
- Tremblay, R.L. 1994. Frequency and consequences of multi-parental pollinators of *Cypripedium calceolus* var. *pubescens* (Orchidaceae). *Lindleyana* 9(3): 161-167.
- Vogel, S. 1962. Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung: Über Bau und Funktion der Osmophoren. *Abh. Akad. Wiss. Lit. Mainz. Math. Naturwiss Kl.* 10: 598-763.
- Vogel, S. 1963. Das sexuelle Anlockungsprinzip der Catasetinen- und Stanhopeen-Blüten und die wahre Funktion ihres sogenannten Futtergewebes. *Österr. Bot. Z.* 110: 308-337.
- Vogel, S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In A. J. Richards (ed.) *The pollination of flowers by insects*. New York: Academic Press.
- Whight, S.J. 1991. Seasonal drought and the phenology of understory shrubs in a tropical moist forest. *Ecology* 72: 1643-1657.
- Williams, N.H. 1982. The biology of orchids and euglossine bees. In J. Arditti (ed.) *Orchid biology and perspectives*. Ithaca: Cornell University Press.

- Williams, N.H. & Dodson, C. H. 1972. Selective attraction of male euglossine bees to orchid floral fragrances and its importance in long distance pollen flow. *Evolution* 28: 84-95.
- Williams, N.H.; Atwood, J.T. & Dodson C.H. 1981. Floral fragrance analysis in *Anguloa*, *Lycaste* and *Mendoncella* (Orchidaceae). *Selbyana* 5: 291-295.
- Williams, N.H. & Whitten, W.M. 1983. Orchid floral fragrances and male euglossine bees: methods and advances in the last sesquidecade. *Biol. Bull.* 164: 355-395.
- Zimmerman, J.K. & Aide, M. 1989. Patterns of fruit production in a neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *Amer. J. Bot.* 76(1): 67-73.