



INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE QUATRO ESPÉCIES DE
ORCHIDACEAE EM UMA CAMPINA E CAMPINARANA DA AMAZÔNIA
CENTRAL**

AMAURI HERBERT KRAHL

Manaus, Amazonas

Maio, 2013

AMAURI HERBERT KRAHL

**BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE QUATRO ESPÉCIES DE
ORCHIDACEAE EM UMA CAMPINA E CAMPINARANA DA AMAZÔNIA
CENTRAL**

ORIENTADOR: DR. ANTONIO CARLOS WEBBER

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (área de concentração: Botânica).

Manaus, Amazonas

Maio, 2013

**BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE QUATRO ESPÉCIES DE
ORCHIDACEAE EM UMA CAMPINA E CAMPINARANA DA AMAZÔNIA
CENTRAL**

AMAURI HERBERT KRAHL

Aprovado em 29 de maio de 2013.

Banca examinadora:

Dr. Márcio Luiz de Oliveira – INPA (Entomologia)

Dr. Emerson Ricardo Pansarin – USP (Ribeirão Preto, SP)

Dr. Michael John Gilbert Hopkins – INPA (Botânica)

Dra. Veridiana Vizoni Scudeller – UFAM (Biodiversidade) (Suplente)

Dra. Cristiane Kruger – EMBRAPA (Suplente)

K89 Krahl, Amauri Herbert
Biologia reprodutiva e polinização de quatro espécies de
Orchidaceae em uma campina e campinarana da Amazônia Central /
Amauri Herbert Krahl. --- Manaus : [s.n], 2013.
xiv, 146 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) --- INPA, Manaus, 2013.
Orientador: Antônio Carlos Webber.
Área de concentração: Diversidade, Conservação e Uso da Flora
Amazônica.

1. Orchidaceae. 2. Polinização. 3. Orquídeas. I. Título.

CDD 584.15

Sinopse:

Estudou-se a biologia reprodutiva e polinização de quatro espécies de Orchidaceae em uma campina e campinarana na Amazônia central. Observaram-se aspectos referentes ao comportamento dos visitantes florais e a eficiência na visita. Testes referentes à biologia floral também foram realizados. Todas as espécies estudadas são polinizadas por insetos da Ordem Hymenoptera. Duas são autocompatíveis e duas são autoincompatíveis.

Palavras chaves: Polinizadores, orquídeas, Amazônia.



À Deus por ter me dado a vida e possibilitado que todo este trabalho tenha acontecido, à minha mãe por todo o estímulo e apoio dado e para a minha esposa e minha filha que foram o meu maior incentivo.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me permitido e dado todas as chances para que este trabalho fosse realizado e concluído. Agradeço a minha mãe, *Ângela Maria Krahl*, por todo apoio e confiança que me foram dados e por ter sempre acreditado em meus sonhos. Agradeço também ao meu pai, *Dieter Willi Krahl (In memorian)*, por de certa forma ter tido influencia nas minhas escolhas que me fizeram chegar onde cheguei hoje.

À minha esposa e companheira, *Dayse Raiane Passos Krahl*, por ter sempre me apoiado e me acompanhado na minha jornada de trabalho e por todo carinho e calma dado até o término do mesmo. À minha filha que ainda está por vir, *Louise Passos Krahl*, por me inspirar de forma significativa, principalmente na etapa final, para que o trabalho fosse concluído. Ao *Thiago Petersen* pelo convívio na república onde moramos Manaus.

Agradeço o meu orientador, *Antonio Carlos Webber*, pela orientação e atenção que me foram dados com toda a sua calma e paciência. Ao meu amigo e quase irmão, *Jefferson José Valsko*, pela ajuda em campo e por todas as nossas conversas sobre as orquídeas amazônicas. A minha amiga, *Ana Sofia Sousa de Holanda*, pelo apoio em campo e pelo incentivo com o trabalho. Ao *Márcio Luiz de Oliveira* e *Alexandre Somavila* pelas identificações das abelhas e vespas, respectivamente.

Agradeço aos colegas, *Juliana Werner do Nascimento* e *Hilton Entringer Júnior*, pela ajuda que me foi dada em campo. Ao colega e amigo, *Alexsandro Zidko*, pela ajuda e opiniões dadas no campo. Agradeço também a todos os colegas do mestrado pelo apoio dado. Aos guardas *Irlan* e *Gerlande* pelas orientações dadas na Estação Experimental de Silvicultura Tropical (EEST) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e também a todos os funcionários da EEST.

Ao *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)* pela bolsa de mestrado que me foi concedida. Ao *Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)* por todo apoio e estrutura física oferecida. Ao *Alberto Vicentini* coordenador da botânica pelas orientações dadas. Ao *Charles Eugeni Zartmam* pelas orientações e opiniões dadas durante nossas conversas. Ao *Rubenildo Lima da Silva*, coordenador da Divisão de Suporte às Estações e Reservas, pelas autorizações concedidas. E por fim, agradeço a todos que participaram de forma direta e indireta para que este trabalho se concretiza-se.



“Nenhum homem realmente produtivo
pensa como se estivesse escrevendo uma
dissertação.”

Albert Einstein

RESUMO

No geral, Orchidaceae possui uma grande especialização floral garantindo uma ampla especialização quanto à polinização. Suas espécies são polinizadas por uma grande variedade de insetos, principalmente da Ordem Hymenoptera, e em menor número por beija-flores e até por ratos. Na Amazônia brasileira são poucos os estudos referentes à polinização, sendo desta forma contempladas poucas espécies. O objetivo desse trabalho foi descrever a biologia floral e o mecanismo de polinização de quatro espécies de Orchidaceae ocorrentes em campina e campinarana da Reserva Biológica de Campina do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). O acompanhamento da fenologia da floração foi feito entre setembro de 2011 e fevereiro de 2013. Procedeu-se a caracterização morfológica das espécies, identificação de estruturas que oferecem recursos florais, áreas de reflexão de luz ultravioleta e a verificação da produção de odores. A biologia floral, o mecanismo de polinização e os visitantes florais foram registrados por meio de observações focais em campo. A eficiência dos polinizadores foi elucidada por meio da taxa de remoção e deposição de polinários. O sistema reprodutivo foi testado por meio de polinizações controladas (polinização cruzada, autopolinização manual, emasculação, autopolinização espontânea) e polinização aberta. *Encyclia mapuerae* possui osmóforos localizados entre os lobos laterais, é polinizada por engodo por fêmeas de *Centris varia* e possui uma série de outros insetos como visitantes florais que apenas removem o polinário. É autocompatível e possui uma taxa de frutificação de 6,90%. *Heterotaxis superflua* apresenta osmóforos nas pétalas e sépalas, o seu polinizador é *Trigona williana* que coleta uma substância secretada pela calosidade do labelo. É autocompatível e possui uma taxa de frutificação natural de 51,28%. *Camaridium ochroleucum* apresenta grande quantidade de osmóforos localizados no labelo e oferece tricomas alimentícios aos seus polinizadores que são *Melipona illustris* e *Trigona fulviventris*. Mostrou-se autoincompatível e possui uma taxa de frutificação natural de 8,16%. Tem também como visitantes e pilhadores de pólen as espécies *Tetragona handlirschii* e Apidae1. *Ornithidium rigidum* é polinizada por *Polybia bistriata* e sua população corre certo risco uma vez que não foi observada a formação de frutos em meio natural devido ao fato de formigas cortadeiras inviabilizarem quase que 100% das flores.

ABSTRACT

Orchidaceae has a large floral specialization ensuring a broad specialization regarding pollination. Their species are pollinated by a variety of insects, especially of the Order Hymenoptera, and some by hummingbirds. There are few studies in the Brazilian Amazon of the pollination. The aim of this study was to describe the floral biology and pollination mechanism of four species of Orchidaceae occurring in the Reserva Biológica de Campina do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Their flowering phenology was monitored between September 2011 and February 2013. Morphological studies were made of the structures that offer floral resources, such as ultraviolet light reflecting areas and structures producing odors. The floral biology, the mechanism of pollination and flower visitors were recorded during field observations. The efficiency of pollination was calculated from the rate of removal and deposition of pollinia. The reproductive system was tested through controlled pollination (cross-pollination, hand pollination, emasculation, spontaneous self-pollination) and open pollination. *Encyclia mapuerae* has osmophores located between the lateral lobes, and is pollinated by deceit by female *Centris varia* while a number of other flower visiting insects only remove pollinarium. It is self-compatible and has a fruiting rate of 6.90%. *Heterotaxis superflua* has osmophores on the petals and sepals, it is pollinated by *Trigona willeana* while collecting a substance secreted on the callus of the lip. It is self-compatible and has a natural fruit set of 51.28%. *Camaridium ochroleucum* has many osmophores on the lip and offers food for its pollinators, *Melipona illustris* and *Trigona fulviventris*, in the form of trichome. It is self-incompatible and has a natural fruiting rate of 8.16%. Other visitors, *Tetragona handlirschii* and Apidae 1, were pollen thieves. *Ornithidium rigidum* is pollinated by *Polybia bistriata* and its population might be at risk since fruit formation did not occur in the wild due to the fact ants removed almost 100% of the flowers.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	VI
RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
LISTADE TABELAS.....	XI
LISTA DE FIGURAS.....	XIII
INTRODUÇÃO.....	15
OBJETIVOS.....	19
Capítulo 1: Evidências de produção de néctar e polinização por abelhas Centridini em <i>Encyclia</i> (Orchidaceae): a biologia reprodutiva de <i>E. mapuerae</i>	20
Capítulo 2: Aspectos da biologia floral e polinização de <i>Heterotaxis superflua</i> (Rchb. f.) F.Barros (Orchidaceae) em uma campinarana da Amazônia Central.....	53
Capítulo 3: Polinização de <i>Camaridium ochroleucum</i> Lind. (Orchidaceae; Maxillariinae).....	77
Capítulo 4: Influência negativa da herbivoria no sucesso reprodutivo: aspectos da biologia reprodutiva de <i>Ornithidium rigidum</i> (Orchidaceae).....	105
SINTESE.....	125
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127
ANEXOS.....	144

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Visitantes florais e o respectivo número de visitas registradas para *Encyclia mapuerae* (Huber) Brade ex Brade & Pabst durante as observações na Reserva Biológica de Campina..... 50

Tabela 2. Porcentagens da eficiência dos polinizadores de *Encyclia mapuerae* (Huber) Brade ex Brade & Pabst na Reserva Biológica de Campina no ano de 2012. SRM = Sucesso reprodutivo masculino; SRF = Sucesso reprodutivo feminino; e ETP = Eficiência na transferência de pólen.....51

Tabela 3. Porcentagens de frutos formados em cada um dos tratamentos para verificação do sistema reprodutivo e em condições naturais e a eficácia reprodutiva de *Encyclia mapuerae* (Huber) Brade ex Brade & Pabst no ano de 2011.....52

Capítulo 2

Tabela 1. Porcentagens da eficiência do polinizador de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros na Reserva Biológica de Campina no ano de 2012. SRM = Sucesso reprodutivo masculino; SRF = Sucesso reprodutivo feminino; e ETP = Eficiência na transferência de pólen..... 75

Tabela 2. Porcentagens de frutificação em cada um dos testes do sistema reprodutivo e em condições naturais e eficácia reprodutiva de de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros no ano de 2012.76

Capítulo 3

Tabela 1. Porcentagens da eficiência do polinizador de *Camaridium ochroleucum* Lindl. na Reserva Biológica de Campina 2013. SRM = Sucesso reprodutivo masculino; SRF = Sucesso reprodutivo feminino; e ETP = Eficiência na transferência de pólen..... 103

Tabela 2. Porcentagens de frutificação em cada um dos testes relacionados ao sistema reprodutivo e em condições naturais e eficácia reprodutiva de de *Camaridium ochroleucum* Lindl. no ano de 2012.....104

Capítulo 4

Tabela 1. Porcentagens de frutificação em cada um dos testes relacionados ao sistema reprodutivo e em condições naturais e eficácia reprodutiva de <i>Ornithidium rigidum</i> (Barb. Rodr.) M.A.Blanco & Ojeda no ano de 2012.....	124
--	-----

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: A. *Encyclia mapuerae*. B. Cuniculo. C. Cuniculo em corte longitudinal. D. Produção de néctar. E. Anatomia do cuniculo. F. Grão de açúcar. G. *Centris varia* visitando flores de *Encyclia mapuerae*. G. *Centris varia* com o polinário aderido na face..... 49

Capítulo 2

Figura 1: Localização da área de estudo – Reserva Biológica de Campina. Fonte: Madergan (2007)..... 73

Figura 2. A – *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros (Barra = 1,5 cm); B – *Trigona williana* Friese, 1900 com as políneas de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F.Barros aderidas em seu dorso.....74

Capítulo 3

Figura 1: Localização da área de estudo – Reserva Biológica de Campina. Fonte: Madergan (2007)..... 99

Figura 2: A –*Camaridium ochrloeucum* Lindl; B – Teste de vermelho neutro; C – Teste com hidróxido de amônio. 100

Figura 3: Anatomia dos tricomas das flores de *Camaridium ochrloeucum* Lindl; A – Anatomia geral do tricomas; B – Teste de lipídios nos tricomas. 101

Figura 4: A – Visita de *Trigona fulviventris*; B – Coleta de pólen por *Tetragona handlirchsi* Friese; C – Coleta de pólen por Apidae 1; D – Tricomas alimentícios do labelo de *Camaridium ochrloeucum* Lindl.....102

Capítulo 4

Figura 1: Localização da área de estudo..... 119

Figura 2: A-B – *Ornithidium rigidum* (Barb. Rodr.) M.A.Blanco & Ojeda..... 120

Figura 3: A – Teste de vermelho neutro; B – Exposição à atmosfera de hidróxido de amônio...

..... 121

Figura 4: A – Corte anatômico transversal da calosidade do labelo; B – Teste para alcalóides; C – Teste para amido; D – Teste para lipídios; E - Teste para mucilagem; F – Teste para proteínas..... 122

Figura 5: A – *Polybia bistriata* visitando flores de *Ornithidium rigidum*; B – Camuflagem de aracnídeo nas flores; C – Flores predadas por grilo; D – Flores predadas por *Trachymyrmex cornetzi*..... 123

INTRODUÇÃO GERAL

Orchidaceae é considerada a maior e mais especializada família dentre as angiospermas existentes atualmente, contando com cerca de 800 gêneros e 24.000 espécies (Dressler, 2005; Fay & Chase, 2009). Desta forma representa aproximadamente 7% a 8% das plantas vasculares e 40% das monocotiledôneas (Dalhlgren *et al.*, 1985; Dressler, 1993). Está distribuída por quase todas as regiões do planeta, com destaque para as regiões tropicais, as quais apresentam a maior riqueza (Atwood, 1986), sendo que a região neotropical, por sua vez, é responsável por abrigar ao redor de 300 gêneros e 8.000 espécies (Dressler, 1981). Para o Brasil foram estimadas cerca de 2.300 espécies distribuídas em aproximadamente 191 gêneros na última grande revisão realizada por Pabst & Dungs (1975, 1977). Porém, atualmente houve mudanças nestes números devido à inserção de novas espécies, criação de novos gêneros e transferências de espécies entre gêneros, sendo assim consideradas 2.419 espécies distribuídas em 235 gêneros (Barros *et al.*, 2010).

Os representantes desta família são ervas terrestres, epifítas ou rupícolas, ocasionalmente são micoheterotróficas ou hemiepifítas, as quais apresentam crescimento monopodial ou simpodial. Suas raízes comumente possuem epiderme pluriestratificada denominada de velame e podem se tornar engrossadas. O caule, na maioria das espécies, é espessado e denominado de pseudobulbo, principalmente nas espécies tropicais, e suas folhas são alternas espiraladas ou dísticas (Toscano-de-Brito & Cribb, 2005; Souza & Lorenzi, 2008).

A inflorescência pode ser em racemo ou panícula, e frequentemente reduzida a uma única flor e possui uma forma variada de apresentar as peças florais. As flores são vistosas, bissexuais, raramente unissexuadas, zigomorfas, diclamídeas e geralmente ressupinadas. O cálice é trímero, petalóide, gamossépalo ou dialissépalo e a corola também é trímera, sendo que uma das pétalas é modificada em uma estrutura denominada labelo. O estame é unido ao estilete, onde forma a ginostêmio e o pólen é geralmente reunido em massas denominadas políneas, as quais podem variar em número de acordo com os gêneros e espécies. Há ainda espécies que não formam políneas, como por exemplo, em Vanilloideae Apresentam dois estigmas férteis e um estéril e membranoso designado de rostelo que impede o contato do pólen com o estigma. Os nectários podem ser septais ou ausentes, podendo o néctar ser

produzido dentro de uma estrutura chamada de calcar. O fruto é do tipo cápsula (Toscano-de-Brito & Cribb, 2005; Souza & Lorenzi, 2008).

A presença do pólen empacotado em uma única massa denominada polínea possibilita com maior facilidade a visualização da sua retirada e deposição na flor por um determinado agente polinizador. Este fato permite avaliar a verdadeira eficácia deste dado visitante floral, além de tornar o processo de remoção e deposição de políneas facilmente acompanhado em condições naturais (Dressler, 1993). Desta forma, levando em consideração a morfologia floral apresentada por esta família botânica, é possível proferir que se trata de plantas interessantes para a realização de observações referentes à biologia floral e polinização em um contexto geral (Singer, 2001a). É possível dizer que os polinizadores possuem grande importância na evolução da família, uma vez que a sua diversificação e especialização referente à morfologia floral se dá devido à estreita relação entre os seus representantes e os seus polinizadores (van der Pijl & Dodson, 1966; Dressler 1981).

Os polinizadores das orquídeas estão representados por alguns grupos de insetos e até mesmo por aves e ratos (van der Pijl & Dodson, 1966; Wang *et al.*, 2008). Desta forma podem-se mencionar como polinizadores uma grande variedade de insetos das ordens Hymenoptera (Singer & Koehler, 2003; Pansarin, 2003a; Martini *et al.*, 2003; Smidt *et al.*, 2006; Pansarin *et al.*, 2006; Jürgens *et al.*, 2009; Pansarin & Amaral, 2009; Pansarin & Pansarin, 2010; Storti *et al.*, 2011), Lepidoptera (Singer, 2001b; Pansarin, 2003b; Pansarin & Amaral, 2008a; Aguiar *et al.*, 2011), Diptera (Carvalho & Machado, 2006; Ribeiro *et al.*, 2006; Santos-Filho, 2007; Pansarin, 2008), Coleoptera (Mickeliunas *et al.*, 2006) e recentemente Orthoptera (Micheneau *et al.*, 2010). Além dos insetos, as aves também podem atuar como legítimos polinizadores entre as orquídeas, tendo os beija-flores certo destaque dentro deste grupo (Singer & Sazima 2000; Andrade, 2004; Carvalho & Machado, 2006).

Estima-se que cerca de um terço das Orchidaceae sejam polinizadas por engano pelo simples fato de não oferecerem nenhum tipo de recurso floral, onde muitas espécies utilizam diversas formas para atrair o visitante, dentre elas, a simulação de estruturas que sirvam de alimento ou mimetizando flores que oferecem recurso (Ackerman, 1986; Borba & Braga, 2003; Pansarin 2008ab; Pansarin, 2008). Por outro lado as espécies que oferecem recompensas apresentam uma extensa variedade de recursos florais, como por exemplo, pólen (Pansarin & Amaral, 2008b), tricomas comestíveis (Pansarin & Amaral, 2006), fragrâncias ou compostos aromáticos (Pansarin, 2003b; Singer & Koehler, 2003; Martini *et al.*, 2003;

Pansarin & Amaral, 2009), óleos florais (Mickeliunas *et al.*, 2006; Pansarin & Pansarin, 2010) e principalmente néctar (Pansarin, 2003ab; Andrade, 2004; Smidt *et al.*, 2006; Pansarin & Amaral, 2008a; Aguiar *et al.*, 2012; Nunes, 2011).

Com relação ao sistema reprodutivo, as orquídeas tendem a ser autocompatíveis, porém é necessária a presença de um vetor de pólen para que ocorra a autopolinização em algumas espécies devido à presença de barreiras mecânicas, caracterizando hercogamia. Desta forma a polinização cruzada é favorecida na maioria das espécies (van der Pijl & Dodson, 1966; Pansarin, 2003a; Mickeliunas *et al.*, 2006). Algumas espécies são autoincompatíveis, o que evidencia a ocorrência de barreiras genéticas (Borba *et al.*, 2001; Barbosa *et al.*, 2009; Pansarin & Pansarin, 2010). No entanto, é necessária a realização de novos estudos para o melhor entendimento da incompatibilidade em orquídeas (Borba *et al.*, 2001; Verola, 2002).

Poucos são os estudos identificados para a região Amazônica envolvendo a biologia floral e polinização em orquídeas. Na Amazônia brasileira os estudos tiveram início com Braga (1977) que apresentou uma série de informações gerais relacionadas aos polinizadores e mecanismos de polinização em 33 espécies de orquidáceas ocorrentes em uma campina e campinarana na Amazônia Central. Contudo observa-se uma necessidade de maiores observações para estas espécies, uma vez que os polinizadores e os mecanismos de polinização de algumas delas foram dados como desconhecidos e conseqüentemente não foram descritos.

Posteriormente, Jürgens *et al.* (2009) estudaram a biologia da polinização de *Eulophia alta* R.Br. ex Lindl. numa área de terra firme próxima a cidade de Manaus (AM), onde identificaram tratar-se de uma espécie exclusivamente melitófila, polinizada por 19 representantes entre abelhas (maioria) e visitada por borboletas (duas espécies). Recentemente Storti *et al.* (2011) estudaram a biologia reprodutiva de *Cattleya wallisii* (Linden) Linden & Rchb. f. (= *Cattleya eldorado* Linden) de forma detalhada complementando as observações realizadas por Braga (1977). Neste estudo observaram que *C. eldorado* é uma espécie efetivamente polinizada por apenas uma única abelha identificada como *Eulaema mocsaryi* (Friese 1899) (Apidae, Euglossini).

De acordo com o exposto, é notável a necessidade de novos estudos que enfoquem de forma abrangente todos os aspectos relacionados à biologia da polinização de espécies amazônicas, uma vez que poucos estudos para esta família foram identificados para um bioma

tão amplo. Deste modo, devem ser realizados com o intuito de promover um melhor conhecimento da importância dos diversos sistemas de polinização diante a sua imensa diversidade de espécies.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Descrever a biologia da polinização e os mecanismos de polinização de quatro espécies de Orchidaceae ocorrentes na campina e campinarana da Reserva Biológica de Campina.

Objetivos específicos

- (1) Descrever a biologia floral;
- (2) Relacionar a morfologia floral com a morfologia dos polinizadores e mecanismos polinização;
- (3) Identificar recursos florais oferecidos aos visitantes;
- (4) Determinar os sistemas reprodutivos das espécies envolvidas;
- (5) Registrar a taxa de frutificação das espécies estudadas;

Krahl, A.H. & Webber, A.C. Evidências de produção de néctar e polinização por abelhas Centridini em *Encyclia* (Orchidaceae): a biologia reprodutiva de *E. mapuerae*. Manuscrito formatado para a *Plant Biology*

**Evidência de produção de néctar e polinização por abelhas Centridini em *Encyclia*
(Orchidaceae): a biologia reprodutiva de *E. mapuerae*¹**

Amauri Herbert Krahl^{2,4} & Antonio Carlos Webber³

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Departamento de Botânica, Av. André Araújo, 2936, Aleixo, 69060-001, Manaus, AM, Brasil.

³Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Departamento de Biologia – ICB, Bloco E, Av. Gal. Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 3000, 69077-000, Manaus, AM, Brasil.

⁴Autor para correspondência: amaurikrahl@hotmail.com

Running title: Reproductive biology of *Encyclia mapuerae*

Abstract

Encyclia Hook. comprises ca. 120 taxa distributed from Florida to South Brazil, including *E. mapuerae* (Huber) Brade ex Brade & Pabst, a species common in Campina vegetation of Central Amazonia. Based on records of reproductive phenology, floral morphology, pollinators and pollination mechanisms, and experimental manipulations the reproductive biology of *E. mapuerae* was studied in a natural reserve at municipality of Manaus, northern Brazil. The flower period occurs from August to November and each flower lasts 27 days. The flowers are fragrant and the fragrance is perceptible mainly in the hottest hours of the day. The labellum present nectar guides and the cuniculus secretes small drops of nectar, which is available only in one-day flowers. The secretory epidermis possess papillae whose cells are covered by an ornamented cuticle. The subtended tissue is composed of a tree-layered collenchyma. *Encyclia mapuerae* is pollinated by Centridini and pollinaria are deposited on read of bees. The species is self-compatible and pollinator-dependent. The reproductive success in natural conditions is low because of deficient pollen transference due the scarcity of pollinators.

Keywords: *Centris*, Epidendroideae, floral biology, Laeliinae, nectar.

INTRODUÇÃO

Em Orchidaceae a transferência de pólen é realizada principalmente por agentes bióticos (e.g. van der Pijl & Dodson 1966; van der Cingel 2001), embora polinização mediada pela chuva também ocorre em algumas espécies (Pansarin et al. 2008; Aguiar et al. 2012). Entre as orquídeas polinizadas por animais, a maioria é entomófila, embora a polinização por aves, principalmente beija-flores (van der Pijl & Dodson 1966), e mamíferos (Wang *et al.* 2008), também possa ocorrer. Entre os insetos, a ordem mais representativa é Hymenoptera, com cerca de 60% das orquídeas sendo polinizadas por abelhas e vespas (Ackerman 1986), embora Lepidoptera, Diptera (van der Pijl & Dodson 1966), Coleoptera (Mickeliunas et al. 2006) e Orthoptera (Micheneau et al. 2010) também possam atuar como polinizadores. Entre as Orchidaceae polinizadas por agentes bióticos, é estimado que cerca de um terço seja atraída por engano às flores (Ackerman 1986, Borba & Braga 2003, Pansarin et al. 2008).

As orquídeas exibem grande diversidade com relação à morfologia floral e mecanismos de polinização, que muitas vezes têm sido considerados como muito importantes no isolamento reprodutivo entre as espécies (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981). Com a especialização floral na família, o número de espécies que realizam visitas às flores tende a ser reduzido, tendo como consequência à tentativa a redução na perda de pólen (Herrera 1989, Tremblay 1992). No entanto, a especialização nem sempre garante uma boa taxa de frutificação em condições naturais, já que muitos estudos mostram que o sucesso reprodutivo de várias espécies sul-americanas é baixo (Carvalho & Machado 2002, Martini 2003, Pansarin 2003, Pansarin et al. 2006, Carvalho & Machado 2006, Pansarin & Amaral 2008, Pansarin et al. 2008, Pansarin & Pansarin 2010, Rech et al. 2010, Storti et al. 2011). Além disso, a taxa de frutificação em condições naturais muitas vezes é baixa como consequência da frequência de visita deficiente por parte dos polinizadores, principalmente

nas espécies polinizadas por engano (van der Pijl & Dodson 1966). Outros fatores que podem afetar o sucesso reprodutivo de muitas espécies sul-americanas causando aborto de frutos em formação são os mecanismos de incompatibilidade pós-zigótica, o ataque de patógenos, a herbivoria, e possíveis deficiências de água e nutrientes (Ackerman 1989).

A Amazônia brasileira conta com aproximadamente 709 espécies de Orchidaceae distribuídas em 131 gêneros (Silva & Silva 2004), das quais 115 espécies (64 gêneros) ocorrem em regiões de campina, que é uma formação vegetal típica desse bioma (Braga 1977, Braga 1982). Embora estudos de levantamento florísticos sejam comuns nesse tipo de vegetação, aspectos relacionados à biologia floral das orquídeas que ocorrem em áreas de campina são escassos na literatura. Apenas três trabalhos foram realizados para esse tipo de vegetação (i.e. Braga 1977, Jürgens et al. 2009, Storti et al. 2011). No estudo realizado por Braga (1977), foi estudada a biologia floral e a polinização de 31 espécies ocorrentes em uma área de campina e campinarana da Amazônia Central. Nesse estudo foi apresentada uma série de informações gerais sobre a ecologia das espécies, incluindo os polinizadores e os mecanismos de polinização de algumas delas. Braga (1977) observou também que mais da metade dos polinizadores pertenciam a Ordem Hymenoptera. Melitofilia também foi observada para as demais espécies amazônicas estudadas, como *Eulophia alta* (Eulophiinae; Jürgens et al. 2009) e *Cattleya eldorado* (Laeliinae; Storti et al. 2011). Esta última está inserida na subtribo Laeliinae que conta com aproximadamente 2.080 espécies e cerca de 40 gêneros (Pridgeon et al. 2005) e constitui-se no melhor exemplo de radiação adaptativa na polinização pelo fato de encontrarmos todos os principais grupos de polinizadores entre as espécies, por exceção Coleoptera (van der Pijl & Dodson 1966). A maioria dos gêneros que compõem a subtribo é polinizada por Hymenoptera, embora que na maioria das espécies seja constatada a polinização por mariposas e borboletas, isto em função do gênero *Epidendrum* que é o mais representativo dentro de Laeliinae (van der Pijl & Dodson 1966). Em alguns representantes de

Laliinae, os visitantes florais se direcionam até as flores com o intuito de coletar néctar em um nectário tubular e paralelo ao ovário denominado cunículo que pode secretar néctar em pequenas quantidades ou apresentar-se aparentemente seco (Borba & Braga 2003, Smidt et al. 2006, Pansarin & Amaral 2008).

Encyclia Hook. é um gênero neotropical inserida na subtribo Laeliinae que abrange cerca de 120 espécies que se distribuem desde a Flórida e México até o sul do Brasil (Higgins et al. 2003, van den Berg et al. 2005), sendo o segundo maior gênero da subtribo Laeliinae em número de espécies (van den Berg et al. 2005). Para *Encyclia* nada é conhecido sobre os polinizadores e os mecanismos de polinização envolvidos. Dressler (1981) infere apenas que as espécies do gênero são provavelmente polinizadas por vespas e abelhas. De acordo com Janzen et al. (1980) que *E. cordigera* é visitada por fêmeas de *Xylocopa* spp na Costa Rica. Para *Encyclia mapuerae* (Huber) Brade ex Brade & Pabst, foram observadas visitas por himenópteros, sendo que apenas uma espécie de abelha foi considerada como polinizador (Braga 1977). No entanto, esses dados não são conclusivos e até o presente nada é conhecido sobre as formas de reprodução da espécie e sobre a presença de recursos florais dentro do gênero. Baseado nesses fatos, o presente trabalho tem como objetivo descrever a biologia reprodutiva de *Encyclia mapuerae* em condições naturais. Para isso foram estudados os polinizadores, os mecanismos de polinização e a morfo-anatomia floral. A presença de recursos florais foi identificada através de testes histoquímicos e a forma de reprodução foi verificada por intermédio de polinizações experimentais.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O trabalho de campo foi conduzido em uma área de campina da Reserva Biológica de Campina do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, a qual está localizada no km 44 da BR 174. A reserva possui 900 ha, sendo que 3 ha correspondem a área de campina, 150 ha de campinarana e o restante correspondendo a floresta de terra firme (Luizão 1995). No presente estudo, as observações foram feitas exclusivamente em uma área de campina. A precipitação é mais intensa no período de dezembro a maio, e entre junho e novembro ocorre menor quantidade de chuva (Braga 1977). A temperatura varia de 24° a 27° C podendo alcançar máxima de 38° C e mínima de 18° C e a umidade do ar varia de 81% a 90% (Ribeiro & Santos 1975, Luizão 1995). O clima é do tipo Afi segundo a classificação de Köppen (1948). O solo é ácido e pobre em nutrientes, sendo composto por sedimentos que datam do terciário e do quaternário que são depósitos de areias quartzosas distróficas (Ranzani 1980). Dentro da área de campina a temperatura do solo varia de acordo com a ausência ou presença de vegetação, sendo que em lugares expostos a temperatura da areia varia de 25,6° C a 42,3° C, em solo semicoberto composto por areia e líquens a temperatura varia de 23,6° C a 32,4° C e em solo sob vegetação observa-se uma variação de 23,3° C a 29,4° C (Ribeiro & Santos 1975). A vegetação situada sobre solo arenoso branco é classificada como campina aberta, a qual apresenta uma vegetação raquítica e de baixo porte com escleromorfismo acentuado, além de ser possível observar machas de solo exposto com penetração excessiva de luz. Desta forma, há o agrupamento de plantas formando ilhas de vegetação, podendo ocorrer de forma contínua, mas a vegetação mantém as mesmas características (Anderson 1981, Braga 1982).

Fenologia reprodutiva, caracterização morfológica, biologia floral

No período de agosto de 2011 a dezembro de 2012 foram realizadas mensalmente visitas à população de *E. mapuerae* com a finalidade de registrar a produção de inflorescências, flores e frutos. Durante a floração foi contabilizado o número total de flores, a quantidade de flores abertas no dia e quantas flores abrem-se por dia em cada inflorescência. A caracterização da antese foi realizada por meio do acompanhamento da abertura de botões florais até o fenecimento.

A receptividade do estigma foi verificada em flores recém abertas, previamente isoladas com sacos de voile e intactas, por meio da adição de gotas de peróxido de hidrogênio na superfície estigmática (Kearns & Inouye 1993, Dafni & Maués 1998). A presença de osmóforos foi testada por meio da imersão de flores em vermelho neutro (1:10000) por cerca de 15 minutos e posterior lavagem em água corrente (Kearns & Inouye 1993, Wiemer *et al.* 2009). Foi feita também a avaliação da emissão de odores por meio da caracterização olfativa em campo. A identificação de pigmentos que refletem luz ultravioleta foi feita por meio da fixação de flores em atmosfera de amônio por aproximadamente cinco minutos, com o intuito de detectar a presença de flavonoides (Scogin *et al.* 1977).

A caracterização morfológica das flores foi baseada nos indivíduos da área de estudo, sendo as flores coletadas aleatoriamente e conservadas em álcool a 70%, as quais foram analisadas em estereomicroscópio. O material testemunho da espécie se encontra depositado no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Anatomia e testes histoquímicos

Um total de dez flores foram coletadas e fixadas em FAA à 50 % (formalina, ácido acético e álcool etílico) para a realização de cortes anatômicos frescos feitos a mão livre em laboratório para a caracterização geral da anatomia da cavidade nectarífera apontada por Braga (1977) para a espécie. Foram realizadas secções transversais da cavidade nectarífera com o auxílio de lâminas e micrótomo manual. Estes cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio (Kraus & Arduin 1997), coloridos com Azul de Astra e Safranina (proporção 9:1) (Bukatsch 1972) e montados em gelatina glicerinada contendo fenol (Kaiser 1880) para observação em microscópio óptico.

Testes histoquímicos foram realizados a partir de secções transversais de material fresco para as seguintes substâncias: reagente de Fehling para açúcares redutores (Purvis *et al.* 1964); vermelho de rutênio para pectinas (Langeron 1949); ponceau de xilidina para proteínas (O'Brien & McCully 1981); e sudan III para lipídios totais (Gabe 1968). As microfotografias foram obtidas em microscópio Zeiss com câmera Canon PC1252 acoplada no laboratório de Botânica Agro-florestal da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

Visitantes florais

As observações referentes ao processo de polinização, frequência e hora de visita foram realizadas entre os dias 09 a 19 de setembro de 2011 e 17 a 23 de setembro de 2012, se estendendo das 07:00h às 12:00h e 14:00h às 17:00h, totalizando 136 horas de observações. Foram feitas anotações referentes ao horário de atividade dos visitantes florais, bem como o registro fotográfico do comportamento da visita. Os visitantes florais foram capturados, identificados por especialistas e depositados na coleção entomológica do Instituto Nacional de

Pesquisas da Amazônia (INPA). Não foram feitas observações noturnas, contudo flores foram marcadas no final de cada dia e conferidas na manhã do dia seguinte quanto à remoção ou deposição de polinários.

A eficiência dos polinizadores foi medida através da proporção de políneas removidas e depositadas por meio do acompanhamento de indivíduos em campo. Assim o sucesso masculino foi medido pela razão entre a quantidade de flores com o polinário removido e o número total de flores amostradas. Da mesma forma, o sucesso feminino foi medido pela razão entre o número de flores com polinário depositados na cavidade estigmática e o número total de flores. A eficiência na transferência de pólen foi medida por meio da relação entre quantidade de polinário depositados e polinário removidos (Parra-Tabla et al. 2000).

Sistema reprodutivo e frutificação em condições naturais

Para identificar o sistema reprodutivo foram realizadas polinizações manuais em campo. Os tratamentos consistiram em polinização cruzada, geitonogamia, emasculação, autopolinização induzida e autopolinização espontânea. Todas as inflorescências foram previamente ensacadas na fase do botão floral e após a sua abertura os tratamentos foram realizados e as flores novamente ensacadas (Kearns & Inouye 1993). O número de inflorescências e flores utilizadas variou de acordo com a disponibilidade de flores produzidas. Para determinar a taxa de frutificação em condições naturais (polinização aberta) foi amostrada a quantidade de frutos formados em relação à porcentagem de frutos formados (Zapata & Arroyo 1978).

RESULTADOS

Encyclia mapuerae (Huber) Brade ex Brade & Pabst é encontrada como terrícola, se desenvolvendo sobre densa camada de serrapilheira, ou mais raramente como epífita. Os pseudobulbos são cônicos, justapostos e possuem duas folhas apicais. A inflorescência é ápical e em forma de racemo ou panícula. As flores são predominantemente brancas e possuem estrias roxas no labelo. As sépalas e pétalas são lanceoladas e de coloração amarela, sendo que as sépalas laterais são levemente falcadas. O labelo é trilobado e possui duas calosidades, sendo que os lobos laterais recobrem o ginostêmio. O ginostêmio é alado e branco. A antera possui dois pares de políneas amarelas.

A espécie é perene e emite inflorescências entre junho e julho. As primeiras flores abrem em agosto, sendo que é possível observar flores abertas até o começo de novembro. Os frutos abrem entre 12 e 13 meses a partir das polinizações. Os frutos formados foram observados em touceiras compostas por diversos indivíduos na área de campina aberta e que possuíam em sua maioria inflorescências longas e paniculadas o que permite sustentar um número considerável de flores

Cada inflorescência produz em média $7,39 \pm 5,96$ flores ($N_{\text{inflorescências}} = 54$; $N_{\text{flores}} = 399$; Máx.: 32; Mín.: 1). A cada dia abre de uma a duas flores até todas estarem disponíveis no mesmo momento devido à duração das flores. Cada flor intacta dura em média $27,74 \pm 4,63$ dias ($N_{\text{inflorescências}} = 10$; $N_{\text{flores}} = 19$; Máx. = 35; Mín. = 19). Flores com polinário removido duram em média $23,06 \pm 4,92$ dias ($N_{\text{inflorescências}} = 10$; $N_{\text{flores}} = 16$; Máx. = 29; Mín. = 16). As flores possuem no final do ginostêmio uma cavidade nectarífera (cunículo) que se estende paralelamente ao ovário e apresenta a produção de néctar. Por intermédio do teste de Fehling foi possível confirmar a natureza química (açúcar) do exsudato. A cavidade nectarífera possui epiderme constituída por células papilosas e cutícula ornamentada.

A reação com o hidróxido de amônio demonstrou uma intensa coloração amarelada no labelo, contrastando com a coloração escura das estrias. Dessa forma o labelo apresenta maior quantidade de pigmentos que refletem o ultravioleta indicando a presença de guias de néctar. Através dos testes com vermelho neutro foi detectada a presença de osmóforos na porção mediana do labelo, entre os lobos laterais. As flores liberam um aroma adocicado principalmente nas horas mais quentes do dia.

Os polinizadores da espécie foram fêmeas de *Centris (Centris) varia* Erichson (Tabela 1). Durante cada dia de observação foram registradas até três visitas, que ocorreram das 9:00 horas às 17:00 horas (Tabela 1). A visita se iniciou com a abelha pousando sobre o labelo, que é deslocado para baixo fazendo com que o ápice dos lobos laterais se encostem às alas do ginostêmio, o que resulta em uma abertura mais ou menos tubular e impede que o polinizador se desloque para os lados. Ao entrar na flor a abelha estende a sua língua e a introduz na cavidade nectarífera. Ao recuar a abelha encosta a cabeça no viscidio do polinário, que é removido. Cada visita durou cerca de dois a três segundos e em todas as ocasiões as abelhas visitaram uma única flor.

Outros himenópteros, como *Augochloropsis* sp., *Campsomeris* cf. *dorsata* (Fabricius), *Epicharis (Parepicharis) zonata* Smith, *Melipona fulva* Lepeletier, *Xylocopa (Schonnherria) ornata* Smith. e um macho de *Centris (Heterocentris) terminata* Smith (Tabela 1) também foram observados visitando as flores de *Encyclia mapuerae*. Essas abelhas apresentaram o mesmo comportamento descrito para as fêmeas de *Centris (Centris) varia*. No entanto, não foram observadas removendo polinários e foram consideradas aqui como visitantes florais. Durante a manhã (06:00 horas) eram observados aglomerados de machos de *Ammophila* sp. e *C. cf. dorsata* dormindo nas inflorescências da orquídea. Aracnídeos também foram observados camuflados nas flores à espera de eventuais visitantes para serem predados. Foi

observada também a visita de *Tetragona dorsalis* Smith aos botões florais que possuem a produção de exsudatos. Ao analisar as visitas às flores em relação à remoção e deposição de polinários, nota-se uma baixa transferência polínica, pois poucos dos polinários removidos são de fato depositados na cavidade estigmática por estes visitantes florais (Tabela 2),

Nenhum fruto foi formado por agamospermia e por autopolinização espontânea demonstrando a necessidade de um vetor para transferência de pólen (Tabela 3). *Encyclia mapuerae* é autocompatível. Frutos foram formados a partir da autopolinização manual e geitonogamia (Tabela 3). Em condições naturais foi observada baixa taxa de frutificação de 6,90% (Tabela 3). A eficácia reprodutiva de *E. mapuerae* foi de 0,75 (Tabela 3).

DISCUSSÃO

A fenologia de *Encyclia mapuerae* corrobora com o que foi reportado previamente por Braga (1977). *Encyclia krugii* possui um pico de floração entre os meses de abril e junho em Porto Rico, contudo uma pequena quantidade de flores podem ser observadas o ano todo (Ackerman 1989). Isso difere de *E. mapuerae* que possui período de floração bem definido. Assim como ocorre em outras *Encyclia*, como *E. patens* (Hook.) Porto & Brade (Barberena 2010), e *E. argentinensis* (Speg.) Hoehne (E.R. Pansarin, pers. obs) e *E. cordigera* (Janzen et al. 1980), os frutos de *E. mapuerae* abrem cerca de 12-13 meses a partir dos eventos de polinização. Em *E. krugii* os frutos amadurecem entre dois a três meses após a fecundação (Ackerman 1989).

Os valores referentes à produção média, número de flores abertas por dia e duração média das flores quando intactas e quando o polinário é removido são consideravelmente superiores quando comparados ao de outras duas espécies congêneres. Em *E. krugii*, de uma a

todas as flores de uma inflorescências se encontram abertas ao mesmo tempo e em planta cultivadas as flores intactas duraram em média $7,2 \pm 2,9$ dias ($N = 234$), sendo que a remoção do polinário não teve nenhum efeito sobre a longevidade floral (Ackerman 1989). Para *E. cordigera* é mencionado que cada inflorescência produz cerca de uma a 13 flores das quais duram cerca de 10 dias (Janzen et al. 1980).

Alguns autores denominam a cavidade nectarífera que se estende paralelamente ao ovário das Laeliinae de cunículo (Borba & Braga 2003, Cruz *et al.* 2003). Essa estrutura frequentemente tem sido considerada como um nectário no qual não há produção de néctar (Braga 1977, Boyden 1980, Borba & Braga 2003, Smidt *et al.* 2006, Pemberton 2007, Pansarin & Amaral 2008). A presença de cunículo no qual não é observada secreção de néctar também tem sido documentado para espécies de *Encyclia*, como *E. krugii* (Ackerman 1989). Estudos anatômicos realizados em flores de *Epidendrum fulgens* revelaram que essa espécie o cunículo apresenta variações funcionais durante o desenvolvimento (Moreira *et al.* 2008). Na fase de botão floral a epiderme do cunículo é simples com numerosos tricomas, nos quais os núcleos e nucléolos são conspícuos e o citoplasma é denso, indicando alta atividade metabólica e produção de secreção. No entanto, quando o ginostêmio completa sua formação, os tricomas apresentam-se menos numerosos, dispersos e sem indicativo de secreção. Além disso, a baixa quantidade desta recompensa floral, da qual pode evaporar e se perder durante o processo de antese, pode ser também um reflexo das limitações aos polinizadores para a produção de frutos quando a recompensa não consegue manter o interesse do visitante floral (Ackerman 1986, Montalvo & Ackerman 1987).

No estudo de Braga (1977) um Vespidae, *Agelaia* cf. *pallipes* (Olivier) (= *Stelopolybia* cf. *pallipes* (Olivier)), foi dada como polinizadora de *E. mapuerae*, sendo que *Rubrica nasuta* (Christ.) (Hymenoptera), foi dada como visitante floral. Estas espécies não foram registradas

nos dois anos de observações, demonstrando que os polinizadores não são espécies-específicos. Durante o processo de polinização por parte destes visitantes florais é observado que os lobos do labelo tendem a manter o labelo faceando com a coluna. Este fato permite com que abelhas de diferentes tamanhos possam contatar o viscido do polinário e posteriormente realizar a deposição das pólineas no estigma.

A mesma espécie de polinizador de *E. mapuerae* também é uma dos principais polinizadores de outra espécie amazônica, *Eulophia alta* (L.) Fawc & Rendle (Jürgens *et al.* 2009). Nesse estudo foi observado que os machos da espécie estabeleciam a demarcação do território, atacando todos os visitantes florais que se aproximavam, com exceção das fêmeas, as quais tiveram a sua visita a flor perturbada pelos machos com a intenção de realizar o acasalamento. Este comportamento não foi observado para as flores de *E. mapuerae*. Janzen *et al.* (1980) mencionam que fêmeas de *Xylocopa* spp. visitam as flores de *E. cordigera* em busca de néctar, sendo que o polinário é removido e fica aderido na parte superior da cabeça, como ocorre em *C. varia* ao visitar *E. mapuerae*. Nas presentes observações a única espécie de *Xylocopa* observada visitando as flores de *E. mapuerae* atuou apenas como visitante floral.

Em diversos estudos o gênero *Centris* tem sido importante na polinização de diversas Orchidaceae. Oito espécies de *Centris* atuam como polinizadores de *Eulophia alta* (L.) Fawc. & Rendle (Jürgens *et al.* 2009). Para *Cyrtopodium polyphyllum* (Vell.) Pabst ex. F. Barros, cinco espécies de *Centris* foram registradas como visitantes florais no sudeste do Brasil (Pansarin *et al.* 2008). Para esta mesma espécie *Centris (Hemisiella) nitida* Smith realiza a polinização no sul da Flórida nos Estados Unidos (Liu & Pemberton 2010). Ainda na Flórida, *Centris (Hemisiella) nitida* Smith também atua na polinização de *Oncidium sphacelatum* Lindl. (Pemberton 2008). Em Cuba, *Centris (Centris) poecila* Lepeletier, é a principal polinizadora de *Tolumnia guibertiana* (A. Rich) Braem (Vale *et al.* 2011). Em todos os casos

as políneas ficam aderidas na cabeça das abelhas, como ocorre em *E. mapuerae*. Roubik (2000) ressalta que fixar o polinário em determinadas partes do animal é um meio efetivo de garantir o transporte até outra flor sem ser perdida durante a limpeza corporal. A polinização por machos de *Campsomeris* já foi registrado para as orquídeas, como por exemplo, para *Geoblasta pennicillata*, que é polinizada por machos de *C. bistrimacula* por meio de pseudocópula (Ciotek et al. 2006). A polinização por machos de *Campsomeris* ocorre também para espécies de *Calochilus* (Fordham 1946, Jones & Gray 1974, Bower & Branwhite 1993).

A baixa transferência polínica também é observada para espécies congêneres como para *E. krugii* por Ackerman (1989). Como visto anteriormente isto se dá provavelmente pela presença de espécies não especializadas que realizam apenas a remoção sem que ocorra o carregamento das políneas o que influencia de forma negativa com o sucesso reprodutivo da espécie. O número de flores abertas ao mesmo tempo e conseqüentemente a arquitetura da inflorescência pode influenciar de forma significativa na atração dos polinizadores. Assim grandes arranjos florais podem atrair mais polinizadores e conseqüentemente aumentar o sucesso masculino e feminino (Montalvo & Ackerman 1987). Contudo, Ackerman (1989) não observou relação entre os tamanhos das inflorescências com a frequência de flores visitadas para *E. krugii*. Mas para *E. mapuerae* a maioria dos futos foram observados em indivíduos que possuíam longas inflorescências paniculadas das quais sustentavam um número considerável de flores.

Conforme mostrado aqui para *E. mapuerae* a não formação de frutos por agamospermia e por polinização espontânea é observada também para *E. cordigera* (Janzen et al. 1980). A autogamia parece ser rara entre as Laeliinae sendo identificada para *Cattleya aurantiaca* Bateman ex Lindl., em que observa-se a autólise do rostelo permitindo o contato do pólen com o estigma (Stort & Martins 1980) e possivelmente para *Epidendrum*

strobiliferum Rchb. f. (Braga 1977). Observa-se também para *Prosthechea boothiana* var. *erythronioides* e *P. cochleata* var. *trianda* (Ortiz-Barney & Ackerman 1999, Higgins, 2003). Barberena (2010) observou elevada formação de frutos por haste floral para diversos indivíduos de *E. patens* e atribuíram tal fato a possível ocorrência de autopolinizações e/ou agamospermia. Já as polinizações geitonogâmicas podem ter maiores probabilidades de acontecer em inflorescências multifloras (Montalvo & Ackerman 1987).

Para o gênero a autocompatibilidade já foi registrada para *E. cordigera* (Janzen et al. 1980), contudo a autoincompatibilidade também é registrada, como visto para *E. krugii* (Ackerman 1989). A autocompatibilidade é comum entre espécies da subtribo Laeliinae, como por exemplo, para *Pseudolaelia* (Borba & Braga 2003), *Epidendrum* (Pansarin & Amaral 2008), *Guarianthe* (Pemberton 2007), *Cattleya* (Stort & Martins 1980, Smidt et al. 2006, Storti et al. 2011) e as antigas *Laelia* (Stort & Galdino 1984). Além disso, nas flores de *E. mapuerae* é observada a presença do rostelo que constitui-se como uma barreira física entre a antera e o próprio estigma evitando a ocorrência da autopolinização.

A autocompatibilidade é observada também para espécies de *Prosthechea*, gênero relacionado de *Encyclia* (Higgins 1997, van den Berg 2000, Higgins 2003). A autocompatibilidade é observada para *P. boothiana* var. *erythronioides* (Small) W.E. Higgins, *P. cochleata* var. *trianda* (Ames) W.E. Higgins e *P. aff. karwinskii* (Mart.) Soto Arenas & Salazar (Ortiz-Barney & Ackerman 1999, Higgins, 2003, Camacho-Domínguez & Ávila-Díaz 2011), contudo também se observa a dependência de polinizadores para que ocorra a transferência de pólen (Camacho-Domínguez & Ávila-Díaz 2011). No caso de *P. boothiana* var. *erythronioides* e *P. cochleata* var. *trianda* o ginostêmio tem uma modificação estrutural com duas anteras adicionais o que permite que os tubos polínicos ignorem o rostelo resultando em uma autopolinização (Higgins, 2003). Trata-se de uma importante adaptação e

apropriada quando os polinizadores são ausentes como ocorre na Flórida (EUA), local onde *P. cochleata* var. *trianda* ocorre (Ortiz-Barney & Ackerman 1999). Modificação estrutural do ginostêmio é observado também em *Encyclia* em que se observa a presença de três anteras para *E. patens* var. *serroniana* (Romanini & Barros 2007).

A baixa formação de frutos em condições naturais é um fato comum entre as orquídeas e já registrado para o gênero. Segundo van den Berg et al. (2005) a ocorrência de polinizações tendem a ser raras em muitas espécies de *Encyclia* o que resulta na baixa formação de frutos. Para *E. mapuerae* a baixa eficácia reprodutiva pode ser reflexo da grande produção de flores e baixa frequência de visitação, indicando a ineficiência dos visitantes florais, pois poucos dos polinários removidos são de fato depositados na cavidade estigmática. Janzen et al. (1980) registraram uma taxa de 7% para *E. cordigera* e ressaltaram a maior ocorrência de inflorescências com apenas um fruto do que com três ou quatro frutos. Vale ressaltar também que a baixa formação de frutos por indivíduo pode ser benéfico em casos nos quais as plantas apresentam déficit hídrico e nutricional (Janzen et al. 1980). Para *E. krugii* foi observado que aproximadamente 60% dos frutos formados em ambiente natural abortam devido a alocação de recursos (Ackerman 1989). Sendo assim, muitos frutos podem ser formados inicialmente e perdidos durante o desenvolvimento devido a diversos fatores, como por exemplo, mecanismos de incompatibilidade, ataque por patógenos, herbivoria, predação, entre outros (Ackerman 1989).

REFERÊNCIAS

ACKERMAN, J. D. 1986. Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination system in orchids. *Lindleyana* 1: 108-113.

- ACKERMAN, J. D. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Systematic Botany* 14: 101-109.
- ANDERSON, A. B. 1981. White-sand vegetation of Brazilian Amazonia. *Biotropica* 13: 199-210.
- AYALA, R. B. 1998. *Sistematica de los taxos supraespecificos de las abejas de la tribu Centridini (Hymenoptera: Anthophoridae)*. Tese de Doutorado. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 280p.
- BAKER, H. G. 1983. An outline of the history of anthecology, or pollination biology. In: Real, L. (ed.). *Pollination biology*. Orlando: Academic Press, pp.7-28.
- BARBERENA, F. F. V. A. 2010. *Orchidaceae no Parque Nacional do Itatiaia, Sudeste do Brasil: listagem e estudos taxonômicos na subtribo Laeliinae*. Dissertação de Mestrado, Escola Nacional de Botânica Tropical, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico, Rio de Janeiro, RJ, 159p.
- BARTH, F. G. 1991. *Insects and flowers. The biology of a partnership*. New Jersey, Princeton University Press. 408 pp.
- BENZING, D. H. & ATWOOD, J. T. 1984. Orchidaceae: Ancestral habits and current status in forest canopies. *Systematic Botany* 9: 155-165.
- BORBA, E. L. & BRAGA, P. I. S. 2003. Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 541-549.
- BOWER, C. C. & BRANWHITE, P. 1993. Observations on the pollination of *Calochilus campestris* R.Br. *The Orchadian* 11: 68-71.

- BOYDEN, t. C. 1980. Floral mimicry by *Epidendrum ibaguense* (Orchidaceae) in Panama. *Evolution* 34: 135-136.
- BRAGA, P. I. S. 1977. Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. *Acta Amazonica* 7: 1-89.
- BRAGA, P. I. S. 1982. *Aspectos biológicas das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. II – Fitogeografia das campinas da Amazônia brasileira Manaus-Amazônia*. Tese de doutorado – INPA/UFAM, 305p.
- BUKATSCH, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Austrablau Safranin. *Mikrokosmos* 61: 255.
- CAMACHO-DOMÍNGUEZ, E & ÁVILA-DÍAZ, I. 2011. Mating system and female reproduction succes of the endemic, epiphytic *Prosthechea* aff. *Karwinskii* (Orchidaceae). *Lankesteriana* 11: 366.
- CARVALHO, R. & MACHADO, I. C. 2002. Pollination of *Catasetum macrocarpum* (Orchidaceae) by *Eulaema bombiformis* (Euglossini). *Lindleyana* 17: 85-90.
- CIOTEK, L., GIORGIS, P., BENITEZ-VIEYRA, S. & COCUCCHI, A. A. 2006. First confirmed case of pseudocopulation in terrestrial orchids of South America: pollination of *Geoblasta pennicillata* (Orchidaceae) by *Campsomeris bistrimacula* (Hymenoptera, Scoliidae). *Flora* 201: 365-369.
- CRUZ D. T., BORBA E. L. & VAN DEN BERG C. 2003. O gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) no Estado da Bahia, Brasil. *Sitientibus* 3: 26-34.
- DAFNI A. 1984. Mimicry and deception in pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics* 15: 259-278.

- DAFNI, A. & MAUÉS, M. M. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sexual Plant Reproduction* 11: 177-180.
- DRESSLER, R. L. 1981. *The orchids: natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge. 244p.
- DRUMMONT, P.; SILVA, F. O. & VIANA, B. 2008. Ninhos de *Centris (Heterocentris) terminata* Smith (Hymenoptera: Apidae, Centridini) em fragmentos de Mata Atlântica secundária, Salvador, BA. *Neotropical Entomology* 37: 239-246.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. 3rd edn. Pergamon Press, Oxford.
- FORDHAM, F. 1946. Pollination of *Calochilus campestris*. *Victorian Nat.* 62: 199–201
- GABE, M. 1968. *Techniques histologiques*. Paris: Masson & Cie. 1113p.
- HERRERA, C. 1989. Pollinator abundance, morphology and flower visitation rate analysis of the “quantity” component in plant-pollinator system. *Oecologia* 80: 241-248.
- HIGGINS, W. E. 1997. A reconsideration of the genus *Prosthechea* (Orchidaceae). *Phytologia* 82: 370-383.
- HIGGINS, W. E. 2003. *Prosthechea*: a chemical discontinuity in Laeliinae. *Lankesteriana* 7: 39-41.
- HIGGINS, W. E.; VAN DEN BERG, C. & WHITTEN, W. M. 2003. A combined molecular phylogeny of *Encyclia* (Orchidaceae) and relationships within Laeliinae. *Selbyana* 24: 165-179.

- JANZEN, D. H.; DEVRIES, P.; GLADSTONE, M. L. HIGGINS, M. L. & LEWINSOHN, T. M. 1980. Self- and Cross-Pollination of *Encyclia cordigera* (Orchidaceae) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. *Biotropica* 12: 72-74.
- JONES, D. L. & GRAY, B. 1974. Pollination of *Calochilus holtzei* F. Muell. *American Orchid Society Bulletin* 43: 604-606.
- JÜRGENS, A.; BOSCH, S. R.; WEBBER, A. C.; WITT, T.; FRAME, D. & GOTTSBERGER, G. 2009. Pollination biology of *Eulophia alta* (Orchidaceae) in Amazonia: effects of pollinator composition on reproductive success in different populations. *Annals of Botany* 104: 897-912.
- KAISER, E. 1880. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. *Botanisch Zentralb* 25-26.
- KEARNS, C. & INOUE, W. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot. 583p.
- KRAUS, J. E.; ARDIUM, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia*. Edur cidade. 194p.
- LANGERON, M. 1949. *Précis de microscopie*. Paris, Masson et Cie. Editeurs, 1430p.
- LIU, H. & PEMBERTON, R. 2010. Pollination of an invasive orchid, *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae), by an invasive oil-collecting bee, *Centris nitida*, in southern Florida. *Botany* 88: 290-295.
- LUIZÃO, F. J. 1995. *Ecological studies in contrasting forest types in Central Amazonia*. PhD Thesis, University of Stirling, 288p.

- MARTINI, P.; SCHLINDWEIN, C. & MONTENEGRO, A. 2003. Pollination, Flower Longevity and Reproductive Biology of *Gongora quinquenervis* Ruíz and Pavón (Orchidaceae) in an Atlantic Forest Fragment of Pernambuco, Brazil. *Plant Biology* 5: 495-503.
- MICHENEAU, C.; FOURNEL, J.; WARREN, B. H.; HUGEL, S.; GOUVIN-BIALECKI, A.; PAILLER, T.; STRASBERG, D. & CHASE, M. W. 2010. Orthoptera, a new order of pollinator. *Annals of Botany* 105: 355-364.
- MICKELIUNAS, L; PANSARIN, E. R. & SAZIMA, M. 2006. Biologia floral, melitofilia e influência de besouros Curculionidae no sucesso reprodutivo de *Grobya amhertiae* Lindl. (Orchidaceae: Cyrtopodiinae). *Revista Brasileira de Botânica* 29: 251-258.
- MOÇO, M. C.C. & PINHEIRO, M. C. B. 1999. Pollination ecology of *Swartzia apetala* Raddi. Var. *apetala* (Leguminosae-Papilionoideae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 42: 415-423.
- MONTALVO, A. M. & ACKERMAN, J. D. 1987. Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *Biotropica* 19: 24-31.
- MORATO, E. F.; GARCIA, M. V. B. & CAMPOS, L. A. O. 1999. Biologia de *Centris* Fabricius (Hymenoptera, Anthophoridae, Centridini) em matas contínuas e fragmentos na Amazônia Central. *Revista Brasileira de Zoologia* 16(4): 1213-1222.
- MOREIRA, A. S. F. P.; FUHRO, D. & ISAIAS, R. M. S. 2008. Anatomia floral de *Epidendrum fulgens* Brongn. (Orchidaceae – Epidendroideae) com ênfase no nectário e sua funcionalidade. *Revista de Biologia Neotropical* 5: 23-29.

- O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. 1981. *The study of plants structure principles and selected methods*. Melbourne: Termarcarphi Pty. Ltda.
- ORTIZ-BARNEY, E. & ACKERMAN, J. D. 1999. The cost of selfing in *Encyclia cochleata* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* 219: 55-64.
- PANSARIN, E. R. & AMARAL, M. C. 2008. Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization? *Plant Biology* 10: 211-219
- PANSARIN, E. R. & PANSARIN, L. M. 2010. Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated by oil-collecting bees. *Plant Biology* 13: 576-581.
- PANSARIN, E. R. 2003. Biologia floral de *Cleistes macrantha* (Barb. Rodr.) Schltr. (Orchidaceae: Vanilloideae: Pogoniinae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 73-80.
- PANSARIN, E. R.; BITTRICH, V & AMARAL, M. C. E. 2006. At Daybreak – Reproductive Biology and Isolating Mechanisms of *Cirrhaea dependens* (Orchidaceae). *Plant Biology* 8: 494-502.
- PANSARIN, L. M.; PANSARIN, E. R. & SAZIMA, M. 2008. Reproductive biology of *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae): a Cyrtopodinae pollinated by deceit. *Plant Biology* 10: 650-659.
- PARRA-TABLA, V.; VARGAS, C. F.; MAGAÑA-RUEDA, S. & NAVARRO, J. 2000. Female and male pollination success of *Oncidium ascendens* Lindley (Orchidaceae) in two contrasting habitat patches: forest vs agricultural field. *Biological conservation* 94: 335-340.

- PEMBERTON R. W. 2007. Pollination of *Guarianthe skinneri*, an ornamental food deception orchid in southern Florida, by the naturalized orchid bee *Euglossa viridissima*. *Lankesteriana* 7(3): 461-468.
- PEMBERTON R. W. 2008. Pollination of the ornamental orchid *Oncidium sphacelatum* by the naturalized oil-collecting bee (*Centris nitida*) in Florida. *Selbyana* 29: 87–91.
- PRIDGEON, A. M. & STERN, W. L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 70: 1233–1243.
- PROCTOR M.; YEO P. & LACK A. 1996. *The Natural History of Pollination*. Timber Press, OR, Portland.
- PURVIS, M. J.; Collier, D. C. & Walls, D. 1964. *Laboratory Techniques in Botany*. Butterwoths, London.
- RANZANI, G. 1980. Identificação e caracterização de alguns solos da Estação Experimental de Silvicultura Tropical do INPA. *Acta Amazonica* 10(1): 7-41.
- RECH, A. R.; ROSA, Y. B. C. J. & MANENTE-BALESTIERI, F. C. L. 2010. Aspects of the reproductive biology of *Brassavola cebolleta* Rchb. f. (Orchidaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 32(4): 335-341.
- RENNER S. S. 2006. Rewardless flowers in the angiosperms and the role of insect cognition in their evolution. *In: Waser, N. M. & Olerton, J. (Eds). Plant–Pollinator Interactions From Specialization to Generalization*. The University of Chicago Press, Chicago.
- RIBEIRO, M. N. G. & SANTOS, A. 1975. Observações microclimáticas no ecossistema Campina Amazônica. *Acta Amazonica* 5(2); 173-182.

- ROMANINI, R. P. & BARROS, F. 2007. Orchidaceae. *In*: Melo, M. M. R., Barros, F., Chiea, S. A. C., Kirizawa, M., Jung-Mendaçolli, S. J. & Wanderley, M. G. L. (Org.). Flora Fanerogâmica da Ilha do Cardoso, São Paulo. Instituto de Botânica, v. 12, p. 29-275.
- ROUBIK, D. W. 2000. Deceptive orchids with Meliponini as pollinators. *Plant Systematics and Evolution* 222: 271-279.
- SCOGIN, R.; YOUNG, D. A. & JONES, C. E. 1977. Anthochlor pigments and pollination biology: II. The ultraviolet patterns of *Coreopsis gigantea* (Asteraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 104(2): 155-159.
- SILVA, M. F. F. & SILVA, J. B. F. 2004. *Orquídeas nativas da Amazônia Brasileira II*. Belém, Universidade Federal Rural do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, 540p.
- SMIDT, E. C.; SILVA-PEREIRA, V. & BORBA, E. L. 2006. Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north-eastern Brazil. *Plant Species Biology* 21: 85-91.
- SNELLING, R. R. 1984. Studies on the taxonomy and distribution American Centridine bees (Hymenoptera: Anthophoridae). *Contrib. Sci. (Los Angel.)* 347: 1-69.
- STORT M. N. & GALDINO G. L. 1984. Self- and Cross-pollination in some species of the genus *Laelia* Lindl. (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Genética* 4: 671-676.
- STORT M. N. & MARTINS P. S. 1980. Autopolinização e polinização cruzada em algumas espécies do gênero *Cattleya* (Orchidaceae). *Ciência e Cultura* 32: 1080-1083.
- STORTI, E. F.; BRAGA, P. I. S. & STORTI-FILHO, A. 2011. Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado* uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. *Acta Amazonica* 41(3): 361-368.

SWANSON, E. S.; CUNNINGHAM, W. P. & HOLMAN R. T. 1980. Ultrastructure of glandular ovarian trichomes of *Cypripedium calceolus* and *C. reginae* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 67: 784–789.

TREMBLAY, R. L. 1992. Trends in pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematic. *Canadian Journal of Botany* 70: 642-650.

VALE, A.; NAVARRO, L.; ROJAS, D. & ÁLVAREZ, J. C. Breeding system and pollination by mimicry of the orchid *Tolumnia guibertiana* in Western Cuba. *Plant Species Biology* 26: 163-173.

VAN DEN BERG, C., W.E. HIGGINS, R.L. DRESSLER, W.M. WHITTEN, M.A.S. ARENAS, A. CULHAM & M.W. CHASE. 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Lindleyana* 15: 96-114.

VAN DEN BERG, C.; FERNÁNDEZ-CONCHA, G.C.; PRIDGEON, A.M.; VEITCH, N.C. & GRAYER, R.J. 2005. *Encyclia*. In: Pridgeon, A.M.; Cribb, P.J.; Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. (eds.). *Genera Orchidacearum; Epidendroideae*, part two. Vol 4. Oxford University Press, New York. Pp. 232-236.

VAN DER PIJL, L & DODSON, C. H. 1966. *Orchid flowers: their pollination an evolution*. Coral Gables: University of Miami Press.

WANG, Y.; ZHANG, Y.; MA, X. & DONG, L. 2008. The unique mouse pollination in an orchid species. **Nature Precedings**. Disponível em: <<http://precedings.nature.com/documents/1824/version/1/files/npre20081824-1.pdf>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

WIEMER, A. P.; MORÉ, M.; BENITEZ-VIEYRA, S.; COCUCCI, A. A.; RAGUSO, R. A. & SÉRSIC, A. N. 2009. A simple floral fragrance and unusual osmophore structure in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). *Plant Biology* 11(4): 506-514.

ZAPATA, T. R. & ARROYO, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.

Figura 1: A. *Encyclia mapuerae*. B. Cunículo. C. Cunículo em corte longitudinal. D. Produção de néctar. E. Anatomia do cunículo. F. Grão de açúcar. G. *Centris varia* vistando flores de *Encyclia mapuerae*. G. *Centris varia* com o polinário aderido na face.

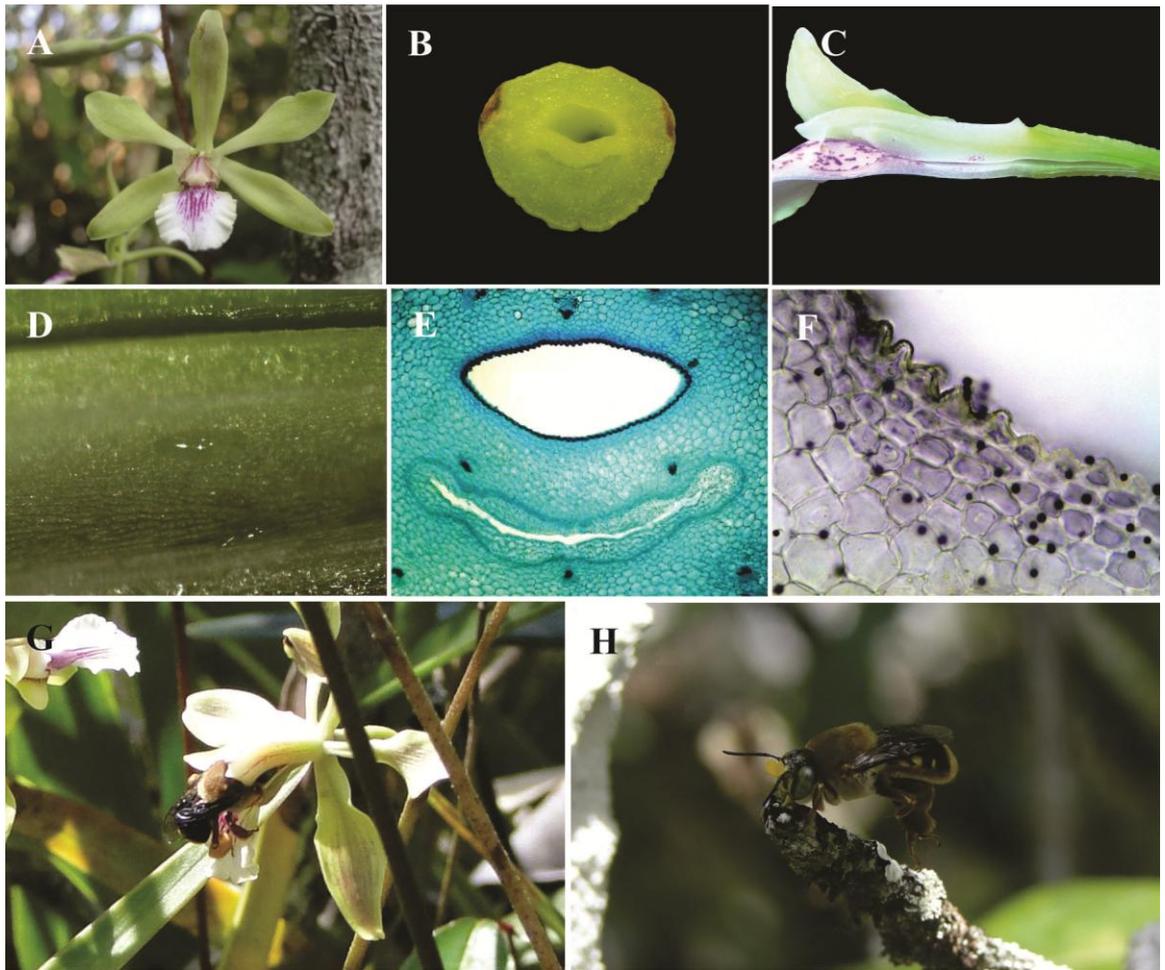


Tabela 1. Visitantes florais e o respectivo número de visitas registradas para *Encyclia mapuerae* (Huber) Brade ex Brade & Pabst durante as observações na Reserva Biológica de campina.

Espécie	Número de visitas
<i>Augochloropsis</i> sp.	1
<i>Centris (Heterocentris) terminata</i> Smith	1
<i>Centris (Centris) varia</i> Erichson	14
<i>Campsomeris</i> cf. <i>dorsata</i> Fabricius	3
<i>Epicharis (Parepicharis) zonata</i> Smith	1
<i>Melipona fulva</i> Lepeletier	1
<i>Xylocopa (Schonnherria) ornata</i> Smith	1

Tabela 2. Porcentagens da eficiência dos polinizadores de *Encyclia mapuerae* (Huber) Brade ex Brade & Pabst na Reserva Biológica de Campina no ano de 2012. SRM = Sucesso reprodutivo masculino; SRF = Sucesso reprodutivo feminino; e ETP = Eficiência na transferência de pólen.

	Cálculo / Porcentagem
SEM	$(133^* / 265^{***}) \times 100 = 50,19\%$
SRF	$(23^{**} / 265^{***}) \times 100 = 8,68\%$
ETP	$(23^{**} / 133^*) \times 100 = 17,29\%$

*Polinários removidos; ** Polinários depositados; *** Total de flores. / Obs.: 132 flores intactas.

Tabela 3. Porcentagem de frutos formados em cada um dos tratamentos para verificação do sistema reprodutivo e em condições naturais e a eficácia reprodutiva de *Encyclia mapuerae* (Huber) Brade ex Brade & Pabst no ano de 2011.

Tratamentos	Frutificação (Frutos/flores)
Autopolinização manual	84,63% (11/13)
Geitonogamia	100% (2/2)
Polinização cruzada	91,67% (11/12)
Emasculação	- (0/13)
Autopolinização espontânea	- (0/47)
Condições naturais	6,9% (43/623)
Eficácia reprodutiva	$6,9\% / 91,67 = 0,75$

Capítulo 2

Krahl, A.H. & Webber, A.C. Aspectos da biologia floral e polinização de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros (Orchidaceae) em uma campinarana da Amazônia Central. Manuscrito formatado para a *Acta Amazonica*.

Aspectos da biologia floral e polinização de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros
(Orchidaceae) em uma campinarana da Amazônia Central¹

Amauri Herbert KRAHL^{1,3} & Antonio Carlos WEBBER²

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Departamento de Botânica, Av. André Araújo, 2936, Aleixo, Manaus, AM – 69.060-001.

²Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Departamento de Biologia – ICB, Bloco E, Av. Gal. Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 3000, Manaus, AM – 69.077-000.

³Autor para correspondência: amaurikrahl@hotmail.com

Resumo: Este trabalho tem como intuito principal elucidar aspectos relacionados à biologia floral e mecanismo de polinização de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros. Ocorre como epífita na campinarana formando pequenas aglomerações com poucos indivíduos. A partir do vermelho neutro foi possível observar a presença de pontuações avermelhada nas pétalas e sépalas e após a fixação em hidróxido de amônio foi notado um leve escurecimento em partes das sépalas e pétalas, predominando a coloração amarelada. É visitada e polinizada apenas por *Trigona williana* Friese que realiza a coleta de uma resina produzida na calosidade do labelo. É autocompátivel e possui uma taxa de frutificação em meio natural de aproximadamente 50%.

Palavras chave: Maxillariinae, *Trigona*, resina.

Abstract: This work has as main purpose to elucidate aspects of floral biology and the pollination mechanism of *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros. *Heterotaxis superflua* is an epiphyte in campinarana forming small clumps of few individuals. Starting from the neutral red was possible to observe the presence of punctures reddish in the petals and sepals and after the fixation in ammonium hydroxide was noticed a slight darkening in parts of the sepals and petals, predominantly yellowish. It is visited and pollinated only by *Trigona williana* Friese which collects a waxy substance produced on the callus of the lip. It is self-compatible and has a rate of fruiting in the wild of about 50%. Keywords: Maxillariinae, *Trigona*, resin.

Introdução

Orchidaceae é considerada a maior e mais especializada família dentre as angiospermas existentes atualmente, contando com cerca de 800 gêneros e 24.000 espécies (Dressler 2005; Fay e Chase 2009). Para o território brasileiro são estimadas 2.419 espécies distribuídas em aproximadamente 235 gêneros (Barros *et al.* 2010), das quais 709 espécies e 131 gêneros ocorrem na Amazônia brasileira (Silva e Silva 2004). Nas campinas, formação vegetal típica da região amazônica, está por sua vez representada por 155 espécies distribuídas em 64 gêneros e um híbrido natural (Braga 1977, 1982).

Ao se analisar atentamente a morfologia floral é possível dizer que as orquídeas são objetos de estudo adequados para a realização de observações referentes à biologia floral e polinização em um âmbito geral (Singer 2001). Pelo fato das orquídeas possuírem polinários, como em Epidendroideae, a retirada e deposição das políneas por um determinado agente polinizador pode ser com facilidade acompanhada e visualizada, o que permite aferir a autêntica eficiência deste dado visitante floral, além de tornar processo de polinização facilmente acompanhado em condições naturais (Dressler 1993).

De uma forma geral, as orquídeas oferecem uma grande variedade de recompensas florais e dentre elas são citadas o pólen (raramente), fragrâncias ou compostos aromáticos (óleos voláteis), óleos florais, óleos comestíveis, resinas, pêlos alimentícios e principalmente o néctar que é o mais comum e difundido (van der Pijl e Dodson 1966; Dressler 1981; Nilsson 1992). Estas recompensas florais são exploradas por uma série de visitantes florais dos quais foram registrados insetos das ordens

Hymenoptera, Lepidoptera, Diptera (van der Pijl e Dodson 1966), Coleoptera (Mickeliunas *et al.* 2006) e recentemente Orthoptera (Micheneau *et al.* 2010). Além dos insetos, as aves também podem atuar como legítimos polinizadores entre as orquídeas, tendo os beija-flores destaque dentro deste grupo (Singer e Sazima 2000; Carvalho e Machado, 2006).

Na Amazônia brasileira os estudos envolvendo a biologia floral e polinização em orquídeas tiveram início com Braga (1977) que apresentou uma série de informações relacionadas aos polinizadores e mecanismo de polinização de diversas espécies em uma campina e campinarana na Amazônia Central. Posteriormente, Jürgens *et al.* (2009) estudaram a biologia da polinização de *Eulophia alta* R.Br. ex Lindl. em uma área de terra firme próxima a cidade de Manaus (AM) e recentemente Storti *et al.* (2011) estudaram a biologia reprodutiva de *Cattleya wallisii* Linden & Rchb. f. (= *Cattleya eldorado* Linden) de forma detalhada, complementando as observações realizadas por Braga (1977).

Contudo observa-se a necessidade de mais informações para as espécies abordadas por Braga (1977), uma vez que os polinizadores e os mecanismos de polinização da maioria delas foram dados como desconhecidos. Dentre estas espécies, está *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros (= *Maxillaria tarumaensis* Hoehne), cujo polinizador e conseqüentemente o mecanismo de polinização foram dados como desconhecidos.

As características florais dos representantes de *Heterotaxis* sugerem uma síndrome depolinização por vespas que recolhem pseudopólen ou cera. É uma síndrome que já foi reportada para outros grupos de *Maxillaria* e sugere-se que seja plesiomófica

e que evoluiu várias vezes dentro de *Maxillaria* (Ojeda *et al.* 2003). O gênero se distribui desde a Flórida (USA) até o Brasil e compreende cerca de 13 espécies (Ojeda *et al.* 2003; Blanco *et al.* 2007), das quais nada se sabe sobre os polinizadores e mecanismos de polinização envolvidos devido a falta de trabalhos. Assim sendo, este trabalho tem como intuito principal elucidar aspectos relacionados à biologia floral e mecanismo de polinização de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros em uma campinarana da Amazônia central.

Material e métodos

As observações foram conduzidas em uma campina da Reserva Biológica de Campina do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, a qual está localizada no km 44 da BR 174, que liga Manaus a Boa Vista, e próxima a Estação Experimental de Silvicultura Tropical do INPA localizada no km 41. Possui 900 ha de extensão territorial total, sendo que 3 ha correspondem a área de campina, 150 ha de campinarana e o restante correspondendo a floresta de terra firme (Luizão 1995) (Figura 1). No presente estudo, as observações foram feitas apenas e área de campina. A precipitação nesta área é mais intensa no período de dezembro a maio, e entre junho e novembro ocorre menor quantidade de chuva (Braga 1977). Na campina a temperatura do ar varia de 24° a 27° C podendo alcançar máxima de 38° C e mínima de 18° C, e na campinarana varia de 23,3° C e 26° C alcançando mínima de 19° C e máxima de 33° C (Ribeiro & Santos 1975). A umidade do ar varia de 81% a 90% na campina e na campinarana observa-se a variação de 91% a 97% (Ribeiro & Santos 1975, Luizão 1995). O clima no local é do tipo Afii segundo a classificação de Köppen, em que se

considera um clima tropical praticamente sem inverno com a temperatura média do mês mais frio nunca inferior a 18 °C, porém há oscilações anuais na temperatura média e chuvas durante o ano todo sem apresentar verão ou inverno bem definidos (Storti et al. 2011). O solo pobre em nutrientes e ácido é composto por sedimentos que datam do terciário e do quaternário que são depósitos de areias quartzosas distróficas (Ranzani 1980). Dentro da área de campina a temperatura do solo varia de acordo com a ausência ou presença de vegetação, sendo que em lugares expostos a temperatura da areia varia de 25,6° C a 42,3° C, em solo semicoberto composto por areia e líquens a temperatura varia de 23,6° C a 32,4° C e em solo sob vegetação observa-se uma variação de 23,3° C a 29,4° C (Ribeiro & Santos 1975). A vegetação situada sobre solo arenoso branco é classificada como campina aberta, a qual apresenta uma vegetação raquítica e de baixo porte com escleromorfismo acentuado, além de ser possível observar machas de solo exposto com penetração excessiva de luz. Desta forma, há o agrupamento de planta formando ilhas de vegetação, podendo ocorrer de forma contínua, mas a vegetação mantém as mesmas características. Na campinarana as espécies arbóreas que compõem a vegetação apresentam porte bem mais desenvolvido, podendo alcançar cerca de 30 metros de altura. No solo observa-se uma camada espessa de raízes que ajudam a acumular a serrapilheira. (Anderson 1981, Braga 1982).

A análise da morfologia floral foi feita com o auxílio de estereomicroscópio binocular e as flores foram coletadas ao acaso e fixadas em álcool a 70%. O material testemunho encontra-se depositado no acervo do herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

A receptividade do estigma foi verificada pela manhã em flores intactas e recém abertas aplicando-se uma gota de peróxido de hidrogênio a 3% na superfície estigmática e observada com o auxílio de uma lupa de mão a atividade da peroxidase por meio da efervescência (Kearns e Inouye 1993; Dafni e Maués 1998). A presença de osmóforos foi testada por meio da imersão de cinco flores em um frasco contendo vermelho neutro (1:10000) por cerca de 15 minutos, com posterior lavagem em água corrente (Kearns e Inouye 1993; Wiemer *et al.* 2009). A avaliação subjetiva de emissão de odores foi realizada por meio da caracterização olfativa nas flores em vários momentos durante o dia. Os pigmentos que refletem luz ultravioleta foram identificados através da fixação de cinco flores em atmosfera de amônio por aproximadamente cinco minutos (Scogin *et al.* 1977).

O processo de polinização e o comportamento dos polinizadores foram observados no ambiente natural por meio de observações focais nas flores de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros. Os visitantes florais foram capturados e posteriormente identificados e depositados na coleção entomológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). A eficiência na transferência de pólen pelos polinizadores foi medida por meio da relação entre a quantidade de polinários depositados e polinários removidos. O sucesso masculino (razão entre flores com o polinário removido e número total de flores contadas) e o sucesso feminino (razão entre flores com o polinário depositado e número total de flores) também foram mensurados (Parra-Tabla *et al.* 2000).

Testes prévios para identificar o sistema reprodutivo foram realizados em flores intactas no ambiente natural e ensacadas em tecido voile. Devido à baixa

disponibilidade de flores intactas foram utilizadas duas flores para autopolinização induzida, duas flores para polinização cruzada e três flores para autopolinização espontânea. Foi medida também a eficácia reprodutiva ($ER = \% \text{ frutos formados em condições naturais} / \% \text{ frutos formados por polinização cruzada}$) (Zapata & Arroyo 1978).

Resultados e discussão

Heterotaxis superflua (Rchb. f.) F. Barros ocorre como epífita na campinarana formando pequenas aglomerações com poucos indivíduos. Seus pseudobulbos são diminutos, ovoides e agrupados devido ao fato do rizoma ser quase que imperceptível. O pseudobulbo é ainda rodeado por folhas e em seu ápice observa-se apenas uma folha coriácea de formato elíptico. As flores originam-se da lateral dos pseudobulbos e são solitárias, sendo que cada pseudobulbo pode produzir até cinco flores (Figura 2A). As sépalas possuem formato elíptico e coloração amarelada e as pétalas são lineares e também possuem a coloração amarelada. O labelo é trilobado, de coloração vinho escuro e possui uma calosidade onde se pode observar a produção de uma substância que o impregna. O ginostêmio possui a coloração creme e comporta um polinário composto por dois pares de políneas amarelas e de tamanhos diferentes. O fruto é esverdeado e alongado.

Sua floração ocorreu no período chuvoso, entre o final de dezembro até o início de fevereiro, período este que difere daquele apresentado por Braga (1977), tendo observado a floração da espécie para o mesmo local entre abril e maio. Assim nota-se um adiantamento e sincronização da abertura das flores com período chuvoso. Este fato

pode estar relacionado ao maior número de insetos polinizadores, que são mais ativos neste período e/ou podem ocorrer apenas neste período ou simplesmente apresentam um aumento na sua população (Agostini e Sazima 2003; Ferreira *et al.* 2010). Pode-se inferir também neste caso que o florescimento neste período esteja ligado com o menor estresse que a espécie sofre pelo fato da disponibilidade hídrica ser maior, o que permite melhor investimento na formação de flores e frutos, processos que demandam grande quantidade de energia.

Observa-se de uma a cinco flores abertas por dia em cada pseudobulbo. A antese se inicia por volta das 5:30 horas para estarem totalmente abertas as 6:30 horas às 7:00 horas da manhã. Neste momento o estigma já se encontra receptivo a partir do teste de receptividade com o peróxido de hidrogênio. Não foi possível detectar odor por meio da avaliação subjetiva, mas podem-se observar pequenas pontuações avermelhadas nas pétalas e sépalas (evidenciadas pelo vermelho neutro), indicando possivelmente a presença do osmóforos. Nas orquídeas, os osmóforos são ricos em substâncias lipídicas e são os produtores do perfume em si (Swanson *et al.*, 1980; Pridgeon e Stern 1983). Em determinados casos, a fragrância floral comumente atua como um atrativo floral secundário que anuncia a presença de determinada recompensa floral aos visitantes florais (Faegri & van der Pijl 1979, Proctor *et al.* 1996).

Após a exposição das flores á atmosfera de amônio, foi notado um leve escurecimento em partes das sépalas e pétalas, predominando a coloração amarelada. Foi notado também um clareamento na coloração do labelo. De acordo com Braga (1976), algumas espécies de Orchidaceae possuem reflexão do ultravioleta na calosidade do labelo, corroborando com o clareamento de tal estrutura que secreta uma

substância na presente espécie. É possível dizer que o padrão de ultravioleta influencia de forma significativa na visão dos insetos, atuando principalmente a curta distância como indicativo de determinada recompensa floral (Barth 1991).

Até então o polinizador de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros era desconhecido. Braga (1977) tentou elucidar esta questão, porém não observou nenhum visitante. Durante as observações focais foi documentada apenas a visita de *Trigona williana* Friese em suas flores, sendo considerada como espécie polinizadora efetiva (Figura 2B). As visitas ocorrem no período da manhã se iniciaram com o pouso da abelha na porção apical do labelo do qual é desarticulado, permitindo sua entrada na flor. No interior da flor, a abelha realiza a coleta da substância secretada pela calosidade do labelo e ao término a mesma obrigatoriamente sai da flor em sentido contrário, uma vez que a concavidade e os lobos laterais do labelo impedem que a abelha se desloque para os lados pelo fato de estarem voltados para cima. As sair, o seu dorso contata com o viscidio do polinário onde ficam depositadas e ao visitar outra flor as políneas podem ou não serem depositadas uma vez que foram observadas abelhas com mais de um polinário aderido no dorso, local de difícil limpeza por parte da abelha.

Observa-se que a espécie é uma polinizadora eficiente, pois remove as políneas de uma grande quantidade de flores, assim como realiza a sua deposição, sendo que cerca de 58,82% das políneas removidas são depositadas na cavidade estigmática, o que reflete em uma significativa eficiência na transferência polínica (Tabela 1). Assim como para *Trigona williana* Friese, Pansarin e Amaral (2006) observaram *Trigona spinipes* Fabricius carregando de três a quatro pares de políneas de uma só vez, o que reflete em um alto sucesso reprodutivo masculino. Roubik (2000) ressalta também que a fixação

das políneas em determinadas partes do corpo da abelha, como por exemplo, na região dorsal do tórax, é um meio eficaz de garantir o transporte do pólen até outra flor sem ser perdida durante a limpeza corporal.

Espécies de *Trigona* já foram observadas como polinizadoras efetivas de outras Orchidaceae, como para *Neuwiedia veratrifolia* Blume e *Psilochilus modestus* Barb. Rodr. que são polinizadas após a coleta de pólen (Okada *et al.* 1997, Pansarin e Amaral 2008), para *Oncidium ascendens* Lind. polinizada após a coleta de resina (Parra-Tabla 2000), para *Polystachya concreta* (Jacq.) Garay & H.R. Sweet e *Polystachya estrellensis* Rchb. f. após a coleta de pseudopólen (Pansarin e Amaral 2006) e para *Maxillaria ochroleuca* Lodd. ex Lindl. após a coleta de tricomas do labelo (Singer e Koehler 2004). Assim nota-se que *Trigona* é um gênero importante na polinização de diversas espécies não relacionadas de Orchidaceae e que exploram uma série de diferentes recursos florais.

Considerando que a substância produzida não foi analisada é possível que a mesma esteja sendo utilizada na sua alimentação se possuir constituição proteica, pois o pólen e néctar que são essenciais alimentos das abelhas são fontes de proteína e açúcar para a sua dieta alimentar (Marque-Souza *et al.* 1996). Em algumas espécies de Maxillariinae foi observado que os tricomas são ricos em amido, lípidos e proteínas e, portanto, podem ser utilizados pelos polinizadores para sua alimentação, alimentação das larvas ou para a construção do ninho (Davies e Winters 1998). Em *Heterotaxis violaceopunctata* (Rchb. f.) F. Barros observa-se que a secreção do labelo possui polissacarídeos (Davies *et al.* 2003) que pode ser utilizada na alimentação por parte das abelhas, fato que pode ocorrer para *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros.

Por outro lado, esta substância pode ser uma resina utilizada para a construção de ninhos, assim como ocorre com *Oncidium ascendens* Lindl. que é uma espécie polinizada por *Trigona nigra* Cresson ao realizar a coleta de resina para construir seus ninhos (Parra-Tabla *et al.* 2000). Além do mais, na subtribo Maxillariinae os seus representantes possuem como recompensas florais conhecidas o néctar, tricomas alimentícios e as resinas o que reforça esta última sugestão (Singer e Koehler 2004; Davies e Stipczynska 2012). Esta resina pode estar sendo secretada por papilas uniseriadas que é umas das formas de secreção apresentada para o gênero (Davies e Turner 2004, Davies e Stipczynska 2012).

A eficácia reprodutiva de *H. superflua* foi de 1,02. Os testes para a identificação do sistema reprodutivo da espécie indicam que ela é autocompatível, porém não forma frutos espontaneamente (Tabela 2). Este fato é observado para muitas espécies de orquídeas, mas devido à presença de algumas barreiras a polinização cruzada é favorecida, tornando a autogamia um processo raro entre muitas espécies (van der Pijl e Dodson 1966). Em *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros, como em outras espécies, observa-se a presença do rostelo que funciona como uma barreira mecânica, impedindo o contato das políneas com o estigma o que impossibilita a formação espontânea de frutos. Assim seria necessária a presença de um agente polinizador para a realização de sua autopolinização. Em condições naturais foi observada uma boa taxa de formação de frutos onde cerca de 50% das flores formam frutos (Tabela 2) comprovando a eficiência da *Trigona williana* Friese como polinizadora efetiva.

Bibliografia citada

Agostini, K. & Sazima, M. 2003. Plantas ornamentais e seus recursos para abelhas no campus da Universidade Estadual de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil. *Áreas Básicas/Botânica. Bragantia*, 62: 335-343.

Anderson, A.B. 1981. White-sand vegetation of Brazilian Amazonia. *Biotropica* 13(3): 199-210.

Barros, F.; Vinhos, F.; Rodrigues, V.T.; Barberena, F.F.V.A. & Fraga, C.N. 2010. Orchidaceae. *In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000179>>.*

Barth, F.G. 1991. *Insects and flowers. The biology of a partnership*. New Jersey, Princeton University Press. 408 pp.

Blanco, M.A.; Carnevali, G.; Whitten, W.M.; Singer, R.B.; Koehler, S.; Williams, N.H.; Ojeda, I.; Neubig, K.M. & Endara, L. 2007. Generic realignments in Maxillariinae (Orchidaceae). *Lankesteriana*, 7(3):515-537.

Braga, P.I.S. 1976. *Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central*. Dissertação de mestrado – INPA/UFAM, 159p.

Braga, P.I.S. 1977. Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. *Acta Amazonica*, 7: 1-89.

- Braga, P.I.S. 1982. *Aspectos biológicas das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. II – Fitogeografia das campinas da Amazônia brasileira Manaus-Amazônia*. Tese de doutorado – INPA/UFAM, 305p.
- Carvalho, R. & Machado, I.C. 2006. *Rodriguezia bahiensis* Rchb. f.: biologia floral, polinizadores e primeiro registro de polinização por moscas Acroceridae em Orchidaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 29(3): 461-470.
- Dafni, A. & Maués, M.M. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sex Plant Reprod*, 11: 177-180.
- Davies, K.L & Turner, M.P. 2004. Morphology of floral papillae in *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 93: 75–86.
- Davies, K.L. & Stpiczynska M. 2012. Comparative labellar anatomy of resinsecreting and putative resin-mimic species of *Maxillaria s.l.* (Orchidaceae: Maxillariinae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 170: 405-435.
- Davies, K.L. & Winters C. 1998. Ultrastructure of the labellar epidermis in selected *Maxillaria* species (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 126: 349–361.
- Davies, K.L.; Turner, M.P. & Gregg, A. 2003. Atypical pseudopollen-forming hairs in *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143: 151–158.
- Dressler, R.L. 1981. *The orchids: natural history and classification*. Harvard: Harvard University Press, 331p.

- Dressler, R.L. 1993. *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*. Portland, Dioscorides, 314p.
- Dressler, R.L. 2005. How many orchid species? *Selbyana*, 26: 155-158.
- Faegri, K. & Van Der Pijl, L. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. 3rd edn. Pergamon Press, Oxford, 244p
- Fay, M.F. & Chase, M.W. 2009. Orchid biology: from Linnaeus via Darwin to the 21st century. *Annals of Botany*, 104(3): 259-364.
- Ferreira, A.W. C.; Lima, M.I.S. & Pansarin, E. R. 2010. Orchidaceae na região central de São Paulo. *Rodriguésia*, 61(2): 243-259.
- Jürgens, A.; Bosch, S.R.; Webber, A.C.; Witt, T.; Frame, D. & Gottsberger, G. 2009. Pollination biology of *Eulophia alta* (Orchidaceae) in Amazonia: effects of pollinator composition on reproductive success in different populations. *Annals of Botany*, 104: 897-912.
- Kearns, C. & Inouye, W. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot. 583p.
- Luizão, F. J. 1995. *Ecological studies in contrasting forest types in Central Amazonia*. PhD Thesis, University of Stirling, 288p.
- Madergan, S. F. 2007. *Abundância natural de ¹⁵N em solos e folhas de áreas de campina e campinarana da Reserva Biológica de Campina – INPA, região de Manaus, Amazonas*. Dissertação de mestrado, INPA-UFAM, 89p.

- Marques-Souza, A. C.; Moura, C. O. & Nelson, B. W. 1996. Pollen collected by *Trigona wiliana* (Hymenoptera: Apidae) in Central Amazonia. *Rev. Biol. Trop.*, 44(2): 567-573.
- Micheneau, C.; Fournel, J.; Warren, B.H.; Hugel, S.; Gouvin-Bialecki, A.; Pailler, T.; Strasberg, D. & Chase, M.W. 2010. Orthoptera, a new order of pollinator. *Annals of Botany*, 105(3): 355-364.
- Mickeliunas, L.; Pansarin, E.R. & Sazima, M. 2006. Biologia floral, melitofilia e influência de besouros Curculionidae no sucesso reprodutivo de *Grobya amherstiae* Lindl. (Orchidaceae: Cyrtopodiinae). *Revista Brasileira de Botânica*, 29(2): 251-258.
- Nilsson, L. A. 1992. Orchid pollination biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 7:255 -259.
- Ojeda, I.; Carnevali, G.; Williams, N.H. & Whitten, W.M. 2003. Phylogeny of the *Heterotaxis* Lindley complex (Maxillariinae): Evolution of the vegetative architecture and pollination syndromes. *Lankesteriana*, 7: 45-47.
- Okada, H., Kubo, S. & Mori, Y. 1996. Pollination system of *Neuwiedia veratrifolia* Blume (Orchidaceae, Apostasioideae) in the Malesian wet tropics. *Acta Phytotaxon. Geobot.*, 47: 173–181.
- Pansarin, E. R. & Amaral, M. C. E. 2006. Biologia reprodutiva e polinização de duas espécies de *Polystachya* Hook. No Sudeste do Brasil: evidências de pseudoceistogamia em Polystachyae (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 29(3): 423-432.

- Pansarin, E. R. & Amaral, M.C.E. 2008. Pollen and nectar as a reward in the basal epidendroid *Psilochilus modestus* (Orchidaceae: Triphoreae): A study of floral morphology, reproductive biology and pollination strategy. *Flora*, 203: 474-483.
- Parra-Tabla, V.; Vargas, C.F.; Magaña-Rueda, S. & Navarro, J. 2000. Female and male pollination success of *Oncidium ascendens* Lindley (Orchidaceae) in two contrasting habitat patches: forest vs agricultural field. *Biological conservation*, 94(4): 335-340.
- Pridgeon, A.M. & Stern, W.L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 70: 1233–1243.
- Proctor M.; Yeo, P. & Lack A. 1996. *The Natural History of Pollination*. Timber Press, OR, Portland.
- Ranzani, G. 1980. Identificação e caracterização de alguns solos da Estação Experimental de Silvicultura Tropical do INPA. *Acta Amazonica*, 10(1): 7-41.
- Ribeiro, M. N. G. & Santos, A. 1975. Observações microclimáticas no ecossistema Campina Amazônica. *Acta Amazonica*, 5(2); 173-182.
- Roubik, D.W. 2000. Deceptive orchids with Meliponini as pollinators. *Plant Systematics and Evolution* 222: 271-279.
- Scogin, R.; Young, D.A. & Jones, C.E. 1977. Anthochlor pigments and pollination biology: II. The ultraviolet patterns of *Coreopsis gigantean* (Asteraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 104(2): 155-159.
- Silva, M.F.F. & Silva, J.B.F. 2004. *Orquídeas nativas da Amazônia Brasileira II*. Belém, Universidade Federal Rural do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, 540p.

- Singer, R.B. & Koehler, S. 2004. Pollinarium morphology and floral rewards in Brazilian Maxillariinae (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 93: 39–51.
- Singer, R.B. & Sazima, M. 2000. The pollination of *Stenorrhynchos lanceolatus* (Aublet) L. C. Rich. (Orchidaceae: Spiranthinae) by hummingbirds in southeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution*, 223: 221-227.
- Singer, R.B. 2001. *Biologia da polinização em orquídeas nativas da região sudeste do Brasil*. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, Campinas, São Paulo, 114p.
- Storti, E.F.; Braga, P.I.S. & Storti-Filho, A. 2011. Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado* uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. *Acta Amazonica*, 41(3): 361-368.
- Swanson, E.S.; Cunningham, W.P. & Holman R.T. 1980. Ultrastructure of glandular ovarian trichomes of *Cypripedium calceolus* and *C. reginae* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 67: 784–789.
- Van Der Pijl, L & Dodson, C.H. 1966. *Orchid flowers: their pollination an evolution*. Coral Gables: University of Miami Press.
- WIEMER, A.P.; MORÉ, M.; BENITEZ-VIEYRA, S.; COCUCCHI, A.A.; RAGUSO, R. A. & SÉRSIC, A.N. 2009. A simple floral fragrance and unusual osmophore structure in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). *Plant Biology*, 11(4): 506-514.
- ZAPATA, T. R. & ARROYO, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica*, 10: 221-230.

Figura 1. Localização da área de estudo – Reserva Biológica de Campina. Fonte: Madergan (2007).

Figura 2. A – *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F.Barros (Barra = 1,5 cm); B – *Trigona williana* Friese com as políneas de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros aderidas em seu dorso (Barra = 1 mm).

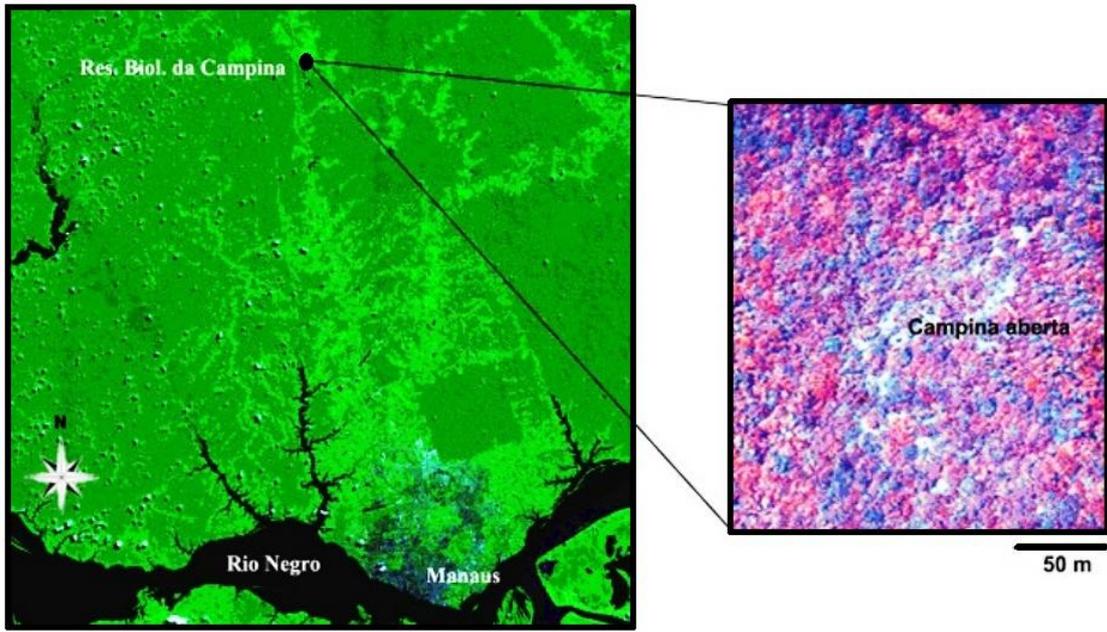




Tabela 1. Porcentagens da eficiência do polinizador de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros na Reserva Biológica de Campina no ano de 2012. SRM = Sucesso reprodutivo masculino; SRF = Sucesso reprodutivo feminino; e ETP = Eficiência na transferência de pólen.

	Cálculo / Porcentagem
SEM	$(34^* / 39^{***}) \times 100 = 87,18\%$
SRF	$(20^{**} / 39^{***}) \times 100 = 51,28\%$
ETP	$(20^{**} / 34^*) \times 100 = 58,82\%$

*Polinários removidos; ** Polinários depositados; *** Total de flores. / Obs.: cinco flores intactas.

Tabela 2. Porcentagens de frutificação em cada um dos testes relacionados ao sistema reprodutivo e em condições naturais e eficácia reprodutiva de *Heterotaxis superflua* (Rchb. f.) F. Barros no ano de 2012.

Tratamentos	Frutificação (Frutos/flores)
Autopolinização induzida	50% (1/2)
Polinização cruzada	50% (1/2)
Autopolinização espontânea	0% (0/3)
Condições naturais	51,28 % (20/39)
Eficácia reprodutiva	$51,28\% / 50\% = 1,02$

Capítulo 3

Krahl, A.H. & Webber, A.C. Polinização de *Camaridium ochroleucum* Lind. (Orchidaceae; Maxillariinae). Manuscrito formatado para *Rodriguésia*.

Polinização de *Camaridium ochroleucum* Lind. (Orchidaceae; Maxillariinae)¹

Amauri Herbert KRAHL^{2,4} & Antonio Carlos WEBBER³

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Departamento de Botânica, Av. André Araújo, 2936, Aleixo, Manaus, AM – 69.060-001.

³Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Departamento de Biologia – ICB, Bloco E, Av. Gal. Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 3000, Manaus, AM – 69.077-000.

⁴Autor para correspondência: amaurikrahl@hotmail.com

Resumo: O presente trabalho descreve a biologia floral e a polinização de *Camaridium ochroleucum* Lindl. Ocorre como epífita em árvores e troncos caídos na campina aberta e na campinarana formando grandes aglomerados de indivíduos, todavia indivíduos isolados também podem ser observados. Possui grande quantidade de osmóforos localizados no labelo. Com o hidróxido de amônio o labelo adquiriu coloração intensa coloração amarela. *Melipona illustris* e *Trigona fulviventris* são os visitantes florais capazes de remover as políneas. Dependendo do local que o polinário fica depositado estas espécies são capazes de removê-las durante a limpeza corporal. Pilhadores de pólen também foram observados, tais como, *Tetragona handlirschii* e Apidae 1. A espécie demonstrou-se autoincompatível e possui baixa taxa de frutificação em meio natural.

Palavras chave: Maxillarinae, *Melipona*, *Trigona*, tricomas alimentícios.

Abstract: This paper describes the floral biology and pollination of *Camaridium ochroleucum* Lindl. It is an epiphyte on trees and fallen logs in *campina* and *campinarana* forming large clusters of individuals, however isolated individuals can also be observed. It has many of osmophores located on the lip. With ammonium hydroxide the lip acquired an intense color yellow. *Melipona ilustris* and *Trigona fulviventris* are flower visitors able to remove the pollinia. Depending on where deposited these species are able to remove the pollinarium during body cleaning. Pollen thieves were also observed, such as *Tetragona handlirschii* and Apidae 1. The species is self-incompatible and has low fruit set in natural conditions.

Keywords: Maxillarinae, *Melipona*, *Trigona*, trichomes food.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae está representada por cerca de 800 gêneros e 24.000 espécies (Dressler 2005; Fay & Chase 2009), das quais 2.419 espécies distribuídas em aproximadamente 235 gêneros estão presentes no Brasil (Barros *et al.* 2010). A Amazônia brasileira conta com aproximadamente 709 espécies de Orchidaceae distribuídas em 131 gêneros (Silva & Silva 2004), das quais 115 espécies, 64 gêneros e um híbrido natural ocorrem em regiões de campinas, formação vegetal típica da região amazônica (Braga 1977, Braga 1982).

Diante desses números, é notável a necessidade de novos estudos que enfoquem os mecanismos de polinização das orquídeas amazônicas uma vez que poucas espécies foram alvos de estudo, totalizando 32 espécies (*e.g.* Braga 1977; Jürgens *et al.* 2009; Storti *et al.* 2011). Neste sentido as orquídeas possuem grande destaque quando levamos em consideração a sua morfologia floral, da qual as tornam objetos de estudo apropriados para tais observações (Dressler, 1993; Singer 2001), além da evidente especialização aos polinizadores que foi um dos fatores que permitiu a diversificação da família (Graveendel *et al.* 2004).

No geral, dentre os polinizadores já registrados em Orchidaceae, destacam-se as abelhas que são responsáveis pela polinização de mais da metade das espécies que possuem seus visitantes florais registrados (van der Pijl & Dodson 1966). Estes visitantes exploram uma variedade de recursos florais oferecidos pelas espécies ou simplesmente são atraídos por engano, onde se estima que um terço das espécies de Orchidaceae sejam polinizadas por engano (Ackerman 1986; Nilsson 1992; Borba & Braga 2003; Pansarin *et al.* 2008; Pansarin 2008).

Dentre aquelas espécies que oferecem algum recurso floral, podemos mencionar como recompensa o pólen (Gregg 1991; Inoue *et al.* 1995; Okada *et al.* 1996; Kocyan & Endress

2001; Pansarin & Amaral 2008), pseudopólen (Pansarin & Amaral 2006), produtos químicos de fragrâncias ou compostos aromáticos (óleos voláteis) (Dressler 1981; Pansarin & Amaral, 2009), óleos florais (Pansarin & Pansarin 2010), óleos comestíveis, resinas, pêlos alimentícios (van der Pijl & Dodson 1966) e principalmente o néctar que é o mais comum e difundido (van der Pijl & Dodson 1966; Dressler 1981; Smidt *et al.* 2006; Pansarin & Amaral 2008; Aguiar *et al.*, 2011).

A subtribo Maxillariinae possui aproximadamente 600 espécies neotropicais que oferecem néctar, tricomas (pêlos alimentícios) e resinas como recompensas florais aos seus polinizadores (Singer & Koehler 2004; Davies & Stipczynska 2012). Na Amazônia brasileira, nove espécies pertencentes à Maxillariinae foram estudadas por Braga (1977), das quais oito possuem o mecanismo de polinização e os visitantes florais desconhecidos. O presente trabalho descreve a biologia floral e a polinização de *Camaridium ochroleucum* Lindl.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

As observações foram conduzidas em uma campina da Reserva Biológica de Campina do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, a qual está localizada no km 44 da BR 174, que liga Manaus a Boa Vista, e próxima a Estação Experimental de Silvicultura Tropical do INPA localizada no km 41. Possui 900 ha de extensão territorial total, sendo que 3 ha correspondem a área de campina, 150 ha de campinarana e o restante correspondendo a floresta de terra firme (Luizão 1995) (Figura 1). No presente estudo, as observações foram feitas apenas e área de campina. A precipitação nesta área é mais intensa no período de dezembro a maio, e entre junho e novembro ocorre menor quantidade de chuva (Braga 1977).

Na campina a temperatura do ar varia de 24° a 27° C podendo alcançar máxima de 38° C e mínima de 18° C, e na campinarana varia de 23,3° C e 26° C alcançando mínima de 19° C e máxima de 33° C (Ribeiro & Santos 1975). A umidade do ar varia de 81% a 90% na campina e na campinarana observa-se a variação de 91% a 97% (Ribeiro & Santos 1975, Luizão 1995). O clima no local é do tipo Afi segundo a classificação de Köppen, em que se considera um clima tropical praticamente sem inverno com a temperatura média do mês mais frio nunca inferior a 18 °C, porém há oscilações anuais na temperatura média e chuvas durante o ano todo sem apresentar verão ou inverno bem definidos (Storti et al. 2011). O solo pobre em nutrientes e ácido é composto por sedimentos que datam do terciário e do quartenário que são depósitos de areias quartzosas distróficas (Ranzani 1980). Dentro da área de campina a temperatura do solo varia de acordo com a ausência ou presença de vegetação, sendo que em lugares expostos a temperatura da areia varia de 25,6° C a 42,3° C, em solo semicoberto composto por areia e líquens a temperatura varia de 23,6° C a 32,4° C e em solo sob vegetação observa-se uma variação de 23,3° C a 29,4° C (Ribeiro & Santos 1975). A vegetação situada sobre solo arenoso branco é classificada como campina aberta, a qual apresenta uma vegetação raquítica e de baixo porte com escleromorfismo acentuado, além de ser possível observar machas de solo exposto com penetração excessiva de luz. Desta forma, há o agrupamento de planta formando ilhas de vegetação, podendo ocorrer de forma contínua, mas a vegetação mantém as mesmas características. Na campinarana as espécies arbóreas que compõem a vegetação apresentam porte bem mais desenvolvido, podendo alcançar cerca de 30 metros de altura. No solo observa-se uma camada espessa de raízes que ajudam a acumular a serrapilheira. (Anderson 1981, Braga 1982).

Caracterização morfológica e biologia floral

A caracterização morfológica das partes florais foi realizada a partir de flores conservadas em álcool a 70%, as quais foram analisadas em um esteromicroscópio. O material testemunho encontra-se depositado na coleção do herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). A caracterização da antese foi feita por meio do acompanhamento da abertura dos botões florais até a sua senescência. Durante este processo foram feitas observações referentes ao período de receptividade do estigma, horário de emissão de odor e remoção e deposição de polinários na cavidade estigmática.

Um total de cinco flores foram coletadas para a realização de cortes anatômicos frescos feitos a mão livre em laboratório para a caracterização geral da anatomia dos tricomas presentes no labelo da espécie. Foram realizadas secções transversais nesta região com o auxílio de lâminas e micrótomo manual. Estes cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio (Kraus & Arduin 1997), coloridos com Azul de Astra e Safranina (proporção 9:1) (Bukatsch 1972) e montados em gelatina glicerinada contendo fenol (Kaiser 1880) para observação em microscópio óptico. Testes histoquímicos foram realizados a partir de secções transversais de material fresco para as seguintes substâncias: sudan III para lipídios totais (Gabe 1968) e xilidini ponceau para proteínas (O'Brien & McCully 1981). As microfotografias foram obtidas em microscópio Zeiss com câmera Canon PC1252 acoplada no laboratório de Botânica Agro-florestal da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

A receptividade do estigma foi testada em flores recém abertas e intactas por meio da adição de gotas de peróxido de hidrogênio na superfície estigmática (Kearns & Inouye 1993; Dafni & Maués 1998). Os osmóforos foram detectados por meio da imersão de cinco flores em um frasco contendo vermelho neutro (1:10000) por aproximadamente 15 minutos com posterior lavagem em água corrente (Kearns & Inouye 1993). Os pigmentos que refletem luz

ultravioleta foram identificados através da fixação de cinco flores em atmosfera de amônio por aproximadamente cinco minutos (Scoogin *et al.* 1977).

Visitantes florais e mecanismo de polinização

As observações referentes aos visitantes florais e mecanismo de polinização foram realizadas entre 24 de janeiro de 2012 e 03 de fevereiro de 2012 e entre 21 de janeiro de 2013 e 26 de janeiro de 2013, entre o período de 07:00h e 12:00h, totalizando 80 horas de observações. Foi anotado o horário de atividade dos visitantes florais e o mecanismo de polinização dos polinizadores da espécie em questão. Não foram feitas observações noturnas, contudo possíveis polinizações noturnas foram investigadas por meio da marcação de indivíduos com flores intactas no final das observações para posterior conferência na manhã seguinte quanto à remoção e deposição de polinários. Os visitantes florais foram capturados após realizarem a interação com as flores, sendo encaminhando para identificação por especialista para posterior depósito na coleção entomológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

A eficiência dos polinizadores foi medida por meio da proporção e relação de políneas removidas e depositadas na população. Assim, o sucesso masculino foi mensurado através da razão entre a quantidade de flores com o polinário removido e o número total de flores. Da mesma forma, o sucesso feminino foi medido por meio da razão entre o número de flores com o polinário depositados na cavidade estigmática e o número total de flores. A eficiência na transferência polínica foi avaliada através da relação entre polinários depositados e polinários removidos (Parra-Tabla *et al.* 2000).

Sistema reprodutivo e polinização aberta

Para identificação do sistema reprodutivo, botões florais foram ensacados para a realização de polinizações manuais em campo. Os tratamentos consistiram em autopolinização induzida, autopolinização espontânea e polinização cruzada. Todos os testes foram feitos em as com botões florais previamente ensacados e isolados e permaneceram isolados após a realização dos tratamentos até a formação ou não de frutos a fim de evitar qualquer contato com possíveis agentes polinizadores (Kearns & Inouye 1993). A frutificação em condições naturais (polinização aberta) foi determinada por meio de flores marcadas em toda a população e monitoradas durante todo o período de floração para a verificação de frutos formados. O sucesso reprodutivo pré-emergente foi medido através da relação entre a quantidade de frutos formados e flores amostradas. Foi medida também a eficácia reprodutiva ($ER = \% \text{ frutos formados em condições naturais} / \% \text{ frutos formados por polinização cruzada}$) (Zapata & Arroyo 1978).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Camaridium ochroleucum Lindl. ocorre como epífita em árvores e troncos caídos na campina aberta e na campinarana formando grandes aglomerados de indivíduos, todavia indivíduos isolados também podem ser observados. Possui rizoma longo tornando os pseudobulbos de formato elíptico distantes entre si e são observadas folhas dispostas disticamente rodeando o pseudobulbo e uma a duas folhas em seu ápice. As flores (Figura 2A) possuem sépalas lanceoladas e pétalas elípticas e de coloração branca. O labelo é trilobado, branco com o centro branco e possui tricomas papilosos de coloração amarela e marrom. O ginostêmio é curto e a antera é globosa composta por um polinário que comporta dois pares de políneas esbranquiçadas.

Seu florescimento ocorreu de janeiro até o começo de março e apresentou pequenos picos (cerca de dois dias) de floração durante este período, semelhante ao relatado por Braga (1977) para a espécie. As flores surgem da inserção de cada folha que se dispõe de forma dística no pseudobulbo, sendo que cada indivíduo pode produzir até sete flores por frente de crescimento. Observa-se que cada frente de crescimento exibe em média $2,07 \pm 0,95$ flores abertas por dia ($N_{\text{frentes}} = 96$; $N_{\text{flores}} = 199$; Máx = 5; Mín = 1), das quais possuem duração de no máximo dois dias quando intactas e de um dia quando o polinário é removido no primeiro dia de abertura.

A abertura das flores se iniciou por volta das 5:30 horas e as flores exibiram abertura total das peças florais entre 7:00 horas e 7:30 horas e ficaram abertas até por volta de 11:00 horas e 12:00 horas, onde ficaram entreabertas para abrirem-se no dia seguinte quando intactas. Assim a polinização ocorre de forma obrigatória no período da manhã. No momento de abertura das flores o estigma já se encontrava receptivo e foi possível perceber um aroma forte e adocicado que se estendeu até o fechamento das flores e ficou mais forte com a incidência dos raios solares.

Com o teste de vermelho neutro notou-se que as sépalas e pétalas adquiriram leves manchas avermelhadas e o labelo tornou-se avermelhado intensamente, indicando uma alta concentração de osmóforos nesta região da flor (Figura 2B). Os osmóforos são ricos em substâncias lipídicas que são provavelmente os precursores ou os perfumes em si e considera-se a fragrância floral como um atrativo floral secundário que anuncia a presença de determinada recompensa floral aos visitantes florais (Faegri & van der Pijl 1979; Swanson *et al.*, 1980; Pridgeon & Stern 1983; Proctor *et al.* 1996).

Após a fixação das flores no hidróxido de amônio observou-se que todas as peças florais ficaram amareladas sendo que o labelo adquiriu uma coloração amarelada mais intensa

com o seu centro mais escurecido (Figura 2C). Barth (1991) ressalta que o padrão de ultravioleta influencia de forma significativa na visão dos insetos e age principalmente a curta distância como indício da presença de determinada recompensa floral.

Assim é possível inferir que as flores de *Camaridium ochroleucum* Lindl. possuem formas de atração aos seus polinizadores indicando a localização do recompensa floral (tricomas alimentícios). Estas formas de atração se resumem a alta concentração de osmóforos e a maior presença de pigmentos que refletem o ultravioleta no labelo devido à coloração, respectivamente, mais avermelhada e mais amarelada. É sugerido que os tricomas peculiares de *Camaridium ochroleucum* Lindl. possam ser colhidos por polinizadores, embora a análise química e observações de polinização são necessárias para esclarecer este assunto (Singer & Koehler 2004). Em algumas espécies foi observado que os tricomas são ricos em amido, lípidos e proteínas e, portanto, eles podem ser usados pelos polinizadores para sua alimentação, alimentar as larvas ou para a construção do ninho (Davies & Winters 1998). Na espécie estes tricomas são multicelulares e apresentam a epiderme ornamentada (Figura 3A). A histoquímica demonstrou a presença de gotículas de lipídio em seu interior corroborando com a afirmação apontada anteriormente (Figura 3B). Já para as proteínas o teste foi negativo.

Durante as observações foram registradas visitas de *Melipona illustris* nas flores de *Camaridium ochroleucum* Lindl. As visitas ocorreram entre 8:00 horas e 10:00 horas e a frequência de visitação foi baixa (cerca de dois registros no dia). A visita se iniciou com o pouso no ápice do labelo e em seguida a abelha se dirigiu ao interior da flor para a coleta dos tricomas presentes na base do labelo (Figura 3D). Ao recuar na flor o inseto toca com o dorso no viscido do polinário e neste momento elas são depositadas. Além desta espécie foi registrada também a visita de *Trigona fulviventrís* Guérin (Figura 2A) que realizou o mesmo

comportamento de *Melipona illustris* além de realizar visita a flores entreabertas. Suas visitas ocorrem também entre 8:00 horas e 10:00 horas e sempre eram vistas rodeando as flores, porém visitando-as muito pouco (cerca de uma a duas visitas no dia).

Ambas as espécies de abelhas podem eventualmente atuarem como pilhadoras de pólen, uma vez que após o momento que ocorre a deposição das políneas no dorso das espécies, elas podem realizar a limpeza corporal, removendo e transferindo para o último par de pernas, sendo assim é caracterizado o uso indireto do pólen. É possível notar também que se trata de espécies polinizadoras ineficientes na remoção dos polinários, mas que possuem uma boa eficiência para transferir o pólen, ou seja, depositar na cavidade estigmática (Tabela 1).

Espécies de *Melipona* já foram documentadas como visitantes e polinizadores de espécies de orquídeas como *Polystachya estrellensis* Rchb. f. após a coleta de pseudopólen (Pansarin & Amaral 2006) e para *Psilochilus modestus* Barb. Rodr. após a coleta de pólen (Pansarin e Amaral 2008), recursos estes utilizados para a alimentação. Resende *et al.* (2008) documenta também indivíduos de *Melipona capixaba* Moure & Camargo com políneas de prováveis Maxilariinae fixadas no escutelo, mesmo local em que é fixada as políneas de *Camaridium ochroleucum* Lindl. em *Melipona illustris*. Roubik (2000) ressalta também que a fixação das políneas em determinadas partes do corpo da abelha, como por exemplo, na região dorsal do tórax, é um meio eficaz de garantir o transporte do pólen até outra flor sem ser perdida durante a limpeza corporal. Mas no caso de *Melipona ilustris* as políneas não serão removidas se depositadas no porção ventral do escutelo, uma vez que a espécie consegue realizar a limpeza em certas partes do escutelo.

Para *Trigona fulviventris* Guérin já foi documentada sua visita às flores de espécies de *Ionopsis* (Roubik 2000). De uma forma geral espécies de *Trigona* já foram observadas como

polinizadoras efetivas de outras Orchidaceae, como para *Neuwiedia veratrifolia* Blume e *Psilochilus modestus* Barb. Rodr. que são polinizadas após a coleta de pólen (Okada *et al.* 1997, Pansarin & Amaral 2008), para *Oncidium ascendens* Lindl. polinizada após a coleta de resina (Parra-Tabla 2000), para *Polystachya concreta* (Jacq.) Rchb. f. e *Polystachya estrellensis* Rchb. f. após a coleta de pseudopólen (Pansarin & Amaral 2006) e para *Maxillaria ochroleuca* Lodd. ex Lindl. após a coleta de tricomas do labelo (Singer & Koehler 2004). Assim nota-se que *Trigona* é um gênero importante na polinização de diversas espécies não relacionadas de Orchidaceae e que exploram uma série de diferentes recursos florais.

Eventuais pilhadores de pólen, tais como *Tetragona handlirschii* Friese (Figura 3B) e Apidae 1 (Figura 3C), foram raramente observados aproveitando-se da facilidade com que a capa das políneas possa se removida expondo-as além de realizarem a sua alimentação com os tricomas alimentícios. Com as políneas expostas, estas espécies realizam a sua dilaceração e as transferem para o último par de pernas. Estas espécies não realizam a polinização, apenas desempenham a eventual coleta do pólen. As suas visitas ocorreram entre as 8:00 horas e 10:00 horas e permaneceram na flor até todo o pólen ter sido recolhido. Além deste, foi observada a visita de *Tetragona goettei* Friese sem indícios da realização da polinização ou de coleta de recurso floral.

Dentre as recompensas mencionadas para Orchidaceae, o pólen é o mais raro (van der Pijl & Dodson 1966) e está disponível como recurso apenas em representantes de *Apostasia* e *Neuwiedia* (Inoue *et al.* 1995; Okada *et al.* 1996; Kocyan & Endress 2001). Para a subfamília Apostasioideae, que inclui os gêneros mencionados, o oferecimento de pólen foi feito com base na morfologia da flor, contudo observações diretas não foram feitas em algumas espécies, como para *Apostasia* (Vogel 1981). Há também a coleta do pólen como recuso para

outros gêneros como, por exemplo, *Psilochilus* (Pansarin & Amaral 2008). Existe ainda a utilização do pólen por meio da coleta indireta que já foi mencionada para espécies de *Cleisthes* (Gregg 1991; Pansarin 2003). Esta utilização do pólen por parte dos polinizadores destas espécies é possível devido o pólen não se apresentar aglutinado em políneas (Gregg 1991, Inoue *et al.* 1995; Okada *et al.* 1996; Kocyan & Endress 2001; Pansarin 2003; Pansarin & Amaral 2008), fato este que não está presente em Maxillariinae (Dressler 1993; Singer & Koehler 2004).

A eficácia reprodutiva de *C. ochroleucum* foi de 0,11. Os testes realizados para investigar o sistema reprodutivo demonstrou que a espécie é autoincompatível, necessitando obrigatoriamente da polinização cruzada, o que favorece a população, pois aumenta a variabilidade genética. Consequentemente não houve a formação de frutos por autopolinização espontânea (Tabela 2). A autoincompatibilidade já foi registrada para Maxillariinae, como por exemplo, para *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Singer *et al.* 2004), mas há a existência de espécies autocompatíveis, como *Trigonidium obtusum* Lindl. (Singer 2002). A espécie possui baixa taxa de frutificação em condições naturais, assim como apresentado por muitas outras espécies de orquídeas (Tabela 2). Isto pode ser explicado pela baixa eficiência dos polinizadores na remoção de polinário, resultando em uma baixa taxa de sucesso reprodutivo masculino (remoção de políneas). Contudo, muitos frutos podem ser perdidos até o seu amadurecimento por diversos fatores, tais como, mecanismos de incompatibilidade, ataque por patógenos, herbivoria, predação, entre outros (Ackerman 1989).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ackerman, J.D. 1986. Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination system in orchids. *Lindleyana* 1: 108-113.

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

Aguiar, J.M.R.B.V.; Pansarin, L.M.; Ackerman, J.D. & Pansarin, E.R. 2011. Biotic versus abiotic pollination in *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl. (Orchidaceae). Plant Species Biology 27(1): 86-95.

Anderson, A.B. 1981. White-sand vegetation of Brazilian Amazonia. Biotropica 13(3): 199-210.

Barros, F.; Vinhos, F.; Rodrigues, V.T.; Barberena, F.F.V.A. & Fraga, C.N. 2010. Orchidaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000179>>.

Barth, F.G. 1991. Insects and flowers. The biology of a partnership. New Jersey, Princeton University Press. 408 pp.

Borba, E.L. & Braga, P.I S. 2003. Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. Revista Brasileira de Botânica 26(4): 541-549.

Braga, P.I.S. 1977. Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. Acta Amazonica 7: 1-89.

Braga, P.I.S. 1982. Aspectos biológicas das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. II – Fitogeografia das campinas da Amazônia brasileira Manaus-Amazônia. Tese de doutorado – INPA/UFAM, 305p.

Bukatsch, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Austrablau Safranin. Mikrokosmos 61: 255.

- Dafni, A. & Maués, M.M. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sex Plant Reprod* 11: 177-180.
- Davies, K.L. & Stpiczynska M. 2012. Comparative labellar anatomy of resinsecreting and putative resin-mimic species of *Maxillaria s.l.* (Orchidaceae: Maxillariinae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 170: 405-435.
- Davies, K.L. & Winters C. 1998. Ultrastructure of the labellar epidermis in selected *Maxillaria* species (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 126: 349–361.
- Dressler, R.L. 1981. *The orchids: natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge.
- Dressler, R.L. 1993. *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*. Portland, Dioscorides, 314p.
- Dressler, R.L. 2005. How many orchid species? *Selbyana* 26: 155-158.
- Faegri, K. & Van Der Pijl, L. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. 3rd edn. Pergamon Press, Oxford.
- Fay, M.F. & Chase, M.W. 2009. Orchid biology: from Linnaeus via Darwin to the 21st century. *Annals of Botany* 104(3): 259-364.
- Gabe, M. 1968. *Techniques histologiques*. Paris: Masson & Cie. 1113p.
- Gravendeel, B.; Smithson, A.; Slik, F.J.W. & Schuiteman, A. 2004. Epiphytism and pollinator specialization: drivers for orchid diversity? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Biological Science* 359: 1523-1535.

- Gregg, K.B. 1991. Defrauding the deceitful orchid: pollen collection by pollinators of *Cleistes divaricata* and *C. bifaria*. *Lindleyana* 64: 214–220.
- Inoue, K.; Kato, M. & Inoue, T. 1995. Pollination ecology of *Dendrobium setifolium*, *Neuwiedia borneensis* and *Lecanorchis multiflora* (Orchidaceae) in Sarawak. *Tropics* 5: 95–100.
- Jürgens, A.; Bosch, S.R.; Webber, A.C.; Witt, T.; Frame, D. & Gottsberger, G. 2009. Pollination biology of *Eulophia alta* (Orchidaceae) in Amazonia: effects of pollinator composition on reproductive success in different populations. *Annals of Botany* 104: 897–912.
- Kaiser, E. 1880. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. *Botanisch Zentralb* 25-26.
- Kearns, C. & Inouye, W. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot. 583p.
- Kocyan, A. & Endress, P. K. 2001. Floral structure and development of *Apostasia* and *Neuwiedia* (Apostasioideae) and relationships to the other Orchidaceae. *Int. J. Plant Sci.* 164: 847–867.
- Kraus, J. E. & Ardium, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia*. Edur cidade. 194p.
- Luizão, F. J. 1995. *Ecological studies in contrasting forest types in Central Amazonia*. PhD Thesis, University of Stirling, 288p.

- Madergan, S. F. 2007. Abundância natural de ^{15}N em solos e folhas de áreas de campina e campinarana da Reserva Biológica de Campina – INPA, região de Manaus, Amazonas. Dissertação de mestrado, INPA-UFAM, 89p.
- Nilsson, L. A. 1992. Orchid pollination biology. *Trends in Ecology and Evolution* 7:255 -259.
- O'Brien, T. P. & McCully, M. E. 1981. *The study of plants structure principles and selected methods*. Melbourne: Termarcarphi Pty. Ltda.
- Okada, H., Kubo, S., Mori, Y. 1996. Pollination system of *Neuwiedia veratrifolia* Blume (Orchidaceae, Apostasioideae) in the Malesian wet tropics. *Acta Phytotaxon. Geobot.* 47: 173–181.
- Pansarin, E.R. & Amaral, M.C. 2008. Pollen and nectar as a reward in the basal epidendroid *Psilochilus modestus* (Orchidaceae: Triphoreae): A study of floral morphology, reproductive biology and pollination strategy. *Flora* 203: 474-483.
- Pansarin, E.R. & Amaral, M.C.E. 2006. Biologia reprodutiva e polinização de duas espécies de *Polystachya* Hook. No Sudeste do Brasil: evidências de pseudocleistogamia em Polystachyae. *Revista Brasileira de Botânica* 29(3): 423-432.
- Pansarin, E.R. & Amaral, M.C.E. 2009. Reproductive biology and pollination of southeaster Brazilian *Stanhopea* Frost *ex* Hook. (Orchidaceae). *Flora* 204: 238-249.
- Pansarin, E.R. & Pansarin, L.M. 2010. Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated bay oil-collecting bees. *Plant Biology* 13: 576-581.
- Pansarin, E.R. 2003. Biologia floral de *Cleistes macrantha* (Barb. Rodr.) Schltr. (Orchidaceae: Vanilloideae: Pogoniinae). *Revista Brasileira de Botânica* 26(1): 73-80.

- Pansarin, E.R. 2008. Reproductive biology and pollination of *Govenia utriculata*: A syrphid fly orchid pollinated through a pollen-deceptive mechanism. *Plant Species Biology* 23: 90-96.
- Pansarin, L.M.; Pansarin, E.R. & Sazima, M. 2008. Reproductive biology of *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae): a Cyrtopodinae pollinated by deceit. *Plant Biology* 10: 650-659.
- Parra-Tabla, V.; Vargas, C.F.; Magaña-Rueda, S. & Navarro, J. 2000. Female and male pollination success of *Oncidium ascendens* Lindley (Orchidaceae) in two contrasting habitat patches: forest vs agricultural field. *Biological conservation* 94(4): 335-340.
- Pridgeon, A.M. & Stern, W.L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 70: 1233–1243.
- Proctor M.; Yeo P. & Lack A. 1996. *The Natural History of Pollination*. Timber Press, OR, Portland.
- Ranzani, G. 1980. Identificação e caracterização de alguns solos da Estação Experimental de Silvicultura Tropical do INPA. *Acta Amazonica* 10(1): 7-41.
- Resende, H.C.; Barros, F.; Campos, L.A.O. & Fernandes-Salomão, T.M. 2008. Visitação de orquídea por *Melipona capixaba* Moure & Camargo (Hymenoptera: Apidae), abelha ameaçada de extinção. *Neotropical Entomology* 37(5): 609-611.
- Ribeiro, M. N. G. & Santos, A. 1975. Observações microclimáticas no ecossistema Campina Amazônica. *Acta Amazonica* 5(2); 173-182.
- Roubik, D.W. 2000. Deceptive orchids with Meliponini as pollinators. *Plant Systematics and Evolution* 222: 271-279.

- Scogin, R.; Young, D.A. & Jones, C.E. 1977. Anthochlor pigments and pollination biology: II. The ultraviolet patterns of *Coreopsis gigantea* (Asteraceae). Bulletin of the Torrey Botanical Club 104(2): 155-159.
- Silva, M.F.F. & Silva, J.B.F. 2004. Orquídeas nativas da Amazônia Brasileira II. Belém, Universidade Federal Rural do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, 540p.
- Singer, R. B.; Flach, A.; Koehler, S.; Marsaioli, A. J. & Amaral, M. C. E. Sexual mimicry in *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae:Maxillariinae). Annals of Botany 93: 755-762.
- Singer, R.B. & Koehler, S. 2004. Pollinarium morphology and floral rewards in Brazilian Maxillariinae (Orchidaceae). Annals of Botany 93: 39–51.
- Singer, R.B. 2001. Biologia da polinização em orquídeas nativas da região sudeste do Brasil. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, Campinas, São Paulo, 114p.
- Singer, R.B. 2002. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl. (Orchidaceae: Maxillariinae): Sexual mimicry and Trap-flowers. Annals of Botany 89: 1570163.
- Smidt, E. C.; Silva-Pereira, V. & Borba, E. L. 2006. Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north-eastern Brazil. Plant Species Biology 21: 85-91.
- Storti, E.F.; Braga, P.I.S. & Storti-Filho, A. 2011. Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado* uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. Acta Amazonica 41(3): 361-368.
- Swanson, E.S.; Cunningham, W.P. & Holman R.T. 1980. Ultrastructure of glandular ovarian trichomes of *Cypripedium calceolus* and *C. reginae* (Orchidaceae). American Journal of Botany 67: 784–789.

Van Der Pijl, L & Dodson, C.H. 1966. Orchid flowers: their pollination an evolution. Coral Gables: University of Miami Press.

Wiemer, A.P.; Moré, M.; Benitez-Vieyra, S.; Cocucci, A.A.; Raguso, R.A. & Sérsic, A.N. 2009. A simple floral fragrance and unusual osmophore structure in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). *Plant Biology* 11(4): 506-514.

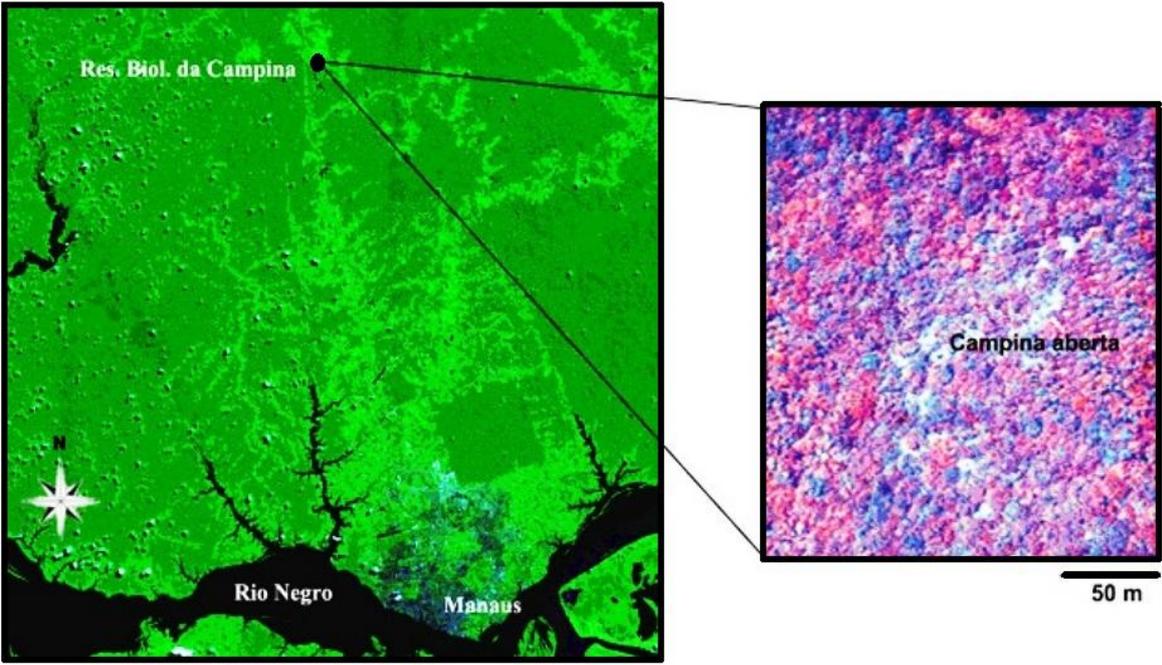
Zapata, T. R. & Arroyo, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.

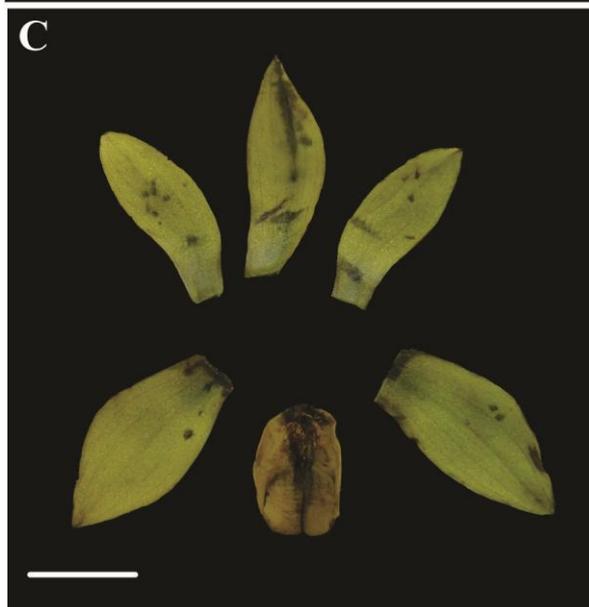
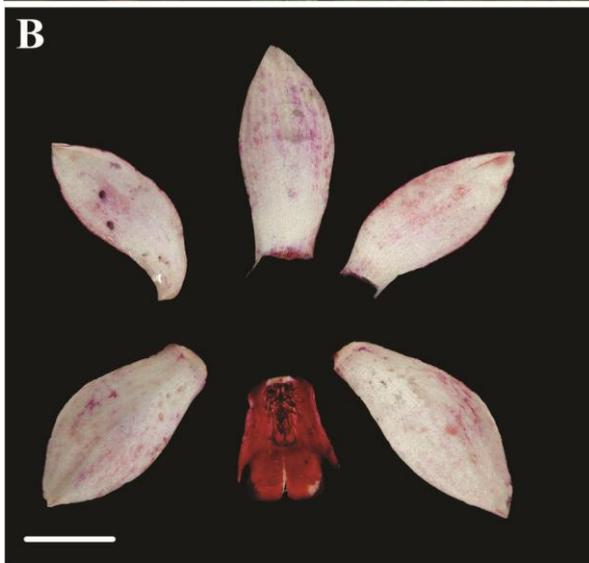
Figura 1: Localização da área de estudo – Reserva Biológica de Campina. Fonte: Madergan (2007).

Figura 2: A – *Camaridium ochrloeucum* Lindl; B – Teste de vermelho neutro; C – Teste com hidróxido de amônio.

Figura 3: Anatomia dos tricomas das flores de *Camaridium ochrloeucum* Lindl; A – Anatomia geral do tricomas; B – Teste de lipídios nos tricomas.

Figura 4: A – Visita de *Trigona fulviventris* Guérin; B – Coleta de pólen por *Tetragona handlirschii* Friese; C – Coleta de pólen por Apidae 1; D – Tricomas alimentícios do labelo de *Camaridium ochrloeucum* Lindl.





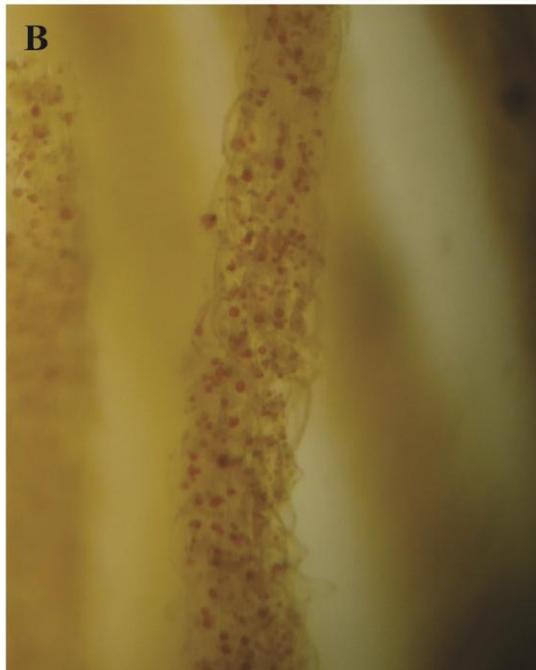
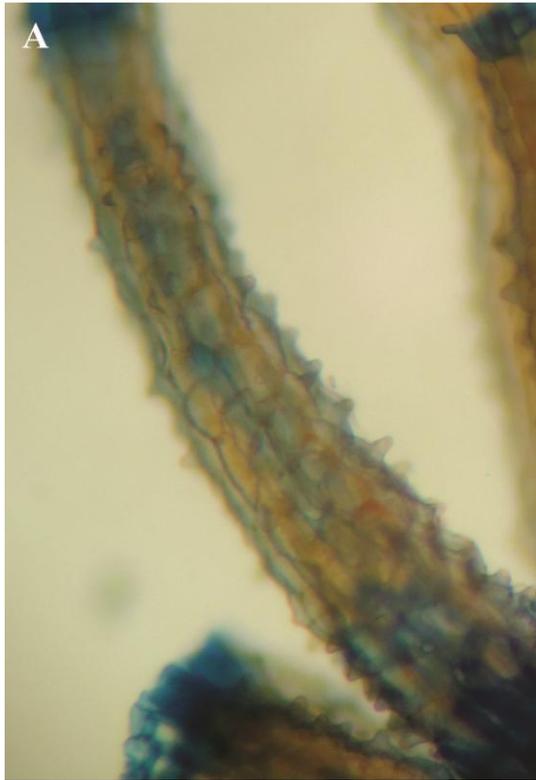




Tabela 1. Porcentagens da eficiência do polinizador de *Camaridium ochroleucum* Lindl. na Reserva Biológica de Campina 2013. SRM = Sucesso reprodutivo masculino; SRF = Sucesso reprodutivo feminino; e ETP = Eficiência na transferência de pólen.

	Cálculo / Porcentagem
SRM	$(29^* / 168^{***}) \times 100 = 17,26\%$
SRF	$(17^{**} / 168^{***}) \times 100 = 10,12\%$
ETP	$(17^{**} / 29^*) \times 100 = 58,62\%$

*Polinários removidos; ** Polinários depositados; *** Total de flores. / Obs.: 122 flores intactas.

Tabela 2. Porcentagens de frutificação em cada um dos testes relacionados ao sistema reprodutivo e em condições naturais e eficácia reprodutiva de *Camaridium ochroleucum* Lindl. no ano de 2012.

Tratamentos	Frutificação (Flores/frutos)
Autopolinização induzida	0% (0/4)
Polinização cruzada	75% (3/4)
Autopolinização espontânea	0% (0/4)
Condições naturais	8,16 % (24/294)
Eficácia reprodutiva	$8,16\% / 75\% = 0,11$

Capítulo 4

Krahl, A.H. & Webber, A.C. Influência negativa da herbivoria no sucesso reprodutivo: aspectos da biologia reprodutiva de *Ornithidium rigidum* (Orchidaceae). Artigo formatado para a *Acta Botanica Brasilica*.

Influência negativa da herbivoria no sucesso reprodutivo: aspectos da biologia reprodutiva de
Ornithidium rigidum (Orchidaceae)¹

Amauri Herbert KRAHL^{2,4} & Antonio Carlos WEBBER³

¹Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Departamento de Botânica, Av. André Araújo, 2936, Aleixo, Manaus, AM – 69.060-001.

³Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Departamento de Biologia – ICB, Bloco E, Av. Gal. Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 3000, Manaus, AM – 69.077-000.

⁴Autor para correspondência: amaurikrahl@hotmail.com

Resumo: Objetivou-se relatar aspectos da biologia reprodutiva, complementar informações e destacar mudanças que ocorreram para *Ornithidium rigidum*. O labelo da espécie possui uma calosidade e para os testes histoquímicos houve positividade para alcalóides, amido, lipídios, mucilagem e proteína. Possui osmóforos em maior quantidade na região mediana do labelo e para o hidróxido de amônio a flor adquiriu coloração amarelada em especial o labelo. É visitada por *Polybia bistriata* que coleta uma substância produzida na calosidade do labelo da qual provavelmente é utilizada na alimentação. Interações antagonísticas também foram observadas, tais como a herbivoria das flores por formigas cortadeiras, no que resultou em taxa nula de frutificação em meio natural. Por meio das polinizações controladas a espécie se demonstrou autoincompatível.

Palavras chave: Maxillariinae, *Polybia*, Vespidae, população em risco.

Abstract: The objective was to describe the reproductive biology, complementary information and highlight changes that occurred to *Ornithidium rigidum* (Barb. Rodr.) MABlanco & Ojeda. The lip of the species has a callus and histochemical tests were positive for alkaloids, starch, lipid, protein and mucilage. It has osmophores in greater quantity in the midline of the lip and the flower turned yellowish with ammonium hydroxide, especially on the lip. It is visited by *Polybia bistriata* which collects a substance produced in the callus of the lip which is probably used for food. Antagonistic interactions were observed, such as herbivory of flowers by ants, which resulted in no fruit in the wild. However, controlled pollinations showed the species is self-incompatible.

Keywords: Maxillariinae, *Polybia*, Vespidae, population at risk.

Introdução

Ao se analisar atentamente a morfologia floral é possível dizer que as orquídeas são objetos de estudo adequados para a realização de observações referentes à biologia floral e polinização em um âmbito geral (Singer 2001). Pelo fato das orquídeas possuírem polinários, como em Epidendroideae, a retirada e deposição das políneas por um determinado agente polinizador pode ser com facilidade acompanhada e visualizada, o que permite aferir a autêntica eficiência deste dado visitante floral, além de tornar processo de polinização facilmente acompanhado em condições naturais (Dressler 1993).

Orchidaceae compreende a maior família botânica com flor e compreender aproximadamente 25.000 espécies distribuídas em aproximadamente 850 gêneros que ocorrem em quase todas as regiões do planeta, tendo a região tropical grande destaque (Chase *et al.* 2003; Dressler 2005). No Brasil ocorrem cerca de 2.437 espécies em cerca de 236 gêneros (Barros *et al.* 2010), sendo que 709 espécies e 131 gêneros estão presentes na Amazônia brasileira (Silva & Silva 2004).

Na Amazônia brasileira ocorre um complexo de vegetações e as orquídeas estão presentes em diversos destes ambientes, mantendo-se em habitats específicos, como por exemplo, nas campinas amazônicas, das quais possuem 115 espécies, 64 gêneros e um híbrido natural (Braga 1982). Diversos foram os trabalhos com orquídeas desenvolvidos para esta formação vegetacional da Amazônia brasileira nas décadas de 70 e 80 até os dias de hoje, sendo que apenas três trataram sobre os aspectos da biologia reprodutiva das espécies até o momento (Braga 1977, Jürgens *et al.* 2009, Storti *et al.* 2011).

Dentre estes estudos, Braga (1977) estudou os aspectos relacionados à biologia reprodutiva de 31 espécies em uma campina e campinarana amazônica, porém uma série de informações gerais foram apresentadas e conseqüentemente os polinizadores e os mecanismos de polinização de algumas delas foram dados como desconhecidos. Além disso, o sistema reprodutivo destas espécies também é desconhecido. Nove espécies pertencentes à Maxillariinae foram estudadas por Braga (1977), das quais oito possuem o mecanismo de polinização e os visitantes florais desconhecidos. Além deste estudo, podemos citar para a subtribo Maxillariinae apenas os trabalhos realizados por Singer (2002) e Singer *et al.* (2004) que abordaram a polinização de *Trigonidium obtusum* e *Mormolyca ringens* respectivamente.

O gênero *Ornithidium* compreende cerca de 50 espécies (Blanco *et al.* 2007) e são escassas as informações relacionadas aos polinizadores e mecanismos de polinização para estas espécies, sendo possível citar apenas Braga (1977) que apresentou o mecanismo de polinização de *Ornithidium rigidum* (Barb. Rodr.) M.A. Blanco & Ojeda (= *Maxillaria pendens* Pabst). Contudo, neste trabalho não foram abordados aspectos da biologia floral e sistema reprodutivo da espécie. Sendo assim, após três décadas e meia do estudo realizado por Braga (1977), este trabalho teve como objetivo relatar aspectos da biologia reprodutiva, complementar as informações e destacar mudanças que ocorreram para *O. rigidum*.

Material e métodos

O trabalho de campo foi conduzido em uma área de campina da Reserva Biológica de Campina do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, a qual está localizada no km 44 da BR 174. A reserva possui 900 ha, sendo que 3 ha correspondem a área de campina, 150 ha de campinarana e o restante correspondendo a floresta de terra firme (Luizão 1995). No presente estudo, as observações foram feitas exclusivamente em uma área de campina. A precipitação é mais intensa no período de dezembro a maio, e entre junho e novembro ocorre menor quantidade de chuva (Braga 1977). A temperatura varia de 24° a 27° C podendo alcançar máxima de 38° C e mínima de 18° C e a umidade do ar varia de 81% a 90% (Ribeiro & Santos 1975, Luizão 1995). O clima é do tipo Af_i segundo a classificação de Köppen (1948). O solo é ácido e pobre em nutrientes, sendo composto por sedimentos que datam do terciário e do quaternário que são depósitos de areias quartzosas distróficas (Ranzani 1980). Dentro da área de campina a temperatura do solo varia de acordo com a ausência ou presença de vegetação, sendo que em lugares expostos a temperatura da areia varia de 25,6° C a 42,3° C, em solo semicoberto composto por areia e líquens a temperatura varia de 23,6° C a 32,4° C e em solo sob vegetação observa-se uma variação de 23,3° C a 29,4° C (Ribeiro & Santos 1975). A vegetação situada sobre solo arenoso branco é classificada como campina aberta, a qual apresenta uma vegetação raquítica e de baixo porte com escleromorfismo acentuado, além de ser possível observar machas de solo exposto com penetração excessiva de luz. Desta forma, há o agrupamento de plantas formando ilhas de vegetação, podendo ocorrer de forma contínua, mas a vegetação mantém as mesmas características (Anderson 1981, Braga 1982).

A caracterização morfológica foi baseada em indivíduos da área estudada e o material testemunho encontra-se depositado na coleção do herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Flores foram fixadas por 24 horas em FNT (Formalina Neutra Tamponada à 10%) e em seguida em álcool a 70% para a realização de corte anatômicos, os quais foram corados com safrablau para a caracterização da calosidade presente no labelo. A partir de flores frescas, foram feitos cortes anatômicos na mesma região da calosidade e empregado os seguintes testes: reagente de Dittmar para alcalóides (Furr & Mahlberg 1981), lugol para amido (Johansen 1940), sudan III para lipídios (Gabe 1968), ácido tânico para mucilagem (Foster 1934), vermelho de rutênio para pectinas (Langeron 1949), xilidini ponceau para proteínas (O'Brien & McCully 1981) e vanilina clorídrica para taninos (Mace & Howell 1974).

Para testar a receptividade do estigma foi utilizado peróxido de hidrogênio (Kearns & Inouye 1993; Dafni & Maués 1998). Flores foram imersas em vermelho neutro (1:10000) por 15 minutos para a detecção dos osmóforos (Kearns & Inouye 1993). Foi feita a fixação de flores em atmosfera de amônio para detectar pigmentos que refletem luz ultravioleta (Scoogin *et al.* 1977).

Durante a floração foram feitas observações referentes aos visitantes florais, ao mecanismo de polinização e interações antagonísticas a polinização. Os visitantes foram capturados, encaminhados a especialistas para a identificação e encontram-se depositados na coleção entomológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Para identificar o sistema reprodutivo da espécie foram realizados os seguintes teste em flores intactas e isoladas na fase de botão floral: autopolinização induzida, autopolinização espontânea, geitonogamia e polinização cruzada (Kearns & Inouye 1993). Por meio da marcação e acompanhamento de flores de indivíduos da população da campina, foi possível mensurar a taxa de polinização em condição natural. O sucesso reprodutivo foi medido através da relação entre a quantidade de frutos formados e flores amostradas. Foi medida também a eficácia reprodutiva ($ER = \% \text{ frutos formados em condições naturais} / \% \text{ frutos formados por polinização cruzada}$) (Zapata & Arroyo 1978).

Resultados e discussão

Ornithidium rigidum (Barb. Rodr.) M.A.Blanco & Ojeda é epífita na campina aberta e na campinarana formando densos aglomerados de indivíduos, entretanto indivíduos isolados também podem ser encontrados. Possui um rizoma alongado tornando os pseudobulbos distantes entre si e pêndulos. Observam-se folhas recobrindo o pseudobulbo e em seu ápice há a presença de apenas uma única folha. As flores surgem da lateral do pseudobulbo e possuem coloração que varia do creme amarelado até ao creme levemente arroxeadado (Figura 2A-B). As sépalas são lanceoladas, sendo que as laterais são encurvadas e as pétalas também são lanceoladas e encurvadas. O labelo é trilobado e possui uma calosidade basal, os lobos laterais são arredondados e voltados para cima e o lobo terminal é oval e flabelado. O ginostêmio é arqueado e porta uma antera com um polinário composto por dois pares de políneas didínamas.

O florescimento da espécie ocorreu no mês de maio, mesmo período apresentado por Braga (1977). Cada pseudobulbo produz em média $14,44 \pm 9,44$ flores ($N_{\text{pseudobulbos}} = 27$; $N_{\text{flores}} = 390$; Máx. = 42; Mín. = 4), em se observa de duas a três até todas as flores abertas e abrem-se cerca de três a quatro flores por dia. A abertura das flores não possui horário definido, mas se iniciam no período da manhã e assim que abrem o estigma já se encontra receptivo. O número de flores abertas ao mesmo tempo e consequentemente a arquitetura da inflorescência pode influenciar de forma significativa na atração dos polinizadores. Assim grandes arranjos florais podem atrair mais polinizadores e consequentemente aumentar o sucesso masculino e feminino (Montalvo & Ackerman 1987). Seguindo este raciocínio, tal fato pode ser aplicado a *O. rigidum* uma vez que é possível observar indivíduos com até 42 flores

disponíveis ao mesmo tempo em um único pseudobulbo, tornando-o mais atrativo aos seus visitantes florais.

A partir do teste de vermelho neutro foram observadas pontuações avermelhadas na região media para a base do labelo (Figura 3A), indicando a presença das estruturas secretoras de odor. Por meio da caracterização olfativa foi possível detectar durante todo o dia um aroma doce que se apurou quando houve a incidência dos raios luminosos nas flores. A fragrância floral comumente atua como um atrativo floral secundário que anuncia a presença de determinada recompensa aos visitantes florais (Faegri & van der Pijl 1979, Proctor *et al.* 1996). Neste caso a maior presença de osmóforos nesta região do labelo de *O. rigidum* indica a presença da recompensa localizada na calosidade do labelo.

Após a exposição à atmosfera de amônio observou-se que as peças florais da espécie ficaram com uma intensa coloração amarelada demonstrando a reflexão do ultravioleta, em especial o labelo, demonstrando mais uma vez a indicação da recompensa localizada na calosidade do labelo (Figura 3B). O padrão de reflexão é de grande importância para a visão dos insetos, pois a curta distância indica a presença de determinado recurso (Barth 1991) e no estudo de Braga (1976) é ressaltado que algumas espécies de Orchidaceae possuem a reflexão do ultravioleta em suas calosidades.

Anatomicamente a calosidade do labelo é composta basicamente por células arredondadas e observam-se algumas células de maior diâmetro indicando a presença substância (Figura 4A). Para os testes realizados houve positividade para alcalóides, amido, lipídios, mucilagem e proteína (Figura 4C-E). A presença de lipídios já era esperada devido à presença de osmóforos que possuem constituição lipídica. De modo geral, nas orquídeas os osmóforos são ricos em substâncias lipídicas que são os precursores dos perfumes (Swanson *et al.*, 1980; Pridgeon & Stern 1983). Em algumas espécies de Maxillariinae já foi observado que os tricomas do labelo são ricos em amido, lípidos e proteínas e, portanto, eles podem ser usados pelos polinizadores para sua alimentação, alimentar as larvas ou para a construção do ninho (Davies & Winters 1998).

O amido é um polissacarídeo armazenado pelas células como uma fonte de energia (González 1999) e em papilas do labelo de diferentes espécies de *Maxillaria* já foi relatada a ocorrência de grão de amido associado com diversas estruturas secretoras, tais como, nectários e osmóforos (Davies & Turner 2004). Em Orchidaceae a ocorrência de grão de amido já foi previamente relatada em associação com a produção de mucilagem (Leitão & Cortelazzo 2008). A presença de mucilagem pode ser uma característica importante por se tratar de um produto natural do metabolismo de algumas plantas e exerce a função de reserva de carboidratos e de retenção de água e, além disso, esta substância possui um papel fundamental na regulação da economia hídrica (Costa 1982, Fahn & Cutler 1992, Pimenta-Barrios &

Nobel 1998). Em flores a presença de mucilagem pode estar associada também à proteção contra a ação de chuvas fortes, ataque de patógenos e outros danos (Clarke *et al.* 1979, Lipp *et al.* 1994).

Como polinizador legítimo foi observado um Vespidae identificado como *Polybia bistriata* (Fabricius) (Figura 5A). No estudo realizado por Braga (1977) outro Vespidae, *Agelaia cf. pallipes* (Olivier) (= *Stelopolybia cf. pallipes* (Olivier)) também foi observado como polinizador de *Ornithidium rigidum* (Barb. Rodr.) M.A. Blanco & Ojeda, do qual não foi visto durante as atuais observações. O mecanismo de polinização é semelhante ao descrito por Braga (1977) no qual o Vespidae pousa em alguma parte da flor e caminha sobre ela até se alinhar com o labelo do qual é deslocado para baixo possibilitando a sua entrada na flor. Após a coleta da substância na calosidade o inseto se desloca para trás sendo impedido de ir para os lados pelos lobos laterais do labelo e acaba encostando a região frontal da cabeça na antera onde o polínario se fixa. A deposição na cavidade estigmática ocorre quando é realizada uma visita à outra flor. O mesmo local de fixação das políneas foi observado por Braga (1977) demonstrando a adaptação da espécie ao grupo das vespas.

Este Vespidae supostamente coleta a substância produzida na calosidade do labelo. Tem sido proposto que esta substância comumente secretada por representantes de Maxillariinae seja utilizada para a construção ou reparação de ninhos, para a selagem das células de cria do ninho ou ainda para a alimentação (Flach *et al.* 2004; Singer & Koehler 2004; Davies & Stpiczynska 2012). Em algumas espécies da subtribo tal secreção possui polissacarídeos, o que permitem inferir com maior certeza a sua utilização como alimento (Davies *et al.* 2003). Além disso, a espécie pode oferecer néctar em pequenas quantidades, do qual é encontrado na forma de pequenas gotículas na base da coluna (Singer & Koehler 2004)

Outros eventuais visitantes florais também foram observados, tais como aracnídeos camuflados nas flores da espécie estudada (Figura 5E), onde realizaram a predação de *Polybia bistriata* (Fabricius) durante as observações o que influencia de forma negativa para que a polinização ocorra. Grilos e gafanhotos foram observados predando as peças florais de *O. rigidum*, danificando algumas flores e tornando-as menos atrativas (Figura 5C). Contudo, o fato que mais influenciou de forma negativa para que a polinização das flores ocorresse foi à presença de *Trachymyrmex cornetzi* (Forel, 1912) inviabilizando totalmente todas as flores de diversos pseudobulbos pelo período da manhã (Figura 5B). Esta espécie pertence a um grupo de formigas que cultivam um determinado fungo simbiote, sendo necessária a coleta de vários substratos para o seu cultivo, incluindo partes vegetais (Weber 1958).

Estas formigas realizam o corte no pedúnculo das flores de *O. rigidum*, as quais caem no chão por completo e mesmo que a polinização tenha ocorrido, nenhum fruto se formará. Ressaltasse que a atividade das formigas ocorrem pela manhã, por volta das 8:00h e em flores abertas, nunca em botões

florais. Tal fato ocorre em flores presentes na campina aberta e na campinarana e este deve ser o motivo pelo qual não vem sendo observada a formação natural de frutos há anos neste local. Desta forma a espécie apresentou apenas a reprodução vegetativa como estratégia de propagação durante este ano observado, o que não é muito viável para a espécie. Este deve ser também o principal fator responsável por não ser observada a presença de frutos de *O. rigidum* na localidade durante os últimos anos (Valsko, comunicação pessoal).

De acordo com os testes realizados para identificar o sistema reprodutivo da espécie, admite-se que seja autoincompatível, por não formar frutos por meio de autopolinização induzida e por geitonogamia (Tabela 1). Algumas flores utilizadas na xenogamia não produziram frutos. Braga (1976) menciona que alguns fatores, tais como, fungos e variações na temperatura e umidade, possam influenciar no aborto de flores polinizadas. A autoincompatibilidade já foi registrada para Maxillariinae, como por exemplo, para *M. ringens*. (Singer *et al.* 2004), mas há a existência de espécies autocompatíveis também, como *T. obtusum* (Singer 2002).

A espécie também não forma frutos por autopolinização espontânea (Tabela 1), assim como observado por Braga (1977), demonstrando a necessidade da polinização cruzada como forma de reprodução. Braga (1977) também observou que *Ornithidium parviflorum* não forma frutos por meio de autofecundação. A ausência de autogamia em representantes da família é de fato comum devido à presença de barreiras mecânicas, tais como a presença do rostelo, impedindo com que as políneas entrem em contato com a cavidade estigmática, caracterizando uma hercogamia (van der Pijl & Dodson 1966).

Em condições naturais a formação de frutos foi nula (Tabela 1) fato preocupante para a população desta localidade (Tabela 1). Este acontecimento não foi descrito por Braga (1977), que registrou a frutificação no ano em que realizou suas observações. Sugere-se que a população tenha se propagado apenas pela propagação vegetativa não tendo incrementação na variabilidade genética local durante o ano de observações. Vale ressaltar também que muitos frutos podem ser perdidos até a sua maturidade por múltiplos fatores, tais como, mecanismos de incompatibilidade, ataque por patógenos, herbivoria, predação, entre outros (Ackerman 1989).

Devido ao fato de não ter sido observado formação de frutos em condições naturais a eficácia reprodutiva de *O. rigidum* foi nula também. Assim, o percentual de frutos formados naturalmente foi bem menor do que o percentual de frutos formados manualmente. Neste caso, este fato se dá pela inviabilização de todas as flores produzidas em campo pelas formigas cortadeiras. A presença da hercogamia, como observado para *O. rigidum*, é também um mecanismo típico de vegetais com baixa eficácia reprodutiva que dependem preponderantemente da reprodução por meio da xenogamia (Baker 1983), visto também que a espécie em questão é autoincompatível.

Referências bibliográficas

- Ackerman, J.D. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Systematic Botany* 14: 101-109.
- Baker, H. G. 1983. An outline of the history of anthecology, or pollination biology. In: Real, L. (ed.). *Pollination biology*. Orlando: Academic Press, pp.7-28.
- Barros, F.; Vinhos, F.; Rodrigues, V. T.; Barberena, F. F. V. A. & Fraga, C. N. 2010. Orchidaceae. In: *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000179>>.
- Barth, F. G. 1991. *Insects and flowers. The biology of a partnership*. New Jersey, Princeton University Press. 408 pp.
- Blanco, M. A.; Carnevali, G.; Whitten, W. M.; Singer, R. B.; Koehler, S.; Williams, N. H.; Ojeda, I.; Neubig, K. M. & Endara, L. 2007. Generic realignments in Maxillariinae (Orchidaceae). *Lankesteriana* 7(3): 515-537.
- Braga, P.I.S. 1976. Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. Dissertação de mestrado – INPA/UFAM, 159p.
- Braga, P.I.S. 1977. Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. *Acta Amazonica* 7: 1-89.
- Braga, P.I.S. 1982. *Aspectos biológicas das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. II – Fitogeografia das campinas da Amazônia brasileira Manaus-Amazônia*. Tese de doutorado – INPA/UFAM, 305p.
- Chase, M.W.; Freudenstein, J.V.; Cameron, K.M. & Barrett, R.L. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. In: Dixon KW, Kell SP, Barrett RL, Cribb PJ eds. *Orchid conservation*. Kota Kinabalu: Natural History Publications, 69–89.
- Clarke A. E.; Andreson R. L. & Stone B. A. 1979. Form and function of arabinogalactans and arabinogalactan-proteins. *Phytochemistry* 18: 521–540.
- Costa, A.F. 1982. *Farmacognosia*. Vol.III. *Farmacognosia Experimental*. 2ª ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1032p.

- Dafni, A. & Maués, M.M. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sex Plant Reprod* 11: 177-180.
- Davies, K.L. & Stpiczynska M. 2012. Comparative labellar anatomy of resinsecreting and putative resin-mimic species of *Maxillaria s.l.* (Orchidaceae: Maxillariinae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 170: 405-435.
- Davies, K.L. & Turner, M.P. 2004. Morphology of floral papillae in *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). *Annals of Botany* 93: 75–86.
- Davies, K.L. & Winters C. 1998. Ultrastructure of the labellar epidermis in selected *Maxillaria* species (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 126: 349–361.
- Davies, K.L.; Turner, M.P. & Gregg, A. 2003. Atypical pseudopollen-forming hairs in *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 143: 151–158.
- Dressler, R.L. 1993. *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*. Portland, Dioscorides, 314p.
- Dressler, R.L. 2005. How many orchid species? *Selbyana* 26: 155-158.
- Faegri, K. & Van Der Pijl, L. 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. 3rd edn. Pergamon Press, Oxford.
- Fahn, A. & Cutler, D. F. 1992. *Xerophytes*. Germany, Gebrüder Borntraeger. 176p.
- Flach, A.; Dondon, R. C.; Singer, R. B.; Koehler, S.; Amaral, M. C. E. & Marsaioli, A. J. 2004. The chemistry of pollination in selected Brazilian Maxillariinae orchids: floral rewards and fragrance. *Journal of Chemical Ecology* 30: 1045–1056.
- Foster, A.S. 1934. The use of tannic acid and iron chloride for staining cell walls in meristematic tissue. *Stain Technol* 9(3):91-92.
- Furr, M.; Mahlberg, P.G. 1981. Histochemical analysis os laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products* 44: 153-159.
- Gabe, M. 1968. *Techniques histologiques*. Paris: Masson & Cie. 1113p.
- González M. L. 1999. Polisacáridos. *In*: Del Fresno A. M. (ed.). *Farmacognosia General*. Ed. Síntesis, Madri, p. 335.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York, MacGraw-Hill Book Co. Inc, 523p.

- Jürgens, A.; Bosch, S.R.; Webber, A.C.; Witt, T.; Frame, D. & Gottsberger, G. 2009. Pollination biology of *Eulophia alta* (Orchidaceae) in Amazonia: effects of pollinator composition on reproductive success in different populations. *Annals of Botany* 104: 897-912.
- Kearns, C. & Inouye, W. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Niwot. 583p.
- Langeron, M. 1949. *Précis de microscopie*. Paris, Masson et Cie. Editeurs, 1430p.
- Leitão C.A.E. & Cortelazzo A.L. 2008. Structural and histochemical characterization of the colletes of *Rodriguezia venusta* (Orchidaceae). *Australian Journal of Botany* 56: 161–165.
- Lipp C. C.; Goldstein G.; Meinzer F. C. & Niemczura W. 1994. Freezing tolerance and avoidance in high-elevation Hawaiian plants. *Plant, Cell and Environment* 17: 1035–1044.
- Luizão, F. J. 1995. Ecological studies in contrasting forest types in Central Amazonia. PhD Thesis, University of Stirling, 288p.
- Mace, M. E.; Howell, C. R. 1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. *Phytopathology* 64: 1297-1302.
- Montalvo, A. M. & Ackerman, J. D. 1987. Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *Biotropica* 19: 24-31.
- O'Brien, T. P.; McCully, M. E. 1981. *The study of plants structure principles and selected methods*. Melbourne: Termarcaphi Pty. Ltda.
- Parra-Tabla, V.; Vargas, C. F.; Magaña-Rueda, S. & Navarro, J. 2000. Female and male pollination success of *Oncidium ascendens* Lindley (Orchidaceae) in two contrasting habitat patches: forest vs agricultural field. *Biological conservation* 94(4): 335-340.
- Pimienta-Barrios E. & Nobel P. S. 1998. Vegetative, reproductive and physiological adaptations to aridity of pitayo (*Stenocereus queretaroensis*, Cactaceae). *Economic Botany* 52: 401–411.
- Pridgeon, A. M. & Stern, W. L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 70: 1233–1243.
- Proctor M.; Yeo P. & Lack A. 1996. *The Natural History of Pollination*. Timber Press, OR, Portland.
- Ranzani, G. 1980. Identificação e caracterização de alguns solos da Estação Experimental de Silvicultura Tropical do INPA. *Acta Amazonica* 10(1): 7-41.

- Ribeiro, M. N. G. & Santos, A. 1975. Observações microclimáticas no ecossistema Campina Amazônica. *Acta Amazonica* 5(2): 173-182.
- Scogin, R.; Young, D. A. & Jones, C. E. 1977. Anthochlor pigments and pollination biology: II. The ultraviolet patterns of *Coreopsis gigantea* (Asteraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 104(2): 155-159.
- Silva, M.F.F. & Silva, J.B.F. 2004. Orquídeas nativas da Amazônia Brasileira II. Belém, Universidade Federal Rural do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, 540p.
- Singer, R.B. & Koehler, S. 2004. Pollinarium morphology and floral rewards in Brazilian Maxillariinae (Orchidaceae). *Annals of Botany* 93: 39–51.
- Singer, R.B. 2001. *Biologia da polinização em orquídeas nativas da região sudeste do Brasil*. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, Campinas, São Paulo, 114p.
- Singer, R.B. 2002. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl. (Orchidaceae: Maxillariinae): Sexual mimicry and Trap-flowers. *Annals of Botany* 89: 1570163.
- Singer, R.B.; Flach, A.; Koehler, S.; Marsaioli, A.J. & Amaral, M.C.E. 2004. Sexual mimicry in *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae:Maxillariinae). *Annals of Botany* 93: 755-762.
- Storti, E.F.; Braga, P.I.S. & Storti-Filho, A. 2011. Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado* uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. *Acta Amazonica* 41(3): 361-368.
- Swanson, E.S.; Cunningham, W.P. & Holman R.T. 1980. Ultrastructure of glandular ovarian trichomes of *Cypripedium calceolus* and *C. reginae* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 67: 784–789.
- Weber, N.A. 1958. Nomenclatural Changes in *Trachymyrmex* (Hym.: Formicidae, Attini). Reprinted from *Entomological News* 69(2): 49-55.
- Wiemer, A.P.; Moré, M.; Benitez-Vieyra, S.; Cocucci, A.A.; Raguso, R.A. & Sérsic, A.N. 2009. A simple floral fragrance and unusual osmophore structure in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). *Plant Biology* 11(4): 506-514.
- Zapata, T. R. & Arroyo, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.

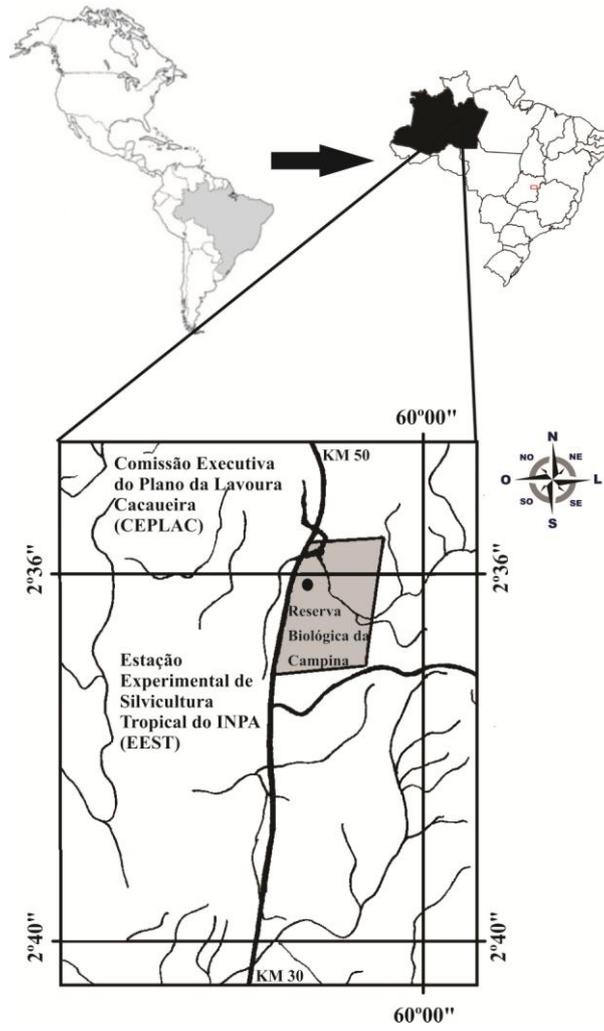
Figura 1: Localização da área de estudo.

Figura 2: A-B – *Ornithidium rigidum* (Barb. Rodr.) M.A.Blanco & Ojeda;

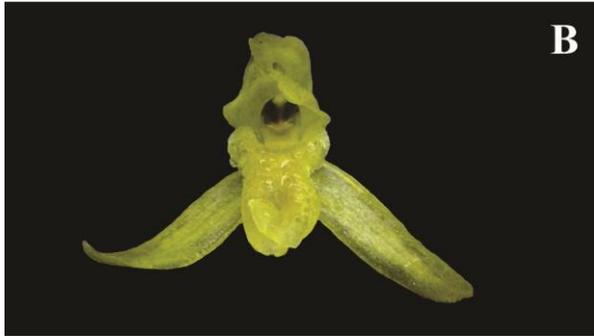
Figura 3: A – Teste de vermelho neutro; B – Exposição à atmosfera de hidróxido de amônio

Figura 4: A – Corte anatômico transversal da calosidade do labelo; B – Teste para alcalóides; C – Teste para amido; D – Teste para lipídios; E - Teste para mucilagem; F – Teste para proteínas

Figura 5: A – *Polybia bistrriata* visitando flores de *Ornithidium rigidum*; B – Camuflagem de aracnídeo nas flores; C – Flores predadas por grilo; D – Flores predadas por *Trachymyrmex cornetzi*.







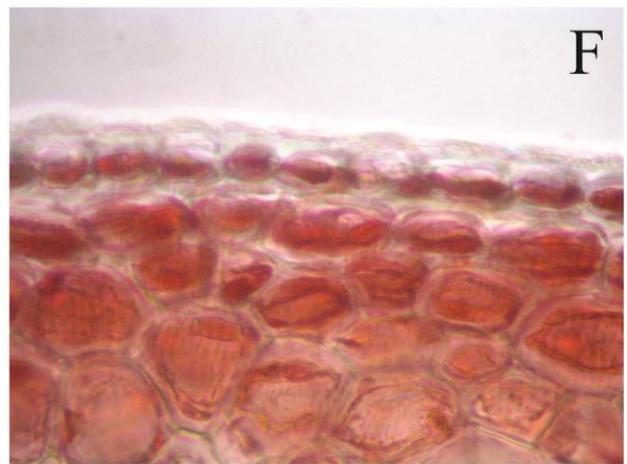
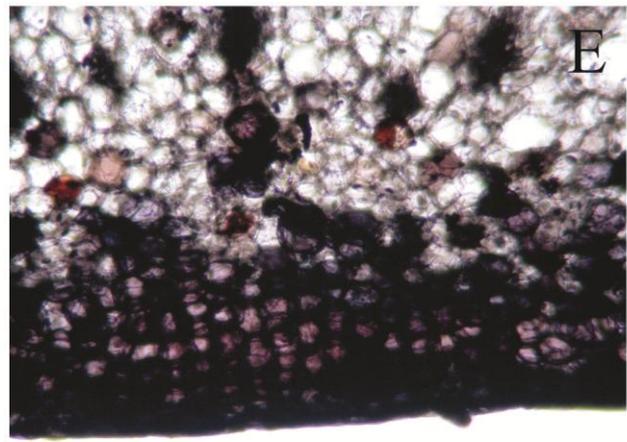
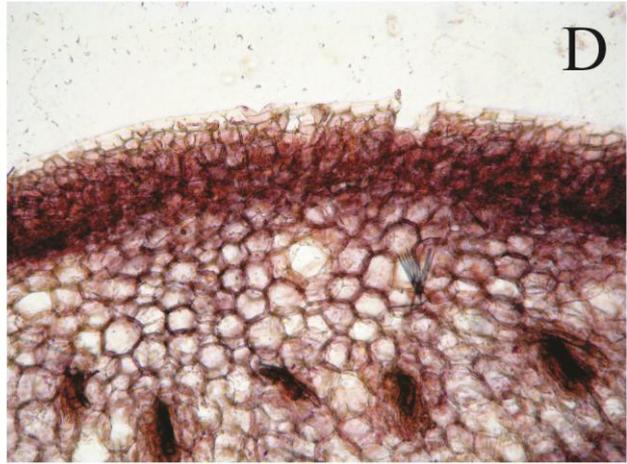
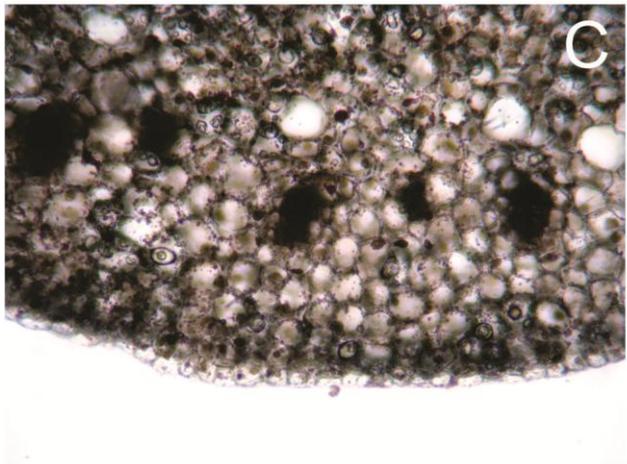




Tabela 1. Porcentagens de frutificação em cada um dos testes relacionados ao sistema reprodutivo e em condições naturais e eficácia reprodutiva de *Ornithidium rigidum* (Barb. Rodr.) M.A.Blanco & Ojeda no ano de 2012.

Tratamentos	Frutificação (Frutos/flores)
Autopolinização induzida	0% (0/30)
Geitonogamia	0% (0/13)
Polinização cruzada	58,82% (7/18)
Autopolinização espontânea	0% (0/7)
Condições naturais	0 % (0/400)
Eficácia reprodutiva	0% / 58,82% = 0

SÍNTESE

Todas as espécies estudadas são polinizadas por insetos representantes de Hymenoptera, demonstrando a importância da ordem na polinização das espécies de Orchidaceae no geral. Três delas são polinizadas por abelhas enquanto que uma é polinizada por uma vespa. Uma demonstrou não oferecer nenhum recurso floral, sendo polinizada por engano enquanto que as demais oferecem alguma recompensa, como resina, tricomas alimentares ou néctar. Duas são autocompatíveis e duas são autoincompatíveis em relação ao sistema reprodutivo identificado.

Encyclia mapuerae se desenvolve predominantemente no substrato terrestre em uma densa camada de serrapilheira, mas pode ser observada como epífita em uma altura de até um metro do chão. Floresce de agosto até o começo de novembro e é possível observar frutos durante o ano todo. A espécie possui no final do ginostêmio uma cavidade nectarífera que se estende paralelamente ao ovário e apresenta-se aparentemente seca, sem indícios de produção de néctar o que indica a presença da polinização por engodo. Os osmóforos estão localizados na região intermediária do labelo, entre os lobos laterais que coincide com a localização das duas calosidades. A flor adquiriu coloração amarelada por exceção das estrias arroxeadas do labelo que provavelmente indicam uma suposta recompensa floral. Tem como polinizador fêmeas de *Centris varia* e as políneas ficam fixadas na face da abelha. Possui também uma série de outros visitantes florais que apenas removem as políneas sem ficarem fixadas no corpo, o que demonstra ineficiência na visita. A espécie é autocompatível e possui baixa taxa de frutificação em meio natural possivelmente por causa das perdas de políneas durante as visitas.

Heterotaxis superflua ocorre como epífita na campina e na campinarana e forma pequenas aglomerações de indivíduos. Floresceu entre o final de dezembro e início de fevereiro, período que difere do que já foi apresentado para a espécie na mesma localidade. Possui uma pequena quantidade de osmóforos distribuídos pelas pétalas e sépalas, e durante as observações não foi notado a emissão de odores. A partir da exposição ao hidróxido de amônio notou-se que as pétalas e sépalas adquiriram coloração amarelada com um leve escurecimento. É visitada e polinizada por *Trigona williana* que coleta uma substância cerosa na calosidade do labelo da qual é provavelmente utilizada na sua dieta alimentar. É autocompatível quanto ao sistema reprodutivo e apresenta taxa de frutificação em meio natural de quase 50%, o demonstra a eficiência do seu polinizador.

Camaridium ochroleucum é epífita em árvores e troncos caídos na campina aberta e na campinarana formando grandes aglomerados de indivíduos, todavia indivíduos isolados também podem ser observados. Suas flores duram dois dias quando intactas e um dia quando a polínea é removida. Apresenta grande quantidade de osmóforos no labelo inteiro e suas peças florais adquirem coloração amarelada quando exposta a hidróxido de amônio. É visitadas por *Melipona illustris* e *Trigona fulviventris* que coletam os tricomas alimentícios presente no labelo. As políneas ficam fixadas no dorso das abelhas e dependendo do local elas conseguem remove-las durante a sua limpeza corporal o que as torna ineficientes. Ladrões de pólen também foram observado, tais como *Tetragona handlirschii* e Apidae 1. A espécie é autoincompatível e apresenta baixa taxa de frutificação em condições naturais.

Ornithidium rigidum é epífita na campina aberta e na campinarana formando densos aglomerados de indivíduos, entretanto indivíduos isolados também podem ser encontrados. Anatomicamente a calosidade do labelo é arranjada fundamentalmente por células arredondadas e observam-se algumas células de maior diâmetro sugerindo a presença de alguma substância. Para os testes histoquímicos realizados houve positividade para alcalóides, amido, lipídios, mucilagem e proteína. Por meio do teste de vermelho neutro foi observada a presença de osmóforos no labelo e por meio da exposição á atmosfera de hidróxido de amônio a flor adquiriu coloração amarelada, em especial o labelo. Foi observado um Vespidae identificado como *Polybia bistrata* como visitante e polinizador. A espécie provavelmente coleta uma substância produzida no calo do labelo ou ainda gotículas de néctar produzidas em pequenas quantidades na base do ginostêmio. Interações antagonística à polinização também foram documentadas, como a herbivoria de peças florais por representantes da ordem Orthoptera, além da inviabilização de quase todas as flores por parte de formigas cortadeira o que resultou em uma taxa nula de frutificação em condições naturais, colocando esta população em risco. A espécie é também autoincompatível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, J. D. 1986. Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination system in orchids. **Lindleyana** **1**: 108-113.

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

AGUIAR, J. M. R. B. V.; PANSARIN, L. M.; ACKERMAN, J. D. & PANSARIN, E. R. 2012. Biotic versus abiotic pollination in *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl. (Orchidaceae). **Plant Species Biology** **27**(1): 86-95.

ANDERSON, A. B. 1981. White-sand vegetation of Brazilian Amazonia. **Biotropica** **13**(3): 199-210.

ANDRADE, M. R. S. 2004. **Biologia reprodutiva de *Corymborkis flava* (Sw.) Kuntze (Orchidaceae: Tropicidae)**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, MG, 55p.

ATWOOD, J. T. 1986. The size of the Orchidaceae and the systematic distribution of the epiphytic orchids. **Selbyana**, **9**(1): 171-186.

AYALA, R. B. 1998. **Sistematica de los taxos supraespecificos de las abejas de la tribu Centridini (Hymenoptera: Anthophoridae)**. Tese de Doutorado. Universidad Nacional Autónoma de México, México, 280p.

BAKER, H. G. 1983. An outline of the history of anthecology, or pollination biology. **In: Real, L. (ed.). Pollination biology**. Orlando: Academic Press, pp.7-28.

BARBERENA, F. F. V. A. 2010. **Orchidaceae no Parque Nacional do Itatiaia, Sudeste do Brasil: listagem e estudos taxonômicos na subtribo Laeliinae**. Dissertação de Mestrado, Escola Nacional de Botânica Tropical, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico, Rio de Janeiro, RJ, 159p.

BARBOSA, A. R.; MELO, M. C. & BORBA, E. L. 2009. Self-Incompatibility and myophily in *Octomeria* (Orchidaceae, Pleurothaliinae) species. **Plant Systematic and Evolution** **283**: 1-8.

BARROS, F.; VINHOS, F.; RODRIGUES, V. T.; BARBERENA, F. F. V. A. & FRAGA, C. N. 2010. Orchidaceae. **In:** Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000179>>.

BARTH, F. G. 1991. **Insects and flowers. The biology of a partnership**. New Jersey, Princeton University Press. 408 pp.

BENZING, D. H. & ATWOOD, J. T. 1984. Orchidaceae: Ancestral habitats and current status in forest canopies. **Systematic Botany** **9**: 155-165.

BLANCO, M. A.; CARNEVALI, G.; WHITTEN, W. M.; SINGER, R. B.; KOEHLER, S.; WILLIAMS, N. H.; OJEDA, I.; NEUBIG, K. M. & ENDARA, L. 2007. Generic realignments in Maxillariinae (Orchidaceae). **Lankesteriana** **7**(3):515-537.

BORBA, E. L. & BRAGA, P. I. S. 2003. Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. **Revista Brasileira de Botânica** **26**(4): 541-549.

BORBA, E. L.; SEMIR, J. & SHEPHERD, G. J. 2001. Self-incompatibility, inbreeding depression and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. **Annals of Botany** **88**: 89-99.

BOWER, C. C. & BRANWHITE, P. 1993. Observations on the pollination of *Calochilus campestris* R.Br. **The Orchadian** **11**(2): 68-71.

BOYDEN, t. C. 1980. Floral mimicry by *Epidendrum ibaguense* (Orchidaceae) in Panama. **Evolution** **34**: 135-136.

BRAGA, P. I. S. 1976. **Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central**. Dissertação de mestrado – INPA/UFAM, 159p.

BRAGA, P. I. S. 1977. Aspectos biológicos das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. **Acta Amazonica** **7**: 1-89.

BRAGA, P. I. S. 1982. **Aspectos biológicas das Orchidaceae de uma campina da Amazônia Central. II – Fitogeografia das campinas da Amazônia brasileira Manaus-Amazônia**. Tese de doutorado – INPA/UFAM, 305p.

BUKATSCH, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Austrablau Safranin. **Mikrokosmos** **61**(8): 255p.

CAMACHO-DOMÍNGUEZ, E & ÁVILA-DÍAZ, I. 2011. Mating system and female reproduction succes of the endemic, epiphytic *Prostehechea* aff. *Karwinskii* (Orchidaceae). **Lankesteriana** **11**(3): 366.

CARVALHO, R. & MACHADO, I. C. 2002. Pollination of *Catasetum macrocarpum* (Orchidaceae) by *Eulaema bombiformis* (Euglossini). **Lindleyana** **17**(2): 85-90.

CARVALHO, R. & MACHADO, I. C. 2006. *Rodriguezia bahiensis* Rchb. f.: biologia floral, polinizadores e primeiro registro de polinização por moscas Acroceridae em Orchidaceae. **Revista Brasileira de Botânica** 29(3): 461-470.

CHASE, M. W.; FREUDENSTEIN, J. V.; CAMERON, K. M. & BARRETT, R. L. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. **In:** Dixon KW, Kell SP, Barrett RL, Cribb PJ eds. Orchid conservation. Kota Kinabalu: Natural History Publications, 69–89.

CIOTEK, L., GIORGIS, P., BENITEZ-VIEYRA, S. & COCUCCHI, A. A. 2006. First confirmed case of pseudocopulation in terrestrial orchids of South America: pollination of *Geoblasta pennicillata* (Orchidaceae) by *Campsomeris bistrimacula* (Hymenoptera, Scoliidae). **Flora** 201: 365-369.

CLARKE A. E.; ANDRESON R. L. & STONE B. A. 1979. Form and function of arabinogalactans and arabinogalactan-proteins. **Phytochemistry** 18: 521–540.

COSTA, A. F. 1982. **Farmacognosia**. Vol.III. Farmacognosia Experimental. 2^a ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1032p.

CRUZ D. T., BORBA E. L. & VAN DEN BERG C. 2003. O gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) no Estado da Bahia, Brasil. **Sitientibus** 3: 26-34.

DAFNI A. 1984. Mimicry and deception in pollination. **Annual Review of Ecology and Systematics** 15: 259-278.

DAFNI, A. & MAUÉS, M. M. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. **Sex Plant Reprod** 11: 177-180.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T. & YEO, P. F. 1985. The **families of the monocotyledons**. Springer Verlag, Berlin.

DAVIES, K. L. & TURNER, M. P. 2004. Morphology of floral papillae in *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). **Annals of Botany** **93**: 75–86.

DAVIES, K. L. & STPICZYNSKA M. 2012. Comparative labellar anatomy of resinsecreting and putative resin-mimic species of *Maxillaria s.l.* (Orchidaceae: Maxillariinae). **Botanical Journal of the Linnean Society** **170**: 405-435.

DAVIES, K. L. & WINTERS C. 1998. Ultrastructure of the labellar epidermis in selected *Maxillaria* species (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society** **126**: 349–361.

DAVIES, K. L.; TURNER, M. P. & GREGG, A. 2003. Atypical pseudopollen-forming hairs in *Maxillaria* Ruiz & Pav. (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society** **143**: 151–158.

DRESSLER, R. L. 1981. **The orchids: natural history and classification**. Harvard: Harvard University Press, 331p.

DRESSLER, R. L. 1993. **Phylogeny and Classification of the Orchid Family**. Portland, Dioscorides, 314p.

DRESSLER, R. L. 2005. How many orchid species? **Selbyana** **26**: 155-158.

DRUMMONT, P.; SILVA, F. O. & VIANA, B. 2008. Ninhos de *Centris* (*Heterocentris*) *terminata* Smith (Hymenoptera: Apidae, Centridini) em fragmentos de Mata Atlântica secundária, Salvador, BA. **Neotropical Entomology** **37**(3): 239-246.

FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1979. **The Principles of Pollination Ecology**. 3rd edn. Pergamon Press, Oxford. 244p.

FAHN, A. & CUTLER, D. F. 1992. **Xerophytes**. Germany, Gebrüder Borntraeger. 176p.

FAY, M. F. & CHASE, M. W. 2009. Orchid biologi: from Linnaeus via Darwin to the 21st century. **Annals of Botany** **104**(3): 259-364.

FLACH, A.; DONDON, R. C.; SINGER, R. B.; KOEHLER, S.; AMARAL, M. C. E. & MARSAIOLI, A. J. 2004. The chemistry of pollination in selected Brazilian Maxillariinae orchids: floral rewards and fragrance. **Journal of Chemical Ecology** **30**: 1045–1056.

FORDHAM, F. 1946. Pollination of *Calochilus campestris*. *Victorian Nat.* **62**: 199-201.

FOSTER, A. S. 1934. The use of tannic acid and iron chloride for staining cell walls in meristematic tissue. *Stain Technol* **9**(3):91-92.

FURR, M.; MAHLBERG, P. G. 1981. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. **Journal of Natural Products** **44**: 153-159.

GABE, M. 1968. **Techniques histologiques**. Paris: Masson & Cie. 1113p.

GONZALES M. L. 1999. Polisacáridos. **In:** Del Fresno A. M. (ed.). *Farmacognosia General*. Ed. Síntesis, Madrid, p. 335.

GRAVENDEEL, B.; SMITHSON, A.; SLIK, F. J. W. & SCHUITEMAN, A. 2004. Epiphytism and pollinator specialization: drivers for orchid diversity? **Philosophical Transactions of the Royal Society of London: Biological Science** **359**: 1523-1535.

GREGG, K. B. 1991. Defrauding the deceitful orchid: pollen collection by pollinators of *Cleisthes divaricata* and *C. bifaria*. **Lindleyana** **64**: 214–220.

HERRERA, C. 1989. Pollinator abundance, morphology and flower visitation rate analysis of the “quantity” component in plant-pollinator system. **Oecologia** **80**: 241-248.

HIGGINS, W. E. 1997. A reconsideration of the genus *Prosthechea* (Orchidaceae). **Phytologia** **82** : 370-383.

HIGGINS, W. E. 2003. *Prosthechea*: a chemical discontinuity in Laeliinae. **Lankesteriana** **7**: 39-41.

HIGGINS, W. E.; VAN DEN BERG, C. & WHITTEN, W. M. 2003. A combined molecular phylogeny of *Encyclia* (Orchidaceae) and relationships within Laeliinae. **Selbyana** **24**(2): 165-179.

INOUE, K.; KATO, M. & INOUE, T., 1995. Pollination ecology of *Dendrobium setifolium*, *Neuwiedia borneensis* and *Lecanorchis multiflora* (Orchidaceae) in Sarawak. **Tropics** **5**: 95–100.

JANZEN, D. H.; DEVRIES, P.; GLADSTONE, M. L. ; 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, D. A. 1940. **Plant microtechnique**. New York, MacGraw-Hill Book Co. Inc, 523p.

JONES, D. L. & GRAY, B. 1974. Pollination of *Calochilus holtzei* F. Muell. **Am. Orchid Soc. Bull.** **43**: 604-606.

JÜRGENS, A.; BOSCH, S. R.; WEBBER, A. C.; WITT, T.; FRAME, D. & GOTTSBERGER, G. 2009. Pollination biology of *Eulophia alta* (Orchidaceae) in Amazonia: effects of pollination composition on reproductive success in different populations. **Annals of Botany** **104**: 897-912.

KAISER, E. 1880. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. **Bot. Zentralb.** : 25-26.

KEARNS, C. & INOUE, W. 1993. **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado, Niwot. 583p.

KOCYAN, A. & ENDRESS, P. K. 2001. Floral structure and development of *Apostasia* and *Neuwiedia* (Apostasioideae) and relationships to the other Orchidaceae. **Int. J. Plant Sci.** **164**: 847–867.

KRAUS, J. E.; ARDIUM, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia**. Edur. 194p.

LANGERON, M. 1949. **Précis de microscopie**. Paris, Masson et Cie. Editeurs, 1430p.

LEITÃO C. A. E. & CORTELAZZO A. L. 2008. Structural and histochemical characterization of the colletes of *Rodriguezia venusta* (Orchidaceae). **Australian Journal of Botany** **56**: 161–165.

LIPP C. C.; GOLDSTEIN G.; MEINZER F. C. & NIEMCZURA W. 1994. Freezing tolerance and avoidance in high-elevation Hawaiian plants. **Plant, Cell and Environment** **17**: 1035–1044.

LIU, H. & PEMBERTON, R. 2010. Pollination of an invasive orchid, *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae), by an invasive oil-collecting bee, *Centris nitida*, in southern Florida. **Botany** **88**: 290-295.

LUIZÃO, F. J. 1995. **Ecological studies in contrasting forest types in Central Amazonia**. PhD Thesis, University of Stirling, 288p.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. 1974. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in roots of cotton seedlings. **Phytopathology** **64**: 1297-1302.

MADERGAN, S. F. 2007. **Abundância natural de ¹⁵N em solos e folhas de áreas de campina e campinarana da Reserva Biológica de Campina – INPA, região de Manaus, Amazonas**. Dissertação de mestrado, INPA-UFAM, 89p.

MARQUES-SOUZ, A. C.; MOURA, C. O. & NELSON, B. W. 1996. Pollen collected by *Trigona wiliana* (Hymenoptera: Apidae) in Central Amazonia. Ver. **Biol. Trop.** **44**(2): 567-573.

MARTINI, P.; SCHLINDWEIN, C. & MONTENEGRO, A. 2003. Pollination, Flower Longevity and Reproductive Biology of *Gongora quinquenervis* Ruíz and Pavón (Orchidaceae) in an Atlantic Forest Fragment of Pernambuco, Brazil. **Plant Biology** **5**: 495-503.

MICHENEAU, C.; FOURNEL, J.; WARREN, B. H.; HUGEL, S.; GOUVIN-BIALECKI, A.; PAILLER, T.; STRASBERG, D. & CHASE, M. W. 2010. Orthoptera, a new order of pollinator. **Annals of Botany** **105**(3): 355b-364.

MICKELIUNAS, L; PANSARIN, E. R. & SAZIMA, M. 2006. Biologia floral, melitofilia e influência de besouros Curculionidae no sucesso reprodutivo de *Grobya amhertiae* Lindl. (Orchidaceae: Cyrtopodiinae). **Revista Brasileira de Botânica** **29**(2): 251-258.

MOÇO, M. C.C. & PINHEIRO, M. C. B. 1999. Pollination ecology of *Swartzia apetala* Raddi. Var. *apetala* (Leguminosae-Papilionoideae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** **42**(4): 415-423.

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

MORATO, E. F.; GARCIA, M. V. B. & CAMPOS, L. A. O. 1999. Biologia de *Centris* Fabricius (Hymenoptera, Anthophoridae, Centridini) em matas contínuas e fragmentos na Amazônia Central. **Revista Brasileira de Zoologia** **16**(4): 1213-1222.

MOREIRA, A. S. F. P.; FUHRO, D. & ISAIAS, R. M. S. 2008. Anatomia floral de *Epidendrum fulgens* Brongn. (Orchidaceae – Epidendroideae) com ênfase no nectário e sua funcionalidade. **Rev. Biol. Neotrop.** **5**(1); 23-29.

NILSSON, L. A. 1992. Orchid pollination biology. **Trends in Ecology and Evolution** **7**:255 -259.

NUNES, C. E. P. 2011. **Biologia da polinização e reprodução de *Elleanthus C.Presl.* (Orchidaceae na Mata Atlântica do Parque Estadual da Serra do Mar, São Paulo.** Dissertação de mestrado, Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, SP, 81p.

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. 1981. **The study of plants structure principles and selected methods.** Melbourne: Termarcarphi Pty. Ltda.

OJEDA, I.; CARNEVALI, G.; WILLIAMS, N. H. & WHITTEN, W. M. 2003. Phylogeny of the *Heterotaxis* Lindley complex (Maxillariinae): Evolution of the vegetative architecture and pollination syndromes. **Lankesteriana** **7**: 45-47.

OKADA, H., KUBO, S., MORI, Y. 1996. Pollination system of *Neuwiedia veratrifolia* Blume (Orchidaceae, Apostasioideae) in the Malesian wet tropics. **Acta Phytotaxon. Geobot.** **47**: 173–181.

ORTIZ-BARNEY, E. & ACKERMAN, J. D. 1999. The cost of selfing in *Encyclia cochleata* (Orchidaceae). **Plant Systematics and Evolution** **219**: 55-64.

PANSARIN, E. R. & AMARAL, M. C. 2008a. Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization? **Plant Biology** **10**: 211-219.

PANSARIN, E. R. & AMARAL, M. C. 2008b. Pollen and nectar as a reward in the basal epidendroid *Psilochilus modestus* (Orchidaceae: Triphoreae): A study of floral morphology, reproductive biology and pollination strategy. **Flora** **203**: 474-483.

PANSARIN, E. R. & AMARAL, M. C. E. 2006. Biologia reprodutiva e polinização de duas espécies de *Polystachya* Hook. No Sudeste do Brasil: evidências de pseudocleistogamia em Polystachyae. **Revista Brasileira de Botânica** **29**(3): 423-432.

PANSARIN, E. R. & AMARAL, M. C. E. 2009. Reproductive biology and pollination of southeaster Brazilian *Stanhopea* Frost *ex* Hook. (Orchidaceae). **Flora** **204**: 238-249.

PANSARIN, E. R. & PANSARIN, L. M. 2010. Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated bay oil-collecting bees. **Plant Biology** **13**: 576-581.

PANSARIN, E. R. 2003a. Biologia floral de *Cleisthes macrantha* (Barb. Rodr.) Schltr. (Orchidaceae: Vanilloideae: Pogoniinae). **Revista Brasileira de Botânica** **26**(1): 73-80.

PANSARIN, E. R. 2003b. Biologia floral e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 26(2): 203-211.

PANSARIN, E. R. 2008. Reproductive biology and pollination of *Govenia utriculata*: A syrphid fly orchid pollinated through a pollen-deceptive mechanism. **Plant Species Biology** 23: 90-96.

PANSARIN, E. R.; BITTRICH, V & AMARAL, M. C. E. 2006. At Daybreak – Reproductive Biology and Isolating Mechanisms of *Cirrhaea dependens* (Orchidaceae). **Plant Biology** 8: 494-502.

PANSARIN, L. M.; PANSARIN, E. R. & SAZIMA, M. 2008a. Reproductive biology of *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae): a Cyrtopodinae pollinated by deceit. **Plant Biology** 10: 650-659.

PANSARIN, L. M.; PANSARIN, E. R. & SAZIMA, M. 2008b. Facultative autogamy in *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae) through a rain-assisted pollination mechanism. **Australian Journal of Botany** 56: 363-367.

PARRA-TABLA, V.; VARGAS, C. F.; MAGAÑA-RUEDA, S. & NAVARRO, J. 2000. Female and male pollination success of *Oncidium ascendens* Lindley (Orchidaceae) in two contrasting habitat patches: forest vs agricultural field. **Biological conservation** 94(4): 335-340.

PEMBERTON R. W. 2007. Pollination of *Guarianthe skinneri*, an ornamental food deception orchid in southern Florida, by the naturalized orchid bee *Euglossa viridissima*. **Lankesteriana** 7(3): 461-468.

PEMBERTON R. W. 2008. Pollination of the ornamental orchid *Oncidium sphacelatum* by the naturalized oil-collecting bee (*Centris nitida*) in Florida. **Selbyana** **29**: 87-91.

PIMIENTA-BARRIOS E. & NOBEL P. S. 1998. Vegetative, reproductive and physiological adaptations to aridity of pitayo (*Stenocereus queretaroensis*, Cactaceae). **Economic Botany** **52**: 401–411.

PRIDGEON, A. M. & STERN, W. L. 1983. Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). **American Journal of Botany** **70**: 1233–1243.

PROCTOR M.; YEO P. & LACK A. 1996. **The Natural History of Pollination**. Timber Press, OR, Portland.

RANZANI, G. 1980. Identificação e caracterização de alguns solos da Estação Experimental de Silvicultura Tropical do INPA. **Acta Amazonica** **10**(1): 7-41.

RECH, A. R.; ROSA, Y. B. C. J. & MANENTE-BALESTIERI, F. C. L. 2010. Aspects of the reproductive biology of *Brassavola cebolleta* Rchb. f. (Orchidaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences** **32**(4): 335-341.

RENNER S. S. 2006. Rewardless flowers in the angiosperms and the role of insect cognition in their evolution. **In**: Waser N.M., Olerton J. (Eds). *Plant–Pollinator Interactions From Specialization to Generalization*. The University of Chicago Press, Chicago.

RESENDE, H. C.; BARROS, F.; CAMPOS, L. A. O. & FERNANDES-SALOMÃO, T. M. 2008. Visitação de orquídea por *Melipona capixaba* Moure & Camargo (Hymenoptera: Apidae), abelha ameaçada de extinção. **Neotropical Entomology** **37**(5): 609-611.

RIBEIRO, M. F.; KÖHLER, A. & BOELTER, C. R. 2006. Polinização de *Acianthera aphtosa* (Lindl.) Pridgeon & M. W. Chase (Orchidaceae) por Otitidae (Diptera). **Uruguiana** **13**(2): 85-89.

RIBEIRO, M. N. G. & SANTOS, A. 1975. Observações microclimáticas no ecossistema Campina Amazônica. **Acta Amazonica** **5**(2); 173-182.

ROMANINI, R. P. & BARROS, F. 2007. Orchidaceae. **In:** Melo, M. M. R., Barros, F., Chiea, S. A. C., Kirizawa, M., Jung-Mendaçolli, S. J. & Wanderley, M. G. L. (Org.). Flora Fanerogâmica da Ilha do Cardoso, São Paulo. Instituto de Botânica, v. 12, p. 29-275.

ROUBIK, D. W. 2000. Deceptive orchids with Meliponini as pollinators. **Plant Systematics and Evolution** **222**: 271-279.

SANTOS-FILHO, J. F. 2007. **Polinização e biologia reprodutiva de três espécies do gênero *Acianthera* Scheidw. (Orchidaceae) em floresta ombrófila mista**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, PR, 37p.

SCOGIN, R.; YOUNG, D. A. & JONES, C. E. 1977. Anthochlor pigments and pollination biology: II. The ultraviolet patterns of *Coreopsis gigantean* (Asteraceae). **Bulletin of the Torrey Botanical Club** **104**(2): 155-159.

SILVA, M. F. F. & SILVA, J. B. F. 2004. **Orquídeas nativas da Amazônia Brasileira II**. Belém, Universidade Federal Rural do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, 540p.

SINGER, R. B. & Koehler, S. 2003. Notes on the pollination biology of *Notylia nemorosa* (Orchidaceae): do pollinators necessarily promote cross pollination? **Journal of Plant Research (Japan)** **116**: 19-25.

SINGER, R. B. & SAZIMA, M. 2000. The pollination of *Stenorrhynchos lanceolatus* (Aublet) L. C. Rich. (Orchidaceae: Spiranthinae) by hummingbirds in southeastern Brazil. **Plant Systematics and Evolution** **223**: 221-227.

SINGER, R. B. 2001a. **Biologia da polinização em orquídeas nativas da região sudeste do Brasil**. Tese de doutorado, Instituto de Biologia, Campinas, São Paulo, 114p.

SINGER, R. B. 2001b. Pollination biology of *Habenaria parviflora* (Orchidaceae: Habenariinae) in southeastern Brazil. **Darwiniana** **39**(3-4): 201-207.

SINGER, R. B. 2002. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl. (Orchidaceae: Maxillariinae): Sexual mimicry and Trap-flowers. **Annals of Botany** **89**: 1570163.

SINGER, R. B.; FLACH, A.; KOEHLER, S.; MARSAIOLI, A. J. & AMARAL, M. C. E. 2004. Sexual mimicry in *Mormolyca ringens* (Lindl.) Schltr. (Orchidaceae:Maxillariinae). **Annals of Botany** **93**: 755-762.

SINGER, R.B. & KOEHLER, S. 2004. Pollinarium morphology and floral rewards in Brazilian Maxillariinae (Orchidaceae). **Annals of Botany** **93**: 39–51.

SMIDT, E. C.; SILVA-PEREIRA, V. & BORBA, E. L. 2006. Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north-eastern Brazil. **Plant Species Biology** **21**: 85-91.

SNELLING, R. R. 1984. Studies on the taxonomy and distribution American Centridine bees (Hymenoptera: Anthophoridae). **Contrib. Sci. (Los Angel.)** **347**: 1-69.

SOUZA, V. C. & LORENZI, H. 2008. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. 2ª Ed. São Paulo: Instituto Plantarum.

STORT M. N. & GALDINO G. L. 1984. Self- and Cross-pollination in some species of the genus *Laelia* Lindl. (Orchidaceae). **Revista Brasileira de Genética** **4**: 671-676.

STORT M. N. & MARTINS P. S. 1980. Autopolinização e polinização cruzada em algumas espécies do gênero *Cattleya* (Orchidaceae). **Ciência e Cultura** **32**: 1080-1083.

STORTI, E. F.; BRAGA, P. I. S. & STORTI-FILHO, A. 2011. Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado* uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. **Acta Amazonica** **41**(3): 361-368.

SWANSON, E. S.; CUNNINGHAM, W. P. & HOLMAN R. T. 1980. Ultrastructure of glandular ovarian trichomes of *Cypripedium calceolus* and *C. reginae* (Orchidaceae). **American Journal of Botany** **67**: 784–789.

TOSCANO-DE-BRITO, A. L. V. & CRIBB, P. 2005. **Orquídeas da Chapada Diamantina**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.

TREMBLAY, R. L. 1992. Trends in pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematic. **Canadian Journal of Botany** **70**: 642-650.

VALE, A.; NAVARRO, L.; ROJAS, D. & ÁLVAREZ, J. C. Breeding system and pollination by mimicry of the orchid *Tolumnia guibertiana* in Western Cuba. **Plant Species Biology** **26**: 163-173.

VAN DEN BERG, C., W.E. HIGGINS, R.L. DRESSLER, W.M. WHITTEN, M.A.S. ARENAS, A. CULHAM & M.W. CHASE. 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae

(Orchidaceae) based on sequence data from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. **Lindleyana** **15**: 96-114.

VAN DEN BERG, C.; FERNÁNDEZ-CONCHA, G.C.; PRIDGEON, A.M.; VEITCH, N.C. & GRAYER, R.J. 2005. *Encyclia*. **In**: Pridgeon, A.M.; Cribb, P.J.; Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. (eds.). *Genera Orchidacearum; Epidendroideae*, part two. Vol 4. Oxford University Press, New York. Pp. 232-236.

VAN DER PIJL, L & DODSON, C. H. 1966. **Orchid flowers: their pollination and evolution**. Coral Gables: University of Miami Press.

VEROLA, C. F. 2002. **Biologia floral e sistemas de reprodução em espécies de *Bulbophyllum* (Orchidaceae) ocorrentes em mata de galeria, campo rupestre e floresta estacional**. Tese de doutorado, Instituto de biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, SP, 99p.

WANG, Y.; ZHANG, Y.; MA, X. & DONG, L. 2008. The unique mouse pollination in an orchid species. **Nature Precedings**. Disponível em: <<http://precedings.nature.com/documents/1824/version/1/files/npre20081824-1.pdf>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

WIEMER, A. P.; MORÉ, M.; BENITEZ-VIEYRA, S.; COCUCCHI, A. A.; RAGUSO, R. A. & SÉRSIC, A. N. 2009. A simple floral fragrance and unusual osmophore structure in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). **Plant Biology** **11**(4): 506-514.

ZAPATA, T. R. & ARROYO, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. **Biotropica** **10**: 221-230.

ANEXOS

AULA DE QUALIFICAÇÃO

PARECER

Aluno(a): **AMAURI HERBERT KRAHL**
Curso: **BOTÂNICA**
Nível: **Mestrado**
Orientador(a): **Antonio Carlos Webber (UFAM)**

Título:

"BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE TRÊS ESPÉCIES DE ORCHIDACEAE EM UMA CAMPINA E CAMPINARANA DA AMAZÔNIA CENTRAL"

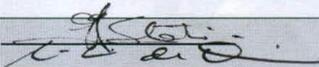
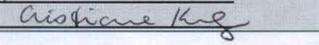
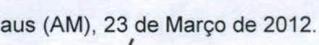
BANCA JULGADORA:

TITULARES:

ELIANA FERNANDEZ STORTI (INPA)
MÁRCIO LUIZ DE OLIVEIRA (INPA)
CRISTINANE KRUG (EMBRAPA)

SUPLENTES:

VERIDIANA VIZONI SCUDELLER (UFAM)
JOSÉ LUIZ CAMARGO (INPA)

EXAMINADORES	PARECER	ASSINATURA
ELIANA FERNANDEZ STORTI	(X) Aprovado () Reprovado	
MÁRCIO LUIZ DE OLIVEIRA	(X) Aprovado () Reprovado	
CRISTINANE KRUG	(X) Aprovado () Reprovado	

Manaus (AM), 23 de Março de 2012.

OBS: O discente apresenta sua aula dentro do tempo regimental, de maneira clara e objetiva. Quando indagado, pela banca, respondeu a todas perguntas satisfatoriamente, demonstrando um profundo conhecimento do assunto.



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

A os vinte nove dias do mês de maio do ano de 2013, às 14h30min, na sala de seminários da biblioteca do INPA - Campus I reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: **Dr. Marcio Luiz de Oliveira**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, **Dr. Emerson Ricardo Pansarin**, da Usp - Ribeirão Preto - Sp, Brasil, e **Dr. Michael John Gilbert Hopkins**, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, tendo como suplentes, Dra. Veridiana Vizoni Scudeller, da Universidade Federal do Amazonas e a Dra. Cristiane Kruger, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO** intitulada **“BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE QUATRO ESPÉCIES DE ORCHIDACEAE EM UMA CAMPINA E CAMPINARANA DA AMAZÔNIA CENTRAL”**, do discente **AMAURI HERBERT KRAHL** sob a orientação Dr. Antonio Carlos Webber.

Após a exposição, dentro do tempo regulamentar, o (a) discente foi argüido (a) oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

EXAMINADORES	PARECER	ASSINATURA
--------------	---------	------------

MARCIO LUIZ DE OLIVEIRA	<input checked="" type="checkbox"/> APROVADO	<input type="checkbox"/> REPROVADO	
EMERSON RICARDO PANSARIN	<input checked="" type="checkbox"/> APROVADO	<input type="checkbox"/> REPROVADO	
MICHAEL JOHN GILBERT HOPKINS	<input checked="" type="checkbox"/> APROVADO	<input type="checkbox"/> REPROVADO	

OBS: A banca estava enviando ao discente recomendações que ~~merecem~~ ser considerados, pensando em futuras publicações. Também um melhor tratamento estatístico deveria ser considerado, antes de submeter os artigos para publicação.

Nada mais havendo, foi lavrado a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da