

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Museu Nacional
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

TESE DE DOUTORADO



*Estudos Reprodutivos de Cinco Espécies Simpátricas de
Oncidiinae (Orchidaceae)*

Luciene Campos São Leão

Rio de Janeiro

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Museu Nacional

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

**ESTUDOS REPRODUTIVOS DE CINCO ESPÉCIES SIMPÁTRICAS
DE ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE)**

Orientadoras:

**Profa. Dra. Heloisa Alves de Lima Carvalho
Profa. Dra. Lygia Dolores Santiago Fernandes**

Luciene Campos São Leão

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Museu Nacional

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

**ESTUDOS REPRODUTIVOS DE CINCO ESPÉCIES SIMPÁTRICAS
DE ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Título de Doutor em Ciências Biológicas (Botânica).

Luciene Campos São Leão

Orientadoras:

Profa. Dra. Heloisa Alves de Lima Carvalho
Profa. Dra. Lygia Dolores Santiago Fernandes

Rio de Janeiro
2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
MUSEU NACIONAL
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS -
BOTÂNICA

ESTUDOS REPRODUTIVOS DE CINCO ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE
ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE)

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor.

Aprovada por:

Dr^a. Heloisa de Alves de Lima Carvalho (UFRJ) - Presidente

Dr^a Silvia Rodrigues Machado (UNESP)

Dr. Luiz Menini Neto (UFJF)

Dr^a Genise Vieira Somner (UFRRJ)

Dr^a Cristine Rodrigues Benevides (UFRJ)

Membros Suplentes:

Dr^a. Ana Tereza Araujo Rodarte (UFRJ) – Suplente Externo

Dr^a. Bárbara de Sá Haiad (UFRJ) – Suplente Interno

FICHA CATALOGRÁFICA

São Leão, Luciene Campos

Estudos Reprodutivos de Cinco Espécies Simpátricas de Oncidiinae (Orchidaceae)
Luciene Campos São Leão – Rio de Janeiro: UFRJ/Museu Nacional, 2017.

XXII, 121f. il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional,
Programa de Pós-Graduação em Botânica, 2017.

Orientadoras: Heloísa Alves de Lima Carvalho e Lygia Dolores Santiago

Fernandes

Bibliografia: p.07-10;67-74; 92-95; 118-121

1- Oncidiinae - Orchidaceae. 2- *Oncidium barbaceniae* Lindl., *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc., *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe e *Oncidium warmingii* Rchb 3- Osmóforos. 4- Elaióforos. 5- Hibridização. 6-Facilitação. 7-Parque Estadual do Ibitipoca-Santiago-Fernandes, Lygia Dolores Ribeiro de (Orient.). II- Lima, Heloisa Alves de (Orient.). III- Universidade Federal do Rio de Janeiro. IV- Museu Nacional, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica). V- Título.

*Com todo respeito e carinho dedico a quem sempre esteve ao meu lado,
orientando, corrigindo, e por muitas vezes dando puxões de orelha...*

Heloísa Alves de Lima Carvalho

Bárbara de Sá Haiad

Ana Tereza de Araújo Rodarte

NAS ASAS DO SENHOR

*Sei que os que confiam no Senhor
Revigoram suas forças, suas forças se renovam
Posso até cair ou vacilar, mas consigo levantar
Pois recebo d'Ele asas
E como águia, me preparo pra voar*

*Eu posso ir muito além de onde estou
Vou nas asas do Senhor
O Teu amor é o que me conduz
Posso voar e subir sem me cansar
Ir pra frente sem me fatigar
Vou com asas, como águia
Pois confio no Senhor!*

*Que me dá forças pra ser um vencedor
Nas asas do Senhor
Vou voar! Voar!*

(PE. FÁBIO DE MELO)

Agradecimentos

A *Deus*, criador de todas as coisas, pelo dom da vida e por ser minha força e vitória. Um amor incondicional.

À Sagrada Família

À Minha querida Família

E agora...

PENSANDO...PENSANDO!!!

ou quem sabe cantando!! cantando as cores da vida!! cantando as cores das flores!! cantando os perfumes das rosas!! opa!! Rosas?? Não, Orquídeas!! Cantando uma poesia para cada um!! E reconhecendo o valor que cada um tem na minha vida!!

Escrever para uma orientadora é bem agradável, imaginem para quatro!!! Sim no meu percurso tive ou melhor tenho quatro pessoas admiráveis que com muito carinho me orientam

e acima de qualquer coisa são amigas,

tudo começou ...

*quando fui pela primeira vez ao campo e um pontinho cor de rosa, me chamou a atenção. coisa mais linda de se ver...e fui apresentada a *Epidendrum denticulatum* e sua companheira *Epidendrum orchidiflorum*...outro pontinho de cor verde. Me apaixonei pelas minhas filhinhas...*Orchidaceae*. Na verdade eu seria apresentada às *Ericaceae*, mas o coração bateu mais forte pelos pontinhos rosas e verdes. Então, chegou o próximo trabalho...e lá fomos nós para Ibitipoca. e me apaixonei pelos pontinhos amarelos e brancos. Para minha surpresa, minha orientadora nunca tinha trabalhado com *Orchidaceae*. mesmo ficando triste com a minha singela escolha, ela foi fundo... fundo até demais para entender como minhas filhinhas se desenvolvem, com intuito de ajudar, então ...*Heloisea Alves de Lima Carvalho*, grata por fazer dos meus sonhos realidades. Grata por permanecer ao meu lado. Detalhes são pequenas coisas que fazem grande diferença!*

Lygia Dolores Santiago Fernandes, grata pelas conversas, conselhos, correções e todo apoio no laboratório de anatomia vegetal!

Ana Tereza de Araujo Rodarte (Minha mãe doida do campo), grata por correr atrás das minhas filhinhascomigo! Grata por acreditar no meu potencial e não me deixar desistir dos meus sonhos!

Bárbara de Sá Haiad, minha querida revisora...mais do que revisora! Grata por permanecer ao meu lado, fortalecendo meu convívio com o mundo fantástico das estruturas secretoras (My Personal histological trainer). Grata pela gentileza, pelas gargalhadas, pela confiança que transmite. Grata por saber como me dar bronca, sem magoar! Grata por tudo!!

Às minhas “quatro orientadoras” com certeza a estrela da bondade acompanhada com a sabedoria brilha dentro do coração de cada uma! Minha total gratidão e admiração!!

Amigos entram em nossas vidas, mas, claro, com afinidades diferentes. Mas todos cabem na caixinha especial do lado esquerdo do peito.

Amigos que fiz, que magoei, que me magoaram, afinal ninguém é perfeito. para que serve o perdão?? Somos seres humanos... seres humanos errarm, acertam, e os verdadeiros são capazes de ser humildes e pedir perdão...perdoar e amar são os sentimentos que podemos ter dentro dos nossos corações.

Grata pelo convívio e amizade:

À equipe de Educação Ambiental: Fátima Denise, Carolina e Thais.

Aos antigos do laboratório de biologia floral: Maria Célia, Angela, Alexandre, Patrick, Emanuela, Camila, Luciana Carolina, Renata, Cristine- e nossa coca-cola bem gelada – lembram??? - Made in Restinga de Maricá

Aos novos do laboratório de biologia floral: Gilmar, Maycon, Helen, Marcia, Robson, Rachel – Made in Parque Estadual do Ibitipoca

em especial a:

“Família: Robson, Rhaonny e Mariana Moncavo” pela ajuda no campo, fazendo mil peripécias para atender às minhas reivindicações! Pelas conversas e pelo susto! Mas com certeza o trabalho valeu...e muito! Gratidão!

Amanda Mothé, Thainá e Amanda Soares - grata pelo auxílio com intuito de atingir o objetivo paralelo do trabalho – Byrsonima variabilis.

Cristine Benevides e Márcia Maria, com certeza a estrela da bondade brilha dentro do coração de vocês.

E lá fomos nós para Santos...Vitória! Curtir a vida? Não! Curtir congressos...Mas só congressos?? Claro que não!!

“Meu amor, essa é a última oração

Pra salvar seu coração

Coração não é tão simples quanto pensa

Nele cabe o que não cabe na despensa”

cabe até a equipe do laboratório de Anatomia Vegetal:

Andressa, Bruna, Christian, Daniel, Diego, Isabella, Isabelle, Guilherme, Jandira, Lareska, Luana, Marcelle, Marcia, Nubia, Paulo Vitor, Raylla, Victor, Vinicius.

Com Christian, Daniel e Marcelle, não há tempo ruim. Nos momentos de descontração e cultura, sempre um motivo para se comemorar.

Quase terminando....

Mais amigos

Agora é a vez do Parque Estadual do Ibitipoca – Grata a todos os funcionários do Parque pelo carinho e atenção. Em especial: Sr. João Carlos Lima de Oliveira e Rose Belcavelo pela atenção e amizade. “Quando penso em vocês, fecho os olhos de saudade. Eu só queria ter do mato, um gosto de framboesa”... Ibitipoca não tem framboesa, mas tem Orchidaceae, como vocês dizem “As meninas da Lú”!.

Ao Instituto Estadual de Floresta pela liberação da licença para desenvolver o projeto. Ainda não acabou!!

A CAPES, pela bolsa de doutorado e pelo auxílio PROAP concedidos.

Aos Doutores membros da Banca Examinadora.

O meu profundo agradecimento!

E

Segundo uma pessoa... eu pareço ... continuo ... “Um Jardim de Infância”

Diria...

“Um lindo Jardim de Orquídeas”

Então...

Beijinhos carinhosos dentro do coração de cada um!!!

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	01
ESTRUTURA DA TESE	06
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	07

CAPÍTULO 1: ESTUDOS REPRODUTIVOS E MORFOANATOMIA DAS ESTRUTURAS SECRETORAS DE RECURSOS FLORAIS EM CINCO ESPÉCIES DE ONCIDIINAE - ORCHIDACEAE.

INTRODUÇÃO	11
MATERIAL E MÉTODOS	15
RESULTADOS	20
DISCUSSÃO	60
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

CAPÍTULO 2: ISOLAMENTO REPRODUTIVO EM DUAS ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE) EM VEGETAÇÃO DE CAMPO RUPESTRE, MG.

INTRODUÇÃO	76
MATERIAL E MÉTODOS	78
RESULTADOS	81
DISCUSSÃO	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DE POSSÍVEL MIMETISMO FLORAL OU DE FACILITAÇÃO NA POLINIZAÇÃO DE ONCIDIUM WARMINGII RCHB (ORCHIDACEAE).

INTRODUÇÃO	97
MATERIAL E MÉTODOS	100
RESULTADOS	103
DISCUSSÃO	114
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
CONCLUSÃO	122

CAPÍTULO 1: ESTUDOS REPRODUTIVOS E MORFOANATOMIA DAS ESTRUTURAS SECRETORAS DE RECURSOS FLORAIS EM CINCO ESPÉCIES DE ONCIDIINAE - ORCHIDACEAE.

FIGURA 1: Localização do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	15
FIGURA 2: Aspecto geral do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	20
FIGURA 3: Período de floração das espécies de Oncidiinae. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	20
FIGURA 4: Flores de espécies de Oncidiinae. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	21
FIGURA 5: Flores de Oncidiinae, demonstrando reação ao vermelho neutro. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	23
FIGURA 6: Flores de Oncidiinae - regiões localizadas simetricamente na base de cada lóbulo lateral. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	24
FIGURA 7: Flores de <i>Oncidium gravesianum</i> Rolfe. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	25
FIGURA 8: Limbo do labelo de <i>Oncidium warmingii</i> Rchb., em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	31
FIGURA 9: Calo do labelo de <i>Oncidium warmingii</i> Rchb., em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	32
FIGURA 10: Lobos laterais do labelo de <i>Oncidium warmingii</i> Rchb., em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	33
FIGURA 11: Limbo do labelo de <i>Oncidium hookeri</i> Rolfe, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	35
FIGURA 12: Calo do labelo de <i>Oncidium hookeri</i> Rolfe, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	36
FIGURA 13: Limbo do labelo de <i>Oncidium gravesianum</i> Rolfe, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.	39

- FIGURA 14:** Limbo do labelo de *Oncidium gravesianum* Rolfe, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 40
- FIGURA 15:** Bordo do calo do labelo de *Oncidium gravesianum* Rolfe, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 41
- FIGURA 16:** Lobos laterais do labelo de *Oncidium gravesianum* Rolfe, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 42
- FIGURA 17:** Limbo do labelo de *Oncidium barbaceniae* Lindl., em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 45
- FIGURA 18:** Calo do labelo de *Oncidium barbaceniae* Lindl., em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 46
- FIGURA 19:** Lobos laterais do labelo de *Oncidium barbaceniae* Lindl., em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 47
- FIGURA 20:** Limbo do labelo de *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 50
- FIGURA 21:** Calo do labelo de *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 51
- FIGURA 22:** Lobos laterais do labelo de *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc, em vista frontal. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 52
- CAPÍTULO 2: ISOLAMENTO REPRODUTIVO EM DUAS ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE) EM VEGETAÇÃO DE CAMPO RUPESTRE, MG.**
- FIGURA 1:** Localização da área simpátrica em indivíduos de *Oncidium* spp. Parque Estadual do Ibitipoca, MG. 78
- FIGURA 2:** Percentual de atividade e intensidade de flores (Fl) e frutos (Fr) de *Oncidium warmingii* Rcbh e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 82
- FIGURA 3:** Flores ressupinadas de *Oncidium warmingii* Rcbh. (A) e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc. (B). Elaióforos assinalados por setas. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 83
- FIGURA 4:** Frutos resultantes de cruzamentos interespecíficos. 85

FIGURA 5: Crescimento dos tubos polínicos após experimento de polinização interespecífica. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 88

CAPÍTULO 3: *AValiação de possível mimetismo floral ou de facilitação na polinização de Oncidium warmingii Rchb. (Orchidaceae).*

FIGURA 1: Localização das áreas onde foram aplicados os experimentos para testar facilitação entre *Byrsonima variabilis* A.Juss. e *Oncidium warmingii* Rchb. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 102

FIGURA 2: Distribuição das dez áreas de *Oncidium warmingii* Rchb. ao longo do Circuito Janela do Céu. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 103

FIGURA 3: Percentuais de Intensidade e Atividade: *Byrsonima variabilis* A.Juss. e *Oncidium warmingii* Rchb. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 104

FIGURA 4: Indivíduos de *Byrsonima variabilis* A.Juss. e *Oncidium warmingii* Rchb. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 107

FIGURA 5: Estruturas florais de atração visual. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 108

FIGURA 6: Flores evidenciando partes coradas com solução aquosa de vermelho neutro. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 109

FIGURA 7: Elaióforos: Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 110

FIGURA 8: Visitantes florais em *Byrsonima variabilis* A.Juss. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 112

FIGURA 9: Diagramas de dispersão: Correlação positiva e correlação negativa significativa. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 113

CAPÍTULO 1: ESTUDOS REPRODUTIVOS E MORFOANATOMIA DAS ESTRUTURAS SECRETORAS DE RECURSOS FLORAIS EM CINCO ESPÉCIES DE ONCIDIINAE - ORCHIDACEAE.

TABELA 1: Morfometria dos caracteres florais de atração de *Oncidium warmingii* Rchb.; *Oncidium hookeri* Rolfe; *Oncidium gravesianum* Rolfe; *Oncidium barbaceniae* Lindl. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (média em mm, \pm desvio padrão; valores mínimo e máximo; c=comprimento, l=largura, d= diâmetro; n=30 para cada espécie). 26

TABELA 2: Morfometria dos caracteres florais de reprodução de *Oncidium warmingii* Rchb; *Oncidium hookeri* Rolfe; *Oncidium gravesianum* Rolfe; *Oncidium barbaceniae* Lindl e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (média em mm, \pm desvio padrão; valores mínimo e máximo; c=comprimento, l=largura, d= diâmetro; n=30 para cada espécie). 27

TABELA 3: Experimentos relativos ao período de antese (longevidade floral) de *Oncidium warmingii* Rchb; *Oncidium hookeri* Rolfe; *Oncidium gravesianum* Rolfe; *Oncidium barbaceniae* Lindl e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 28

TABELA 4: Testes histoquímicos nas flores das espécies de Oncidiinae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (L= labelo; CL=calo do labelo; LL= lobos laterais). 53

TABELA 5: Análise quanto à presença e ausência de polínias nas flores de *Oncidium warmingii* Rchb, *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaceniae* Lindl e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (n=número amostral; p/p=presença de polínias; a/p=ausência de polínias e p/i= polínias inseridas). 55

TABELA 6: Experimentos relativos ao sistema de reprodução das espécies de Oncidiinae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (n= número amostral de indivíduos/flores; fr.inic.= frutos iniciados; fr. mad.= frutos maduros). 57

TABELA 7. Morfometria dos frutos resultantes dos experimentos de *Oncidium warmingii* Rchb, *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaceniae* Lindl e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (c=comprimento e d=diâmetro). 58

TABELA 8. Análise das sementes dos frutos resultantes dos experimentos *Oncidium warmingii* Rchb, *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaceniae* Lindl e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (percentual médio \pm desvio padrão; c/e=sementes com embrião; s/e=sementes sem embrião; n=número amostral). 59

CAPÍTULO 2: ISOLAMENTO REPRODUTIVO EM DUAS ESPÉCIES SIMPÁTRICAS DE ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE) EM VEGETAÇÃO DE CAMPO RUPESTRE, MG.

TABELA 1: Morfometria dos caracteres florais de atração e reprodutivos de *Oncidium warmingii* Rchb e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowless & Westc., no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (média em mm \pm desvio padrão; valores mínimo e máximo; c=comprimento; l=largura; n=30 para cada medida; em vermelho, os valores significativamente diferentes, $p<0,05$). 84

TABELA 2: Experimentos de polinização manual intra e interespecífica aplicados para *Oncidium warmingii* Rchb e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc. (n = número de indivíduos/número de flores polinizadas). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. 86

CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DE POSSÍVEL MIMETISMO FLORAL OU DE FACILITAÇÃO NA POLINIZAÇÃO DE ONCIDIUM WARMINGII RCHB (ORCHIDACEAE).

TABELA 1: Comparação entre as medidas das estruturas florais visualmente atrativas de *Byrsonima variabilis* A.Juss. e *Oncidium warmingii* Rchb, no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (média em mm \pm desvio padrão; n=30; c= comprimento em mm; l= largura em mm; área em mm²). Em cada coluna foram comparadas as médias obtidas através do Teste *t*, $p<0,95$. Letras diferentes na mesma coluna expressam médias significativamente diferentes. 109

TABELA 2: Espécies de Apidae visitantes das flores de *Byrsonima variabilis* A.Juss., no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

111

Orchidaceae, uma das maiores famílias das Angiospermas, tem distribuição cosmopolita, com predomínio nas regiões tropicais. As flores, altamente complexas, exibem diversidade de cores, tamanhos, formas, recursos e sistemas de polinização. O néctar é o recurso floral mais comum, mas algumas espécies, principalmente da subtribo Oncidiinae, disponibilizam óleo, secretado por elaióforos, coletado por abelhas solitárias Apidae e Melittidae e utilizado para provimento das larvas. Na região neotropical, muitas espécies de Oncidiinae e de Malpighiaceae, sincronopátricas, apresentam flores muito semelhantes e compartilham polinizadores. Uma característica de Orchidaceae é a potencialidade para formar híbridos e barreiras eficientes para conter o fluxo genético entre espécies são comuns. Objetivamos estudar a biologia floral, anatomia das estruturas secretoras florais (osmóforos e elaióforos), polinização e sistema reprodutivo de cinco espécies de *Oncidiinae* no Parque Estadual do Ibitipoca, MG, entre 2013 e 2016. Paralelamente, investigamos a ocorrência de mecanismos de isolamento reprodutivo entre *Oncidium warmingii* Rchb. e *Oncidium batemanniannum* Parm. ex. Knowles & Westc e a existência de complexo mimético ou facilitação entre *Oncidium warmingii* Rchb. e *Byrsonima variabilis* A. Juss. O trabalho envolveu pesquisa de campo, anatomia, testes histoquímicos, microscopia eletrônica de varredura e técnicas de polinização manual intra e interespecíficas. Todas as espécies têm flores longevas, perfumadas, ressupinadas e produtoras de óleo, que é secretado por elaióforos epiteliais, localizados no calo e/ou lobos laterais. Osmóforos ocorrem no limbo do labelo. As espécies são autoincompatíveis e apresentam forte limitação polínica. Não foram registradas visitas às flores. Mecanismos de isolamento reprodutivo pós-polinização são importantes na manutenção da integridade genética de *Oncidium batemanniannum* e *Oncidium warmingii*, já que não houve formação de sementes nos frutos resultantes de polinização manual interespecífica, apontando para uma probabilidade nula de formação de híbridos entre estas espécies. Nossos resultados não sustentam a hipótese de que *B. variabilis* e *O. warmingii* constituem um complexo mimético, já que *O. warmingii* não se beneficia da proximidade, da cofloração, nem da semelhança com *B. variabilis*. Os resultados sugerem que as duas espécies fazem parte de um grupo de espécies polinizadas por abelhas coletoras de óleo e que as semelhanças

superficiais observadas estão, provavelmente, apenas relacionadas a esta síndrome de polinização.

Palavras-chave: Orchidaceae, Osmóforos, Elaióforos, Hibridização, Facilitação.

Orchidaceae, the largest family of Angiosperms, has a cosmopolitan distribution, with predominance in tropical regions. The highly complex flowers exhibit a diversity of colors, sizes, shapes, rewards and pollination systems. Nectar is the most common floral resource, but some species, mainly in the subtribe Oncidiinae, provide oil, secreted by elaiophores, collected by solitary bees Apidae and Melittidae and used to feed larvae. In the Neotropics, many synchronopatric species of Oncidiinae and Malpighiaceae present very similar flowers and share pollinators. One feature of Orchidaceae is the potentiality to form hybrids, so efficient barriers to contain the genetic flow between species are common. The aim of this research was to study floral biology, floral secretory structures (osmophores and elaiophores), pollination and reproductive system of five Oncidiinae species in the Parque Estadual do Ibitipoca, MG, between 2013 and 2016. In parallel, we investigated the occurrence of reproductive isolation mechanisms between *Oncidium warmingii* Rchb. and *Oncidium batemanniannum* Parm. ex. Knowles & Westc. and the existence of mimetic complex or facilitation between *Oncidium warmingii* Rchb. and *Byrsonima variabilis* A.Juss. . The work involved field research, anatomy, histochemical tests, scanning electron microscopy and intra and interspecific manual pollination techniques. All the studied species have long-lived, scented, resupinate and oil-producing flowers. The oil is secreted by epithelial elaiophores, located in the callus and / or lateral lobes. Osmophores occur in the labellum limb. The species are self-incompatible and exhibit strong pollen limitation. No visits to the flowers were recorded. Post-pollination reproductive isolation mechanisms are important in maintaining the genetic integrity of *O. batemanniannum* and *O. warmingii*, since there was no fruits or seeds formation from interspecific manual pollination, pointing to a null probability of hybrids among these species. Our results also do not support the hypothesis that *B. variabilis* and *O. warmingii* constitute a mimetic complex, since *O. warmingii* does not benefit from proximity, cofloration, or floral resemblance to *B. variabilis*. The results suggest that the two species are part of a group of species pollinated by oil-collecting bees and that the superficial similarities observed are probably only related to this pollination syndrome.

Keywords: Orchidaceae, Osmophores, Elaiophores, Hybridization, Facilitation.

Orchidaceae, uma das maiores famílias de Angiospermas, ocupa posição basal na ordem Asparagales e apresenta distribuição cosmopolita, com predomínio nas regiões tropicais. São ervas perenes, epífitas, terrestres, rupícolas ou saprófitas. Suas flores, altamente complexas, caracterizam-se por uma grande diversidade de cores, tamanhos e formas (Dressler, 1990; Pinheiro *et al.*, 2004).

As flores de Orchidaceae são bixessuadas ou raramente unisexuadas. São formadas por dois verticilos trímeros – três sépalas externas no primeiro verticilo, duas pétalas laterais e uma mediana (labelo), no segundo. A pétala mediana (labelo), com frequência, é maior e apresenta glândulas ou ornamentações (calos) com funções relacionadas ao processo de polinização. Frequentemente ocorre ressupinação – a rotação de 180° sofrida por flores zigomorfas durante o desenvolvimento – que leva o labelo a ocupar a posição abaxial na antese, podendo, assim, atuar como plataforma de pouso ou guia mecânico para os polinizadores (Mondragón-Palomino & TheiBen, 2009). O androceu e o gineceu, fundidos em maior ou menor grau, formam uma estrutura única denominada coluna ou ginostêmio. Nesta estrutura, a antera e a área estigmática são separadas por uma membrana, o rostelo, que dificulta a autopolinização espontânea. Apresentam ovário ínfero e sincárpico. As sementes são em geral diminutas e carecem de endosperma. Durante o processo de germinação estabelece-se uma simbiose entre fungos e a semente. O fungo disponibiliza nutrientes para o embrião, sem os quais o processo de germinação não seria possível na natureza (Dressler, 1990; Singer & Koehler, 2004; Souza & Lorenzi, 2005).

A subtribo Oncidiinae é amplamente distribuída na América Tropical (Dressler, 1990) e tem o Brasil como centro de diversidade. O nome *Oncidium* deriva do grego *onkos* (“calo”, “massa”, “inchaço”) em referência às calosidades presentes na base do labelo da maioria dos seus representantes (Dressler, 1990; Brito & Cribb, 2005). A maioria das espécies é epífita, mas algumas são facultativas ou exclusivamente terrícolas e frequentemente cultivadas. Suas flores ressupinadas estão dispostas em panículas multifloras ou reduzidas a uma flor. São geralmente amarelas, frequentemente com marcas castanho-oliváceas ou castanho-avermelhadas, ou castanhas com manchas amarelas ou, ainda mais raramente, brancas, rosas ou lilases. Apresentam caracteres distintos tais como: calos complexos perto da base do lobo mediano, nas mais variadas

formas, com projeções centrais, uma espóra (não recompensável) e tábula infrastigmática (estrutura carnuda na base da coluna) (Dressler & Williams, 1975; Pabst & Dungs, 1977; Faria, 2004). A tábula infrastigmática é uma estrutura chave na ecologia da polinização das flores de *Oncidium* (*sensu* Stipiczynska *et al.*, 2007), porque seus polinizadores fixam-se a este elemento floral para obter a estabilidade durante o forrageamento na flor (Sigrist & Sazima, 2004; Chase *et al.*, 2009).

Em Orchidaceae, o néctar é a recompensa floral mais comum, entretanto existe uma quantidade significativa de espécies que oferece ceras ou óleos aos insetos polinizadores (van der Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1990). As ceras são produzidas em áreas mal definidas do labelo e os óleos secretados por elaióforos tricomáticos ou epiteliais (Vogel, 1990). Os elaióforos estão presentes principalmente em membros da subtribo Oncidiinae (Stpiczynska *et al.*, 2007; Davies & Stpiczynska, 2009). O primeiro registro do recurso na família foi feito para *Oncidium ornithorrhynchum* Kunth, acompanhado por uma breve descrição da natureza dos lipídios (Vogel, 1990).

A ocorrência de vestígios de açúcar em alguns óleos florais (Vogel, 1990; Davies *et al.*, 2003) e de terpenoides no néctar de algumas espécies de Orchidaceae pode indicar que, no curso da evolução, secreções resiníferas tenham substituído o néctar como recurso floral (Davies *et al.*, 2005).

As orquídeas produtoras de óleo são bem representadas nos neotrópicos e são visitadas exclusivamente pelas abelhas coletoras de óleo. As abelhas coletam e transportam o óleo floral com as pernas ou abdômen e essas partes do corpo são cobertas com pelos ramificados especiais. São principalmente representantes das famílias Apidae e Melittidae. Abelhas coletoras de óleo que visitam espécies de *Oncidium* agarram-se com as suas mandíbulas à tábula infrastigmática, suportada ventralmente na base da coluna (Dressler, 1990). Singer & Cocucci (1999) registraram a abelha *Tetrapedia diversipes*, coletora de óleos dos dois elaióforos labelares de *Oncidium paranaense* Kraenzl., como polinizadora da espécie. Esta abelha também é polinizadora de outras Oncidiinae, incluindo espécies de *Oncidium* Sw., *Sigmatostalix* Rchb.f., e *Ornithophora* Barb. Rodr. (Dressler, 1990; Singer & Cocucci, 1999). Os lipídios são muito calóricos, em comparação com outros recursos florais, de modo que abelhas coletoras de óleo se beneficiam desta fonte de alimento de alta qualidade, especialmente para suas larvas (Silvera, 2002).

Algumas flores emitem aroma, composto principalmente por óleos voláteis produzidos por osmóforos, que pode ser associado à atração de polinizadores (Vogel,

1990). Os osmóforos são geralmente formados por uma única camada de células epidérmicas ou por papilas secretoras (Curry *et al.*, 1991; Endress, 1994; Ascensão *et al.*, 2005). As fragrâncias florais geralmente funcionam como atrativos florais secundários que anunciam aos polinizadores a presença e a localização de recompensas primárias (Faegri & van der Pijl, 1979; Endress, 1994; Proctor *et al.*, 1996). Por outro lado, numerosas orquídeas não oferecem recompensa aos polinizadores. São as “orquídeas de engodo”, cujas flores exibem conjuntos de caracteres (cores, fragrâncias florais, etc.) que atraem animais a procura de alimento o qual, entretanto, não é disponibilizado. Podem apresentar estratégias mais sofisticadas, como nas orquídeas polinizadas por “pseudocópula”, que produzem fragrâncias florais que mimetizam os feromônios sexuais de fêmeas de insetos, geralmente os Hymenoptera (Singer & Koehler, 2004).

A maioria das flores das espécies de Malpighiaceae neotropicais também apresenta elaióforos, localizados no cálice, visitados por abelhas fêmeas Apidae (citada como Anthophoridae) (Vogel, 1990; Simpson & Neff, 1983). Em várias espécies, em uma mesma população, alguns indivíduos podem apresentar flores com redução ou ausência das glândulas de óleo ao lado de indivíduos com elaióforos (Anderson, 1979; Sazima & Sazima, 1989; Vogel, 1990). Na região neotropical, muitas espécies de Oncidiinae imitam as flores de espécies de Malpighiaceae. Membros de ambos os grupos geralmente florescem simultaneamente e apresentam inflorescências funcionalmente semelhantes, conseqüentemente atraindo e compartilhando polinizadores. No Panamá, *Trichocentrum stipitatum* (Lindl.) MW Chase & NH Williams imita as flores de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth (Malpighiaceae), partilhando polinizadores (Ackerman, 1986). No gênero *Tolumnia* (inclusive anteriormente em *Oncidium*), *T. guianensis* (Aubl.) Braem, *T. osmentii* (Moir) Braem, e *T. compressicaulis* (Withner) Braem., são citadas miméticas de espécies de Malpighiaceae. Neste grupo, abelhas fêmeas do gênero *Centris* visitam estas espécies à procura de lipídios florais (van der Cingel, 2001). Por outro lado, Reis *et al.* (2000) e Singer (2003) consideram mais seguro assumir que Orchidaceae e Malpighiaceae são partes de uma guilda de plantas polinizadas por abelhas coletoras de óleo, em vez de peças de um complexo mimético.

No que se refere ao sistema de reprodução, a maioria das Orchidaceae não apresenta sistemas de incompatibilidade, mas a autopolinização espontânea é evitada pela presença do rostelo; dessa forma, as espécies dependem de vetores de pólen e são,

na maioria dos casos, xenógamas, sendo a autogamia rara (van der Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1993 *apud* Saddi, 2008). Nas espécies que apresentam este sistema reprodutivo, o rostelo é curto ou rudimentar, permitindo que os grãos de pólen tenham contato com a área estigmática (Dodson, 1969; Singer & Sazima, 2001 a, b). Embora a autocompatibilidade prevaleça nas orquídeas, a autoincompatibilidade dentro da subtribo Oncidiinae é registrada para os gêneros *Tolumnia* Raf., *Trichocentrum* Poepp. & Endl. e *Oncidium* Sw (Roberts, 2003; Tremblay *et al.*, 2005).

Uma característica bastante conhecida da família Orchidaceae é a potencialidade para formar híbridos interespecíficos. A coexistência natural de espécies relacionadas e a manutenção da integridade das mesmas só são possíveis se existem mecanismos eficientes capazes de conter o fluxo genético entre elas. A hibridação é evitada principalmente pela existência de barreiras pré-polinização, podendo ser mecânicas (quando relacionadas a mecanismos da própria flor) ou ecológicas (pela presença de polinizadores específicos ou através da separação temporal da floração) (Dodson, 1969; Coleta & Stort, 1976; Dressler, 1990; Paulus & Gack, 1990; Pansarin & Amaral, 2008). Também podem ocorrer barreiras pós-polinização tais como incompatibilidade interespecífica, morte do zigoto ou esterilidade do híbrido (Dressler, 1990).

Nosso estudo realizou-se no Parque Estadual do Ibitipoca, MG, que concentra grande riqueza de espécies de Orchidaceae, com hábitos variados (epifítico, rupícola ou terrestre), distribuídas pelos vários ambientes e formações vegetacionais presentes. Foram registrados 118 táxons, distribuídos em 47 gêneros, sendo os mais representativos: *Pleurothallis sensu lato* (13 spp.), *Oncidium* (12 spp.), *Maxillaria* (11 spp.), *Epidendrum* (10 spp.), *Bulbophyllum* (5 spp.), *Habenaria* (5 spp.) e *Octomeria* (5 spp.). As 12 espécies de Oncidiinae (exceto *O. warmingii*) ocorrentes no Parque Estadual do Ibitipoca possuem populações distribuídas em todos os tipos vegetacionais (Menini Neto *et al.*, 2007) e são endêmicas da região.

As orquídeas possuem papel importante na flora das Unidades de Conservação e somente quando há conhecimento sobre habitat, biologia, ecologia e tamanho das populações são possíveis programar estratégias de conservação apropriadas para as espécies (Cribb *et al.*, 2003). Centrado em um maciço montanhoso da serra da Mantiqueira, o Parque Estadual do Ibitipoca (PEIB) está situado no sudeste do estado de Minas Gerais, entre os municípios de Santa Rita de Ibitipoca e Lima Duarte (21°40' – 21°44'S e 43°52' – 43°55'W). Apresenta, dentro dos seus limites, um interessante mosaico de formações vegetais, das quais o campo rupestre ocupa a maior extensão,

mas também podem ser encontradas em seus domínios áreas de floresta ombrófila densa (ou floresta nebulosa), matas ciliares e cerrados de altitude (Salimena-Pires, 1997; Fontes, 1997; Rodela, 1998). Na “segunda edição do Atlas para a conservação da biodiversidade no estado de Minas Gerais”, a Serra de Ibitipoca está entre as áreas prioritárias para a conservação da flora no Estado, citada na categoria de importância biológica especial, o nível mais alto adotado (Drummond *et al.*, 2005).

O presente trabalho teve como objetivo estudar cinco espécies simpátricas da subtribo Oncidiinae - Orchidaceae, *Oncidium barbaceniae* Lindl., *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium warmingii* Rchb, em vegetação de campo rupestre, quanto à fenologia, biologia floral, anatomia das estruturas secretoras (em especial aquelas secretoras de recurso floral), polinização, sistema reprodutivo e isolamento reprodutivo.

Esta tese está dividida em três capítulos:

- O primeiro capítulo caracterizou a biologia floral, o sistema reprodutivo e a polinização das espécies. Além disso, comparou morfoanatomicamente as estruturas secretoras, em especial aquelas secretoras de recurso floral.
- O segundo capítulo avaliou a ocorrência de mecanismos de isolamento reprodutivo entre *Oncidium warmingii* e *Oncidium batemannianum*.
- O terceiro capítulo verificou a existência de complexo mimético ou facilitação entre *Oncidium warmingii* (Orchidaceae) e *Byrsonima variabilis* (Malpighiaceae).

- Ackerman JD. 1986.** Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination systems in orchids. *Lindleyana* **1**: 108-113.
- Anderson WR. 1979.** Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* **11**: 219-223.
- Ascensão L, Franciso A, Cotrim H & Salomé Pais M. 2005.** Comparative structure of the labellum in *Ophrys fusca* and *O.lutea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **92** (7): 1059-1067.
- Brito ALVT, Cribb P. 2005.** Orquídeas da Chapada Diamantina. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.
- Chase MW, Williams NH, de Faria AD, Neubig KM, do Carmo M, Amaral E, Whitten WM. 2009.** Floral convergence in Oncidiinae (Cymbidieae; Orchidaceae): an expanded concept of *Gomesa* and a new genus *Nohawilliamsia*. *Annals of Botany* **104**: 387-402.
- Coleta MHD, Stort MNS. 1976.** Estudo da possível influência do comprimento do órgão reprodutor feminino como barreira de isolamento reprodutivo em orquídeas. *Ciência e Cultura* **28** (8): 936-939.
- Cribb PJ, Kell SP, Dixon KW, Barret RL. 2003.** Orchid conservation: a global perspective. In: Dixon KW, Kell SP, Barret RL, Cribb PJ, (org.). *Orchid Conservation.*, Kota Kinabalu, Sabah: Natutal History Publications (Borneo), p.1-24.
- Curry KJLM, McDowell WS, Judd A, Stern WL. 1991.** Osmophores, floral features, and systematic of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **78**: 610-623.
- Davies KL, Turner MP, Gregg A. 2003.** Lipoidal labellar secretions in *Maxillaria Ruiz & Pav.* (Orchidaceae). *Annals of Botany* **91**: 439-446.
- Davies KL, Stpiczynska M, Gregg A. 2005.** Nectar-secreting floral in *Maxillaria anceps* Ames & C.Schweinf. (Orchidaceae). *Annals of Botany* **96**: 217-227.
- Davies KL. & Stpiczynska M. 2009.** Comparative histology of floral elaiophores in the orchids *Rudolfiella picta* (Schltr.) Hoehne (Maxillariinae sensu lato) and

- Oncidium ornithorhynchum* H.B.K. (Oncidiinae sensu lato). *Annals of Botany***104**:221-234.
- Dodson CH. 1969.** Pollination and variation in the subtribe Catasetinae (Orchidaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden***39**: 35-56.
- Dressler RL. 1990.** The Orchids, Natural History and Classification. Harvard University Press. Harvard, 314p.
- Dressler RL, Williams NH. 1975.** El complejo *Oncidoglossum confusum*. *Orquidéa* **4**: 752-754.
- Dressler R.L. 1993.** Phylogeny and classification of the orchid family. Dioscorides Press, Portland, OR, USA.p 314.
- Drummond GM, Martins CS, Machado ABM, Sebaio FA & Antonini Y(orgs.) 2005.** Biodiversidade em Minas Gerais, um atlas para sua conservação. 2 ed. Belo Horizonte , Fundação Biodiversitas.
- Endress PK. 1994.** Cambridge tropical biology series: Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge.
- Faegri G, van der Pijl L. 1979.** The Principles of Pollination Ecology. Third Revised Edition. Pergamon Press. London, 254p.
- Faria AD. 2004.** Sistemática filogenética e delimitação dos gêneros da subtribo Oncidiinae (Orchidaceae) endêmicos do Brasil: *Baptistonia*, *Gomesa*, *Ornithophora*, *Rodrigueziella*, *Rodrigueziopsis* e *Oncidium* pro parte. 2004. 119 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Fontes MA. 1997.** Análise da Composição Florística das Florestas Nebulares do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (Mestrado) C. Florestais, Universidade Federal de Lavras, MG. 50p.
- Mondragón-Palomino M, TheiBen G. 2009.** Why are orchid flowers so diverse? Reduction of evolutionary constraints by paralogues of class B floral homeotic genes. *Annals of Botany***104**: 583-594.
- Menini Neto L, Alves RJV, Barros F & Forzza. 2007.** Orchidaceae do Parque Estadual de Ibitipoca, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasileira***21**(3): 687-696.
- Pabst GFJ, Dungs F. 1977.** Orchidaceae Brasilienses. V.II. Hildesheim: Kurt Schmiersow.

- Pansarin ER, Amaral MCE. 2008.** Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization? *Plant Biology***10**(2): 211-219.
- Paulus HF, Gack C. 1990.** Pollination of *Ophrys* (Orchidaceae) in Cyprus. *Plant Systematics and Evolution* **169**: 177-207.
- Proctor M, Yeo P, Lack A. 1996.** The natural history of pollination. Harper Collins, London. 479p.
- Pinheiro F, Barros F, Lourenço RA. 2004.** O que é uma orquídea? In: Barros, F; Kerbauy GB. (Org.). Orquidologia sul-americana: uma compilação científica. São Paulo: Secretaria do Meio Ambiente. Cap. 1,p. 11-33.
- Reis MG, de Faria AD, Bittrich V, Amaral MCE, Marsaioli AJ. 2000.** The chemistry of flower rewards – *Oncidium* (Orchidaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*. **11**: 600-608.
- Roberts DL. (2003).** Pollination biology: the role of sexual reproduction in orchidconservation. In: Dixon KW, Kell SP, Barret RL, Cribb PJ (eds). *Orchid Conservation*. Natural Publications, Sabah, pp. 113-136.
- Rodela LC. 1998.** Cerrados de altitude e campos rupestres do Parque Estadual de Ibitipoca, sudeste de Minas Gerais: Distribuição e florística por subfisionomias da vegetação. *Revista do Departamento de Geografia***12**: 163-189.
- Saddi EM. 2008.** Orchidaceae dos Afloramentos Rochosos da Pedra da Gávea, Parque Nacional da Tijuca, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado)- Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro/Escola Nacional de Botânica Tropical. Xvi + 119f.
- Salimena-Pires FR.1997.** Aspectos fisionômicos e vegetacionais do Parque Estadual de Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. Pp. 61-60. In: Rocha (coord.). Anais do 1º Seminário de Pesquisa sobre o Parque Estadual de Ibitipoca. Juiz de For a, Núcleo de Pesquisa em Zoneamento Ambiental da UFJF.
- Sazima M. & Sazima I. 1989.** Oil-gathering bees visit flowers of eglandular morphs of the oil-producing Malpighiaceae. *Botanica Acta***102**: 106-111.
- Silvera KL. 2002.** Adaptive radiation of oil-reward compounds among Neotropical orchid species (Oncidiinae). MSc. Thesis, University of Florida.
- Simpson BB, Neff JL. 1983.** Evolution and diversity of floral rewards. Pp. 142-159. In: C.E. Jones & R.J. Little (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. New York. Scientific and Academic Editions.

- Singer RB. 2003.** Orchid Pollination: Recent developments from Brazil. *Lankesteriana* 7:111-114.
- Singer RB, Cocucci AA. 1999.** Pollination mechanisms in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana*14: 47-56.
- Singer RB, Koehler S. 2004.** Pollinarium morphology and floral rewards in Brazilian Maxillariinae (Orchidaceae). *Annals of Botany*93: 39-51.
- Singer RB, Sazima M. 2001a.** Flower morphology and pollination mechanism in three sympatric Goodyerinae orchids from southeastern Brazil. *Annals of Botany*88: 989-997.
- Singer RB, Sazima M. 2001b.** The pollination mechanism of three sympatric *Prescottia* (Orchidaceae:Prescottinae) species in southeastern Brazil. *Annals of Botany*88: 999-1005.
- Sigrist MR, Sazima M. 2004.** Pollination and reproductive biology of twelve species of Neotropical Malpighiaceae: stigma morphology and its implications for the breeding system. *Annals of Botany*94:33-41.
- Souza VC, Lorenzi H. 2005.** Botânica Sistemática; guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira. Baseado em APG II. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum. 640p.
- Stpiczynska M, Davies KL, Gregg A. 2007.**Elaiophore diversity in three contrasting members of *Oncidiinae* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*155: 135-148.
- Tremblay RL, Ackerman JD, Zimmerman JK, Calvo RN. 2005.** Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of Linnean Society* 84: 1-54.
- van der Cingel NA. 2001.** An atlas of orchid pollination: America, Africa, Asia and Australia. 1 ed. Rotterdam, Netherlands, A. A. Balkema, 260p.
- van der Pijl L, Dodson CH. 1966.** Orchid flowers: their pollination and evolution. University of Miami Press, Coral Gables. 214p.
- Vogel S. 1990.** The role of scent glands in pollination: On the structure and fuction of osmophores. New Delhi: Amerind xvi, 202p. il. Smithsonian Institute Libraries.

*ESTUDOS REPRODUTIVOS E MORFOANATOMIA DAS ESTRUTURAS SECRETORAS DE
RECURSOS FLORAIS EM CINCO ESPÉCIES DE ONCIDIINAE - ORCHIDACEAE*

Todas as espécies aqui estudadas estavam tradicionalmente incluídas no gênero *Oncidium* Sw. (Oncidiinae Benth.; Orchidaceae) um dos mais conspícuos entre as orquídeas neotropicais e um dos mais difíceis de ser delimitado. O nome *Oncidium* deriva do grego *onkos* (“calo”, “massa”, “inchaço”) em referência às calosidades presentes na base do labelo da maioria dos seus representantes (Brito & Cribb, 2005). Popularmente, são chamadas de “chuva de ouro” ou “dancing ladies” (Garay & Stacy, 1974; Dressler & Williams, 1975). No entanto o gênero revelou-se altamente polifilético (Chase & Palmer, 1992). De acordo com Chase *et.al.*, (2009), a convergência de características florais associadas com a polinização por abelhas coletoras de óleos florais, resultava num alto grau de polifiletismo no gênero.

Subsequentes filogenias moleculares (Williams *et. al.*, 2001; Chase *et.al.*, 2009), foram tornando mais claras as relações de parentesco no grupo. Chase *et. al.*, (2009) propuseram que espécies de *Oncidium*, principalmente aquelas dos grupos brasileiros, integrantes do “Clado-Gomesa” e formando um grupo monofilético, fossem transferidas para o gênero *Gomesa*. Outros estudos ainda encontram-se em andamento e, possivelmente novas propostas estão a caminho. No entanto, considerando que os resultados aqui descritos não estão relacionados à sistemática do grupo optamos por utilizar os nomes de forma *strictu sensu* das espécies do presente estudo: *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium warmingii* Rehb, *Oncidium barbaceniae* Lindl. e *Oncidium batemannianum* Parm. *ex.* Knowles & Westc.

A maioria das espécies de Oncidiinae é epífita, mas algumas são facultativas ou exclusivamente terrícolas e frequentemente cultivadas. Suas flores ressupinadas estão dispostas em panículas multifloras ou reduzidas a uma flor. São geralmente amarelas, frequentemente com marcas castanho-oliváceas ou castanho-avermelhadas, ou castanhas com manchas amarelas ou, ainda mais raramente, brancas, rosas ou lilases. Apresentam caracteres distintos tais como: calos complexos perto da base do lobo mediano, nas mais variadas formas, com projeções centrais, uma espora (não recompensável) e tábula infrastigmática (estrutura carnuda na base da coluna) (Dressler & Williams, 1975; Pabst & Dungs, 1977; Faria, 2004). A tábula infrastigmática é uma estrutura chave na ecologia da polinização das flores de *Oncidium* (*sensu* Stipiczynska

et al., 2007), porque seus polinizadores fixam-se a este elemento floral para obter a estabilidade obreira na flor (Sigrist & Sazima 2004).

Embora a autocompatibilidade prevaleça nas orquídeas, a autoincompatibilidade dentro da subtribo Oncidiinae é registrada para os gêneros *Tolumnia* Raf., *Trichocentrum* Poepp. & Endl. e *Oncidium* Sw (Roberts, 2003; Tremblay *et al.*, 2005).

A maioria das espécies da subtribo Oncidiinae do Novo Mundo, não oferecem recompensas a seus polinizadores (Chase *et al.*, 2009). No entanto, para algumas espécies de *Gomesa* R. Br., *Lockhartia* Hook., *Oncidium* Sw., *Ornithocephalus* Hook., *Phymatidium* Lindl. e *Trichocentrum* Poepp. & Endl. (Singer & Cocucci, 1999; Flach *et al.*, 2004; Reis *et al.*, 2006; 2007; Pácek & Stpiczynska, 2007; Stpiczynska *et al.*, 2007; Stpiczynska & Davies, 2008; Davies & Stpiczynska, 2009) foi demonstrada a presença de óleos florais como recompensa para seus polinizadores. De acordo com Mickeliunas *et al.* (2006), *Grobya amherstiae* Lindl. (Cyrtopodiinae) é polinizada por *Paratetrapedia fervida* Smith (Apidae, Tapinotaspini) enquanto coleta óleo produzido por elaióforos no ápice do labelo e base na coluna. Pansarin & Pansarin (2010) em estudos reprodutivos em *Trichocentrum pumilum* verificaram a existência de elaióforos tricômicos, sendo as flores visitadas e polinizadas exclusivamente por *Tetrapedia diversipes* e *Lophopedia nigrispinis*.

Os materiais lipofílicos não voláteis secretados por flores-óleo são geralmente incolores e predominantemente constituídos por diacyl- e triacylglicerois, ácidos graxos saturados, parafinas e ésteres. Outros componentes relacionados com elaióforos são diglicerídeos, aminoácidos, glicose, carotenoides, fenólicos, glicosídeos, isoprenoides não voláteis e saponinas (Vogel, 1974; Buchmann, 1987; Reis *et al.*, 2000; Silvera, 2002). A quantidade e qualidade do óleo podem variar entre membros do mesmo gênero, como o óleo verificado em *Sigmatostalix picturatissima* é mais semelhante ao óleo de *Ornithocephalus* sp. do que outra espécie de *Sigmatostalix* (Silvera, 2002). Com base em estudos anatômicos e ultraestruturais, vários autores têm verificado a presença de elaióforos epiteliais, como em *Gomesa bifolia* (Aliscioni *et al.*, 2009).

No que se refere à atração de visitantes florais, a fragrância é muitas vezes o fator dominante, particularmente, mas não necessariamente, em flores que são visitadas à noite (Endress, 1994). Várias espécies de abelhas e moscas que polinizam Orchidaceae dependem da fragrância para reforçar o estímulo visual da coloração floral (Dodson, 1969).

Os osmóforos são estruturas secretoras florais especializadas na biossíntese e emissão de compostos altamente voláteis para polinizadores (Vogel, 1990). Estas glândulas geradoras de perfume ocupam uma posição na flor que promove a difusão rápida do odor. Em orquídeas estas regiões restritas são muitas vezes morfológicamente bem diferenciadas, isto é apêndices ou tricomas nas sépalas ou pétalas ou no calo do labelo (Pridgeon & Stern, 1983; Stern *et al.*, 1987; Vogel, 1990; Teixeira *et al.*, 2004).

Peças florais envolvidas na produção de aroma podem ser representadas tanto por epidermes indiferenciadas, que emitem fragrâncias difusamente (Mazurkiewicz, 1913), ou por osmóforos, isto é, glândulas especializadas localizadas de tecidos florais (Stern *et al.*, 1987; Vogel, 1990).

Este trabalho visa caracterizar a biologia floral, sistemas reprodutivos, visitantes florais e comparar anatomicamente estruturas secretoras, em especial àquelas secretoras de recurso floral de cinco espécies de Oncidiinae, no Parque Estadual do Ibitipoca, MG.

Caracterização da Área de estudo

O Parque Estadual do Ibitipoca está localizado no sudeste do Estado de Minas Gerais, Brasil, entre os municípios de Santa Rita de Ibitipoca e Lima Duarte ($21^{\circ}40' - 21^{\circ}44'S$ e $43^{\circ}52' - 43^{\circ}55'W$), abrangendo uma área de 1923,5ha. A Serra do Ibitipoca faz parte do Complexo da Mantiqueira, que tem seu relevo caracterizado com altitudes variáveis entre 1200 e 1800 metros (CETEC, 1983). O relevo do Parque mostra-se bastante escarpado, com paredões e grutas por toda a área (Correa Neto, 1997). O Parque Estadual do Ibitipoca apresenta em sua área um mosaico de formações vegetais, das quais o campo rupestre ocupa a maior extensão, sendo também encontradas em seus domínios diversas formações florestais: floresta ombrófila densa (ou floresta nebulosa); mata ciliar e cerrado de altitude (Salimena-Pires, 1997; Fontes, 1997; Rodela, 1998; Vitta, 2002) (Fig.1).

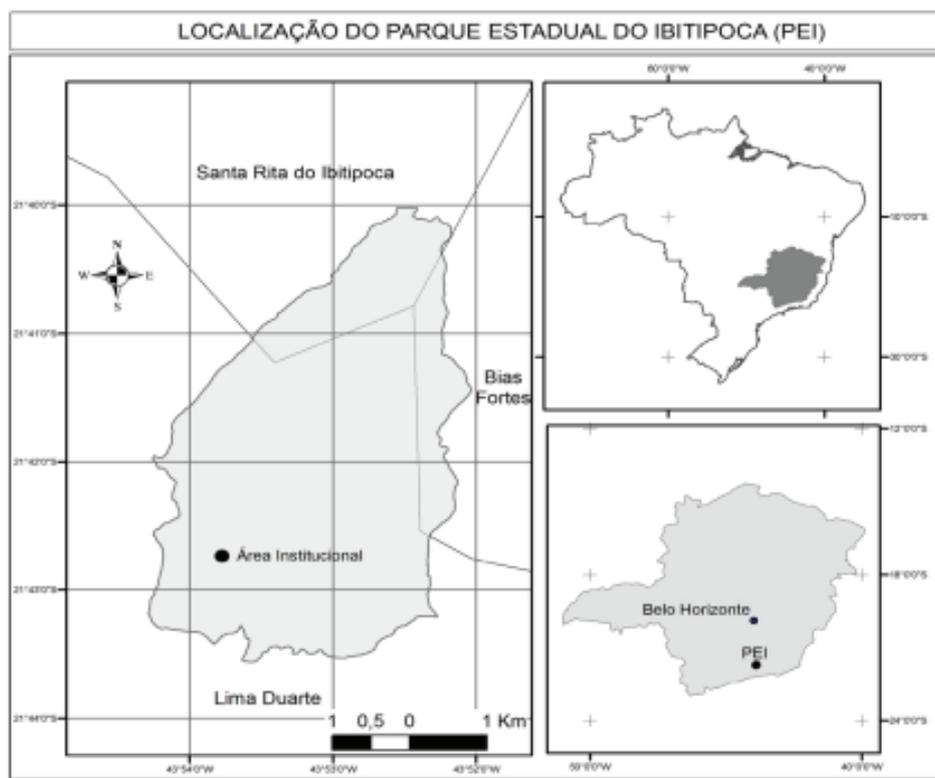


FIGURA 1: Localização do Parque Estadual do Ibitipoca, MG. Fonte: IBGE (s/d). Org: Bento, 2012; Exec. Martins, 2012.

Segundo a classificação de Koeppen (1948), o clima da região é do tipo Cwb: mesotérmico úmido, com verões amenos e invernos secos, sendo que a estação mais quente e úmida vai de outubro a março e a estação mais fria e seca de abril a setembro. A precipitação anual média é de 1.532 mm e a temperatura média é de 18,9°C (CETEC, 1983).

Foram selecionadas como áreas de estudo: a área de mata localizada perto da portaria do Parque, ambiente propício às espécies epífitas (*O. gravesianum* e *O. hookeri*) e o “Circuito Janela do Céu”, que engloba a “Trilha do Cruzeiro” (*O. warmingii* e *O. batemannianum*) e a “Trilha da Lombada” (*O. barbaceniae*) (Fig. 2 A, B, C e D). As cinco espécies foram acompanhadas, mensalmente, no período de 2013 a 2016.



FIGURA 2: Aspecto geral do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, com as áreas selecionadas para análises das flores, experimentos de polinização manual e observações focais de visitantes marcadas com estrelas (A); Detalhe da Mata localizada na portaria do parque (B e estrela laranja); Detalhe da trilha do Cruzeiro (C e estrela vermelha) e Detalhe da Trilha da Lombada (D e estrela amarela).

Morfologia e biologia florais

Através de observações feitas diretamente no campo, foram analisadas entre 10 e 30 flores de cada espécie, selecionadas ao acaso, a partir de 10 a 30 indivíduos. As observações florais envolveram horário de antese, período de longevidade, presença de odor, e mudanças ao longo da antese. A longevidade floral foi avaliada em flores controle (não manipuladas), em flores após a remoção das polínias e em flores após a inserção das polínias. No laboratório de Biologia Reprodutiva do Museu Nacional (UFRJ), foram feitas as seguintes observações: morfologia, morfometria (diâmetro e/ou largura e comprimento das flores e das estruturas florais como sépalas, pétalas, labelo, coluna e ovário), cor, forma, presença de osmóforos e receptividade estigmática. (Faegri & van der Pijl, 1979). Para verificar a receptividade estigmática, 30 flores de cada espécie foram testadas, em diversos momentos da antese, com o método de atividade peroxidásica (Dafni, 1992), que consiste em pingar gotas de peróxido de hidrogênio na região estigmática e verificar a reação através da formação de bolhas na mesma. Para verificar a presença de osmóforos, flores frescas em antese e senescentes foram mergulhadas em solução de vermelho neutro em diluição aquosa de 1:1000, por 20 a 30 minutos e, posteriormente lavadas em água corrente (Vogel, 1990; Dafni, 1992). As medidas foram tomadas a partir de paquímetro digital, sob microscópio estereoscópico (n= 30 flores).

Morfo-anatomia das estruturas secretoras florais associadas à polinização

Para as análises micromorfológicas das estruturas secretoras florais associadas à polinização, botões e flores de cada espécie foram selecionados ao acaso, coletados e fixados imediatamente em formaldeído 4% + glutaraldeído 2,5 % em tampão fosfato de sódio 0,05M pH 7,2 (Gahan, 1984). Posteriormente, as amostras foram desidratadas em série etílica, levadas ao ponto crítico de CO₂, em equipamento Leica EM CPD 300, metalizadas com ouro em metalizador Denton Vacuum - Desk IV, observadas e documentadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) JEOL JSM/6390LV do Centro de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Invertebrados do Museu Nacional/UFRJ.

Para detectar as principais classes de metabólitos nas células das estruturas secretoras florais associadas à polinização, secções de material conservado em etanol 70% ou fresco, obtidas em micrótomo de Ranvier, foram tratadas com: (a) Sudan III e IV, para detectar a presença substâncias lipofílicas (Johansen, 1940); (b) dicromato de

potássio a 10%, para compostos fenólicos (Gabe, 1968); (c) reagente de Fehling, para açúcares ((Maclean and Iveney-Cook 1952); (d) Lugol, para amido (Johansen, 1940); (e) xylidine Ponceau, para proteínas (Cortelazzo & Vidal 1991; Amaral *et al.* 2001) e (f) ácido periódico- reagente de Schiff (PAS), para polissacarídeos (Taboga & Vilamaior, 2013).

A fim de localizar e comparar anatomicamente as estruturas secretoras florais associadas à polinização, botões e flores foram coletados, fixados em solução de formaldeído 4% + glutaraldeído 2,5 % em tampão fosfato de sódio 0,05M pH 7,2 (Gahan, 1984), submetidos à baixa pressão, desidratados em série etílica, emblocados em Historesin[®] (Leica) e seccionados com navalha de vidro, em micrótomo rotativo, modelos Spencer 820 (American Optical Co) e RM 2255 (Leica). Secções seriadas de 1-3µm de espessura foram coradas com Azul de Toluidina 0,05 % (Feder & O'Brien, 1968).

As observações e fotomicrografias foram realizadas em microscópio Leica DM750 com câmera Leica ICC50 HD e software LAS EZ versão 3.0.0. As imagens foram editadas no Software Adobe[®] Photoshop[®] 7.0 e as pranchas montadas utilizando o Corel DRAW[®]12.

Visitantes florais

O registro de visitantes florais foi realizado no campo a partir de observações focais, ao longo de vários dias, entre 7h e 18h. Como a taxa de visitação em espécies de Orchidaceae é em geral muito baixa, a frequência de visitas e a eficiência da polinização para cada espécie estudada também foi estimada indiretamente a partir das taxas de remoção e de deposição de polinários. Para tal, flores foram coletadas ao acaso durante os períodos de floração e analisadas sob microscópio estereoscópico quanto à remoção e deposição de polinário. O grau da eficiência dos polinizadores foi calculado através da razão entre o percentual de polínias removidas e o percentual de frutos produzidos naturalmente (Tremblay *et al.*, 2005).

Sistema reprodutivo

Para o estudo do sistema reprodutivo foram utilizadas técnicas de polinização manual. 1 – para verificar a ocorrência de **autopolinização espontânea**, botões florais sem nenhuma manipulação foram isolados com sacos de voil: *O. warmingii* (7indivíduos/45 botões); *O. hookeri* (05/16); *O. gravesianum* (05/10); *O. barbaceniae*

(12/54) e *Oncidium batemannianum* (8/41); 2- a **autopolinização manual**, que consiste em inserir a própria polínia na região estigmática de uma mesma flor, foi feita para verificar a presença de sistemas de autoincompatibilidade: *O. warmingii* (22 indivíduos/62 flores); *O. hookeri* (05/15); *O.gravesianum* (05/12); *O.barbaceniae* (25/114) e *O.batemannianum* (24/107); 3- **polinização cruzada manual (xenogamia)**, que consiste na troca de polínias de flores de indivíduos diferentes, foi feita para estimar a produção potencial de frutos: *O.warmingii* (20 indivíduos/73 flores); *O.hookeri* (05/15); *O.gravesianum* (05/13); *O.barbaceniae* (18/74) e *O.batemannianum* (22/103); 4- flores não manipuladas e não ensacadas foram marcadas e utilizadas como **controle** para estimar a produção de frutos em condições naturais: *O.warmingii* (20 indivíduos/229 flores); *O.hookeri* (05/15); *O.gravesianum* (05/15); *O.barbaceniae* (19/123) e *O.batemannianum* (23/215). Todas as flores utilizadas neste experimento estavam frescas, mas não necessariamente abertas naquele dia, continham polínias e apresentavam cavidade estigmática úmida e não recoberta pelas asas estigmáticas. Tais características foram usadas para nos certificarmos da receptividade e da virgindade das flores manipuladas (quando polinizadas as asas recobrem a cavidade estigmática). Após o procedimento de polinização manual, as flores foram ensacadas com sacos de voil e acompanhadas até a senescência das mesmas ou até a formação de frutos. Em todos os casos, os frutos resultantes foram acompanhados até o estágio próximo à liberação das sementes, quando foram coletados e mensurados quanto ao comprimento e diâmetro. A fim de verificar a viabilidade das sementes produzidas, utilizamos a técnica do carmim acético que consiste em confirmar por transparência a presença de embrião no interior da semente, considerando-se sementes férteis aquelas com embrião visível e estéreis aquelas sem embrião (Kearns & Inouye, 1993). Para tal, foram analisadas no máximo 1000 sementes por fruto.

O grau de autocompatibilidade foi estabelecido através do cálculo do índice de autocompatibilidade (IAc), conforme Lloyd & Shoen (1992), que é o resultado da divisão entre a percentagem de frutos formados por polinizações manuais que resultam em autofertilização (autopolinização manual) e a percentagem de frutos formados por polinizações cruzadas que resultam em fertilização cruzada (xenogamia). Plantas com IAc superior a 0,75 foram consideradas autocompatíveis.

Distribuição e períodos de florescimento

Das espécies em estudo somente *Oncidium warmingii* e *Oncidium batemannianum* estão amplamente distribuídas ao longo do Parque. *Oncidium hookeri*, *O. gravesianum* e *O. barbaceniae* ocupam áreas limitadas.

Oncidium warmingii e *O. batemannianum* apresentam florescimento contínuo ao longo do ano. *O. barbaceniae* apresenta floração anual, regular, que se estende nos meses de dezembro a abril, durante a estação quente e úmida. As espécies *O. hookeri* e *O. gravesianum* apresentam floração anual e regular de março a abril, na transição para a estação fria e seca (Fig. 3).

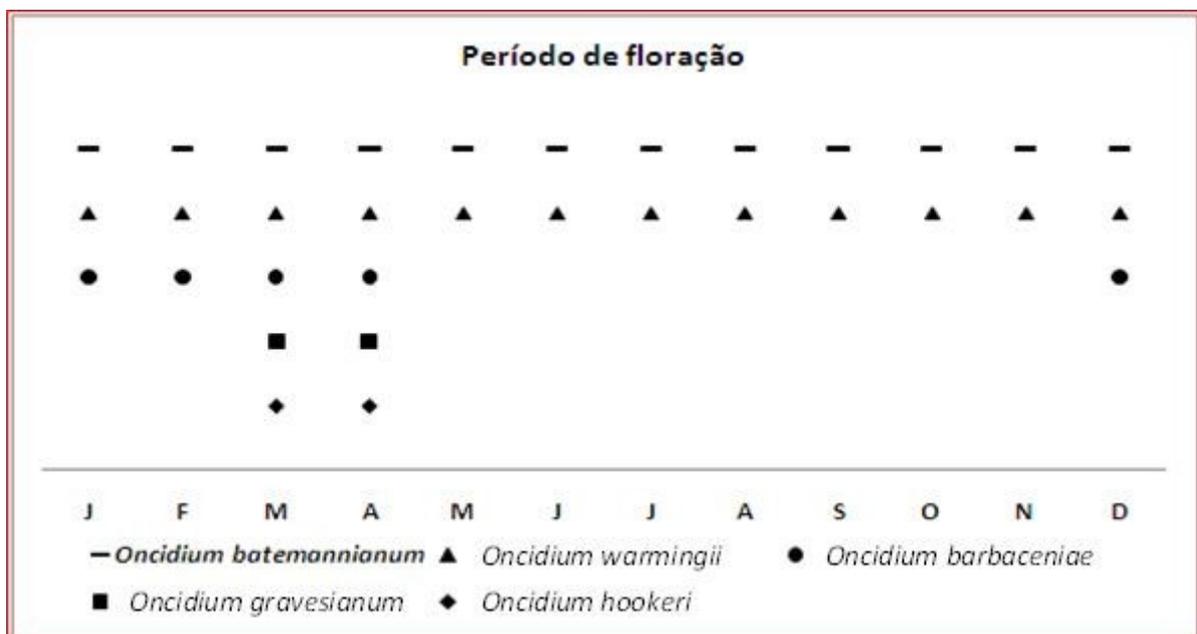


FIGURA 3: Período de floração das cinco espécies de Oncidiinae estudadas no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Morfologia e biologia florais

Oncidium warmingii, *O. gravesianum*, *O. hookeri*, *O. barbaceniae* e *O. batemannianum* apresentam flores diurnas, conspícuas e ressupinadas, dispostas em panículas multifloras. De um modo geral, a coluna é curta e alada nos lados da cavidade estigmática. Abaixo do estigma encontra-se a tábula infrastigmática, originada pela fusão de parte do labelo e parte da coluna. O polinário apresenta um par de polínias

cartilaginosas, amarelas e conectadas por viscido pequeno. As principais diferenças entre as espécies estudadas estão no hábito, no tamanho das flores e na coloração. *O. warmingii*, *O. batemannianum* e *O. barbaciae* são terrestres ou rupícolas (Fig.4 A, B e C), ao passo que *O. hookeri* e *O. gravesianum* são epífitas (Fig. 4 D e E).



FIGURA 4: Flores de *Oncidium warmingii* Rchb.f (A), *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowless & Westc (B) e *O. barbaciae* Lindl. (C). Espécies de hábito epífito: *Oncidium hookeri* Rolfe (D) e *Oncidium gravesianum* Rolfe (E). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

As medidas referentes aos caracteres florais de atração e de reprodução estão resumidas nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Oncidium warmingii apresenta flores alvas com manchas vináceas, sutilmente perfumadas, dispostas em panículas multifloras laterais, com oito a doze flores por ramo de inflorescência. As pétalas e sépalas são esverdeadas, com manchas vináceas. O labelo reniforme branco contrasta com o calo amarelo, cujas projeções apresentam manchas vináceas. As asas da região estigmática são brancas e a tábula infrastigmática amarela apresenta guia de cor vinácea. O labelo, incluindo o calo, a tábula infrastigmática e as asas da região estigmática reagiram positivamente ao teste com vermelho neutro (Fig. 5 A).

As flores de *O. hookeri* são amarelas, diminutas e com odor muito suave. Estão dispostas em panículas multifloras pendentes, com quinze a trinta flores por ramo. O labelo reniforme e amarelo contrasta com o calo castanho brilhante. As asas da região estigmática são amarelas e contrastam com a tábula infrastigmática de cor castanha. Todo o perianto apresentou reação positiva ao vermelho neutro (Fig.5 B).

As flores conspícuas e grandes de *O. gravesianum* estão dispostas em panículas multifloras laterais, com até 10 flores por ramo. São castanhas, com a região central do labelo e margens de pétalas e sépalas amarelas. O labelo é sub-reniforme, não articulado com a coluna, apresentando calo amarelo, com projeções castanhas. A coluna é curta e as asas da região estigmática são de cor marrom. A tábula infrastigmática é amarela. O odor floral é bem acentuado e cítrico, tendo-se verificado reação positiva ao vermelho neutro somente no calo do labelo (Fig. 5 C).

Oncidium barbaceniae dispõe suas flores sutilmente perfumadas em panículas eretas, podendo apresentar até duas inflorescências secundárias. Cada inflorescência pode sustentar até sete flores com labelo, tábula infrastigmática e coluna amarelas, contrastantes com pétalas e sépalas de coloração castanha. O labelo reniforme não contrasta com o calo e suas projeções, como também não ocorre diferenciação na coloração da coluna curta e asas da região estigmática. Reação positiva ao vermelho neutro ocorreu no calo e na borda do labelo adjacente a ele (Fig.5 D).

As flores de *Oncidium batemannianum* estão dispostas em panículas multifloras laterais, com oito a doze flores por ramo. As flores são sutilmente perfumadas, amarelas e com manchas castanhas nas pétalas e sépalas. O labelo reniforme e amarelo contrasta com o calo branco que tem protuberâncias com manchas castanhas. Não ocorre diferenciação na coloração amarela entre as asas da região estigmática e a tábula

infrastigmática. A reação positiva ao vermelho neutro foi detectada somente para o calo do labelo (Fig.5 E).

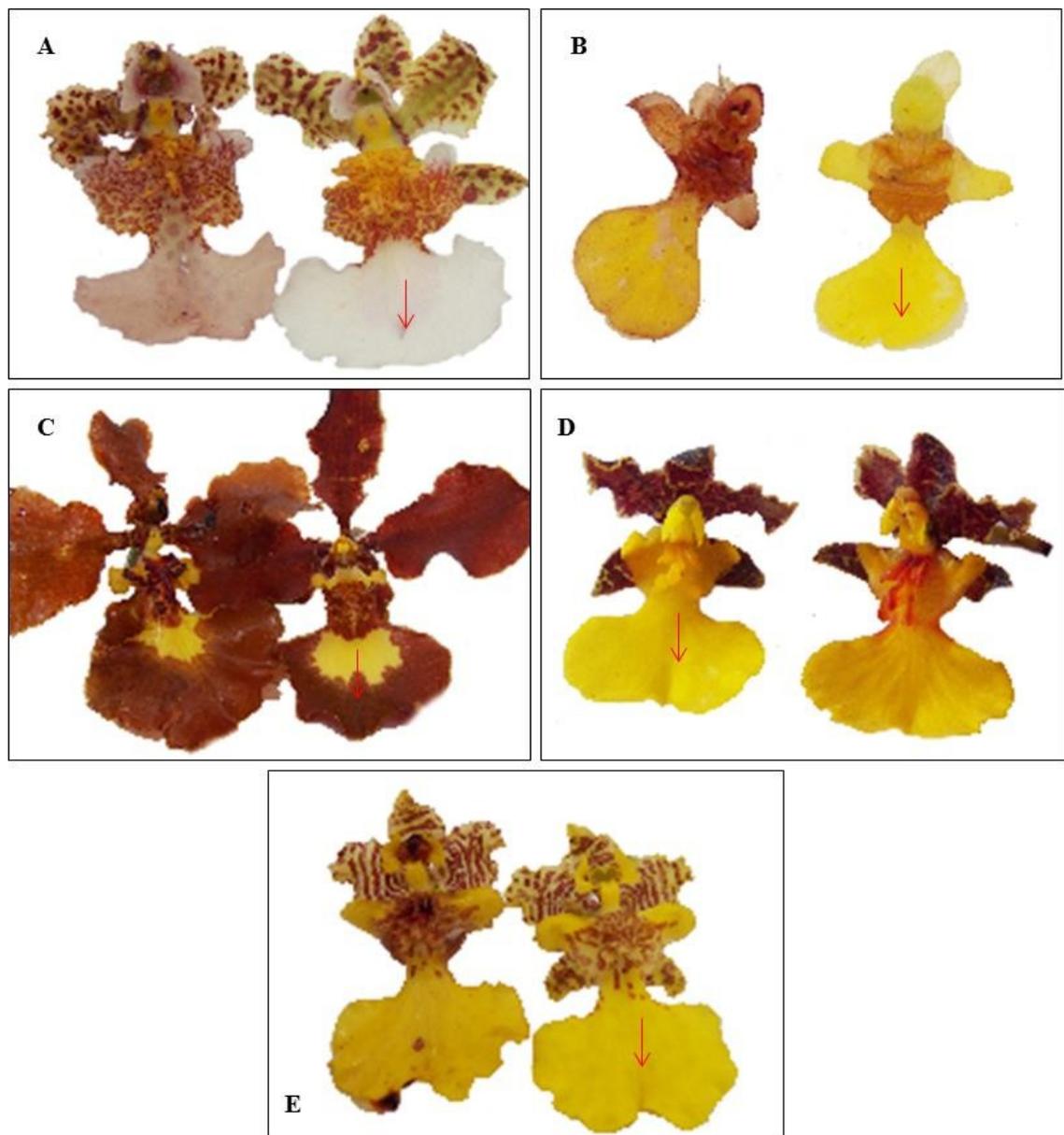


FIGURA 5: Flores de Oncidiinae, demonstrando reação ao vermelho neutro: *Oncidium warmingii* Rchb.f (A), *Oncidium hookeri* Rolfe (B), *Oncidium gravesianum* Rolfe (C), *O. barbaceniae* Rchb.f (D) e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowless & Westc (E). Flores controles demarcadas com seta vermelha. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Em todas as espécies (Fig. 6 A, C,D,E), exceto *O. hookeri*, (Fig.6 B), observações morfológicas apontaram duas regiões localizadas simetricamente na base dos lóbulos laterais, adjacentes ao calo bem evidentes a olho nu, interpretadas como possíveis elaióforos.



FIGURA 6: Flores de Oncidiinae - regiões localizadas simetricamente na base de cada lóbulo lateral indicadas por setas: *Oncidium warmingii* Rchb.f (A), *Oncidium hookeri* Rolfe (B), *Oncidium gravesianum* Rolfe (C), *Oncidium barbaceniae* Lindl. (D) e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowless & Westc (E). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Também em todas as espécies, flores receptivas apresentam a entrada da região estigmática recoberta por secreção, onde o polinário adere com facilidade. A receptividade estigmática estende-se por toda a antese. O período de antese das flores (longevidade) não visitadas e, portanto, sem que haja remoção e/ou inserção das polínias, estende-se por 10 a 25 dias. Entretanto, quando as polínias são removidas, a longevidade diminui para 10 a 14 dias. Após dois a cinco dias da inserção experimental da polínia na cavidade estigmática, as asas laterais do estigma fecham a entrada desta região (Fig. 7) e tem início a desidratação das estruturas florais e a senescência (Tabela 3). O fim da receptividade em flores não visitadas é acompanhado da senescência das estruturas florais e do endurecimento da secreção estigmática, dificultando o processo de aderência do polinário.



FIGURA 7: Flores de *Oncidium gravesianum* Rolfe., mostrando: região estigmática aberta (A); região estigmática fechada através das asas (B). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

TABELA 1: Morfometria dos caracteres florais de atração de *Oncidium warmingii* Rchb.f., *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaceniae* Lindl. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (média em mm, \pm desvio padrão; valores mínimo e máximo; c=comprimento, l=largura, d= diâmetro; n=30 para cada espécie).

Caracteres Florais de Atração	Espécies - Oncidiinae									
	<i>O.warmingii</i>		<i>O.hookeri</i>		<i>O.gravesianum</i>		<i>O.barbaceniae</i>		<i>O.batemannianum</i>	
										
	c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)
Corola	25,00	12,04	12,56	6,05	52,89	54,63	32,19	19,85	23,13	12,77
	$\pm 2,34$	$\pm 1,70$	$\pm 1,56$	$\pm 0,56$	$\pm 5,75$	$\pm 4,73$	$\pm 2,82$	$\pm 2,67$	$\pm 3,34$	$\pm 1,18$
	21,34	8,20	9,66	4,75	41,47	43,87	25,64	16,13	12,95	10,15
	30,34	15,16	15,83	7,30	62,98	61,49	37,24	26,24	29,05	15,24
Labelo	13,80	12,04	7,55	6,05	28,19	28,23	18,76	19,85	13,25	12,71
	$\pm 1,49$	$\pm 1,70$	$\pm 0,67$	$\pm 0,56$	$\pm 3,70$	$\pm 2,70$	$\pm 1,75$	$\pm 2,67$	$\pm 1,17$	$\pm 1,19$
	10,69	8,20	5,88	4,75	19,50	24,48	15,12	16,13	10,64	10,50
	16,53	15,16	8,52	7,30	33,68	33,90	22,46	26,24	16,16	15,24
Calo	3,60	2,29	2,42	2,28	7,01	2,96	7,70	2,33	3,35	2,17
	$\pm 0,45$	$\pm 0,61$	$\pm 0,19$	$\pm 0,20$	$\pm 0,92$	$\pm 0,89$	$\pm 0,92$	$\pm 0,55$	$\pm 0,48$	$\pm 0,61$
	2,50	1,41	2,08	1,95	4,64	1,08	6,04	1,41	2,17	1,23
	4,40	4,24	2,73	2,62	8,79	4,53	9,33	4,09	3,96	3,46
Tábula Infrastigmática	2,23	1,35	0,80	0,46	3,08	1,47	3,35	1,75	2,12	1,14
	$\pm 0,60$	$\pm 0,30$	$\pm 0,17$	$\pm 0,10$	$\pm 0,83$	$\pm 0,57$	$\pm 0,61$	$\pm 0,32$	$\pm 0,42$	$\pm 0,21$
	0,94	0,76	0,59	0,30	1,34	0,19	2,37	0,84	1,31	0,72
	3,56	2,06	1,18	0,67	3,84	2,22	4,85	2,34	2,81	1,52

TABELA 2: Morfometria dos caracteres florais de reprodução de *Oncidium warmingii* Rchb.f., *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaceniae* Lindl. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (média em mm, \pm desvio padrão; valores mínimo e máximo; c=comprimento, l=largura, d= diâmetro; n=30 para cada espécie).

Caracteres Florais de Reprodução	Espécies - Oncidiinae									
	<i>O.warmingii</i>		<i>O.hookeri</i>		<i>O.gravesianum</i>		<i>O.barbaceniae</i>		<i>O.batemannianum</i>	
										
	c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)
Coluna	3,64	1,59	1,40	0,94	8,82	3,69	6,19	2,44	3,73	1,64
	$\pm 0,67$	$\pm 0,43$	$\pm 0,26$	$\pm 0,13$	$\pm 1,23$	$\pm 1,09$	$\pm 0,85$	$\pm 0,40$	$\pm 0,85$	$\pm 0,37$
	1,83	0,65	0,85	0,75	6,12	1,20	3,91	1,42	2,06	0,91
	5,04	2,17	1,96	1,19	10,99	5,03	1,90	3,15	5,87	2,28
Região estigmática	1,42	1,59	0,81	0,46	8,82	3,69	6,19	2,44	2,12	1,14
	$\pm 0,20$	$\pm 0,43$	$\pm 0,17$	$\pm 0,10$	$\pm 1,23$	$\pm 1,09$	$\pm 0,85$	$\pm 0,40$	$\pm 0,42$	$\pm 0,21$
	0,96	0,65	0,59	0,30	6,12	1,20	3,91	1,42	1,31	0,72
	1,79	2,17	1,18	0,67	10,99	5,03	7,90	3,15	2,81	1,52
Ovário	5,76	0,98	2,72	0,35	9,71	1,70	4,98	1,27	4,52	0,83
	$\pm 0,95$	$\pm 0,21$	$\pm 0,47$	$\pm 0,10$	$\pm 1,63$	$\pm 0,67$	$\pm 0,95$	$\pm 0,17$	$\pm 0,87$	$\pm 0,19$
	4,06	0,55	1,99	0,17	6,48	0,38	2,26	0,96	3,13	0,40
	8,88	1,48	3,66	0,60	12,44	2,97	6,88	1,85	6,45	1,20

TABELA 3: Experimentos relativos ao período de antese (longevidade floral) de *Oncidium warmingii* Rchb. f., *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaceniae* Lindl. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Espécies	Experimentos					
	Controle		Polínia retiradass		Polínias inseridas	
	n	dias	n	dias	n	dias
<i>O.warmingii</i> 	10	15 a 25	10	10 a 14	10	5
<i>O.gravesianum</i> 	10-	15-20-	10	10 a 15-	10-	5
<i>O.barbaceniae</i> 	10	10 a 20	10	10 a 15	10	5
<i>O.batemannianum</i> 	10	10 a 25	10	10 a 15	10	5

Estudo anatômico do labelo e natureza da secreção

Para a descrição estrutural e localização das diferentes regiões secretoras, dividimos o labelo em: limbo, calo e regiões estruturalmente diferenciadas localizadas simetricamente na porção proximal dos lobos laterais (LL).

Oncidium warmingii

Limbo: Em vista frontal, possui superfície papilosa (Fig. 8a) em ambas as faces. As papilas são revestidas por cutícula estriada que se apresenta rompida em alguns pontos. Nota-se secreção na superfície do limbo (Fig. 8b). Em secção longitudinal, as papilas apresentam paredes espessadas e grandes vacúolos voltados para o polo distal (Fig. 8c, d) e, por vezes preenchidos por secreção contendo substâncias lipofílicas (Fig. 8c - e; Tab. 4). O mesofilo, em secção transversal, possui até oito estratos parenquimáticos com células de contorno circular a sinuoso, frouxamente dispostas e contendo grãos de amido (Fig. 8f). Nesta região ocorrem feixes vasculares colaterais e inúmeros idioblastos contendo ráfides (Fig. 8f).

Calo: Em vista frontal ocupa a porção mediana do labelo e apresenta projeções alargadas ou digitiformes (Fig. 9a), superfície papilosa e estômatos (Fig. 9b, c). Em secção transversal, possuem em ambas as faces, epiderme com células papilosas de paredes espessadas e com grande vacúolo voltado para o polo distal. Por vezes, verifica-se o deslocamento da membrana plasmática que se afasta da parede celular originando um espaço periplasmático onde se observa a presença de secreção (Fig. 9 d). Nota-se ainda, algumas vezes, que a cutícula se afasta da parede celular e o espaço subcuticular é ocupado por secreção (Fig. 9e). Nas células epidérmicas e secreção foram detectadas substâncias lipofílicas (Fig. 9f) e proteínas (Tab. 4). O mesofilo é composto por até 20 estratos parenquimáticos com células de contorno sinuoso a arredondado dispostas frouxamente. Nesta região ocorrem feixes vasculares colaterais e idioblastos contendo ráfides.

LL: Na porção basal do labelo, bilateralmente e adjacentes ao calo, diferenciam-se duas regiões de aspecto esponjoso (Fig. 10a). Estas regiões, em vista frontal, apresentam superfície plana (Fig. 10b). Em secção transversal, a epiderme é composta por células arredondadas ou retangulares, dispostas compactamente, com paredes espessas, especialmente as periclinais externas (Fig. 10c), citoplasma denso, núcleo conspícuo (Fig. 10c-e) e vacúolo contendo secreção (Fig. 10d), voltado para o polo distal. Por vezes, a cutícula se afasta da parede celular (Fig. 10d) e o espaço subcuticular é ocupado por secreção. Nas células epidérmicas foram detectadas substâncias

lipofílicas (Fig. 10f; Tab.4). O mesofilo é ainda composto por até oito estratos parenquimáticos com células de paredes sinuosas e disposição frouxa. Os espaços intercelulares por vezes mostram-se preenchidos por secreção. Nesta região ocorrem feixes vasculares colaterais e idioblastos contendo ráfides.

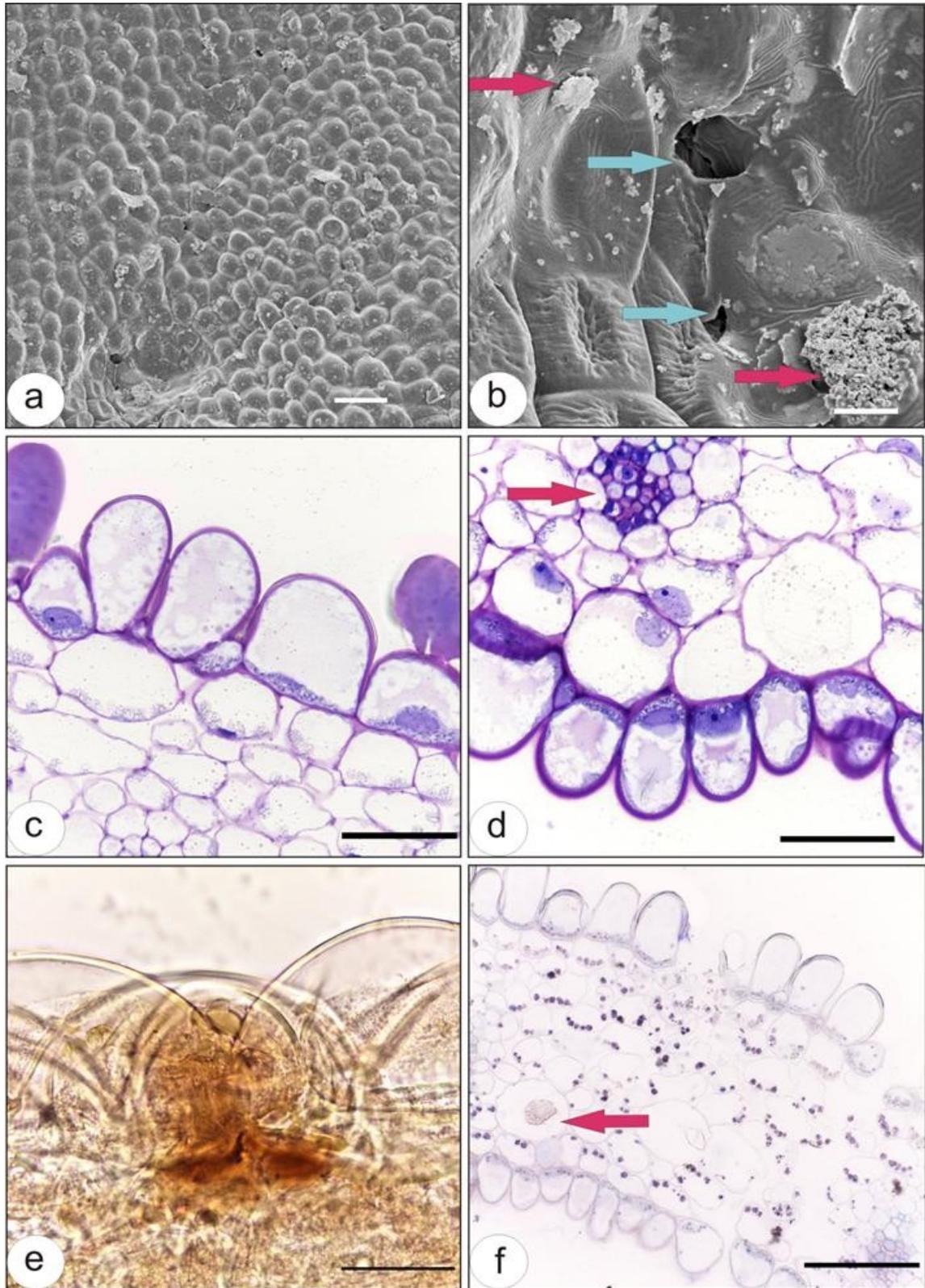


Figura 8: Limbo do labelo de *O. warmingii*, em vista frontal (a, b; MEV) e em secção transversal (c-f). a, detalhe da superfície papilosa; b, detalhe da cutícula estriada, rompida em alguns pontos (setas azuis) e da presença de secreção (setas vermelhas); c, face adaxial; d, face abaxial (note feixe vascular – seta vermelha); e, epiderme submetida ao teste com Sudan III; f, células parenquimáticas contendo grãos de amido marcados pelo teste com lugol (note idioblasto contendo ráfides – seta vermelha). Barra = 20µm, em b, e; 50µm em c, d; 100µm em a, f.

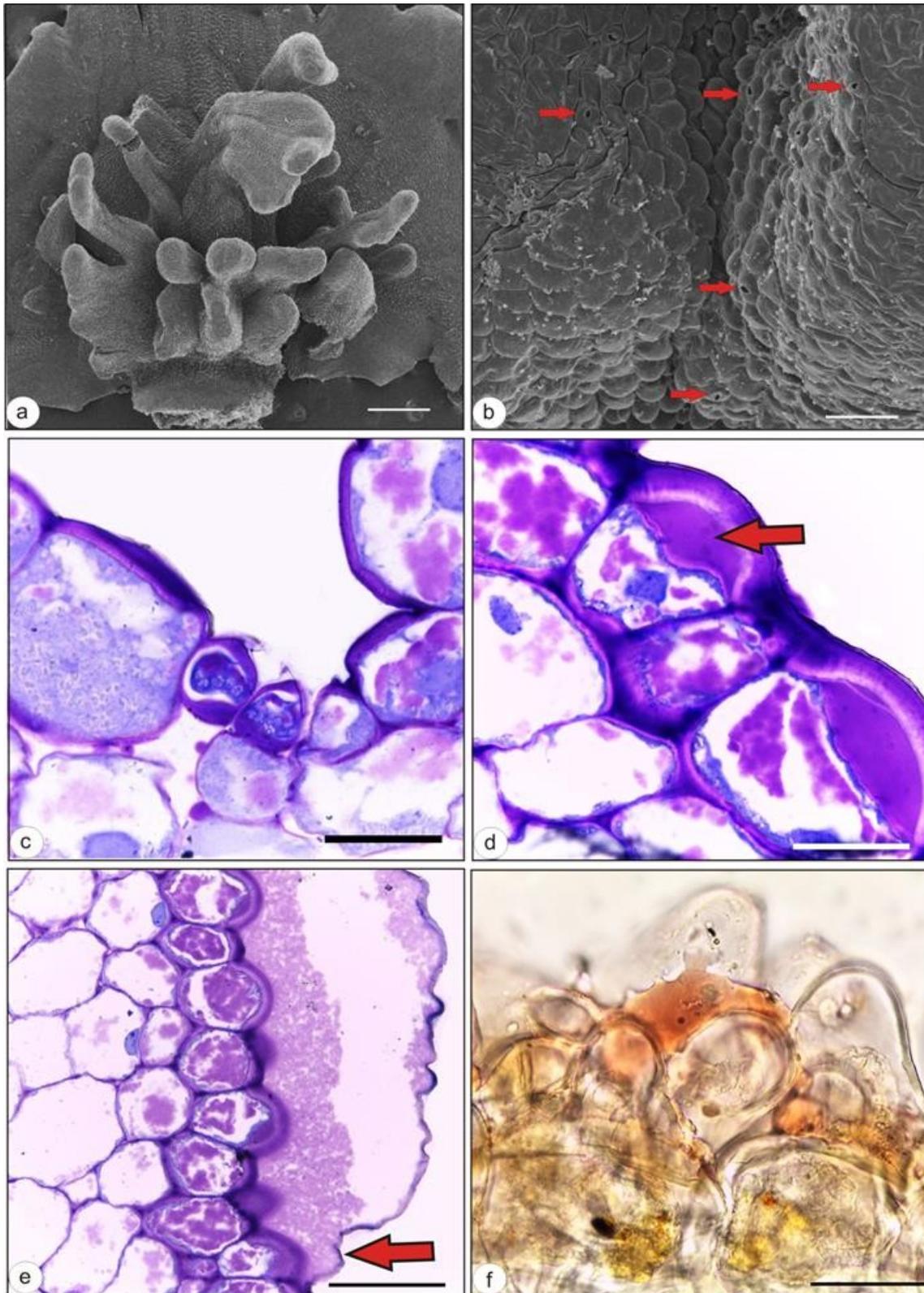


Figura 9: Calo do labelo de *O. warmingii*, em vista frontal (a, b; MEV) e em secção transversal (c-f). a, visão geral; b, detalhe da superfície papilosa e dos estômatos; c, estômato; d, detalhe da epiderme, evidenciando presença de secreção (seta vermelha) no espaço periplasmático; e, detalhe da epiderme, evidenciando presença de secreção (seta vermelha) no espaço subcuticular; f, epiderme submetida ao teste com Sudan III. Barra = 1mm, em a; 20 μ m, em c, d, f; 50 μ m em e; 100 μ m em b.

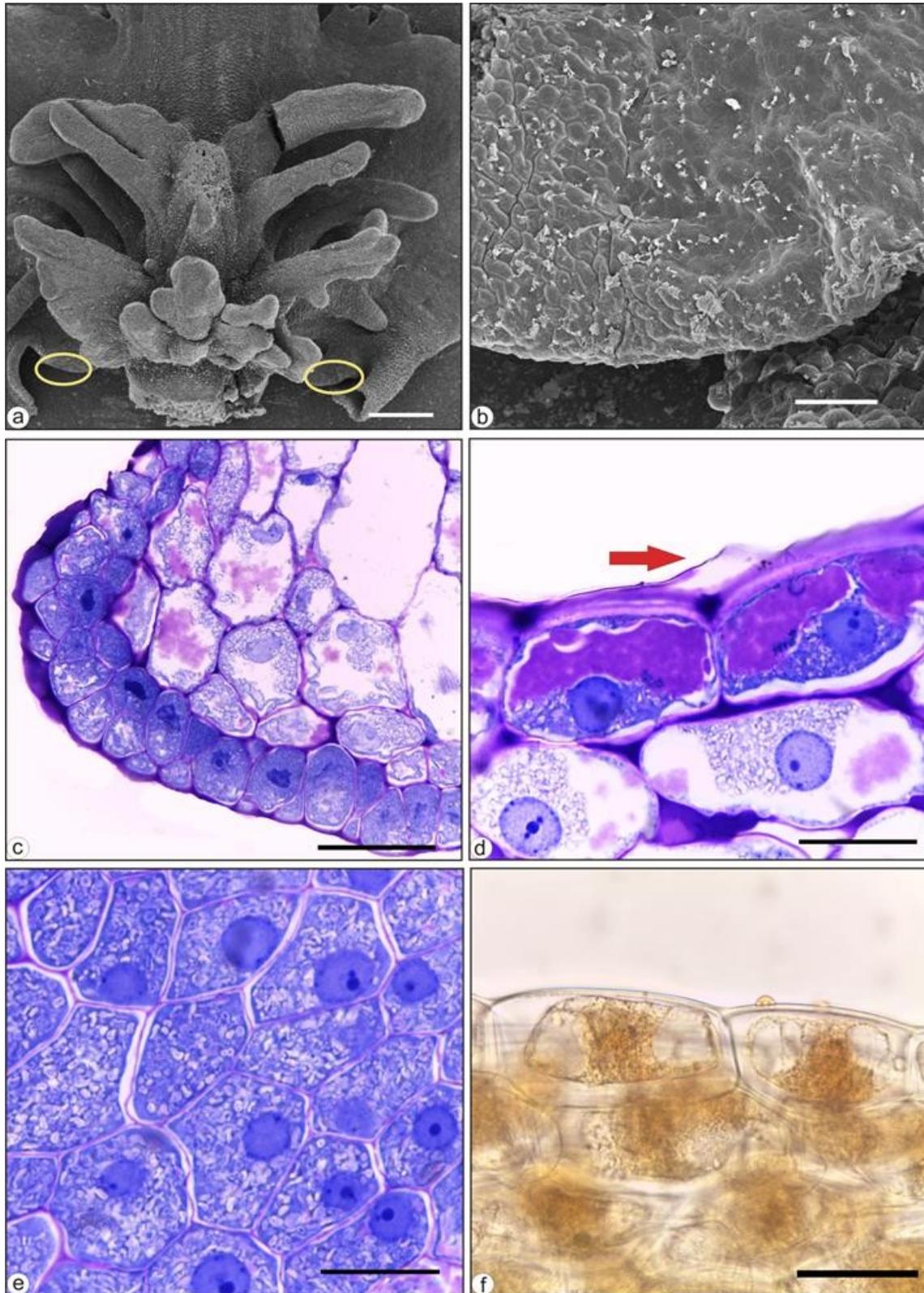


Figura 10: Lobos laterais do labelo de *O. warmingii*, em vista frontal (a, b; MEV), em secção oblíqua (c), em secção transversal (d, f) e em secção paradérmica (e). a, visão geral do calo, evidenciando LL (destaques); b, detalhe da superfície de LL; c, epiderme; d, detalhe da epiderme, evidenciando o afastamento da cutícula (seta vermelha); e, epiderme; f, epiderme submetida ao teste com Sudan III. (LL: regiões estruturalmente diferenciadas localizadas simetricamente na porção proximal dos lobos laterais) Barra = 1mm, em a; 20 μ m, em d, e, f; 50 μ m em c; 100 μ m em b.

Oncidium hookeri

Limbo: Em vista frontal (Fig. 11a, b), possui superfície papilosa em ambas as faces. As papilas são revestidas por cutícula estriada. Nota-se secreção na superfície do labelo. Em secção longitudinal, as papilas apresentam paredes espessadas e grandes vacúolos voltados para o polo distal e, por vezes preenchidos por secreção contendo substâncias lipofílicas (Fig. 11c, d; Tab. 4). O mesofilo, em secção transversal, possui até seis estratos parenquimáticos com células de contorno circular a sinuoso, frouxamente dispostas e contendo grãos de amido (Fig. 11e; Tab. 4). Nesta região ocorrem feixes vasculares colaterais e idioblastos contendo ráfides (Fig. 11f), estes últimos geralmente posicionados no estrato subepidérmico na face abaxial.

Calo: Em vista frontal, apresenta-se bilobado (Fig. 12a), os bordos bem delimitados, espessados e recobertos por secreção (Fig. 12b). Em secção transversal, possui epiderme com células secretoras tabulares, de paredes espessadas, citoplasma denso, núcleo bem evidente e centralizado além de pequenos vacúolos. Chamam à atenção as pontoações (Fig. 12c) entre as células epidérmicas. Substâncias lipofílicas foram detectadas nas células epidérmicas e secreção (Fig. 12d, Tab. 4). O mesofilo é composto por até 20 estratos parenquimáticos com células de contorno arredondado a sinuoso, dispostas compactamente (Fig. 12e). Nesta região ocorrem feixes vasculares colaterais e idioblastos contendo ráfides (Fig. 12f).

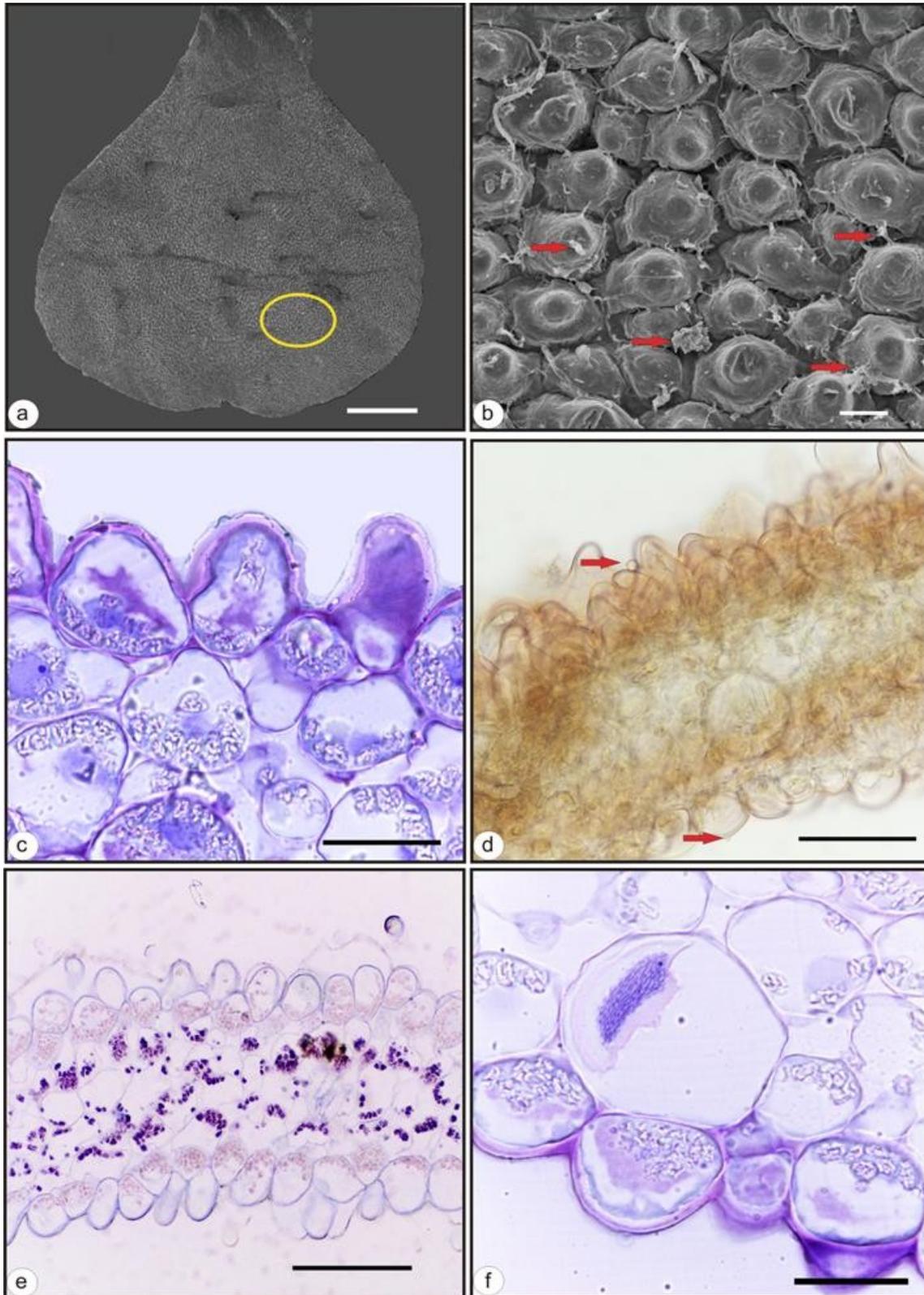


Figura 11: Limbo do labelo de *O. hookeri*, em vista frontal (a, b; MEV) e em secção transversal (c-f). a, visão geral; b, Ampliação do destaque em a: detalhe da superfície papilosa (note a presença de secreção - setas vermelhas); c, epiderme na face adaxial; d, reação ao teste com Sudan III (note goticulas de óleo em ambas as superfícies); e, células parenquimáticas contendo grãos de amido marcados pelo teste com lugol; f, detalhe de idioblasto contendo ráfides. Barra = 1mm em a; 20 μ m, em b, c, f; 50 μ m em d; 100 μ m em e.

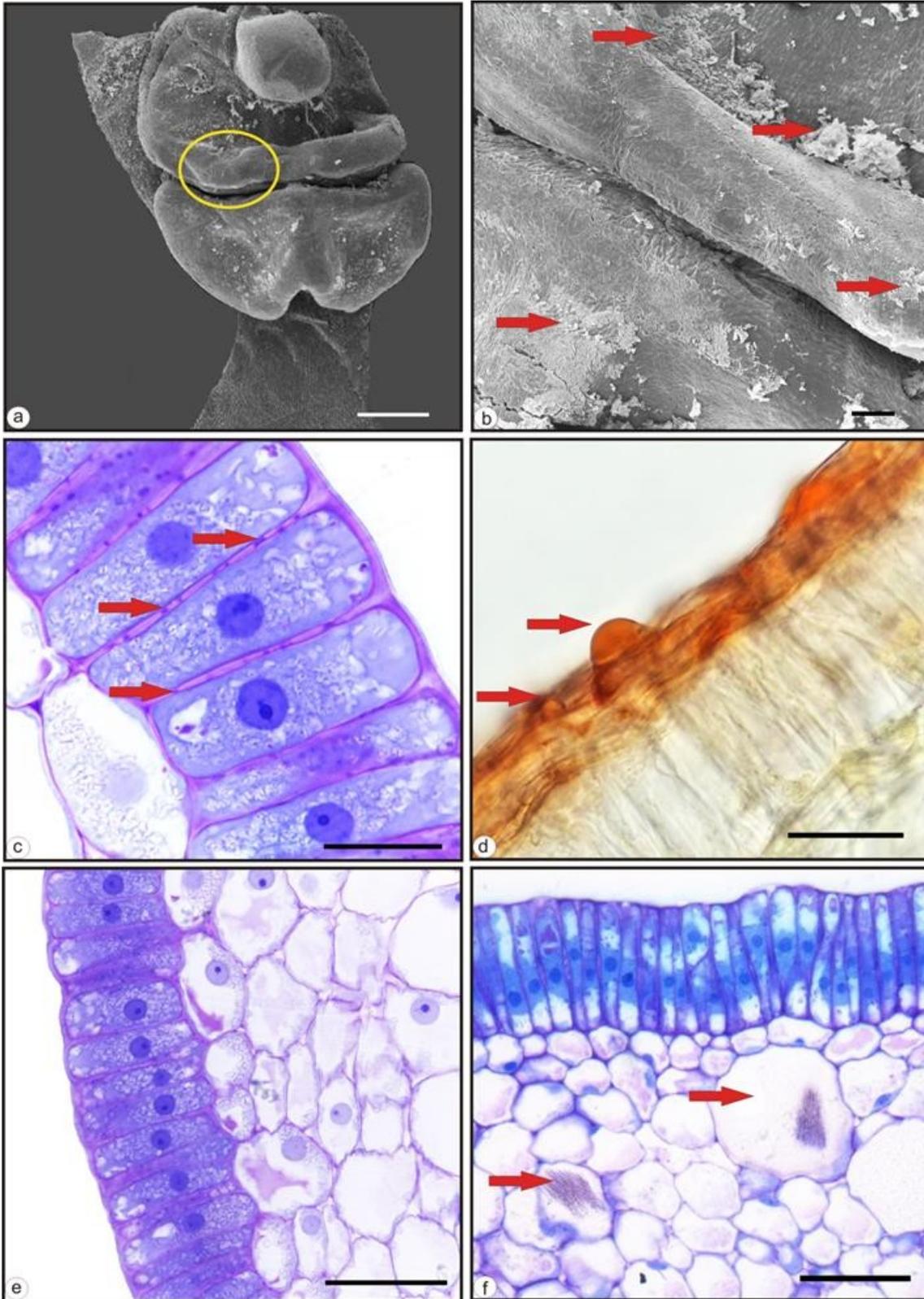


Figura 12: Calo do labelo de *O. hookeri*, em vista frontal (a, b; MEV) e em secção transversal (c-f). a, visão geral; b, Ampliação do destaque em a: detalhe de secreção na superfície (setas vermelhas); c, detalhe das pontoações entre as células epidérmicas (setas vermelhas); d, reação ao teste com Sudan III (note gotículas de óleo na superfície); e, células epidérmicas e parenquimáticas; f, detalhe de idioblasto contendo ráfides. Barra = 1mm em a; 20 μ m, em c, d; 50 μ m em e, f; 100 μ m em b.

Oncidium gravesianum

Limbo: Em vista frontal, possui superfície papilosa (Fig. 13a) em ambas as faces. As papilas apresentam dimensões variadas (Fig. 13b) e são revestidas por cutícula estriada. Em secção longitudinal, são compostas por uma ou duas células (Fig. 13c), de paredes espessadas e com grandes vacúolos voltados para o polo distal. Chamam à atenção as pontoações entre células de uma mesma papila e de papilas adjacentes. O mesofilo, em secção transversal, possui hipoderme secretora diferenciada em ambas as faces e até 15 estratos parenquimáticos com células de contorno sinuoso, frouxamente dispostas e contendo grãos de amido. Nesta região ocorrem feixes vasculares colaterais circundados por bainha de células arredondadas com paredes espessadas e inúmeros idioblastos contendo ráfides (Fig. 13d). Substâncias lipofílicas e grãos de amido foram detectados no protoplasto de células epidérmicas e hipodérmicas (Fig. 13e, f; Tab. 4).

Calo: Em vista frontal, apresenta uma ampla projeção triangular central, ladeada por projeções menores, digitiformes, geminadas ou não (Fig. 14a). Esta projeção triangular central apresenta estômatos (Fig. 14c). Em secção transversal possui, em ambas as faces, epiderme com células papilosas de paredes espessadas seguida por um a dois estratos hipodérmicos cujas células apresentam as mesmas características das células epidérmicas (Fig. 14b, d). O mesofilo é ainda composto por até 15 estratos parenquimáticos com células de contorno sinuoso a arredondado e possui feixes vasculares colaterais (Fig. 14b). Nas células epidérmicas e hipodérmicas foram detectadas substâncias lipofílicas e grãos de amido (Fig. 14e, f; Tab. 4). O bordo nesta projeção triangular central, em vista frontal, diferencia-se pela ausência de papilas (Fig. 15a, b). Apresenta, em secção transversal (Fig. 15c, d), epiderme com células alongadas quadrangulares, com paredes espessadas, citoplasma denso e núcleo conspícuo, seguida por dois a três estratos hipodérmicos diferenciados e estratos parenquimáticos com células de contorno sinuoso e frouxamente dispostas. Nas células epidérmicas e hipodérmicas foram detectadas substâncias lipofílicas, proteínas e grãos de amido (Fig. 15e, f; Tab. 4).

LL: Na porção basal do labelo, bilateralmente e adjacentes ao calo, diferenciam-se duas regiões de aspecto esponjoso (Fig. 16a). Estas regiões, em vista frontal, mostram-se recobertas por secreção (Fig. 16b). Em secção transversal, a epiderme é composta por células tabulares (Fig. 16c), dispostas compactamente, com paredes periclinais externas espessadas, citoplasma denso, núcleo conspícuo com um ou mais nucléolos (Fig. 16d) e pequenos vacúolos. À epiderme seguem-se até seis estratos

hipodérmicos cujas células apresentam características semelhantes àquelas das células epidérmicas. No protoplasto das células epidérmicas e hipodérmicas foram detectadas substâncias lipofílicas (Fig. 16e) e proteínas (Tab. 4). O mesofilo é ainda composto por estratos parenquimáticos com células de paredes sinuosas e de disposição frouxa. Nesta região ocorrem inúmeros idioblastos contendo ráfides (Fig. 16f).

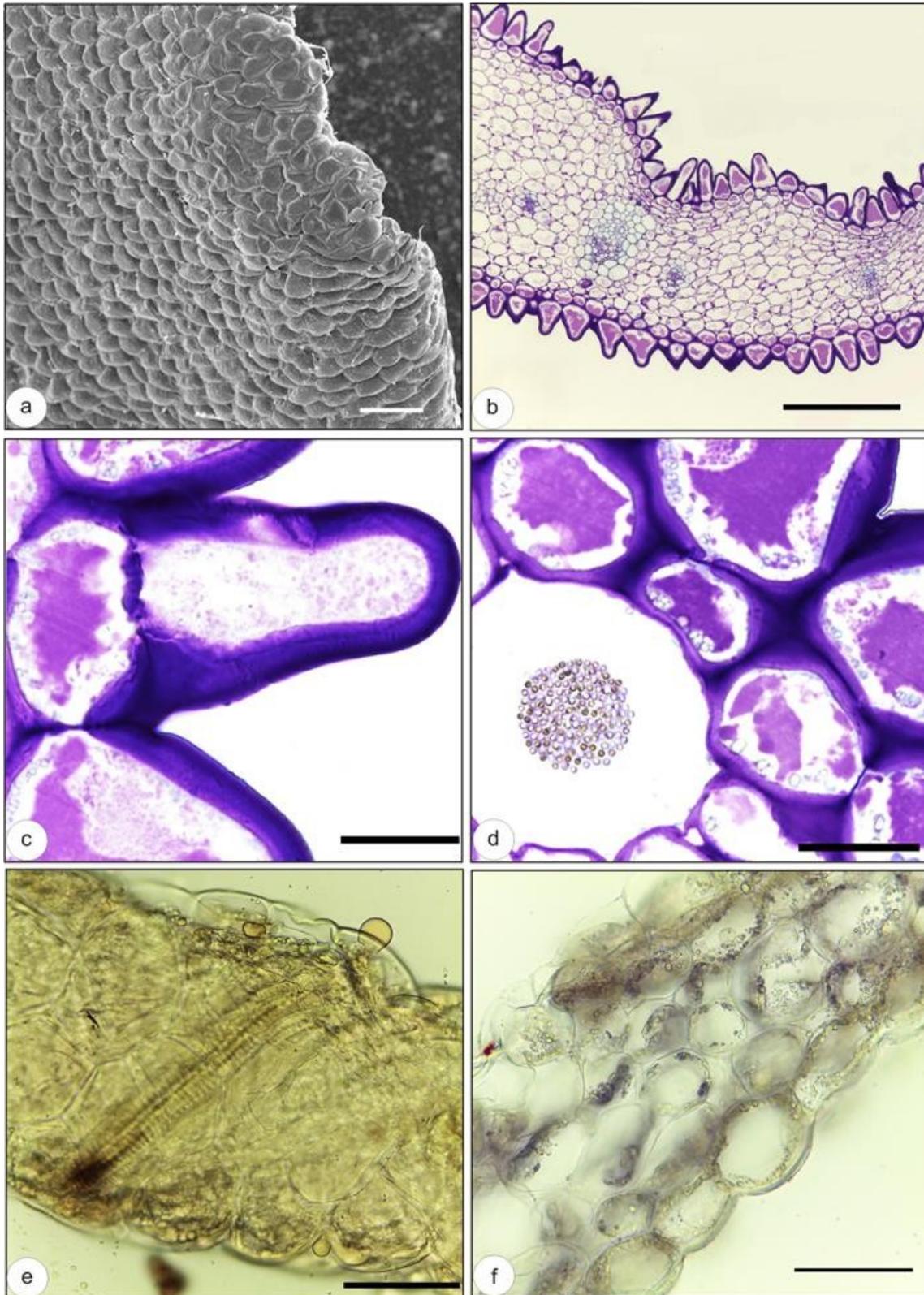


Figura 13: Limbo do labelo de *O. gravesianum*, em vista frontal (a, MEV), em secção oblíqua (e) e em secção transversal (b-d; f). a, detalhe da superfície papilosa; b, vista geral; c, detalhe de papila composta por duas células; d, detalhe de idioblasto contendo ráfides; e, reação ao teste com Sudan IV; f, reação ao teste com teste com lugol. Barra = 20µm, em c, d; 50µm em e, f; 100µm em a; 200µm em b.

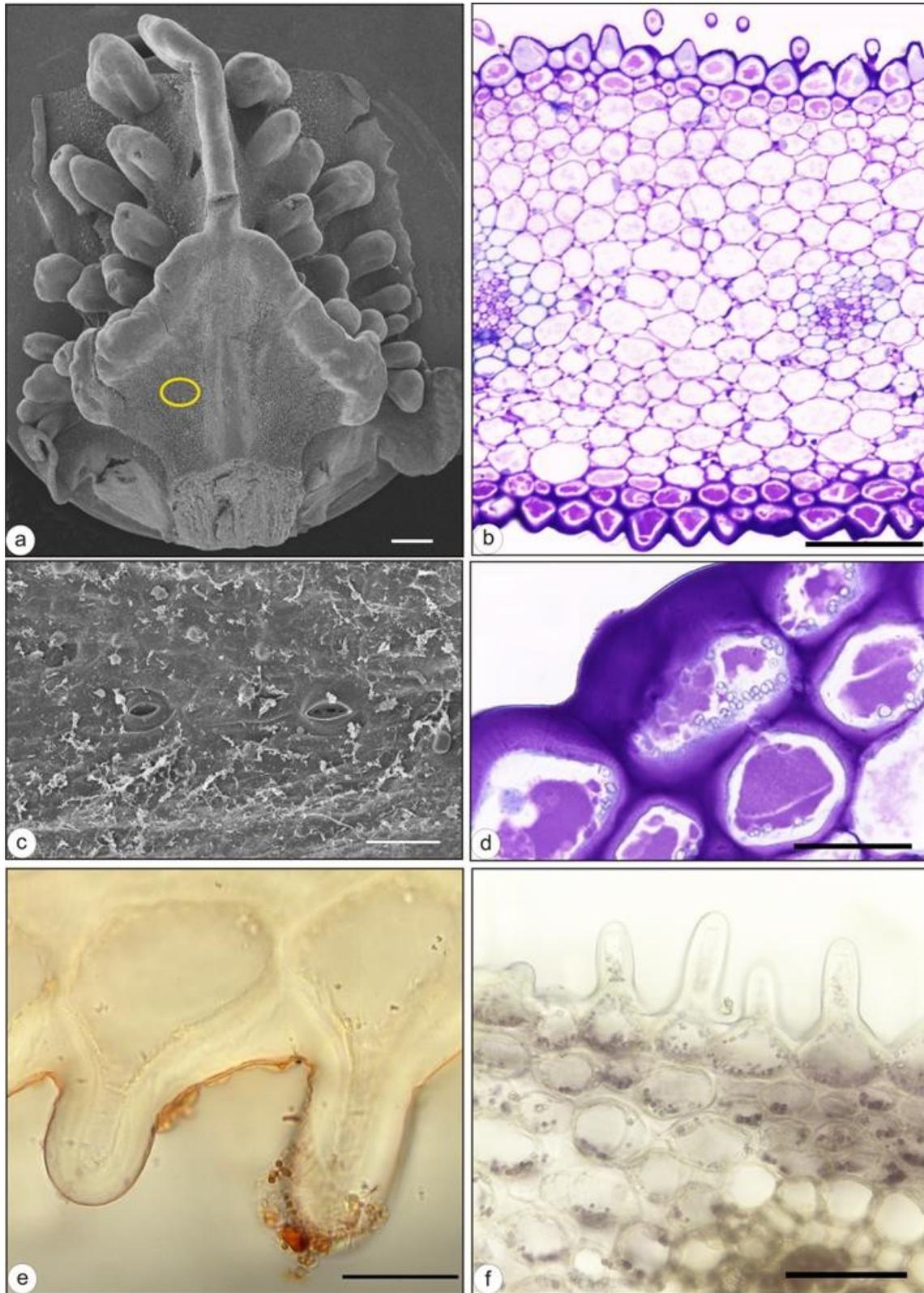


Figura 14: Calo do labelo de *O. gravesianum*, em vista frontal (a, c, MEV) e em seção transversal (b, d-f). a, visão geral; b, padrão anatômico da região destacada em a; c, estômatos; d, detalhe da epiderme e estrato hipodérmico; e, reação ao teste com Sudan III; f, reação ao teste com lugol. Barra = 1mm em a; 20 μ m, em d, e; 50 μ m em c, f; 100 μ m em ; 200 μ m em b.

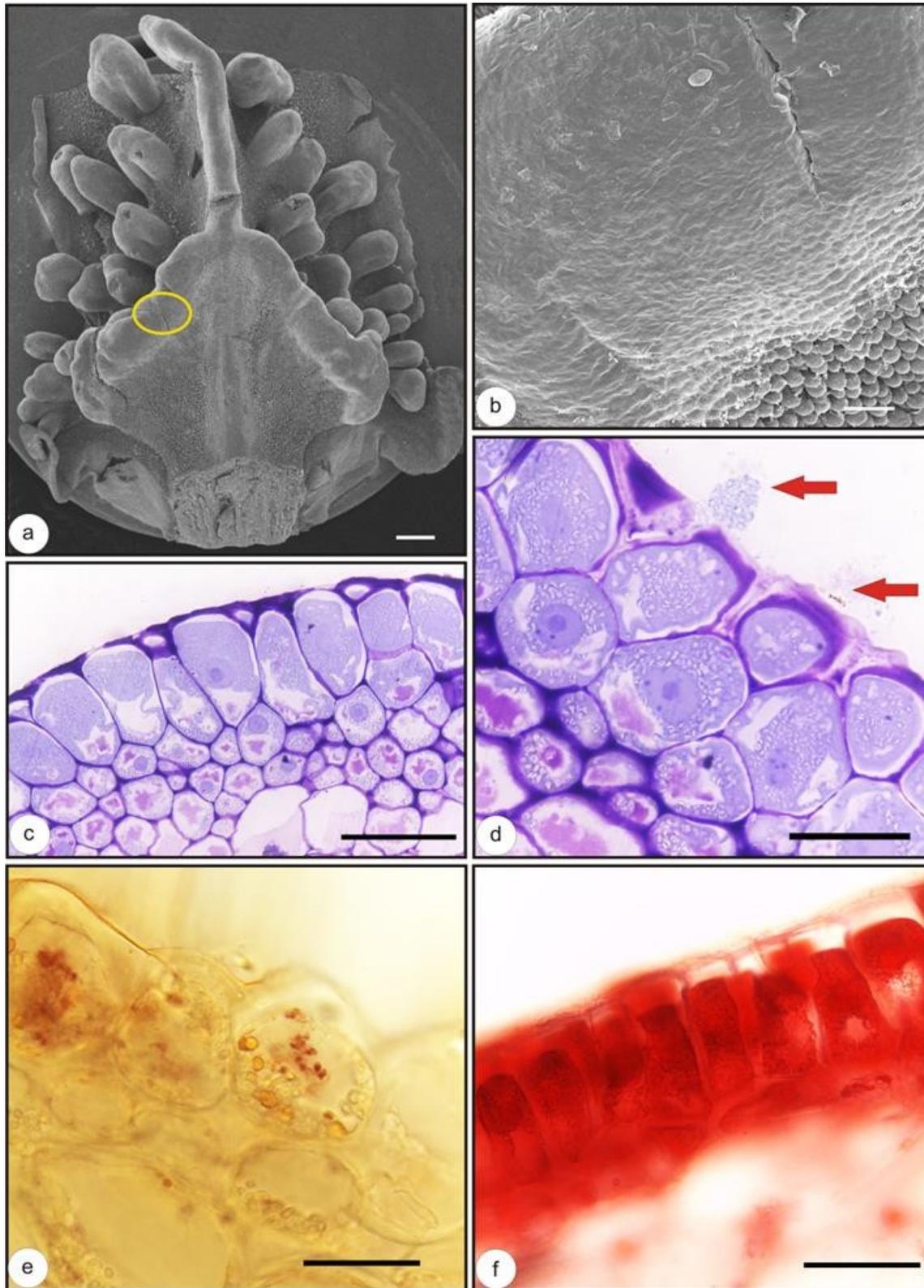


Figura 15: Bordo do calo do labelo de *O.gravesianum*, em vista frontal (a, b, MEV), em secção oblíqua (c, d) e em secção transversal (e, f). a, vista geral; b, ampliação do destaque em a (note secreção na superfície); c - d, detalhes da epiderme e estratos hipodérmicos (note secreção na superfície, em d – setas vermelhas; e, reação ao teste com Sudan III; f, reação ao teste com teste com xyloidine Ponceau. Barra = 1mm, em a; 20 μ m, em e, d; 50 μ m em c, f; 100 μ m em b.

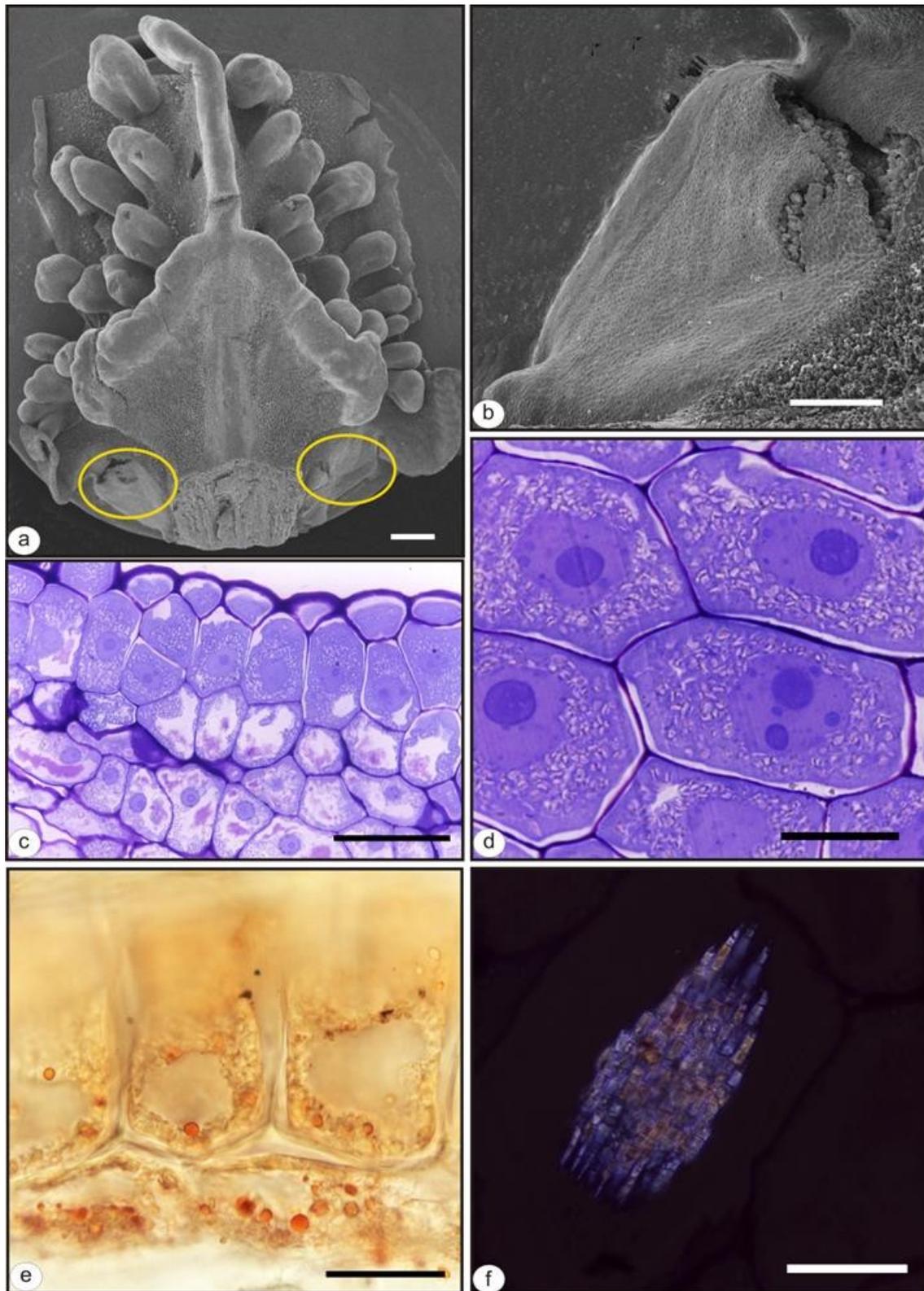


Figura 16: Lobos laterais do labelo de *O.gravesianum*, em vista frontal (a, b; MEV), em secção oblíqua (c), em secção paradérmica (d) e em secção transversal (e, f). a, visão geral do calo, evidenciando LL (destaques); b, detalhe da superfície de LL; c, epiderme e estratos hipodérmicos; d, detalhe da epiderme, evidenciando os núcleos conspícuos, com um ou mais nucléolos; e, reação ao teste com Sudan III; f, ráfides, vistas sob luz polarizada. (LL: regiões estruturalmente diferenciadas localizadas simetricamente na porção proximal dos lobos laterais) Barra = 1mm, em a; 20 μ m, em d, e, f; 50 μ m em c; 500 μ m em b.

Oncidium barbaceniae

Limbo: Em vista frontal, possui superfície papilosa em ambas as faces (Fig. 17a, b). As papilas apresentam dimensões variadas e são revestidas por cutícula estriada. Em secção longitudinal, são compostas por uma ou duas células, de paredes espessadas e com grandes vacúolos voltados para o polo distal. Chamam atenção as pontoações entre células de uma mesma papila e de papilas adjacentes (Fig. 17c, d). Substâncias lipofílicas e grãos de amido (Fig. 17e, f; Tab. 4) foram detectados no protoplasto destas células. O mesofilo, em secção transversal, possui cerca de 6 estratos com células de contorno sinuoso, frouxamente dispostas e contendo grãos de amido (Fig. 17f; Tab. 4). Nesta região ocorrem feixes vasculares colaterais.

Calo: Apresenta projeções irregulares (Fig 18a) recobertas por secreção em quase toda sua extensão, de modo que as células aí presentes são quase indistinguíveis (fig. 18b). Na porção proximal do calo as longas papilas são nítidas (Fig. 18c). Em secção transversal, a epiderme é composta por células arredondadas ou quadradas (Fig 18d), por vezes papilosas (porção proximal – Fig. 18e), com espessas paredes, citoplasma denso, núcleo conspicuo e vacúolo voltado para o polo distal. Por vezes verifica-se o deslocamento da cutícula que se afasta da parede celular (Fig 18d) bem como a presença de secreção no espaço subcuticular. A epiderme segue-se estrato hipodérmico cujas células apresentam as mesmas características das células epidérmicas. No protoplasto das células epidérmicas (Fig 18f) e hipodérmicas foram detectadas substâncias lipofílicas e proteínas (Tab.4). O mesofilo é ainda composto por até oito estratos de células parenquimáticas dispostas frouxamente e possui feixes vasculares colaterais.

LL: Na porção basal do labelo, bilateralmente e adjacentes ao calo, diferenciam-se duas regiões de aspecto esponjoso (Fig. 19a, b). Estas regiões, em vista frontal, mostram-se recobertas por secreção e com a cutícula deslocada ou rompida em diversos pontos (Fig. 19c). Em secção transversal, a epiderme é composta por células arredondadas ou quadradas, dispostas compactamente, com espessas paredes, citoplasma denso, núcleo conspicuo e vacúolo voltado para o polo distal (Fig. 19d). À epiderme segue-se um (face adaxial) a quatro (face abaxial) estratos hipodérmicos cujas células apresentam as mesmas características das células epidérmicas (Fig 19e). São frequentes pontoações entre células destes estratos. No protoplasto das células epidérmicas (Fig 19f) e dos estratos hipodérmicos foram detectadas substâncias

lipofílicas e proteínas (Tab. 4). O mesofilo é ainda composto por estratos parenquimáticos e possui feixes vasculares colaterais.

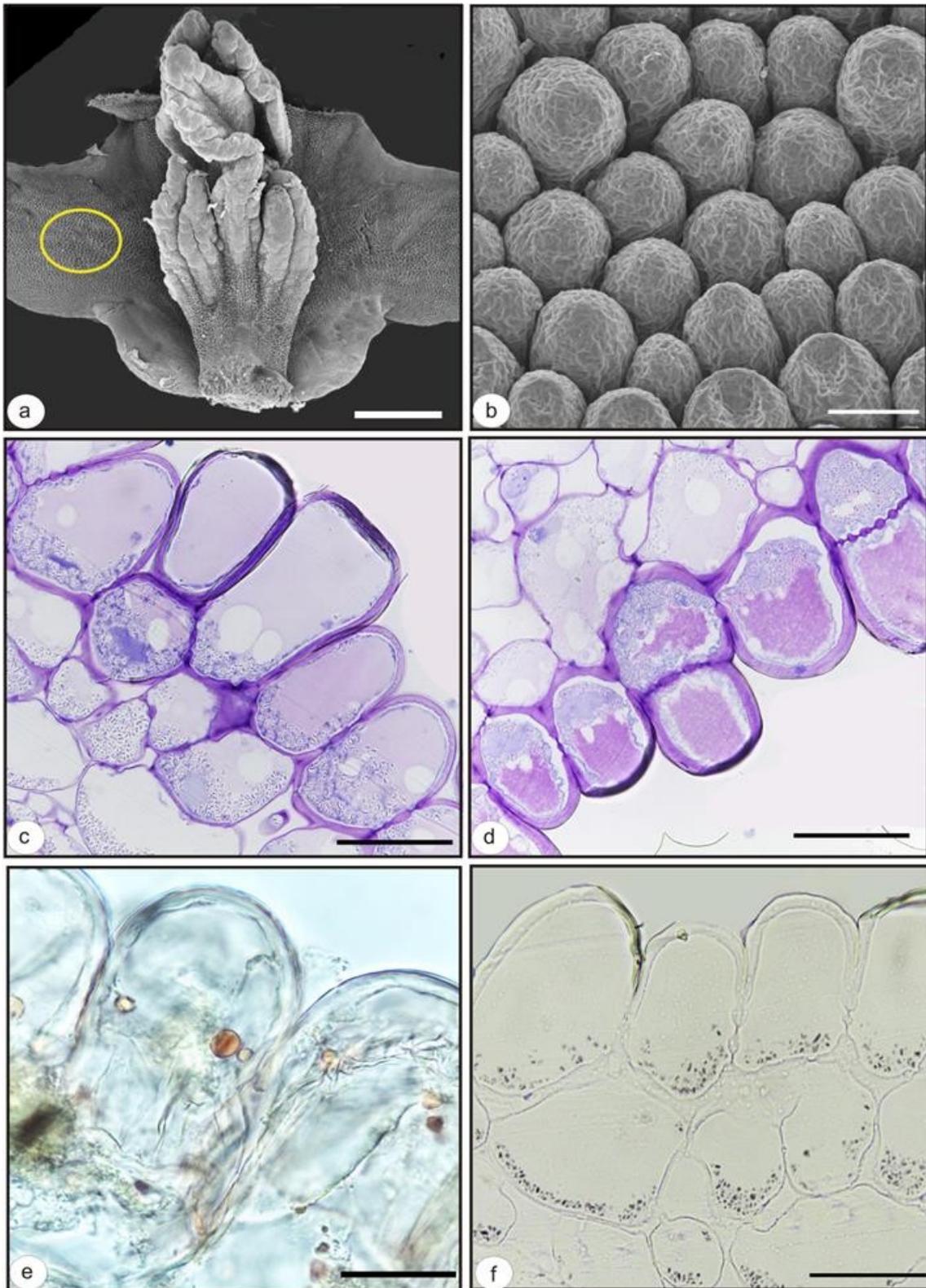


Figura 17: Limbo do labelo de *O.barbaciae* em vista frontal (a, b MEV), e em secção transversal (c - f). a, vista geral; b, ampliação do destaque em a: detalhe da superfície papilosa; c, face adaxial; d, face abaxial; e, reação ao teste com Sudan III; f, reação ao teste com lugol. Barra = 1mm, em a; 20 μ m, em e; 50 μ m em b, c, d, f.

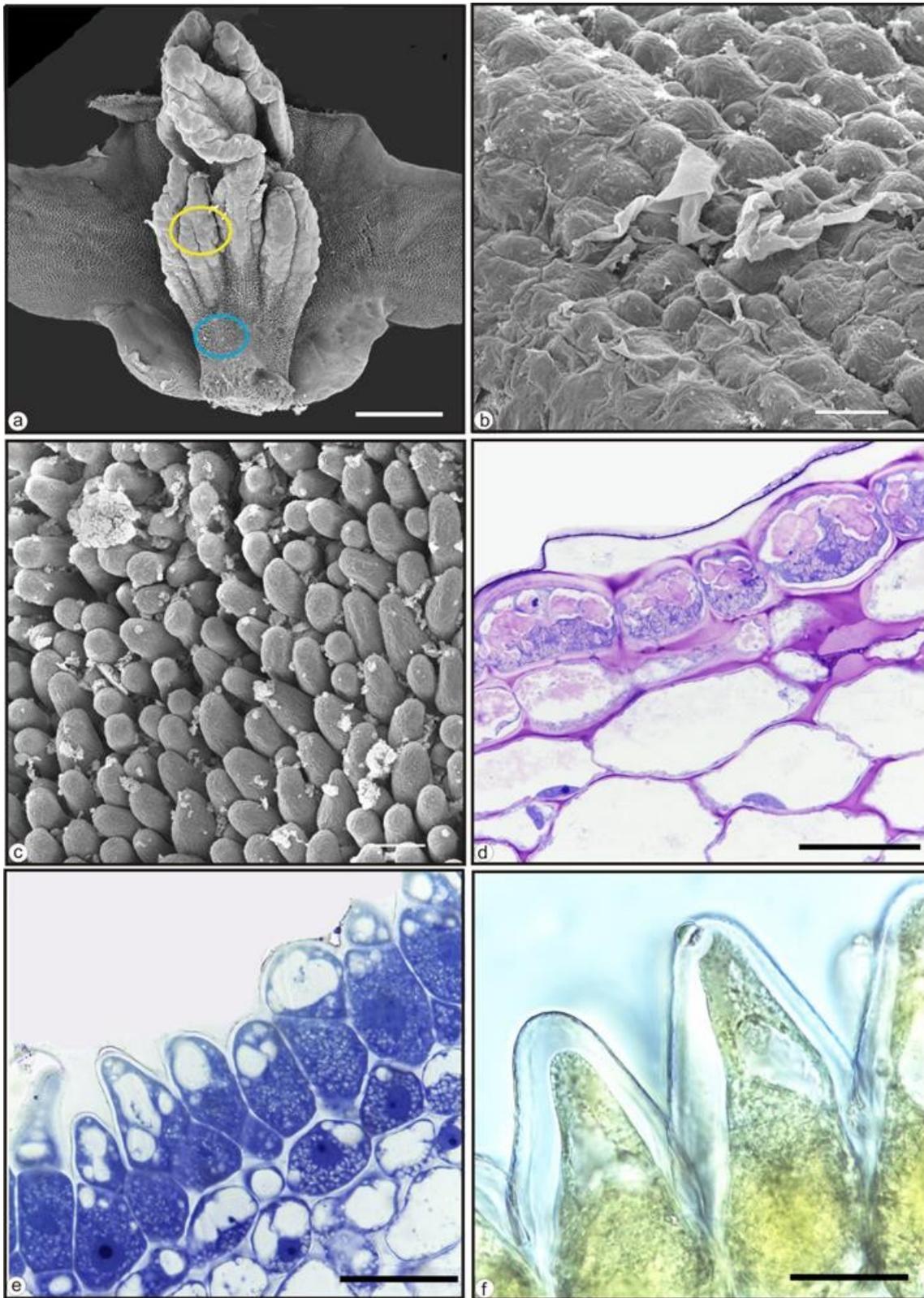


Figura 18: Calo do labelo de *O. barbaciae*, em vista frontal (a-c, MEV) e em secção transversal (d-f). a, visão geral; b, superfície na região destacada em amarelo, em a; c, superfície na região destacada em azul, em a; d, detalhe da epiderme na região destacada em amarelo, em a; e, epiderme na região destacada em azul, em a; f, reação ao teste com Sudan IV. Barra = 1mm em a; 20 μ m, em f; 50 μ m em b, c, d, e.

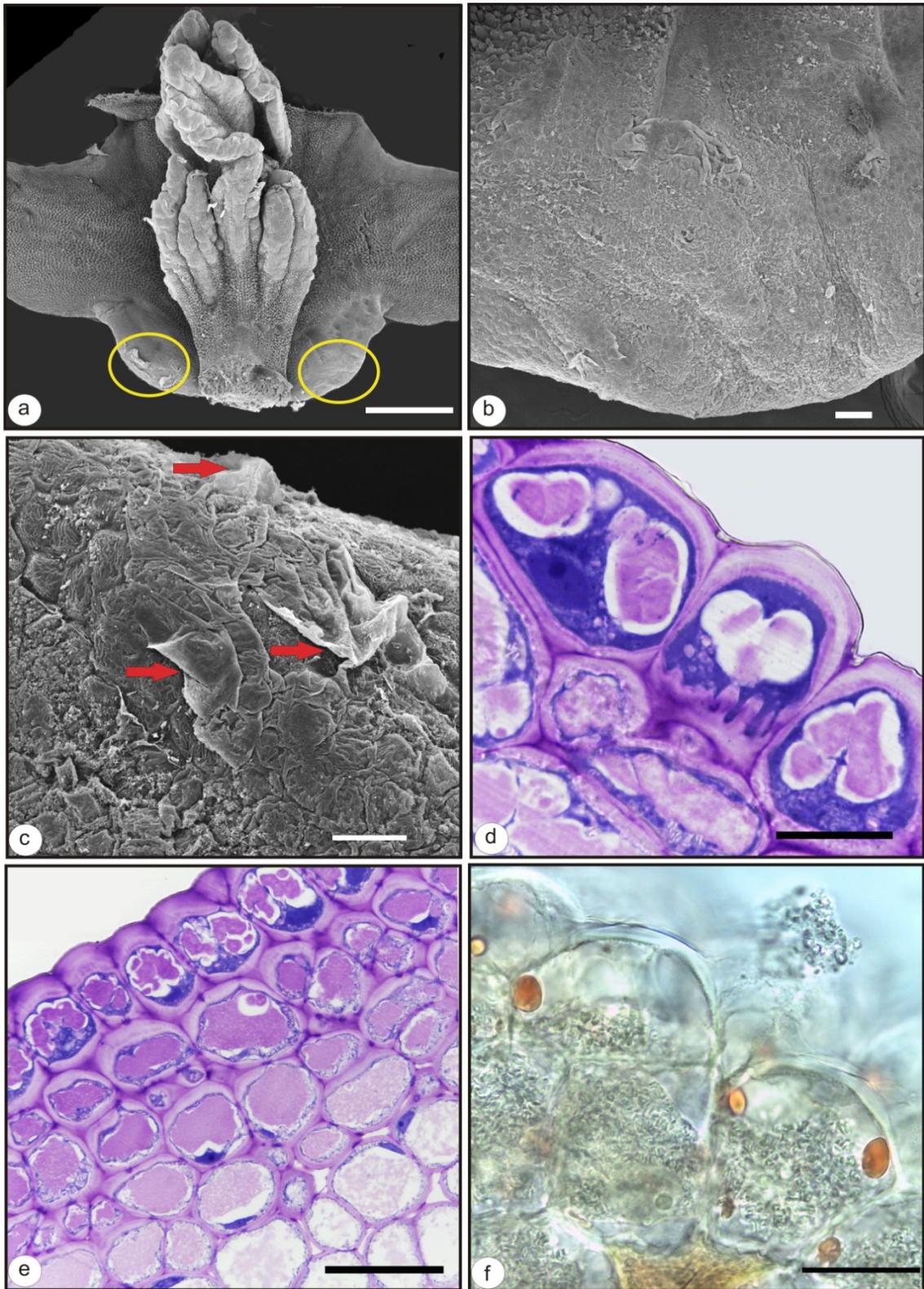


Figura 19: Lobos laterais do labelo de *O. barbaciae* em vista frontal (a-c; MEV) e em seção transversal (d-f). a, visão geral do calo, evidenciando LL (destaques); b, detalhe da superfície de LL; c, detalhes da cutícula deslocada ou rompida (setas vermelhas); d, detalhe da epiderme; e, epiderme e estratos hipodérmicos; f, epiderme submetida ao teste com Sudan III. (LL: regiões estruturalmente diferenciadas localizadas simetricamente na porção proximal dos lobos laterais) Barra = 1mm, em a; 20 μ m, em d, f; 50 μ m em b, c, e.

Oncidium batemannianum

Limbo: Em vista frontal, possui superfície papilosa na face adaxial (Fig. 20a). As papilas são revestidas por cutícula estriada e, por vezes, apresentam secreção na superfície (Fig. 20b). Em secção transversal (Fig. 20c), é composto por epiderme uniestratificada em ambas as faces e estratos de parênquima. A epiderme na face adaxial possui células papilosas e polarizadas, com o polo distal ocupado por um grande vacúolo. Na face abaxial (Fig. 20d), as células epidérmicas possuem contorno circular a quadrangular e paredes espessadas, especialmente as periclinais externas. O mesofilo possui cerca de 10 estratos com células de contorno sinuoso, frouxamente dispostas e contendo grãos de amido. Nesta região ocorrem idioblastos contendo ráfides e feixes vasculares colaterais. As células do estrato hipodérmico, na face abaxial, também apresentam paredes espessadas. Substâncias lipofílicas foram detectadas no interior e na superfície das células epidérmicas em ambas as faces (Fig 20 e, f; Tab. 4).

Calo: Apresenta projeções digitiformes de dimensões variadas (Fig.21a, b) em vista frontal, com estômatos (Fig. 21c). As projeções, em secção transversal, possuem contorno circular (Fig. 21d). A epiderme é composta por células arredondadas, quadradas ou prismáticas, dispostas compactamente, com citoplasma denso, núcleo conspícuo e vacúolo voltado para o polo distal. O estrato hipodérmico possui células arredondadas, com núcleos conspícuos e citoplasma menos denso em relação àquele das células epidérmicas. A região central destas estruturas é ocupada por células parenquimáticas dispostas frouxamente. A superfície entre as projeções digitiformes, em vista frontal, é acentuadamente papilosa e as papilas revestidas por cutícula estriada (Fig. 21e), por vezes, recobertas por secreção. Em secção transversal (Fig. 21f), a região apresenta epiderme e estrato hipodérmico com células diferenciadas pelas paredes espessadas, vacúolos com conteúdo lipofílico e proteico (Tab. 4) e núcleos conspícuos, além de estratos parenquimáticos.

LL: Na porção basal do labelo, bilateralmente e adjacentes ao calo, diferenciam-se duas regiões de aspecto esponjoso (Fig. 22a). Estas regiões, em vista frontal, mostram-se recobertas por secreção. Em secção transversal (Fig. 22b), apresentam epiderme, estratos hipodérmicos (1 a 4) com células diferenciadas e estratos parenquimáticos. As células parenquimáticas apresentam contorno sinuoso e estão dispostas frouxamente. A epiderme possui células papilosas (Fig. 22c), por vezes

mamiliformes (Fig. 22d), apenas na face adaxial. Na face abaxial, verifica-se o deslocamento da cutícula que se afasta da parede celular bem como a presença de secreção no espaço subcuticular (Fig. 22e). Compostos lipofílicos (Fig. 22f) e proteicos (Tab. 4) foram detectados nos estratos epidérmico e hipodérmicos, em ambas as faces.

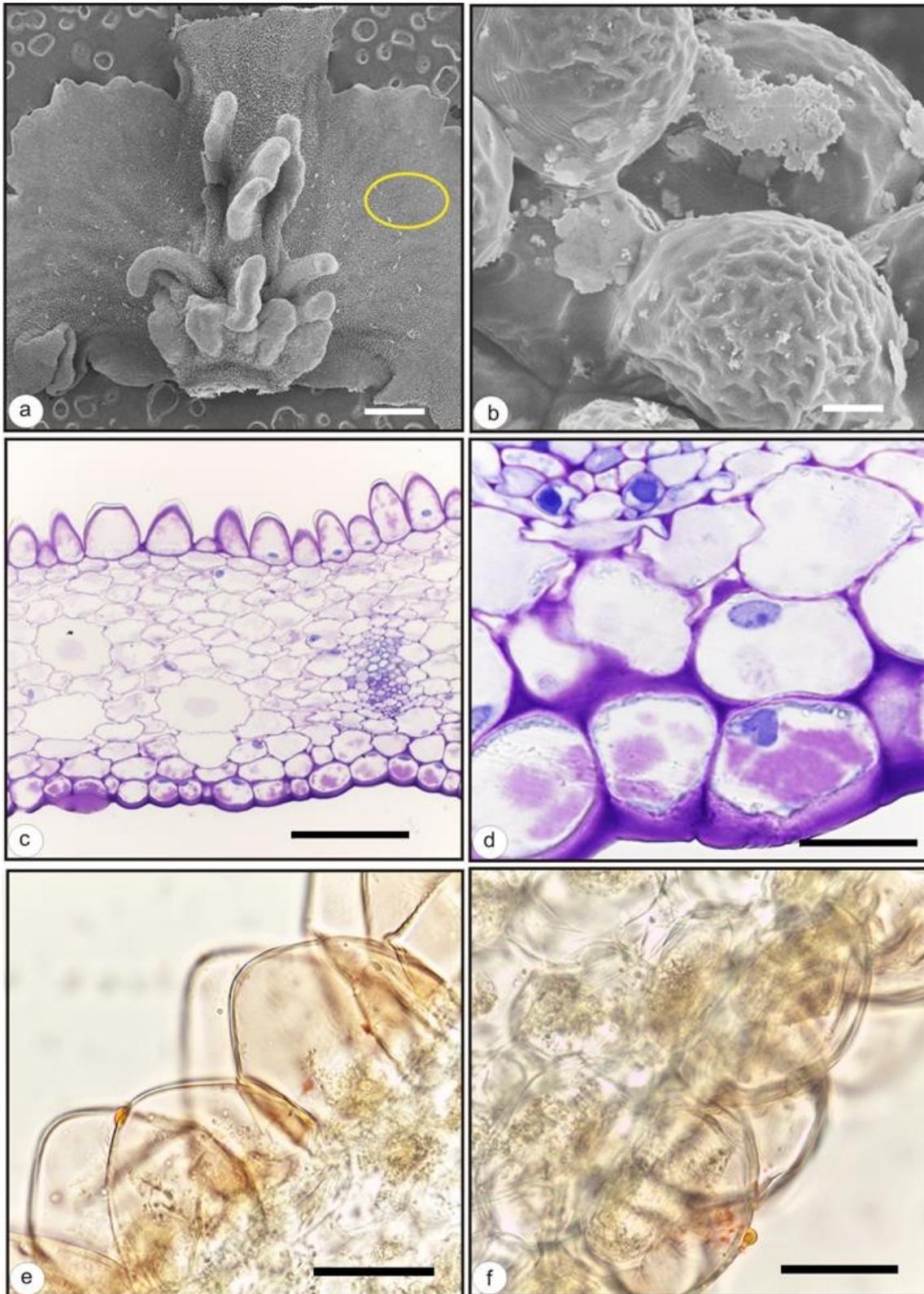


Figura 20: Limbo do labelo de *O. batemanni*, em vista frontal (a, b MEV), e em seção transversal (c - f). a, vista geral; b, ampliação do destaque em a: detalhe da superfície papilosa e presença de secreção; c, padrão anatômico da região destacada em a; d, face abaxial; e, reação ao teste com Sudan III, na face adaxial; f, reação ao teste com Sudan III, na face abaxial. Barra = 1mm, em a; 10 μ m em b; 20 μ m em d-f; 100 μ m em c.

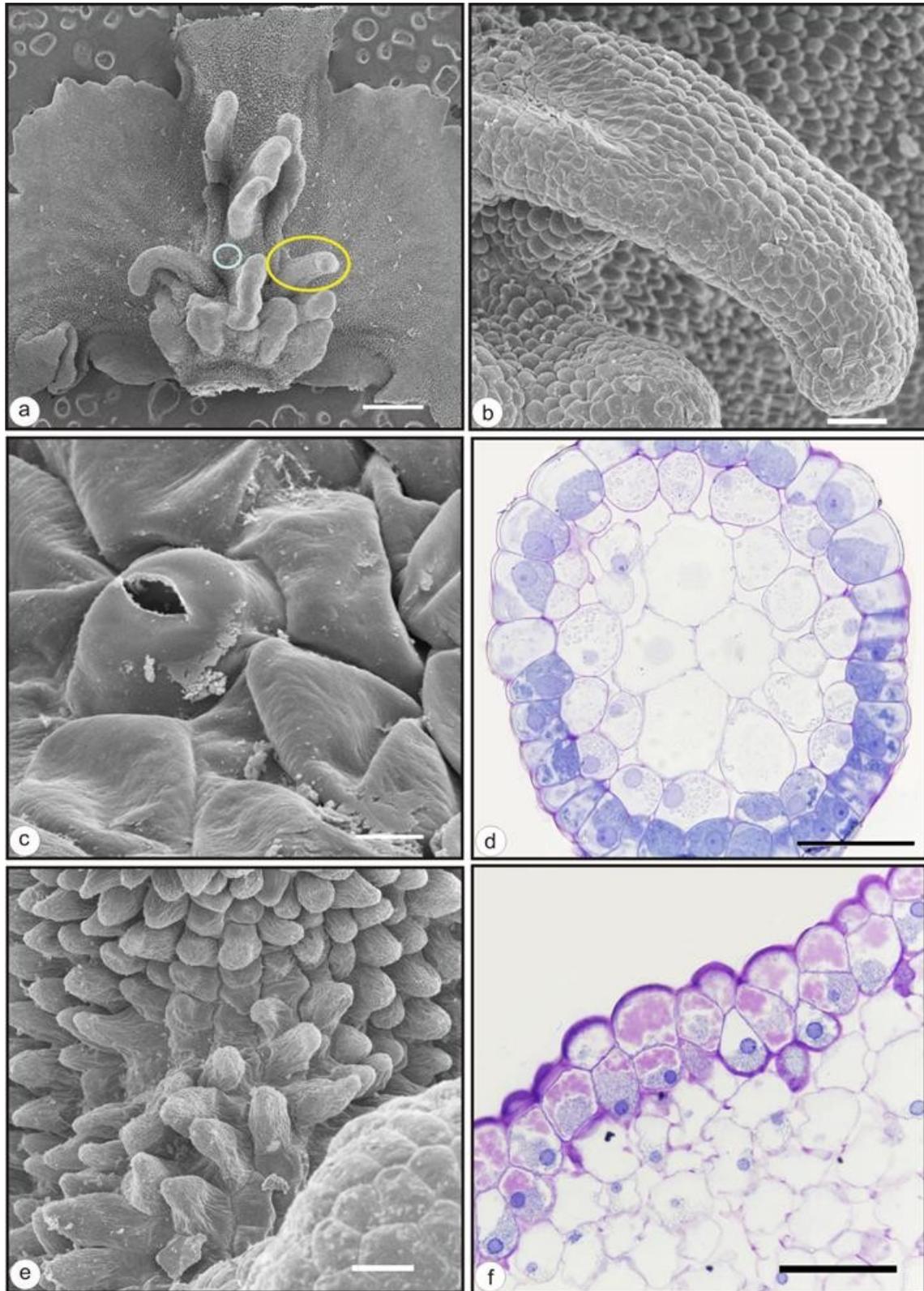


Figura 21: Calo do labelo de *O.batemmannianum*, em vista frontal (a-c, e, MEV) e em secção transversal (d-f). a, visão geral; b, ampliação do destaque amarelo em a: detalhe de projeção digitiforme; c, detalhe de estômato; d, projeção digitiforme; e, epiderme papilosa na região destacada em azul, em a; f, padrão anatômico da região destacada em azul, em a. Barra = 1mm em a; 10 μ m em c; 20 μ m, em f; 50 μ m em d, e, f; 100 μ m, em b.

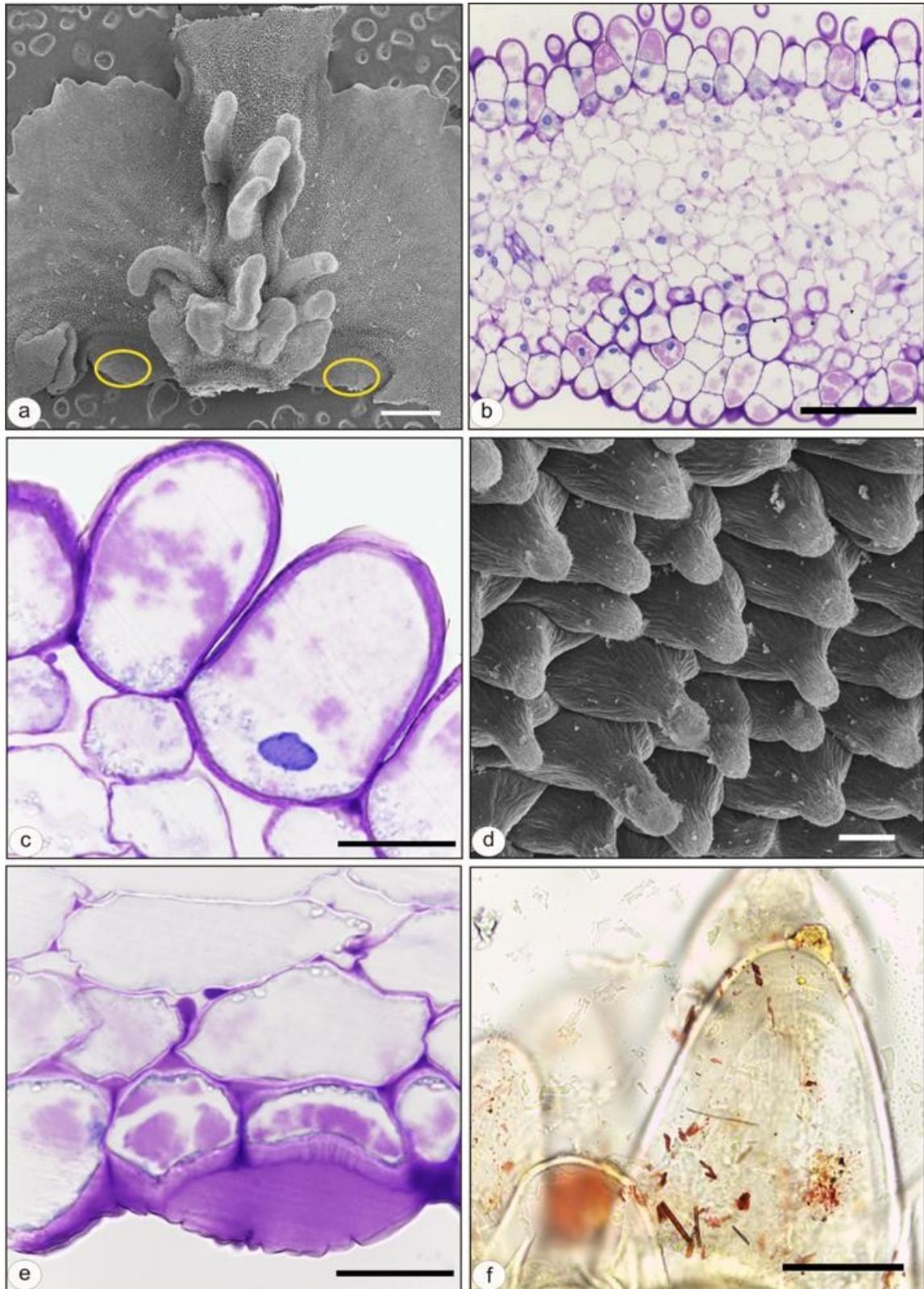


Figura 22: Lobos laterais do labelo de *O. batemanni*, em vista frontal (a, d; MEV), em secção oblíqua (b) e em secção transversal (c, e, f). a, visão geral do calo, evidenciando LL (destaques); b, padrão anatômico da região destacada em a; c, detalhe da epiderme papilosa; d, detalhe da epiderme na face adaxial; e, detalhe da cutícula deslocada e secreção; f, epiderme submetida ao teste com Sudan III. (LL: regiões estruturalmente diferenciadas localizadas simetricamente na porção proximal dos lobos laterais) Barra = 1mm em a; 20 μ m em c, d, e, f; 100 μ m em b.

TABELA 4: Testes histoquímicos nas flores das espécies de Oncidiinae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (L= labelo; CL=calo do labelo; LL= lobos laterais).

Reagente	Substância	Cor	Espécies – Oncidiinae														
			<i>O.warmingii</i>			<i>O.hookeri</i>			<i>O.gravesianum</i>			<i>O.barbaceniae</i>			<i>O.batemannianum</i>		
			L	CL	LL	L	CL	LL	L	CL	LL	L	CL	LL	L	CL	LL
Sudan III	Compostos lipofílicos	laranja-avermelhada	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sudan IV	Compostos lipofílicos	laranja-avermelhada	+	+	+	-	-		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Reagente de Fehling	Açúcares	marrom	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lugol	Amido	violeta	+	-	-	+	-		+	+	+	+	-	-	+	-	-
Dicromato de Potássio	Compostos fenólicos	marrom	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido periódico + Reagente de Schiff	Polissacarídeos	magenta	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylidine Ponceau	Proteínas	vermelho	-	+	-	-	-		-	+	+	-	+	+	-	+	+

Visitantes florais

Durante as observações de campo, foram registradas visitas de coleópteros às flores de *O.warmingii* e *O.batemannianum*; de uma espécie de díptera às flores de *O.batemannianum* e de *O.gravesianum* e de uma espécie de himenóptera bem pequena às flores de *O. hookeri* e *O. gravesianum*. Nestes casos, porém, não houve contato com a região estigmática e nem remoção de polínias. *Centris* aff. *confusa* foi registrada numa população de *O.barbaceniae* mas não visitou as flores da espécie. Assim, os esforços amostrais de 514 horas de observação (*O.warmingii* = 136 horas; *O.batemannianum* = 130 horas; *O.barbaceniae* = 92 horas; *O.hookeri* = 78 horas e *O.gravesianum* = 78 horas) não contabilizaram nenhuma visita legítima por abelhas, em especial as coletoras de óleo, em nenhuma das cinco espécies.

No entanto, entre 28% (para *O. batemannianum*) e 47% (para *O. gravesianum*) das flores analisadas apresentaram polínias removidas. No entanto, estas visitas resultam em baixa taxa de polinização, já que apenas entre 1% (para *O. warmingii*) e 15% (para *O. gravesianum*) das flores apresentaram polínias inseridas na cavidade estigmática (Tabela 5).

TABELA 5: Análise quanto à presença e ausência de polínias nas flores de *Oncidium warmingii* Rchb.f., *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaciae* Lindl. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais (n=número amostral; p/p=presença de polínias; a/p=ausência de polínias e p/i= polínias inseridas).

Espécies	n/ind.	Flores			
		n	p/p	a/p	p/i
<i>O.warmingii</i> 	90	315	62,22%	36,82%	0,96%
<i>O.hookeri</i> 	67	230	50,43%	37,82%	11,75%
<i>O.gravesianu</i> 	37	121	39,68%	46,28%	14,04%
<i>O.barbaciae</i> 	76	299	64,21%	30,10%	5,69%
<i>O.batemannianum</i> 	87	352	71,02%	27,56%	1,42%

Sistema reprodutivo

Os experimentos relativos ao sistema de reprodução encontram-se resumidos na Tabela 6. As espécies estudadas não se autopolinizam espontaneamente, em função da presença do rostelo, que impede o contato entre as polínias e a região estigmática. Sendo assim, todas são dependentes das visitas de polinizadores para que seja efetuada a transferência de polínias para a região estigmática.

Em praticamente todos os experimentos, ocorreu uma maior percentagem de frutos iniciados do que de frutos maduros, revelando a ocorrência de aborto dos mesmos ao longo do desenvolvimento (Tabela 6). Os frutos são polispérmicos, do tipo cápsula, verdes, com sementes anemocóricas medindo aproximadamente 2mm, dispersas por fendas longitudinais.

A produção de frutos alcançou o maior sucesso nos experimentos de polinização cruzada (xenogamia): *O.warmingii* (15,08%), *O.batemannianum* (28,15%), *O.barbaceniae* (16,21%), *O.hookeri* (33,34%) e *O.gravesianum* (61,53%) (Tabela 6).

Quanto aos experimentos de autopolinização manual, somente houve produção de frutos maduros de tamanho e aparência normais para *O. batemannianum* (6,54%) e para *O.barbaceniae* (7,89%). Nas demais espécies, os frutos iniciados abortaram ainda no início do desenvolvimento (Tabela 6) e as espécies foram consideradas autoincompatíveis. As medidas referentes aos frutos resultantes dos cruzamentos estão reunidas na tabela 7. A análise das sementes dos frutos originados de autopolinização manual em *O.batemannianum* e *O.barbaceniae* mostrou que eles continham 100% de sementes estéreis e 66,1% de sementes férteis, respectivamente (Tabela 8). No entanto, a autoincompatibilidade foi confirmada pelo cálculo do IAc, que, em ambos os casos, foi inferior a 0,75 (IAc *O.batemannianum* = 0,23); IAc *O.barbaceniae* = 0,49).

Os resultados obtidos para a produção de frutos a partir de polinizações naturais (controle) revelou um sucesso muito baixo, alcançando 8% em *O.hookeri*, mas não excedendo 2% nas demais espécies (Tabela 6).

Por outro lado, mesmo os frutos xenógamos maduros continham sementes férteis e estéreis, cujas proporções encontram-se discriminadas na Tabela 8. Os frutos xenógamos de *O. hookeri* e *O. gravesianum* não continham sementes férteis ou podem ter sido coletados prematuramente, logo não podemos confirmar a esterilidade das sementes, sendo necessários novos experimentos.

TABELA 6: Experimentos relativos ao sistema de reprodução das espécies de Oncidiinae do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (n= número amostral de indivíduos/flores; fr.inic.= frutos iniciados; fr. mad.= frutos maduros).

Espécies	Experimentos											
	Auto-espontânea			Auto-manual			Xenogamia			Controle		
	n	fr.inic.	fr.mad.	n	fr.inic.	fr.mad.	n	fr.inic.	fr.mad.	n	fr.inic.	fr.mad.
<i>O.warmingii</i> 	07/45	0%	0%	22/62	17,74%	0%	20/73	32,88%	15,08%	20/229	1,31%	1,31%
<i>O.hookeri</i> 	05/16	0%	0%	05/15	0%	0%	05/15	46,67%	33,34%	05/34	17,64%	8,82%
<i>O.gravesianum</i> 	05/10	0%	0%	05/12	0%	0%	05/13	69,23%	61,53%	05/15	0%	0%
<i>O.barbaceniae</i> 	12/54	0%	0%	25/114	9,64%	7,89%	18/74	37,88%	16,21%	19/123	4,06%	0,81%
<i>O.batemannianum</i> 	08/41	0%	0%	24/107	6,54%	6,54%	22/103	36,90%	28,15%	23/215	1,86%	1,86%

TABELA 7: Morfometria dos frutos resultantes dos experimentos *Oncidium warmingii* Rchb.f., *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaciae* Lindl. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais; (c=comprimento e d=diâmetro).

Espécies	Experimentos					
	Auto-manual		Xenogamia		Controle	
	c	d	c	d	c	d
<i>O. warmingii</i> 	-	-	18,34 ±5,99	5,4±2,31	28,36 ±3,75	7,72 ± 1,30
<i>O. hookeri</i> 	-	-	12,69 ± 4,43	2,09± 0,50	16,36 ±3,72	2,06± 0,36
<i>O. gravesiana</i> 	-	-	88,43 ±11,17	17,93±3,24	-	-
<i>O. barbaciae</i> 	31,59 ± 1,56	11,66± 0,67	24,09± 4,58	9,72± 3,24	32,12 ± x	11,95 ± x
<i>O. batemannianum</i> 	25,63± 2,62	8,12 ±1,77	27,73± 3,13	9,17 ±2,02	28,03 ±4,29	11,94 ±0,54

TABELA 8: Análise das sementes dos frutos resultantes dos experimentos *Oncidium warmingii* Rchb.f., *Oncidium hookeri* Rolfe, *Oncidium gravesianum* Rolfe, *Oncidium barbaceniae* Lindl. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais (percentual médio \pm desvio padrão; c/e=sementes com embrião; s/e=sementes sem embrião; n=numero amostral).

Espécies	Frutos								
	Fruto - Autopolinização			Fruto - Xenogamia			Fruto - Controle		
	n/fruto	Sementes		n/fruto	Sementes		n/fruto	Sementes	
c/e		s/e	c/e		s/e	c/e		s/e	
<i>O.warmingii</i> 	-	-	-	2	63,30 \pm 18,80	48,95 \pm 19,86	9	46,94 \pm 45,17	41,94 \pm 44,47
<i>O.hookeri</i> 	-	-	-	5	-	100	5	63,68 \pm 40,48	36,32 \pm 40,48
<i>O.gravesianum</i> 	-	-	-	5	-	100	-	-	-
<i>O.barbaceniae</i> 	2	75,80 \pm 1,32	24,20 \pm 1,32	3	28,90 \pm 10,04	86,26 \pm 12,68	4	99,70 \pm 0,38	0,30 \pm 0,39
<i>O.batemannianum</i> 	2	-	100	13	67,25 \pm 27,73	44,02 \pm 36,19	2	100	-

As cinco espécies de Oncidiinae estudadas diferiram com relação aos padrões de floração (*sensu* Newstrom *et al.*, 1994) na área do Parque Estadual do Ibitipoca. *Oncidium warmingii* e *Oncidium batemannianum* exibiram um padrão contínuo, com tendência de pico no período mais quente e úmido do ano, enquanto que as demais espécies exibiram um padrão anual: *Oncidium barbaceniae*, com floração longa durante toda a estação mais quente e úmida do ano, ao passo que *O. hookeri* e *O. gravesianum*, com floração curta na transição da estação mais quente e úmida para a mais fria e seca.

Todas as espécies apresentaram flores muito longevas, em antese por cerca de 10 a 25 dias. O prolongamento da antese é bem representado em outros gêneros de Oncidiinae: 15 dias em *Ornithocephalus kruegeri* Rchb.f. e 22 dias em *Oncidium cheiroporum* Rchb.f. (Pacek e Stpiczyńska, 2007); 7 a 8 dias em *Trichocentrum pumilium* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams (Pansarin & Pansarin, 2010); 23 a 27 dias em *Gomesa montana* e 28 a 35 dias em *Gomesa varicosa* (Pansarin & Pansarin, 2016). O longo período de antese observado para muitas Orchidaceae parece estar relacionado ao favorecimento do sucesso reprodutivo em sistemas de polinização especializados e com baixas taxas de visitas que resultam em limitação polínica (Neiland & Wilcock, 1998; Stpiczyńska, 2003; Tremblay *et al.*, 2005). Além disso, o registro de rápida senescência das flores após a inserção da polínia na cavidade estigmática, em cinco dias, também é bem conhecido (revisão em Huda & Wilcock, 2011) e está relacionado com a realocação de recursos para as sementes em desenvolvimento (Galletto *et al.*, 1997), ou sugere que o custo fisiológico associado com a manutenção da flor supere qualquer vantagem em manter uma flor já polinizada (Primack, 1985). Por outro lado, em todas as espécies estudadas houve redução (em cerca de 20 a 30%) do período de antese após a remoção das polínias, ou seja, após o término da função masculina, impossibilitando que a função feminina ocorresse. A rápida perda das flores após o primeiro estágio da polinização das orquídeas (remoção das polínias) é um fenômeno menos comum, menos fácil de ser entendido e parece predominar nas orquídeas tropicais (Huda & Wilcock, 2011). De acordo com Parra-Tabla *et al.* (2009), orquídeas tropicais estão mais sujeitas à limitação de recursos do que as temperadas, uma vez que nos trópicos as visitas de polinizadores são menos prováveis e os custos de manutenção das flores grandes e/ou longevas são maiores.

O fechamento da cavidade estigmática pelo movimento das asas estigmáticas, após a polinização, foi registrado para todas as espécies estudadas e registros como este só foram encontrados para *Tolumnia guibertiana* (A. Richard) Braem (Vale *et al.*, 2011). Os autores (*loc. cit.*) interpretam o movimento como uma forma de separar as funções masculina e feminina numa mesma flor, evitando uma outra polinização subsequente da mesma flor, sem afetar a função masculina nos dias em que a flor permanece aberta antes da senescência pós-polinização.

Estruturas secretoras florais

As análises anatômicas aqui descritas confirmam a secreção de óleo como recurso floral nas cinco espécies estudadas, sendo o primeiro registro para todas elas, exceto para *O. warmingii* (Alves, 2015). Embora nossos resultados tenham apontado limbo do labelo, calo do labelo e lobos laterais adjacentes ao calo como regiões secretoras de óleo, consideramos que o limbo do labelo diferencia-se estrutural e funcionalmente do calo do labelo e dos lobos laterais adjacentes ao calo, o primeiro sendo osmóforo e os dois últimos, elaióforo.

Todas as espécies apresentaram reação para o vermelho neutro no labelo. *Oncidium gravesianum* exala um odor intenso, ao contrário das demais espécies, cujos odores são muito suaves. Estudo referente à composição química dos voláteis florais (complementação a ser inserida para a publicação do artigo) mostrou 65 substâncias na composição química dos voláteis das flores de *O. warmingii*, com pelo menos duas delas associadas à polinização por abelhas. É provável que estas mesmas substâncias sejam identificadas na composição química dos voláteis das flores das demais espécies, visto que os picos cromatográficos já obtidos são bastante semelhantes (com. pess. Rafael Ferreira). O limbo do labelo, em todas as espécies, apresenta superfície papilosa secretora de substâncias lipofílicas e mesófilo parenquimático rico em grãos de amido, o que remete à osmóforo (Vogel, 1990). A presença de amido é característica de osmóforos, geralmente no estágio pré-secretor, podendo constituir uma fonte de energia para processos metabólicos intensivos (Stipiczynska & Davies, 2007; Pácek e Stipiczynska, 2007). A falta de evidências de estômatos nos osmóforos de *O. gravesianum*, *O. hookeri* e *O. barbaceniae* sugere que a emissão de compostos voláteis seja por difusão, como observado em *Epidendrum denticulatum* (São Leão, 2012) e em espécies de *Scaphosepalum* (Pridgeon & Stern, 1983) e *Stanhopea* (Stern *et al.*, 1987).

Ao contrário, em *O. warmingii* e *O. batemannianum* a emissão de compostos voláteis parece estar associada à presença de estômatos, também registrados em *Acianthera* (Melo *et al.*, 2010) e no capuz do polinário de *E. orchidiflorum* (São Leão, 2012).

Calo e lobos laterais adjacentes ao calo apresentam epitélio não papiloso, com células quadrangulares, por vezes tabulares, que produzem secreção composta por substâncias lipofílicas e proteínas (estas últimas ausentes apenas no calo de *O. hookerii* e LL de *O. warmingii*), o que remete às características de um elaióforo (Vogel, 1974). Com base na classificação de Vogel (1974), os elaióforos aqui apresentados pertencem ao tipo epitelial, embora as camadas subepiteliais também se apresentem com aspecto secretor em todas as espécies, exceto em *O. hookerii*. Alguns autores descrevem elaióforos de espécies de Oncidiinae apresentando, abaixo do epitélio, alguns estratos de parênquima com células intensamente coradas, com núcleos posicionados na base ou centralizados e nucléolos conspícuos (Aliscioni *et al.*, 2009; Davies & Stpiczynska, 2009; Stpiczynska *et al.*, 2013). Tais características remetem a células metabolicamente ativas no processo de secreção (Gomiz *et al.*, 2017). Em *Oncidium ornithorhynchum*, o parênquima subepitelial mostra grandes espaços intercelulares com material floculado, acumulado durante o estágio pré-secretor (Stpiczynska *et al.*, 2013), tal como observamos para as espécies em foco.

A presença de epiderme papilosa e cutícula estriada entre as projeções do calo e próximas aos lobos laterais em *O. warmingii*, *O. gravesiana*, *O. barbaceniae* e *O. batemannianum* podem estar associadas com o acúmulo e retenção da secreção nessas regiões (Stpiczynska *et al.*, 2013).

A oferta de substâncias lipofílicas como recurso tem sido apontada em muitas espécies de Oncidiinae (e.g. Vogel, 1974; Schlindwein, 1995; Singer & Cocucci, 1999; Davies & Stpiczynska, 2009; Pansarin & Pansarin, 2011). Pansarin *et al.* (2009) relatam que estas investigações, no entanto, raramente são combinadas com dados sobre polinizadores e que as interpretações do papel das substâncias lipofílicas detectadas com reagentes específicos podem ser mascaradas, uma vez que tanto os óleos voláteis (fragrância) como os óleos comestíveis reagem positivamente, podendo haver equívocos na identificação de osmóforos e de elaióforos. Neste trabalho, propomos que, na ausência de observações sobre polinizadores, a presença de proteína na secreção pode indicar a utilização nutritiva. Nossos resultados mostram que o limbo do labelo, aqui caracterizado como osmóforo, não apresentou proteína em nenhuma das espécies estudadas. Por outro lado, quando analisamos histoquimicamente a secreção do calo e

dos lobos laterais do labelo, aqui caracterizados como elaióforos, foi detectada a presença de proteínas, exceto no LL de *O. warmingii* e no calo de *O. hookeri*. No caso de *O. warmingii*, a presença de secreção lipofílica é conspícua no interior dos vacúolos, no espaço periplasmático e subcuticular, bem como em forma de gotas na superfície das células epiteliais, tanto no LL como no calo, onde ocorre proteína. No caso de *O. hookeri*, é grande a semelhança com o elaióforo descrito para *G. loefgrenii*, no que se refere à localização, morfologia e estrutura (Stipiczynska *et al.*, 2007; Aliscioni *et al.*, 2009).

A presença de proteína nas células e secreção de elaióforos foi mencionada para *G. varicosa* e *G. montana* (Pansarin *et al.*, 2016), *Trichocentrum pumilum* (Pansarin & Pansarin, 2010), espécies de *Maxillaria* (Davies *et al.*, 2003) e *Diplopterys pubipetala* (Malpighiaceae) (Possobom *et al.* 2015). Tais registros reforçam nossa interpretação na caracterização dos elaióforos das espécies estudadas.

Idioblastos contendo ráfides com cristais de oxalato de cálcio estão presentes em todo o labelo das cinco espécies em foco, sendo comum em flores de Oncidiinae (Pacek & Stipiczynska, 2007; Stipiczynska & Davies, 2008; Stipiczynska *et al.*, 2007). Davies *et al.* (2005) sugerem que esses produtos de excreção podem desencorajar a herbivoria. Cristais de oxalato de cálcio também atuam na regulação do cálcio nas plantas (Horner *et al.*, 2003; Paiva & Machado, 2008). Em *Pistia* as ráfides parecem desempenhar uma dupla função: inicialmente na regulação do cálcio e na maturidade, como mecanismo de defesa. (Franceschi & Nakata, 2005).

Ao caracterizarem as flores-óleo de Oncidiinae, Gomiz *et al.*, (2017) afirmam que a maioria das espécies de *Gomesa*, *Oncidium* e *Trichocentrum* tiveram nos polinizadores a mais significativa pressão de seleção durante o processo evolutivo. Relacionam, ainda, estas flores às abelhas do gênero *Centris*, cujo forrageio consiste em aterrissar na flor, agarrar a tábula infrastigmática com as mandíbulas e raspar o calo e os lobos laterais para obter o óleo floral.

Com base em uma revisão da literatura (Gomiz *et al.*, 2017), na subtribo Oncidiinae, 75% das espécies estudadas apresentam o elaióforo no calo. O restante tem os elaióforos apenas nos lobos laterais (cinco espécies, 10%) ou lobos laterais combinados com calos (7 espécies, 15%), sendo as duas últimas condições consideradas incomuns. Nossos resultados sugerem que estes dados estão subamostrados, uma vez que das cinco espécies analisadas, quatro apresentaram elaióforos nos lobos laterais e no calo.

Sistema de polinização e sistema reprodutivo

O fato de as espécies em foco disponibilizarem substâncias lipofílicas como recurso floral e dependerem de vetores bióticos para a produção de frutos e sementes, já que não são autogâmicas, sugere que um sistema de polinização especializado, envolvendo abelhas coletoras de óleo, ocorra nas flores de Onciinae estudadas. Nos neotrópicos, abelhas que coletam óleo floral são fêmeas, solitárias, da família Apidae, tribos Centridini, Tapinotaspidini e Tetrapediini (Dafni *et al.*, 2005), que apresentam pernas dianteiras e medianas providas de adaptações morfológicas, na forma de cerdas, que servem para romper elaióforos ou para raspar o óleo livre depositado sobre a glândula. Os óleos coletados são transportados para os ninhos em escopas presentes nas patas traseiras. (Buchmann, 1987). As estruturas de coleta e transporte do óleo variam entre as espécies de abelhas quanto ao número, tamanho e localização exata nas pernas, mas, basicamente, seguem o mesmo padrão (Simpson & Neff, 1981). Em comparação com outros recursos florais, os lipídios são mais calóricos, de modo que as abelhas coletoras de óleo se beneficiam desta alta fonte de alimento, especialmente para provimento de suas larvas (Silvera, 2002).

A despeito do investimento em tempo de observação, não foram registradas visitas de abelhas coletoras de óleo às flores. Apenas foi registrada a presença de *Centris aff. confusa* em uma população de *N. pirarensis*. Tal fato parece ser comum em orquídeas Onciinae, visto que Torreta *et.al.* (2011) mencionam que durante doze horas de observação, em flores de *Gomesa bifolia*, poucos eventos de visitas foram registrados e somente em uma ocasião houve a remoção de polinário por *Centris trigonoides*. A frequência de visitas efetivas em orquídeas, quantificadas como remoção de polínias e polinizações, são realmente muito baixas (Tremblay *et.al.*, 2005), mas, nas espécies estudadas, os resultados apontam para um número maior de visitas do que as que foram efetivamente registradas, já que quase 47% das flores de *O. gravesianum* e cerca de 30% das flores das demais espécies apresentaram polínias removidas. No entanto, estas visitas resultam em uma baixa taxa de polinização, já que apenas entre 1% (para *O. warmingii*) até 15% (para *O. gravesianum*) das flores apresentaram polínias inseridas na cavidade estigmática. Estes dados sugerem que a limitação polínica nas espécies estudadas envolve a baixa frequência de visitas (nenhuma visita às flores foi observada) e a baixa qualidade dos visitantes (quantidade de polínias inseridas na

cavidade estigmática surpreendentemente pequena em relação à quantidade de polínias removidas). De acordo com Tremblay (1992 *apud* Tremblay *et al.*, 2005) a remoção de polínias frequentemente excede as polinizações e, em muitas orquídeas, a remoção das polínias por um visitante ineficiente ou ilegítimo pode resultar em perda de pólen e influenciar negativamente o sucesso reprodutivo da espécie.

Em Orchidaceae, a razão entre o “percentual de polínias removidas” / “percentual de frutos produzidos naturalmente” pode mostrar o grau de eficiência do polinizador (Tremblay *et al.*, 2005). Nas espécies de Oncidiinae estudadas esta razão é de 28,1:1 em *Oncidium warmingii*, 4,3:1 em *O. hookeri*, 37,1:1 em *Oncidium barbaciae* e 14,83:1 em *Oncidium batemannianum*. Ressalta-se que para *O. gravesianum* não foram registrados frutos naturais. De acordo com Tremblay *et al.* (2005), os sistemas mais eficientes foram registrados para *Satyrium bicorne* e *Vanilla barbellata* (<0.30:1), enquanto que os menos eficientes para *Stelis argentata* e *Bulbophyllum ipanemense* (> 24.0:1). Nossos resultados indicam uma polinização bastante ineficiente para as espécies de Oncidiinae estudadas.

Os experimentos de autopolinização manual mostraram que todas as espécies estudadas são autoincompatíveis, embora alguns poucos frutos tenham se originado de autopolinizações manuais em *O. barbaciae* (7,89%) e em *O. batemannianum* (6,54%), nesta última com 100% das sementes estéreis. *Gomesa bifolia*, embora considerada autoincompatível, também produziu frutos por autopolinização manual (30,8%) numa percentagem significativamente inferior à polinização cruzada (100%) (Torretta *et al.* 2011), tal como ocorreu com *O. barbaciae*, embora em menores proporções.

Apesar das vantagens genéticas e ecológicas, a autoincompatibilidade pode representar uma dificuldade a mais para o sucesso reprodutivo de espécies com limitação polínica, como as aqui estudadas (Larson & Barrett, 2000). Considerando que o percentual de polínias inseridas foi maior do que o sucesso reprodutivo na maioria das espécies estudadas pode-se sugerir que algumas polínias inseridas sejam resultado de visitas subsequentes a uma mesma planta, representando desperdício de pólen após polinizações geitonogâmicas (*pollen discounting*, *sensu* Barrett, 2002).

Estudos que abordam a biologia reprodutiva também registraram espécies de diferentes gêneros de Oncidiinae como autoincompatíveis: *Trichocentrum pumilum* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams (Pansarin & Pansarin, 2011); *Gomesa montana* (Barb. Rodr.) M.W.Chase & N.H.Williams (Pansarin *et al.*, 2016); *Tolumnia guibertiana* (Vale *et al.*, 2011); dez espécies de *Oncidium* s.l. (Tremblay *et al.*, 2005); *Notylia*

nemorosa Barb. Rodr. (Singer & Koehler, 2003). No entanto, *Comparettia coccinea* Lindl., espécie nectarífera e polinizada por borboletas, é autocompatível (Pansarin *et al.*, 2015).

Nos experimentos de polinização manual (polinização cruzada e autopolinização), assim como na polinização natural, observou-se que nem todos os frutos iniciados alcançam a maturidade e nem todos os frutos, aparentemente normais, contêm sementes férteis, sugerindo que em orquídeas a percentagem de frutos produzidos nem sempre reflete o real sucesso reprodutivo feminino. São Leão (2012) também observou este fato para duas espécies de *Epidendrum* da restinga.

A polinização cruzada manual (xenogamia) aumentou consideravelmente a produção de frutos em relação à polinização natural, sendo esta mais uma evidência de que as espécies apresentam limitação polínica e de que falhas na polinização sejam as principais causas da baixa produção de frutos nas espécies estudadas (Burd, 1994). Estudos envolvendo polinização manual suplementar de pólen, em 56 espécies de Orchidaceae mostraram um aumento significativo no sucesso reprodutivo em relação à polinização natural (Tremblay *et al.*, 2005).

Surpreendentemente, nas espécies estudadas, o maior percentual de sementes férteis não ocorreu nas polinizações cruzadas, mas, sim, nos frutos de polinização natural. De acordo com Stort & Mart (1980), Stort & Galdino (1984), Borba *et al.* (2001) e Borba & Braga (2003), em orquídeas Epidendroideae, não é comum a ocorrência de uma elevada percentagem de sementes potencialmente viáveis, mesmo em frutos resultantes de polinizações cruzadas. No entanto, para *Trichocentrum pumilum*, *Cyrtopodium polyphyllum* (Pansarin *et al.*, 2008) e *Grobya amherstiae* (Mickeliunas *et al.*, 2006), foi obtido um elevado número de sementes potencialmente viáveis. A ausência de sementes viáveis nos frutos resultantes de xenogamia em *O. gravesianum* e em *O. hookerii* não eram esperados e novos experimentos serão conduzidos, em função da amostra pequena nos experimentos referentes a estas espécies. No entanto, principalmente no caso de *O. gravesianum*, que também não produziu frutos naturais, pode ser que a população estudada, com baixo número de indivíduos, apresente uma baixa diversidade de alelos S (alelos de incompatibilidade), resultando numa limitação de pares cruzantes compatíveis (Busch & Schoen, 2008).

- Aliscioni S; Torreta JP; Bello ME; Gallati BG. 2009.** Elaiophores in *Gomesa bifolia* (Sims) M.W. Chase & N.H. Williams (Oncidiinae: Cymbidieae): structure and oil secretion. *Annals of Botany* 104: 1141-1149.
- Alves ACA. 2015.** Anatomia Ecológica de Orchidaceae Juss. do Parque Estadual do Ibitipoca. MG. Brasil. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada ao Manejo e Conservação de Recursos Naturais da Universidade Federal de Juiz de Fora. 163pp.
- Amaral LIV, Pereira MF, Cortelazzo AL. 2001.** Formação das substâncias de reserva durante o desenvolvimento de sementes de urucum (*Bixa orellana* L. - Bixaceae). *Acta Botânica Brasílica* 15(1): 125-132.
- Barrett SCH. 2002.** The evolution of plant sexual diversity. *Nature Review Genetics* 3:274-284.
- Borba EL, Semir J. 2001.** Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: a multiple population approach. *Annals of Botany* 88: 75-88.
- Borba EL, Braga PIS. 2003.** Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. *Revista Brasileira de Botânica* 26(4): 541-549.
- Buchmann, S. L. 1987.** The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 343–369.
- Busch, J.W., Schoen, D.J., 2008.** The evolution of self-incompatibility when mates are limiting. *Trends Plant Sci.* 13, 128–136.
- Brito ALVT, Cribb P. 2005.** Orquídeas da Chapada Diamantina. Rio de Janeiro: Nova Fronteira.
- Burd M. 1994.** Bateman's principle and reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review* 60: 63-139.
- CETEC. 1983.** Diagnóstico ambiental de Minas Gerais, Belo Horizonte

- Chase MW, Williams NH, de Faria AD, Neubig KM, do Carmo M, Amaral E, Whitten WM. 2009.** Floral convergence in Oncidiinae (Cymbidieae; Orchidaceae): an expanded concept of *Gomesa* and a new genus *Nohawilliamsia*. *Annals of Botany***104**: 387-402.
- Chase MW, Palmer JD. 1992.** Floral morphology and chromosome number in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae): evolutionary insights from a phylogenetic analysis of chloroplast DNA restriction site variation. In: Soltis De, Soltis PS, Doyle JJ. eds. *Molecular systematics of plants*. New York, NY: Chapman and Hall, 324-339.
- Correa Neto AV. 1997.** Cavernasem quartzitos da Serra do Ibitipoca, sudeste de Minas Gerais. Pp. 51-60. In: G.C. Rocha (coord.). Anais do 1º Seminário de Pesquisa sobre o Parque Estadual de Ibitipoca. Juiz de Fora, Núcleo de Pesquisa em Zoneamento Ambiental da UFJF.
- Cortelazzo AV, Vidal BC. 1991.** Soybean seed proteins: detection in situ and mobilization during germination. *Revista Brasileira de Botânica* 14:27-34.
- Dafni A. 1992.** Breeding systems. In: *Pollination ecology – A practical approach*. New York, Oxford University Press, p.25-58.
- Dafni A, Kevan PG, Husband BC. 2005.** *Practical Pollination Biology*. Cambridge, Ontario, Canadá. 590p.
- Davies KL, Turner MP, Gregg A. 2003.** Lipoidal labellar secretions in *Maxillaria Ruiz & Pav.* (Orchidaceae). *Annals of Botany***91**: 439-446.
- Davies KL, Stpiczynska M, Gregg A. 2005.** Nectar-secreting floral in *Maxillaria anceps* Ames & C.Schweinf. (Orchidaceae). *Annals of Botany***96**: 217-227.
- Davies KL. & Stpicynska M. 2009.** Comparative histology of floral elaiophores in the orchids *Rudolfiella picta* (Schltr.) Hoehne (Maxillariinae sensu lato) and *Oncidium ornithorhynchum* H.B.K. (Oncidiinae sensu lato). *Annals of Botany* **104**:221-234.
- Dodson CH. 1969.** Pollination and variation in the subtribe Catasetinae (Orchidaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* **39**: 35-56.
- Dressler RL, Williams NH. 1975.** El complejo *Oncidoglossum confusum*. *Orquidéa* **4**: 752-754.

- Dressler R.L. 1993.** Phylogeny and classification of the orchid family. Dioscorides Press, Portland, OR, USA.p 314.
- Endress PK. 1994.** Cambridge tropical biology series: Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge.
- Faegri G, van der Pijl L. 1979.** The Principles of Pollination Ecology. Third Revised Edition. Pergamon Press. London, 254p.
- Faria AD. 2004.** Sistemática filogenética e delimitação dos gêneros da subtribo Oncidiinae (Orchidaceae) endêmicos do Brasil: *Baptistonia*, *Gomesa*, *Ornithophora*, *Rodrigueziella*, *Rodrigueziopsis* e *Oncidium* pro parte. 2004. 119 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Feder N, O'Brien TP. 1968.** Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* **55**: 123-142.
- Flach A, Dondon RC, Singer RB, Koehler S, Amaral MEC, Marsaioli AJ. 2004.** The chemistry of pollination in selected Brazilian Maxillariinae orchids: floral rewards and fragrance. *Journal of Chemical Ecology***30**:1039-1050.
- Franceschi VR, Nakata PA. 2005.** Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annual Review of Plant Biology* **56**:41-71.
- Fontes MA. 1997.** Análise da Composição Florística das Florestas Nebulares do Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (Mestrado) C. Florestais, Universidade Federal de Lavras, MG. 50p.
- Gabe M. 1968.** Techiques histologiques. Masson, Paris.1113p.
- Gahan PB. 1984.** Plant histochemistry and cytochemistry – an introduction. London: Academic Press Inc. 301p.
- Galetto L, Bernardello G, Rivera GL. 1997.** Nectar, Nectaries, flores visitors and breeding system in five terrestrial Orchidaceae from Central Argentina. *Journal ofPlant Research***110**: 393-403.
- Garay La, Stacy JE. 1974.** Synopsis of the genus *Oncidium*. *Bradea***1**: 393-429.
- Gomiz NE, Torreta JP,Aliscioni SS.2017.**New evidence of floral elaiophores and characterization of the oil flowers in the subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). *Plant Systematic Evolution*. 303:403-449.

- Horner TH, Healy RA, Cervantes-Martinez T, Palmer RG. 2003.** Floral nectary fine structure and development in *Glycine* Maxl. (Fabaceae). *International Journal of Plant Sciences* **164**(5): 675-690.
- Huda MK, Wilcock CC. 2011.** Rapid floral senescence following male function and breeding systems of some tropical orchids. *Plant Biology* **14** (2012): 278-284.
- Johansen DA. 1940.** Plant Microtechnique. London: Mac. Graw-Hill Comp. Book Inc.
- Kearns CA. & Inouye DW. 1988.** Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado. Colorado. Xviii + 580p.
- Köeppen W. 1948.** Climatologia: com um stúdio de los climas de La tierra. Version Henfrichs PR. Fondo de Cultura Econômica, México, 479p.
- Larson BM, Barret SC. 2000.** A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society*. 69(4): 503-520.
- Lloyd DG, Schoen D. 1992.** Self-and cross-fertilization in plants. I- Functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences* **153**(3): 358-369.
- Macleane SR, Ivimey-Cook WR. 1952.** Textbook of practical botany. 5^aed., London: Longmans Greenands Co., 476 p.il.
- Mazurkiewicz W. 1913.** Uber die Verteilung des atherischen Ols im Blütenparenchym und uber seine Lokalisation im Zellplasma. *Zeitschrift des Allgemeinen Osterreichischen Apotheker-Vereines*. 51:241-284.
- Mickeliunas L, Pansarin ER, 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.
- Melo MC, Borba EL, Paiva EAS. 2010.** Morphological and histological characterization of the osmophores and nectaries of four species of *Acianthera* (Orchidaceae: Pleurothallidinae). *Plant Systematics and Evolution* **286**:141-151.
- Newstrom LE, Frankie GW, Baker HG. 1994.** A new classification for phenology based on flowering patters in Lowland Tropical Rain Forest trees at La Selva. *Biotropica* 26: 141-159.
- Pabst GFJ, Dungs F. 1977.** Orchidaceae Brasilienses. V.II. Hildesheim: Kurt Schmiersow.

- Pacek A, Stpiczynska M. 2007.** The structure of elaiophores in *Oncidium cheiroporum* Rchb.f. and *Ornigocephalus kruegeri* Rchb. f. (Orchidaceae). *Acta Agrobotanica* **60**: 9-14.
- Paiva EAS, Machado SR. 2008.** The floral nectary of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae): structural aspects during floral development. *Annals of Botany* **101**: 125-133.
- Pansarin ER, Amaral MCE. 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 L.M., Pansarin E.R., Sazima M. 2008.** Reproductive biology of *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae): a Cyrtopodiinae pollinated by deceit. *Plant Biology*. 10:650–659
- Pansarin LM, Castro MM, Sazima M. 2009.** Osmophore and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. *Botanical Journal of the Linnean Society***159**: 408-415.
- Pansarin ER, Pansarin LM. 2010.** Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated by oil-collecting bees. *Plant Biology* **13** (2011):576-581.
- Pansarin E.R., Pansarin L.M. 2011** Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated by oil-collecting bees. *Plant Biology*, 13:576–581.
- Pansarin E.R., Pansarin L.M., Alves-Dos-Santos I. 2015.**Floral features, pollination biology, and breeding system of *Comparettia coccinea* (Orchidaceae: Oncidiinae). *Flora*.207:57–63.
- Pansarin ER. Alves-dos-Santos I. Pansarin LM. 2016.** Comparative reproductive biology and pollinator specificity among sympatric *Gomesa* (Orchidaceae: Oncidiinae). *Plant Biology*. novembro.
- Parra-Tabla V, Abdala-Roberts L, Rojas JC, Navarro J, Salinas-Peba L. 2009.**Floral longevity and scent respond to pollen manipulation and resource status in the tropical orchid *Myrmecophila christinae*. *Plant Systematics and Evolution***282**: 1-11.

- Possobom CCF; Machado S R. 2015.** Elaiophores in three Neotropical Malpighiaceae species: a comparative study. *Plant Systematics and Evolution*. DOI 10.1007/s00606-017-1443-6.
- Purvis MJ, Collier DC, Walls D. 1964.** Laboratory techniques in botany. 371p.
- Pridgeon AM, Stern WL. 1983.** Ultrastructure of osmophores in *Restrepia* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **70**: 1233-1243.
- Primack RB. 1985.** Longevity of individual flowers. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**: 15-37.
- Reis MG, de Faria AD, Bittrich V, Amaral MCE, Marsaioli AJ. 2000.** The chemistry of flower rewards – *Oncidium* (Orchidaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*. **11**: 600-608.
- Reis MG, Singer RB, Gonçalves R, Marsaioli AJ. 2006.** The chemical composition of *Phymatidium delicatulum* and *P.tillandsioides* (Orchidaceae) floral oils. *Natural Product Communications* **1**:757-761.
- Reis MG, Faria AD, Alves dos Santos I, Amaral MCE, Marsaioli AJ. 2007.** Byrsonic acid – the clue to floral mimicry involving oil-producing flowers and oil-collecting bees. *Journal of Chemical Ecology* **33**:1421-1429.
- Roberts DL. 2003.** Pollination biology: the role of sexual reproduction in orchid conservation. In: Dixon KW, Kell SP, Barret RL, Cribb PJ (eds). *Orchid Conservation*. Natural Publications, Sabah, pp. 113-136.
- Rodela LC. 1998.** Cerrados de altitude e campos rupestres do Parque Estadual de Ibitipoca, sudeste de Minas Gerais: Distribuição e florística por subfisionomias da vegetação. *Revista do Departamento de Geografia* **12**: 163-189.
- Salimena-Pires FR.1997.** Aspectos fisionômicos e vegetacionais do Parque Estadual de Ibitipoca, Minas Gerais, Brasil. Pp. 61-60. In: Rocha (coord.). *Anais do 1º Seminário de Pesquisa sobre o Parque Estadual de Ibitipoca*. Juiz de Fora, Núcleo de Pesquisa em Zoneamento Ambiental da UFJF.
- São Leão L C. 2012.** Estudos reprodutivos em duas espécies simpátricas de *Epidendrum* L. (Epidendroideae – Orchidaceae) em vegetação de restinga Rio de Janeiro: UFRJ/Museu Nacional. XVI, 66f. il.(Dissertação – Mestrado).

- Schindwein C. 1995.** Wildbienen und ihre Trachtpflanzen in einer sudbrasilianischen Buschlandschaft: Fallstudie Guaritas, Bestäubung bei Kakteen und Loasaceen. Ulrich E Grauer, Stuttgart, Germany.
- Silvera KI. 2002.** Adaptive radiation of oil-reward compounds among Neotropical orchid species (Oncidiinae). M.Sc.diss. University of Florida.
- Simpson BB, Neff JL. 1983.** Evolution and diversity of floral rewards. Pp. 142-159. In: C.E. Jones & R.J. Little (eds.) Handbook of experimental pollination biology. New York. Scientific and Academic Editions.
- Singer RB, Cocucci AA. 1999.** Pollination mechanisms in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana***14**: 47-56.
- Singer R.B., Koehler S. 2003.** Notes on the pollination of *Notylia nemorosa* (Orchidaceae): Do pollinators necessarily promote cross pollination? *Journal of Plant Research*.116:19–25.
- Sigrist MR, Sazima M. 2004.** Pollination and reproductive biology of twelve species of Neotropical Malpighiaceae: stigma morphology and its implications for the breeding system. *Annals of Botany***94**:33-41.
- Stern W, Curry KJ, Pridgeon AM. 1987.** Osmophores of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **74**: 1323-1331.
- Stort MNS, Galdino GL. 1984.** Self-and cross-pollination in some species of the genus *Laelia* Lindl. (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Genética*. 7:671-676.
- Stort MNS, Martins PS. (1980).** Autopolinização e polinização cruzada em algumas espécies do gênero *Cattleya* (Orchidaceae). *Ciência e Cultura*. 32:1080-1084.
- Stpiczynska M. 2003.** Floral longevity and néctar secretion of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rchb. (Orchidaceae). *Annals of Botany***92**: 191-197.
- Stpiczynska M. 2003.** Floral longevity and néctar secretion of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rchb. (Orchidaceae). *Annals of Botany***92**: 191-197.
- Stpiczynska M, Davies KL, Gregg A. 2007.** Elaiophore diversity in three contrasting members of *Oncidiinae* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **155**: 135-148.

- Stpiczynska M, Davies KL. 2008.** Elaiophore structure and oil secretion in flowers of *Oncidium trulliferum* Lindl. and *Ornithophora radicans* (Rchb.f.) Garay & Pabst (Oncidiinae: Orchidaceae). *Annals of Botany* **101**: 375-384.
- Taboga SR., Vilamaior PSL. 2013.** Citoquímica. In: Carvalho H. F., Recco-Pimentel S. M. (eds.). A célula. Editora Manole, Barueri, São Paulo, Brazil, pp.672.
- Teixeira SP, Borba EL, Semir J. 2004.** Lip anatomy and its implications for the pollination mechanisms of *Bulbophyllum* species (Orchidaceae). *Annals of Botany* **93**: 499–505.
- Tremblay R.L. 1992.** Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Canadian Journal of Botany*. 70:642–650.
- Tremblay RL, Ackerman JD, Zimmerman JK, Calvo RN. 2005.** Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of Linnean Society* 84: 1-54
- Torreta JP., Gomiz NE. Aliscioni SS. e Bello ME. 2011.** Biologia Reprodutiva de *Gomesa bifolia* (Orchidaceae, Cymbidieae, Oncidiinae). *Darwiniana* 49: 16-24.
- Vale A, Navarro L, Rojas D, Álvarez JC. 2011.** Breeding system and pollination by mimicry of the orchid *Tolumnia guibertiana* in Western Cuba. *Plant Species Biol.* 26, 163–173.
- Vitta F. 2002.** Diversidade e conservação da flora nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço em Minas Gerais. Pp. 90-94. In: E.L.Araujo; A.N. Moura; E.V.S.B.Sampaio; L.M.S. Gestinari & J.M.T. Carneiro (eds.). Biodiversidade, Conservação e Uso Sustentável da Flora do Brasil. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco/Sociedade Botânica do Brasil.
- Vogel S. 1974.** Ölblumen und ölsammelnde Bienen. Akademie der Wissenschaften und der Literatur Tropic and subtropic Pflanzenwelt.7:1–267.
- Vogel S. 1990.** The role of scent glands in pollination: On the structure and function of osmophores. New Delhi: Amerind xvi, 202p. il. Smithsonian Institute Libraries.
- Williams NH, Chase MW, Fulcher T, Whitten WM. 2001.** Molecular systematics of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtorchilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, and *Trichocentrum* and a new genus (Orchidaceae). *Lindleyana* 16: 113–139.

*Isolamento reprodutivo em duas espécies simpátricas de Oncidiinae
(Orchidaceae) em vegetação de campo rupestre, MG.*

A hibridização interespecífica pode promover ou reduzir a diversidade biológica (Rieseberg, 1995). Quando os híbridos são férteis e possuem exigências ecológicas semelhantes a um ou a ambos os pais, a integridade genética das espécies existentes pode ser prejudicada (Wolf *et al.*, 2001; Hegde *et al.*, 2006).

Mecanismos que promovem o isolamento reprodutivo são definidos como aqueles que impedem duas espécies de inter cruzarem. São muito variados e envolvem tanto barreiras pré-polinização como pós-polinização (Coyne & Orr, 2004). As barreiras pré-polinização são aquelas que impedem que grãos de pólen de uma espécie cheguem a superfícies estigmáticas de outras espécies. A adaptação a diferentes habitats, o florescimento em períodos não superpostos e a afinidade por diferentes polinizadores são exemplos de mecanismos de isolamento pré-polinização. As barreiras pós-polinização ocorrem quando as barreiras pré-polinização são fracas ou ausentes. Nesse caso, os mecanismos de isolamento podem ser pré-zigóticos ou pós-zigóticos (Coyne & Orr, 2004; Ridley, 2003). Barreiras pré-zigóticas reduzem a probabilidade da fusão entre gametas heteroespecíficos, impedindo a formação do zigoto após o cruzamento, por exemplo, quando o pólen e o estigma das diferentes espécies não se reconhecem. Já os mecanismos pós-zigóticos reduzem a viabilidade ou a aptidão do híbrido, por exemplo, quando indivíduos de espécies diferentes podem se encontrar, inter cruzar e formar zigotos, mas a geração híbrida é inviável ou estéril, sem ocorrência de fluxo gênico entre as espécies (Rieseberg & Carney 1998; Ridley, 2003; Turelli *et al.*, 2001). As barreiras pós-zigóticas são influenciadas por fatores intrínsecos de compatibilidade entre as espécies parentais (Coyne & Orr, 1989, 2004; Moyle *et al.*, 2004).

Investigar como o isolamento reprodutivo se desenvolve entre as espécies e determinar a importância relativa dos diferentes tipos de barreiras de isolamento é fundamental para se compreender o processo de especiação (Lowry, 2008).

A família Orchidaceae é conhecida pelo grande número de híbridos artificiais (mais de 165 mil registros de híbridos), amplamente utilizados no mercado de plantas ornamentais. Isso claramente reflete as fracas barreiras do ponto de vista genético para a produção de híbridos entre espécies e gêneros relacionados, através de polinização artificialmente induzida por humanos. Em Orchidaceae, barreiras pré-polinização, especialmente diferenças na morfologia da flor e no comportamento dos polinizadores,

têm sido apontadas como os principais fatores responsáveis pelo isolamento reprodutivo de espécies simpátricas e estreitamente relacionadas (e.g. Dodson, 1962; van der Pijl & Dodson, 1966; Thien & Marcks, 1972; Gill, 1989; Dressler, 1981; Steiner *et al.*, 1994; Borba & Semir, 1999, 2001).

As barreiras pós-polinização mais raras são pouco investigadas em estudos de isolamento reprodutivo e especiação em Orchidaceae (Cozzolino *et al.*, 2005; Scopece *et al.*, 2007, 2008). A compatibilidade sexual entre as espécies parentais e a viabilidade dos híbridos têm sido os métodos utilizados para inferir o papel da hibridização na diversificação de orquídeas no Neotrópico (Pansarin & Amaral, 2008). Diferenças no cariótipo também atuam como eficientes barreiras reprodutivas pós-zigóticas, e têm sido citadas entre espécies estreitamente relacionadas que compartilham os mesmos polinizadores na subtribo *Orchidinae* (Cozzolino *et al.*, 2004).

Neto *et al.* (2007) mencionam a existência de um suposto híbrido entre *Oncidium warmingii* Rchb.f. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc., no Parque Estadual do Ibitipoca, MG. As duas espécies apresentam populações amplamente distribuídas pela área, especialmente ao longo do Circuito “Janela do Céu”, onde a simpatria ocorre até 1.560m. A partir desta altitude, apenas *O. warmingii* apresenta pequenas populações. A ocorrência deste possível híbrido também dependeria da sincronia entre os eventos de floração das duas espécies e o compartilhamento de polinizadores. As duas espécies apresentam indivíduos florescendo durante todo o ano (Capítulo 1). Além disso, o fato de ambas as espécies apresentarem elaióforos funcionais e, portanto, óleo como recurso floral (Capítulo 1) sugere a polinização por abelhas fêmeas solitárias, das tribos *Centridini*, *Tapinotaspidini* e *Tetrapediini*, as quais rompem os elaióforos por meio de fricção de estruturas especializadas presentes em suas pernas anteriores e medianas (Barros, 1992; Neff & Simpson, 2005; Costa *et al.*, 2006; Pansarin & Pansarin, 2010; Vale *et al.*, 2011).

O presente estudo busca verificar a ocorrência de mecanismos de isolamento reprodutivo pré e pós-polinização entre *O. warmingii* e *O. batemannianum* em uma área localizada no Parque Estadual do Ibitipoca (PEI), Minas Gerais, através do estudo da fenologia reprodutiva, análises da biologia e morfologia das flores envolvidas e polinizações experimentais interespecíficas.

A área de estudo foi demarcada ao longo do “Circuito Janela do Céu”, respeitando-se um gradiente de altitude entre 1.350 e 1.560m de altitude, limite da simpatria entre indivíduos de *O. warmingii* e *O. batemannianum* (Figura 1).



FIGURA 1: (A): Circuito Janela do Céu, evidenciando o limite da simpatria entre os indivíduos de *Oncidium warmingii* Rchb.f. (vermelho) e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc. (amarelo) (A); detalhe do interior da mata: *O. warmingii* (círculo vermelho) e *O. batemannianum* (círculo azul) (B); detalhe da área de borda (C). Parque Estadual do Ibitipoca, MG.

Para averiguar a presença de barreiras pré-polinização, *O. warmingii* e *O. batemannianum* foram avaliadas quanto à fenologia reprodutiva, morfometria e biologia das flores.

Mensalmente, as fenofases reprodutivas (flores e frutos) foram registradas, no período de setembro de 2013 até abril de 2015. Foram selecionados e etiquetados 100

indivíduos de *O. warmingii*, distribuídos em dez áreas (N=10 indivíduos/área), e 80 indivíduos de *O. batemannianum* distribuídos em oito áreas (N=10 indivíduos/área).

A intensidade de cada evento fenológico (emissão de flores e frutos), ao longo dos anos, foi avaliada pelo método de Fournier (1974) modificado, utilizando-se uma escala semi-quantitativa, variando de 0 a 3 (ao invés de 0 a 4), onde: (0) – ausência do evento; (1) – entre 1 e 33% dos ramos da inflorescência exibindo flores; (2) – entre 34 e 66% dos dos ramos da inflorescência exibindo flores; (3) – entre 67 e 100% dos dos ramos da inflorescência exibindo flores. O percentual de intensidade (% Fournier) foi calculado mensalmente para cada espécie, da seguinte maneira: soma dos valores da escala de Fournier obtidos para todos os indivíduos expressando uma determinada fenofase no mês e dividindo pelo valor máximo possível da referida escala (neste caso, 3) multiplicado por N (número total de indivíduos amostrados). O valor obtido foi multiplicado por 100 e transformado em percentual, sendo utilizado para expressar, a cada mês, a intensidade de uma determinada fenofase (Fournier, 1974).

Para calcular o percentual de atividade de uma fenofase, foi utilizado o método de Bencke & Morellato (2002), que considera mensalmente a presença ou ausência da fenofase nos indivíduos, ao longo do ano. Além disso, estima à sincronia do evento, levando em conta que quanto maior o número de indivíduos manifestando uma fenofase, maior é a sincronia da mesma. Além desses indivíduos, foram contabilizados todos os indivíduos em floração. Os dados obtidos foram organizados em planilhas e posteriormente utilizados na confecção de gráficos fenológicos dos eventos.

Indivíduos de ambas as espécies foram selecionados aleatoriamente no interior e nas bordas da trilha para análise da morfometria e biologia das flores. As medidas florais foram tomadas a partir de 30 flores de cada espécie, coletadas ao acaso ao longo da área de estudo, utilizando-se paquímetro digital e microscópio estereoscópico; foram obtidas medidas (comprimento e largura) de estruturas de atração (corola, labelo, calo e tábula infrastigmática) e de estruturas reprodutivas (coluna, região estigmática e ovário). As médias foram comparadas através do teste *t* de Student, no programa Statistica 8.0.

Para averiguar a presença de barreiras pós-polinização, indivíduos de ambas as espécies foram selecionados aleatoriamente no interior e nas bordas da trilha para a realização de experimentos de polinização intra-específica e interespecífica manual. Flores de *O. warmingii* e *O. batemannianum* foram submetidas no campo a cruzamentos manuais interespecíficos, a fim de verificar a compatibilidade genética entre as duas espécies. Para estes experimentos, 14 indivíduos de *O. warmingii* doaram

polínias de 62 flores, as quais foram manualmente introduzidas na região estigmática das flores de *O. batemannianum*. Paralelamente, 24 indivíduos de *O. batemannianum* doaram polínias de 101 flores, as quais foram introduzidas na região estigmática das flores de *O. warmingii*. Todas as flores utilizadas neste experimento estavam frescas, mas não necessariamente abertas naquele dia, continham polínias e apresentavam cavidade estigmática úmida e não recoberta pelas asas estigmáticas. Tais características foram usadas para nos certificarmos da receptividade e da virgindade das flores manipuladas (quando polinizadas as asas recobrem a cavidade estigmática, Capítulo 1). Após o procedimento de troca de polínias entre as espécies, as flores polinizadas foram ensacadas com sacos de voil e acompanhadas até a senescência das mesmas ou até a formação de frutos. Um pouco antes da deiscência, os frutos resultantes foram coletados e mensurados com paquímetro digital quanto ao comprimento e diâmetro. As sementes foram analisadas em microscópio estereoscópico, considerando-se férteis as sementes com embrião visível por transparência, e estéreis aquelas sem embrião. Experimentos de autopolinização manual (transferência de polínia dentro de uma mesma flor) e de polinização cruzada intraespecífica (transferência de polínias entre flores de diferentes indivíduos) também foram feitos para fins de comparação com as polinizações interespecíficas e seguiram a mesma metodologia supracitada.

O crescimento dos tubos polínicos foi acompanhado em flores submetidas no campo a cruzamentos interespecíficos, coletadas após 24h, 36h, 48h e 82h e fixadas em FAA. Conforme a técnica proposta por Martin (1959), após esse período, as amostras foram lavadas em água corrente e mantidas por 24 horas no NaOH (8N) com a finalidade de clarificar e amaciar os tecidos, permitindo a penetração eficiente do corante. Em seguida, as amostras foram transferidas para um backer contendo água destilada, onde permaneceram durante uma hora, com o intuito de remover o excesso de NaOH. As amostras foram coradas com azul de anilina 0,1% em K_5PO_4 e montadas em lâminas cobertas com lamínulas. As lâminas, devidamente etiquetadas com o horário das coletas, foram envolvidas com papel alumínio e mantidas sobre refrigeração durante 4 horas. Após este processo, as amostras foram observadas e documentadas por fluorescência em microscópio Olympus BX-51, com sistema de captura composto por câmera Qcolor 5 e Software Image-Pro Express, conforme. As imagens foram editadas no Software Adobe® Photoshop® 7.0 e as pranchas montadas utilizando o Corel DRAW®12.

No Parque Estadual do Ibitipoca (PEIB), *O. warmingii* e *O. batemannianum* são simpátricas, formando grandes populações ao longo do Circuito Janela do Céu, até uma altitude de 1560m. As duas espécies ocorrem em mais de um tipo de substrato: no início do circuito, até cerca de 1560m de altitude, ocorrem tanto na borda como no interior de matas, em áreas sombreadas, úmidas e, muitas vezes, recobertas por *Sphagnum*, com hábito terrestre; mais acima as áreas são abertas, ensolaradas e com alta incidência de luz e o hábito é rupícola.

As duas espécies apresentam floração longa, com períodos de sobreposição, embora com picos de floração em meses diferentes. *Oncidium warmingii* possui floração contínua e regular, com maiores índices de intensidade e atividade nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro. Frutos foram registrados em grande parte do período estudado, mas sempre com índices mais baixos e sem pico evidente. *Oncidium batemannianum* possui floração longa e irregular. Em 2013, no período de estudado, a espécie floresceu mais intensamente em setembro e outubro. Em 2014 teve uma floração mais expressiva entre julho e setembro, e depois, em dezembro e janeiro (2015). Frutos foram registrados somente no período de setembro de 2013 a abril de 2014, com maiores índices entre novembro e fevereiro (Figura 2).

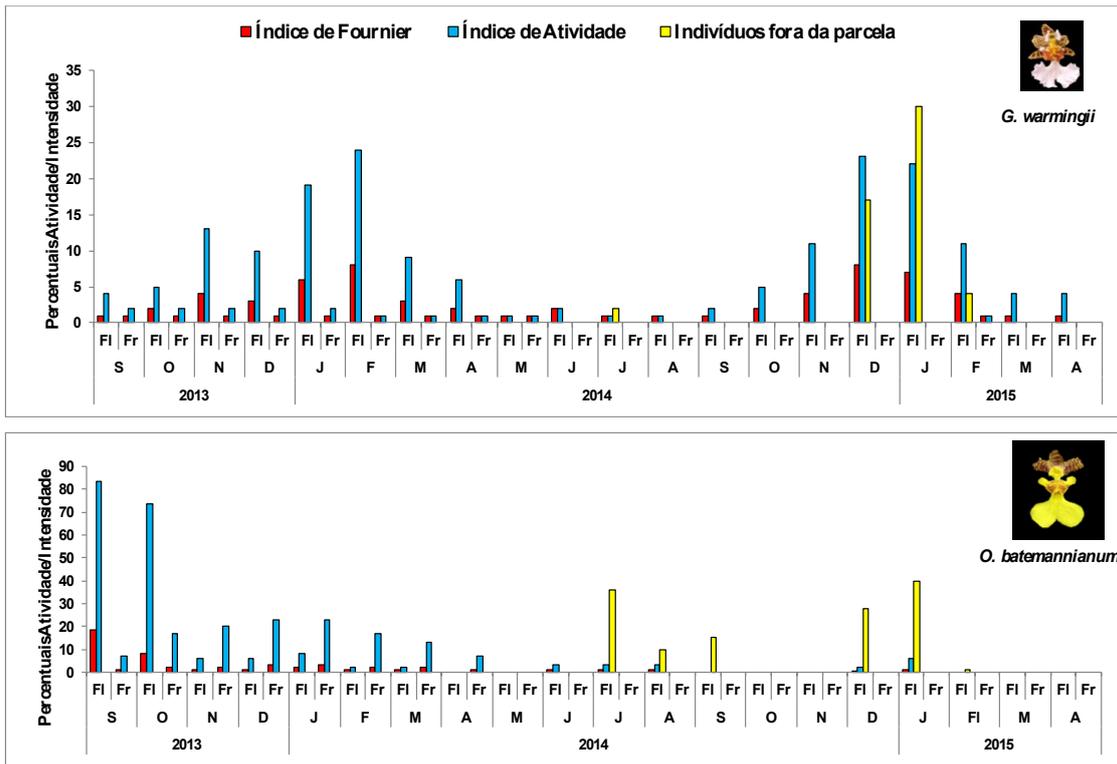


FIGURA 2: Percentual de atividade e intensidade de flores (Fl) e frutos (Fr) de *Oncidium warmingii* Rchb.f. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc. no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

As flores de ambas as espécies são morfológicamente bastante similares, ressupinadas e diurnas. Diferenciam-se na cor da corola e do calo do labelo. Flores de *O. warmingii* são alvas com manchas vináceas, com calo do labelo amarelo, ao passo que as de *O. batemannianum* são amarelas com manchas castanhas e contraste de cor branca no calo do labelo. A tábula infrastigmática de coloração amarela, nas duas espécies, diferencia-se em *O. warmingii* por apresentar guia de cor vinácea. Em ambas as espécies o recurso floral oferecido aos polinizadores é o óleo, produzido a partir de elaióforos presentes no calo e nos lobos laterais do labelo (Capítulo 1, Figura 3 A e B).



FIGURA 3: Flores ressupinadas de *Oncidium warmingii* Rchb.f. (A) e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc. (B). Elaióforos assinalados por setas. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Análise morfométrica

As medidas referentes às estruturas florais reprodutivas e visualmente atrativas das espécies em foco estão resumidas na Tabela 1. Com relação aos caracteres florais relacionados à atração visual, as médias foram significativamente diferentes apenas em relação ao comprimento da corola ($t=2,26$, $p=0,030$) e à largura da tábula infrastigmática ($t=3,29$, $p=0,0025$). Com relação aos caracteres florais reprodutivos, médias significativamente diferentes ocorreram somente no comprimento e na largura do ovário ($t=7,61$, $p=0,00$; $t=2,93$, $p=0,0063$, respectivamente). As médias obtidas para comprimento e largura da coluna ($t=0,376$, $p=0,709$; $t=0,090$, $p=0,942$, respectivamente) e da região estigmática ($t=2,044$, $p=0,709$; $t=0,805$, $p=0,568$, respectivamente) não diferiram nas duas espécies. No entanto, os valores máximo e mínimo obtidos para as medidas sugerem grande variabilidade intraespecífica para as duas espécies (Tabela 1).

TABELA 1: Morfometria dos caracteres florais de atração e reprodutivos de *Oncidium warmingii* Rchb.f. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowless & Westc., no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais. (média em mm \pm desvio padrão; valores mínimo e máximo; c=comprimento, l=largura; n=30 para cada medida, em vermelho, os valores significativamente diferentes, $p < 0,05$)

Caracteres florais		<i>Oncidium warmingii</i>		<i>Oncidium batemannianum</i>	
		c (mm)	l (mm)	c (mm)	l (mm)
Atração	Corola	25,00 \pm 2,34	12,04 \pm 1,70	23,13 \pm 3,34	12,77 \pm 1,18
		21,34 a 30,34	8,20 a 15,16	12,95 a 29,05	10,15 a 15,24
	Labelo	13,80 \pm 1,49	12,04 \pm 1,70	13,25 \pm 1,17	12,71 \pm 1,19
		10,69 a 16,53	8,20 a 15,16	10,64 a 16,16	10,50 a 15,24
	Calo	3,60 \pm 0,45	2,29 \pm 0,61	3,35 \pm 0,48	2,17 \pm 0,61
Tábula Infrastigmática	2,23 \pm 0,60	1,35 \pm 0,30	2,12 \pm 0,42	1,14 \pm 0,21	
	0,94 a 3,56	0,76 a 2,06	1,31 a 2,81	0,72 a 1,52	
Reprodução	Coluna	3,64 \pm 0,67	1,59 \pm 0,43	3,73 \pm 0,85	1,64 \pm 0,37
		1,83 a 5,04	0,65 a 2,17	2,06 a 5,87	0,91 a 2,28
	Região estigmática	1,42 \pm 0,20	1,59 \pm 0,43	2,12 \pm 0,42	1,14 \pm 0,21
		0,96 a 1,79	0,65 a 2,17	1,31 a 2,81	0,72 a 1,52
	Ovário	5,76 \pm 0,95	0,98 \pm 0,21	4,52 \pm 0,87	0,83 \pm 0,19
	4,06 a 8,88	0,55 a 1,48	3,13 a 6,45	0,40 a 1,20	

Experimentos de polinização manual

O resultado destes experimentos estão reunidos na Tabela 2. Os experimentos de polinização manual intraespecífica mostraram que: *O. warmingii* é autoincompatível, uma vez que não houve sucesso na produção de frutos através de autopolinização; *O. batemmannianum* produziu alguns frutos através de autopolinização (6,54%), embora todos contendo apenas sementes estéreis. Os maiores índices de produção de frutos e de sementes férteis para ambas as espécies foram obtidos nos experimentos de xenogamia.

Os experimentos de polinização manual interespecífica redundaram em frutos apenas quando indivíduos de *O. batemmannianum* atuaram como indivíduos maternos. Neste caso, obteve-se 17,74% de frutos iniciados, dos quais 6,45% abortaram ao longo do desenvolvimento e não chegaram à maturação, reduzindo o sucesso para apenas 11,29%. Os frutos resultantes apresentaram comprimento e diâmetro médio de 26,63 mm \pm 3,26 e 9,90 mm \pm 1,37, respectivamente (N=7), sendo muito semelhantes em tamanho dos frutos oriundos de autopolinização manual e de xenogamia produzidos por *O. batemmannianum*. Os frutos tornaram-se deiscentes cerca de 120 dias após a polinização e foram considerados estéreis, uma vez que continham apenas aglomerados de tecido materno preso à placenta, sem sementes formadas (Figura 4 A e B). Não houve produção de frutos quando indivíduos de *O. warmingii* atuaram como indivíduos maternos.

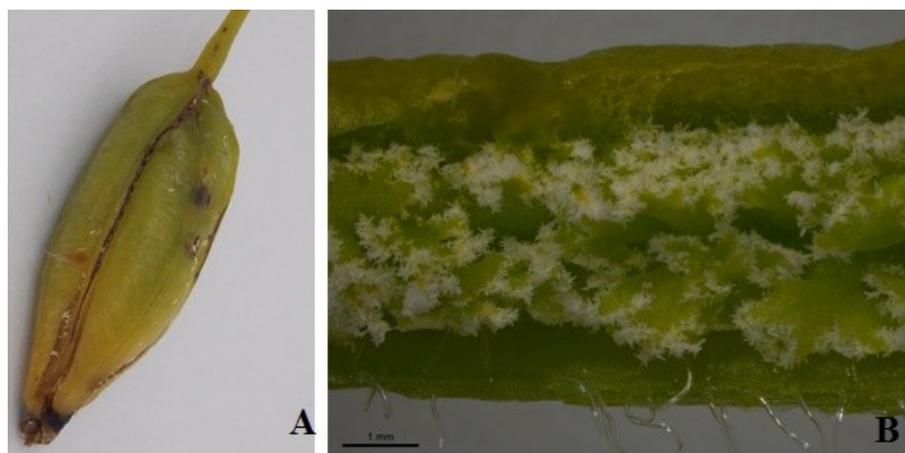


FIGURA 4: Frutos resultantes de cruzamentos interespecíficos entre flores de *Oncidium warmingii* Rchb.f. e *Oncidium batemmannianum* Parm. ex. Knowles & Westc.: (A) aspecto geral do fruto; (B) interior do fruto demonstrando a ausência de sementes. Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

TABELA 2: Experimentos de polinização manual intra e interespecífica aplicados para *Oncidium warmingii* Rchb.f.e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc. (n = número de indivíduos/número de flores polinizadas). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Experimento – Polinização intraespecífica manual									
Espécies		Xenogamia			Frutos - Xenogamia		Sementes - Xenogamia		
		n	fr.iniciado	fr.maduro	c (mm)	d (mm)	n/frutos	c/embrião %	s/embrião %
<i>O. warmingii</i>		20/73	32,88%	15,08%	18,34 ± 5,99	5,40 ± 2,31	2	63,30 ± 18,80	48,95 ± 19,86
<i>O. batemannianum</i>		22/103	36,90%	28,15%	27,73 ± 3,13	9,17 ± 2,02	3	67,25 ± 27,73	44,02 ± 36,19
Experimento – Polinização interespecífica manual									
		Auto – manual			Frutos - Auto - manual		Sementes - Auto-manual		
		n	fr.iniciado	fr.maduro	c (mm)	d (mm)	n/frutos	c/embrião %	s/embrião %
<i>O. warmingii</i>		22/62	17,74%	-	-	-	-	-	-
<i>O. batemannianum</i>		24/107	6,54%	6,54%	25,63 ± 2,62	8,13 ± 1,78	5	0	100%
♂	♀	n	fr.iniciado	fr.maduro	Frutos		Sementes		
					c (mm)	d (mm)	n/frutos	c/embrião %	s/embrião %
		14/62	17,74%	11,29%	26,63 ± 3,26	9,90 ± 1,37	7	-	-
		24/101	1%	0%	-	-	-	-	-

Crescimento do tubo polínico

As flores de *O. warmingii* e de *O. batemmannianum*, submetidas aos experimentos de polinização manual interespecífica, mostraram diferenças marcantes em relação ao crescimento dos tubos polínicos. Quando *O. warmingii* atuou como indivíduo materno, 48 horas após a polinização observamos a desintegração da massa polínica e a liberação dos grãos de pólen na cavidade estigmática (Figura 5 B). Decorrentes 82 horas, não houve desenvolvimento dos tubos polínicos (Figura 5C e D). Entretanto, quando *O. batemmannianum* atuou como indivíduo materno, após 48 horas da polinização foram observados vários tubos polínicos com crescimento irregular (Figura 5 F). Mesmo após 82 horas não foi possível visualizá-los na entrada no ovário (Figura 5 G e H).

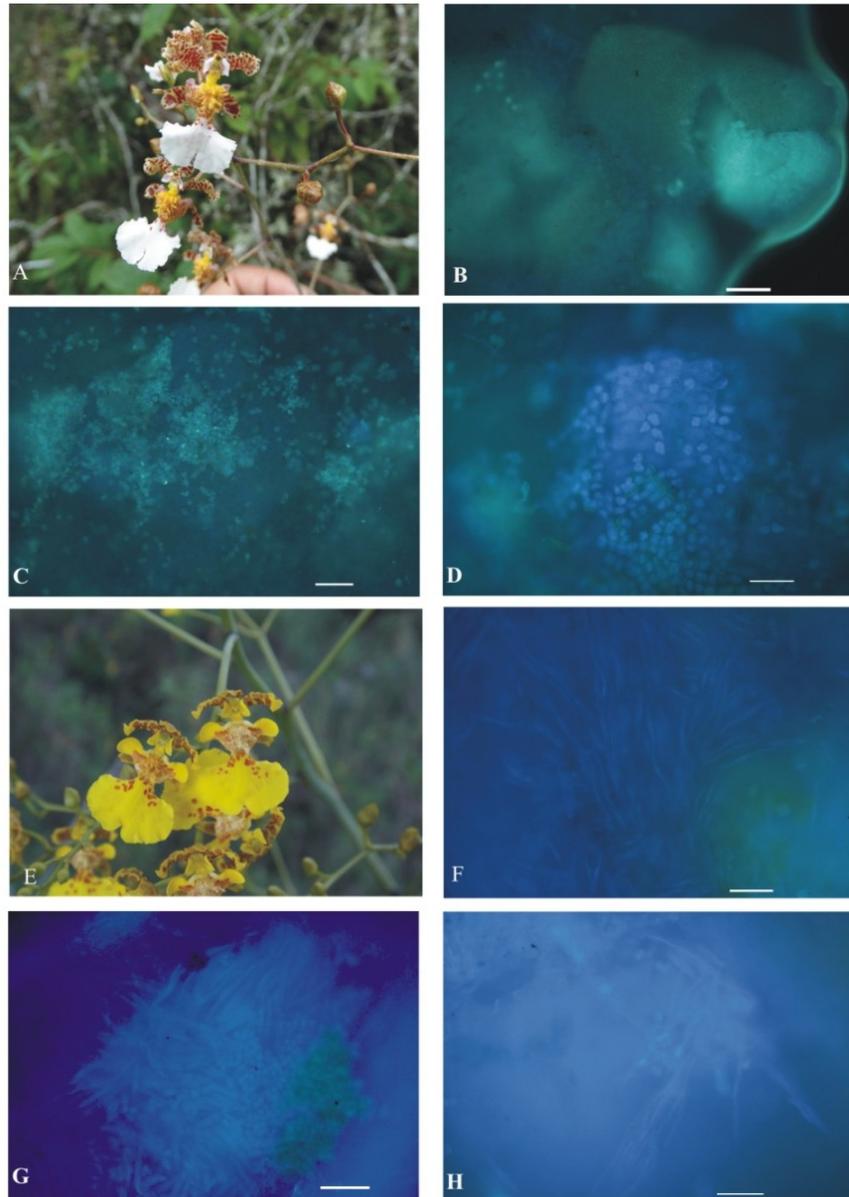


FIGURA 5: Crescimento dos tubos polínicos após experimento de polinização interespecífica entre *Oncidium warmingii* Rehb.f. e *Oncidium batemannianum* Parm. ex. Knowles & Westc: flores e botões de *O. warmingii* (A); polínia sobre cavidade estigmática de *O. warmingii*, 48 horas após a polinização (B); massa polínica sobre cavidade estigmática de *O. warmingii*, 82 horas após a polinização (C e D); flores e botões de *O. batemannianum* (E); tubos polínicos sobre cavidade estigmática de *O. batemannianum*, após 48 horas após a polinização (F); tubos polínicos ao longo do canal estilar, 82 horas após a polinização (G e H).

A ampla ocorrência de indivíduos de *O. warmingii* e de *O. batemannianum*, ao longo de praticamente todo o Circuito Janela do Céu, até aproximadamente 1560m de altitude, ocupando os mesmos tipos de ambientes, muitas vezes lado a lado, sugere que as duas espécies não apresentam exigências diferentes quanto ao hábitat. De acordo com Smidt *et al.* (2006), a adaptação de espécies parentais a habitats especializados pode ser, em alguns casos, a única barreira reprodutiva entre pares de espécies de orquídeas. Conclui-se, portanto, que as áreas de estudo constituem uma zona de contato ou de hibridização (Pinheiro *et al.*, 2010) entre as duas espécies, justificando a suspeita de possível híbrido por Neto (2007). No entanto, decorridos quatro anos consecutivos (2013 até 2016) de estudos ao longo do referido circuito não foram registrados indivíduos com características intermediárias entre *O. warmingii* e *O. batemannianum*, embora ambas as espécies apresentassem grande variabilidade fenotípica, principalmente no tamanho das estruturas florais.

Por outro lado, a ocorrência de períodos de floração sobrepostos ao longo de grande parte do ano, mas com picos de intensidade em diferentes meses sugerem que a fenologia reprodutiva de *O. warmingii* e de *O. batemannianum* pode constituir uma fraca barreira pré-polinização, já que, de acordo com Nilsson (1983), períodos de floração, ainda que moderadamente separados, podem reduzir consideravelmente as polinizações interespecíficas, constituindo um possível mecanismo de isolamento temporal entre as espécies estudadas.

Os elaióforos de *O. warmingii* e *O. batemannianum* estão localizados em áreas análogas das flores das duas espécies, o que favorece uma exploração equivalente das mesmas durante a visita e a coleta do recurso floral. Embora não tenhamos observado visitas destas abelhas nas flores das espécies estudadas, a especialização no sistema de polinização por abelhas coletoras de óleo sugere a ausência de barreiras etológicas efetivas de fluxo gênico natural entre ambas às espécies. No entanto, as diferenças no tamanho de caracteres florais de atração, principalmente da largura da tábula infrastigmática, estrutura floral na qual a abelha se agarra para coletar o óleo floral (Dressler & Williams, 1975; van der Cingel, 2001), poderiam selecionar espécies diferentes de abelhas coletoras de óleo.

Embora a simpatria entre *O. batemmannianum* e *O. warmingii*, a ocorrência de períodos de sobreposição na floração, a similaridade da biologia e morfologia florais e a mesma síndrome de polinização pudessem sugerir possibilidade de fluxo genético entre as espécies em foco, nossos resultados apontam para a não ocorrência de híbridos entre as mesmas, com base nos experimentos de polinização interespecífica. Nas espécies estudadas, a produção de frutos ocorreu, inicialmente, de forma unidirecional, isto é, frutos são formados somente quando pólen de *O. warmingii* (parental masculino, doador de pólen) é transferido para flores de *O. batemmannianum* (parental feminino, receptor de pólen). Os frutos produzidos, no entanto, são aparentemente partenocárpicos, uma vez que não contêm sementes, sendo bem diferentes (embora não em tamanho) dos frutos obtidos nos experimentos de autopolinização manual, onde muitas sementes estavam presentes mas não continham embrião. Alguns autores relatam que a produção natural de frutos sem sementes pode decorrer de problemas na polinização ou fertilização (Zangerl *et al.*, 1991) ou da presença de hormônios, como a auxina, na massa polínica e nos tubos polínicos em crescimento no estilete, ainda que estes não cheguem ao ovário (Johansen, 1990; Zangerl *et al.*, 1991). Ressalta-se que a polinização intergenérica usando *O. batemmannianum* como parental feminino e *O. warmingii* como doadora de polínia mostrou o desenvolvimento de tubos polínicos, diferentemente da polinização reversa.

Assim, a não formação de sementes nos frutos resultantes de polinização interespecífica quando *O. batemmannianum* é o parental feminino, associada à ausência de frutos quando *O. warmingii* é o parental feminino, apontam para a probabilidade nula de formação de híbridos entre indivíduos das espécies estudadas. Em oposição à situação em outras subtribos onde híbridos naturais são relativamente comuns, como em *Laeliinae* (van den Berg & Chase 2001) e *Catasetinae* (Romero & Jenny, 1993), a hibridação natural na subtribo *Oncidiinae* não é muito frequente. No entanto, os poucos híbridos naturais intergenéricos na subtribo em questão incluem aqueles entre *Oncidium* Sw. e *Ornithophora* Barb.Rodr. (Dressler, 1981), este último incluído em *Gomesa* R.Br. (*sensu* Chase *et al.*, 2009).

Assim, confirmamos a importância de barreiras pós-polinização para a manutenção da integridade das espécies estudadas. Apesar de haver consenso entre os estudiosos de que há maior frequência de mecanismos de isolamento reprodutivo pré-polinização em *Orchidaceae* (Dressler, 1981; Borba & Semir, 1999, 2001; Silva-Pereira *et al.*, 2007), estudos recentes têm chamado a atenção para a prevalência de barreiras

pós-polinização especialmente em orquídeas com menor nível de especialização do polinizador e naquelas que exibem mecanismos de polinização por engodo (e.g. Moccia *et al.*, 2007; Scopece *et al.*, 2008; Cortis *et al.*, 2009), não sendo estes os casos das espécies em estudo. Sugerimos que as barreiras pós-polinização, que excluem a formação de híbridos e preservam a integridade das espécies em estudo, são mantidas por uma forte seleção contra a hibridização, em face da simpatria, da floração sincrônica e do mesmo sistema de polinização observados na área de estudo.

- Barros MAG. 1992.** Fenologia da floração, estratégias reprodutivas e polinização de espécies simpátricas do gênero *Byrsonima* Rich (Malpighiaceae). *Revista Brasileira de Biologia* **52**:343-353
- Bencke CSC, Morellato LPC. 2002.** Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de plantas, sua interpretação e representação. *Revista Brasileira de Botânica* **25**(3): 269-275.
- Borba EL, Semir J. 1999.** Temporal variation in pollinarium size after its removal in species of *Bulbophyllum*: a different mechanism preventing self-pollination in Orchidaceae. *Plant Systematics and Evolution* **217**: 197-204.
- Borba EL, Semir J. 2001.** Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: a multiple population approach. *Annals of Botany* **88**: 75-88.
- Chase MW, Williams N H, Faria AD, Neubig K M, Amaral MCE, Whitten WM. 2009.** Floral convergence in Oncidiinae (Cymbidieae; Orchidaceae): an expanded concept of *Gomesa* and a new genus *Nohawilliamsia*. *Ann. Bot.* **109**,1–16.
- Cortis P, Vereecken NJ, Schiestl FP, Barone-Lumaga MR, Scrugli A, Cozzolino S. 2009.** Pollinator convergence and the nature of species boundaries in sympatric Sardinian *Ophrys* (Orchidaceae). *Annals of Botany*, v. 104, n. 3, p. 497-506.
- Costa CBN, Costa JAS, Ramalho M. 2006.** Biologia reprodutiva de espécies simpátricas de Malpighiaceae em dunas costeiras da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **29**: 103-114.
- Coyne JA, Orr HA. 1989.** Patterns of speciation in *Drosophila*. *Evolution* **43**(2): 362-381.
- Coyne JA, Orr HA. 2004.** *Studying Speciation* Sinauer. Sunderland MA. (2):55-82.
- Cozzolino S, D’Emerico S, Widmer A. 2004.** Evidence for reproductive isolate selection in Mediterranean orchids: karyotype differences compensate for the lack of pollinator specificity. *Proc. R. Soc. B* **271**, 259–262.
- Cozzolino S, Widmer. 2005.** The evolutionary basis of reproductive isolation in Mediterranean orchids. *Taxon* **54**(4): 977-985.
- Dafni A, Kevan PG, Husband BC. 2005.** *Practical Pollination Biology*. Cambridge, Ontario, Canadá. 590p.

- Dodson CH. 1962.** The importance of pollination in the evolution of the orchids of tropical America. *American Orchid Society Bulletin* 31: 525-534, 641-649, 731-735.
- Dressler RL, Williams NH. 1975.** El complejo *Oncidoglossum confusum*. *Orquidéa* 4: 752-754
- Dressler LR. 1981.** The orchids: natural history and classification. Cambridge, Harvard University Press.
- Dressler RL. 1990.** The Orchids, Natural History and Classification. Harvard University Press. Harvard, 314p.
- Fournier LA. 1974.** Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24: 422-423.
- Gill DE. 1989.** Fruiting failure, pollinator inefficiency and speciation in orchids. In: Otte D, Endler JA. eds. *Speciation and its consequences*. Sunderland: Sinauer, p.458-481
- Hedge SD, Nason JD, Cleg JM, Ellstrand NC. 2006.** The evolution of California wild radish has resulted in the extinction of its progenitors. *Evolution* 60:1187-1197.
- Johansen B. 1990.** Incompatibility in *Dendrobium*, (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 103: 165-196.
- Lowry DB. 2008.** The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. *Philos. T. Roy. Soc. London*.
- Martin FW. 1959.** Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology*. 34(3): 125-128.
- Moir WWG. 1978.** Breeding the *Oncidium* sect. *Oncidium* (erroneously the *Equitant – Variegata Oncidiums*). *Orchid Digest* 42:85-91.
- Moccia MD, Widmer A, Cozzolino S. 2007.** The strength of reproductive isolation in hybridizing food deceptive orchids. *Molecular Ecology*, v. 16, p. 2855-2866.
- Moyle LC, Olson MS, Tiffin P. 2004.** Patterns of reproductive isolation in three angiosperm genera. *Evolution* 58: 1195-1208.
- Neto LM, Alves RJV, Barros F & Forzza. 2007.** Orchidaceae do Parque Estadual de Ibitipoca, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasileira*. 21(3):687-696.
- Neff JL, Simpson BB. 2005.** Other rewards; oils, resins, and gums, pp. 314-328. In: Dafni, A., Keavan, P. G., Husband, B. C. (eds). **Practical pollination biology**. 1 ed., chapter 7. Cambridge, Enviroquest Ltd, 590p.

- Nilsson LA. 1983.** Mimesis of bellflowers (*Campanula*) by the red helleborine orchid *Cephalanthera rubra*. *Nature* **305**:799-800.
- Pansarin ER, Amaral MCE. 2008.** Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization? *Plant Biology*. 10 (2): 211–219.
- Pansarin ER, Pansarin LM. 2010.** Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated by oil-collecting bees. *Plant Biology* **13** (2011):576-581.
- Pinheiro F, Barros F, Palma-Silva C, Meyer D, Fay MF, Suzuki R M, Lexer C, Cozzolino S. 2010.** Hybridization and introgression across different ploidy levels in the Neotropical orchids *Epidendrum fulgens* and *E. puniceoluteum* (Orchidaceae). *Molecular Ecology*, v. 19, p. 3981-3994.
- Rieseberg LH, Vanfossen C, Desrochers AM. 1995.** Hybrid speciation accompanied by genomic reorganization in wild sunflowers. *Nature* **375**:313-316.
- Ridley M. 2003.** *Evolution*, 3a. ed. Blackwell Publishing. 751 páginas.
- Rieseberg LH, Carney SE. 1998.** Transley review number 102. Plant hybridization. *New Phytologist* 140: 599-624.
- Romero GA, Jenny R. 1993.** Contributions toward a monograph of *Catasetum* (Catasetinae, Orchidaceae) I: A checklist of species, varieties, and natural hybrids. *Harvard Papers in Botany* 4:59-84.
- Scopece G, Musacchio A, Widmer A, Cozzolino S. 2007.** Patterns of reproductive isolation in mediterranean deceptive orchids. *Evolution*, v. 61, p. 2623-2642.
- Scopece G, Widmer A, Cozzolino S. 2008.** Evolution of postzygotic reproductive isolation in a guild of deceptive orchids. *The American Naturalist*, v. 171, p. 315-326.
- Silva-Pereira V, Smidt EC, Borba LE. 2007.** Isolation mechanisms between two sympatric *Sophronitis* (Orchidaceae) species endemic to Northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 269:171-182.
- Smidt EC, Silva-Pereira V, Borba EL. 2006.** Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north-eastern Brazil. *Plant Species Biology* **21**: 85–91.
- Steiner KE, Whitehead VB, Johnson SD. 1994.** Floral and pollinator divergence in two sexually deceptive South African Orchids. *American Journal of Botany* **81**: 185-194.

- Thien LB, Marcks BG. 1972.** The floral biology of *Arethusa bulbosa*, *Calopogon tuberosus*, and *Pogonia ophioglossoides* (Orchidaceae). *Canad. J. Bot.* 50: 2319-2325.
- Turelli M, Barton NH, Coyne JA. 2001.** Theory and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 16, n. 7, p. 330–343.
- Vale A, Navarro L, Rojas D, Álvarez JC. 2011.** Breeding system and pollination by mimicry of the orchid *Tolumnia guibertiana* in Western Cuba. *Plant Species Biol.* 26, 163–173.
- van den Berg C, Chase MW. 2001.** Nomenclatural notes on Laeliinae II. Additional combinations and notes. – *Lindleyana* 16: 109 – 112.
- van der Pijl L, Dodson CH. 1966.** Orchid flowers: their pollination and evolution. University of Miami Press, Coral Gables. 214p.
- van der Cingel NA. 2001.** An atlas of orchid pollination: America, Africa, Asia and Australia. 1 ed. Rotterdam, Netherlands, A. A. Balkema, 260p.
- Wolf DE, Takebayashi N, Rieseber LH. 2001.** Predicting the risk of extinction through hybridization. *Conserv. Biol.* 15:1039-1053.
- Zangerl AR, Berenbaum MR, Nitao JK. 1991.** Parthenocarpic fruits in wild parsnip: decoy defence against a specialist herbivore. *Evolutionary Ecology* 5:136-145.

*Avaliação de possível mimetismo floral ou de facilitação na polinização de
Oncidium warmingii Rchb.f (Orchidaceae).*

A sincronia do evento da floração, ou seja, florescer em conjunto com os coespecíficos eleva a disponibilidade de parceiros reprodutivos e a probabilidade de se reproduzir com sucesso, especialmente naquelas espécies autoincompatíveis, dioicas ou com sistemas sexuais polimórficos (Rocca & Sazima, 2006). No entanto, quando a sincronia de floração envolve espécies diferentes em uma comunidade, a eficiência da polinização pode diminuir quando as flores de diferentes espécies de plantas são visitadas pelas mesmas espécies de polinizadores em um curto intervalo de tempo, levando a um decréscimo da taxa de visitas às flores de cada espécie e aumentando a transferência de pólen heteroespecífico (Waser, 1978 a, b; Waser & Fugate, 1986; Fishbein & Venable, 1996). Nestes casos, a interação entre as espécies é competitiva, podendo levar a uma limitação na polinização e na produção de sementes na espécie competitivamente inferior (Kudo, 2006).

Diferente da competição, outro tipo de interação pode ocorrer quando espécies de plantas atraem mais polinizadores florescendo juntas do que separadas ou quando uma espécie competitivamente inferior realiza altas taxas de polinização pelo florescimento imediatamente depois de uma espécie mais atrativa, herdando polinizadores. São exemplos de facilitação e a afetividade da polinização depende tanto da fidelidade dos polinizadores compartilhados como também do pólen transportado em diferentes partes no corpo do polinizador, evitando polinização interespecífica (Kudo, 2006).

Paralelamente, tem sido sugerido que espécies com flores que não apresentam recursos, mas cujos atrativos florais convergem com os de outras espécies simpátricas com o mesmo período de floração, podem se beneficiar dessa semelhança, pela polinização por engano (Dafni, 1984; Kudo, 2006). Assim, a floração agregada de duas espécies pode ser vantajosa se a presença de uma espécie aumenta as taxas de visitação e de produção de sementes da outra (Ratche & Lacy, 1985). Cerca de 1/3 das espécies de Orchidaceae não disponibilizam recursos florais e exemplos de mimetismo floral acompanhado de polinização por engano são frequentes (Dressler, 1990; Endress, 1994; Roy & Widmer, 1999). Nestes casos, orquídeas parecem reduzir a desvantagem de não disponibilizarem recurso floral para seus polinizadores, assemelhando-se e explorando a imagem de outras plantas (modelos vegetais), principalmente associadas por seus

polinizadores a importantes fontes de recompensa (Dafni & Ivri, 1981; Johnson *et al.*, 2003; Peter & Johnson 2009). Nestes casos, a interação entre as espécies é conhecida como parasitismo de recurso (Kudo, 2006).

Muitas espécies da subtribo Oncidiinae neotropicais não oferecem recompensas florais a seus polinizadores (Chase *et al.*, 2009), e abelhas são atraídas para as flores através de um mecanismo de polinização por engano (*food deception*). Há evidências de que espécies de *Oncidium*, *Tolumnia* e de outros gêneros de Oncidiinae, cujas flores não disponibilizam óleo, sejam favorecidas pela proximidade e pela semelhança com flores de espécies de Malpighiaceae simpátricas, amplamente reconhecidas como ricas fontes de óleo floral (van der Cingel, 2001; Powell *et al.*, 2003; Carmona-Diaz & Garcia-Franco, 2009; Renner & Schaeffer, 2010; Vale *et al.*, 2011).

No entanto, para algumas espécies de Oncidiinae neotropicais, a confirmação da presença de elaióforos funcionais e da polinização por abelhas Apidae coletoras de óleo floral (Singer & Cocucci, 1999, Pansarin & Pansarin, 2008, 2010; Pansarin *et al.*, 2016; Capítulo 1), sugerem a hipótese de que espécies de Malpighiaceae e de Oncidiinae sincronopátricas nem sempre constituem complexos miméticos, podendo ambas integrarem uma guilda de flores-de-óleo (Singer, 2003; Torretta *et al.*, 2011). Nestes casos, quando as espécies são visitadas pelos mesmos polinizadores, a extensão da fidelidade dos polinizadores é um fator crucial para determinar a interação entre as duas espécies (Kudo, 2006).

No Parque Estadual do Ibitipoca, *Oncidium warmingii* Rchb.f. (Orchidaceae) e *Byrsonima variabilis* A. Juss. (Malpighiaceae) ocorrem juntas ao longo do Circuito Janela do Céu e apresentam períodos de floração sobrepostos. *Byrsonima variabilis* pode ser considerada um exemplo de sistema de polinização envolvendo uma flor de óleo. A espécie é autoincompatível e, portanto, dependente da visita de abelhas para que ocorra a polinização (Mothé, 2014). Por sua vez, *O.warmingii* também disponibiliza óleo como recurso floral para visitantes e polinizadores (Capítulo 1), sugerindo que estas duas espécies possam constituir um sistema em que uma espécie facilite a polinização da outra.

O presente capítulo teve como objetivo avaliar evidências de mimetismo floral ou de facilitação na polinização de *O. warmingii* através de *B. variabilis*. As seguintes questões nortearam o trabalho: Qual a extensão da sobreposição da floração das duas espécies? Há coincidência dos períodos de pico de floração? Ocorrem semelhanças entre os principais elementos atrativos visuais das flores? Componentes relacionados ao

odor floral são semelhantes? Ambas as flores são visitadas/polinizadas pelas mesmas abelhas? A proximidade entre indivíduos de *B. variabilis* e *O. warmingii* favorece o sucesso reprodutivo de ambas as espécies?

Área de Estudo

O estudo foi realizado em área de vegetação de campo rupestre, no Parque Estadual do Ibitipoca (PEIB), sudeste do Estado de Minas Gerais, Brasil, entre os municípios de Santa Rita de Ibitipoca e Lima Duarte (21°40' - 21°44'S e 43°52' - 43°55'W).

Fenologia da floração

A fenologia da floração foi acompanhada por um ano (2014), em 45 indivíduos de *B. variabilis* e 100 indivíduos de *O. warmingii*, dispostos em dez áreas, ao longo do “Circuito Janela do Céu”, abrangendo um gradiente de altitude de 1379 a 1620 m. Em cada área foram selecionados e marcados com o auxílio do GPS cinco indivíduos adultos de *B. variabilis* e 10 indivíduos de *O. warmingii*. Considerou-se como adulto todo indivíduo com evidências do estágio reprodutivo anterior (Antunes & Ribeiro, 1999).

Para análise dos dados fenológicos de floração e de frutificação, foram utilizados: 1) **o índice de atividade** (Bencke & Morellato, 2002), que quantifica a porcentagem de indivíduos da população que está manifestando determinado evento fenológico e também estima a sincronia do evento entre os indivíduos de uma população; 2) e **o índice de intensidade**, proposto por Fournier (1974 modificado), que utiliza uma escala semi-quantitativa, variando de 0 a 3 (ao invés de 0 a 4), onde: (0) – ausência de evento, (1) – entre 1 e 33% dos ramos da planta/ramos da inflorescência com flores (2) – entre 34 e 66% dos ramos da planta/ramos da inflorescência com flores e (3) – entre 67 e 100% dos ramos da planta/ramos da inflorescência com flores. Cada indivíduo foi avaliado mensalmente. O índice de intensidade (% Fournier) foi calculado mensalmente da seguinte maneira: somaram-se os valores da escala de Fournier obtidos para todos os indivíduos expressando uma determinada fenofase no mês e dividiu-se pelo valor máximo possível da referida escala (neste caso 3), multiplicado por N (número total de indivíduos amostrados). O valor obtido foi multiplicado por 100 e transformado em percentual, sendo utilizado para expressar, a cada mês, a intensidade de uma determinada fenofase (Fournier, 1974).

Morfologia e biologia florais

As flores de *B. variabilis* e de *O. warmingii* foram analisadas no campo e/ou coletadas para as seguintes observações: tipo de inflorescência, número de botões por inflorescência, horário de abertura das flores e período de antese (n=5 flores em 3 indivíduos = 15 flores), forma (*sensu* Faegri & van der Pijl, 1979), morfologia, cor, disponibilidade de óleo floral e localização dos elaióforos. As medidas das flores e estruturas florais (n=30 flores coletadas em 10 indivíduos) foram feitas com paquímetro digital, em microscópio estereoscópico, tomando-se como base, principalmente, as estruturas equivalentes em cores. As médias obtidas para estas estruturas foram comparadas através do teste *t* de Student, após análise da normalidade dos dados, no programa Microsoft Excel 2010.

A receptividade estigmática foi testada (n=12) através do método de atividade peroxidásica (Dafni, 1992). A disponibilidade de óleo foi observada através de leve pressão nos elaióforos e visualização do extravasamento de óleo (Costa, 2006).

A presença de odor foi inicialmente testada a partir da concentração de flores em vidros assépticos, para melhor percepção. A pesquisa de osmóforos foi feita a partir de flores em antese (n=15), mergulhadas em solução aquosa de vermelho neutro em diluição 1:1000 por 1 hora, em seguida, cuidadosamente lavadas em água destilada para registro das áreas coradas (Vogel, 1990; Dafni, 1992).

Visitantes Florais

O registro de visitantes florais foi realizado a partir de observações focais (Dafni *et al.*, 2005), ao longo do dia num total de 53 horas de observação para *B. variabilis* e 136 horas para *O. warmingii*. Os visitantes florais foram fotografados e coletas de um exemplar de cada visitante foram realizadas com auxílio de rede entomológica para a identificação dos mesmos.

De acordo com o comportamento durante o forrageio, os visitantes foram categorizados em polinizadores (quando entram em contato com as estruturas reprodutivas da flor) ou pilhadores (quando não entram em contato).

A identificação taxonômica dos visitantes florais foi realizada pelo especialista Doutor Felipe Rodrigo Vivallo Martínez do Departamento de Entomologia do Museu Nacional (UFRJ).

Experimento para verificar o tipo de interação

Para verificar a ocorrência de facilitação entre *O. warmingii* e *B. variabilis*, foram selecionadas e acompanhadas três áreas no “Circuito Janela do Céu”, entre as altitudes de 1540 a 1720m, contendo indivíduos das duas espécies em plena floração (novembro de 2015). Nestas áreas, 12 indivíduos de *B. variabilis* (Fig.1) e 45 de *O. warmingii* foram marcados e as distâncias entre cada indivíduo de *O. warmingii* e o de *B. variabilis* mais próximo foram medidas. Nos indivíduos *O. warmingii* foram marcadas 1042 flores no total para cada indivíduo de *B. variabilis* foram marcadas de 5 a 10 inflorescências, totalizando 677 flores. As flores foram acompanhadas até a formação de frutos ou senescência. Utilizou-se o teste de correlação de Spearman, no programa Statistica 8 (2005), com a finalidade de testar a significância da correlação entre razão fruto/flor e a distância entre os indivíduos das duas espécies.

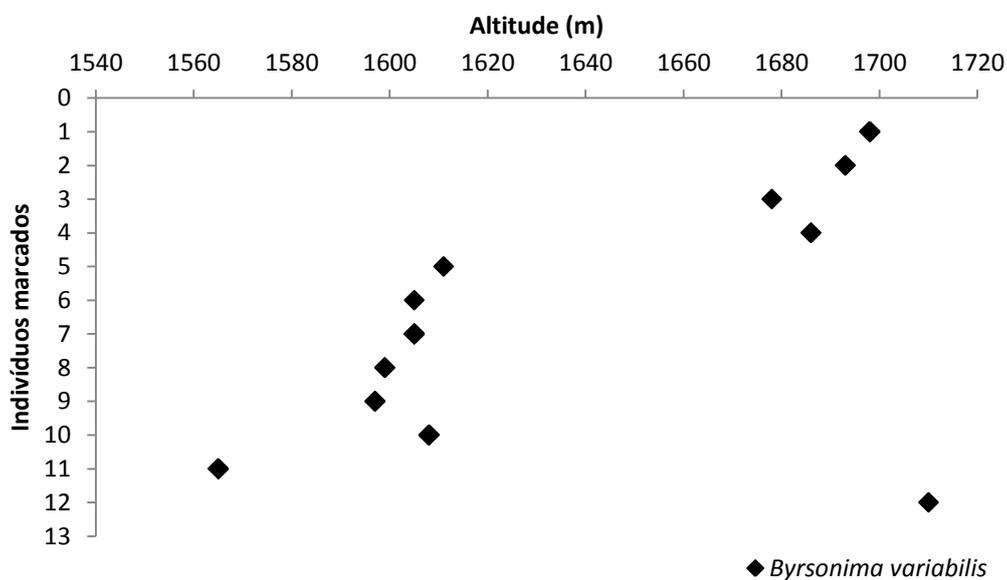


FIGURA 1: Localização das áreas onde foram aplicados os experimentos para testar facilitação entre *Byrsonima variabilis* Rich ex. Kunth (n=12) e *Oncidium warmingii* Rchb.f. (n=45 não marcados na figura): primeira área (indivíduos 1, 2, 3, 4), segunda área (indivíduos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11) e terceira área (indivíduo 12), no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Fenologia da floração

Nas dez áreas marcadas para acompanhamento da fenologia da floração, apenas em uma (área aberta, típica de campo rupestre, situada a 1586m de altitude) não houve coocorrência de *B. variabilis* com *O. warmingii* (Fig. 2).



FIGURA 2: Distribuição das dez áreas de *Oncidium warmingii* Rchb.f. ao longo do Circuito Janela do Céu. (Trilha do Cruzeiro), marcadores vermelhos = áreas simpátricas; marcador amarelo = não ocorrência de *B.variabilis* (A); Detalhe da área de não coocorrência de *O. warmingii* com *B. variabilis*(B); Detalhe de uma das áreas simpátricas (C). Parque Estadual do Ibitipoca, MG.

Byrsonima variabilis e *O. warmingii* apresentaram floração praticamente contínua (*sensu* Newstrom *et al.*, 1994) ao longo do ano de 2014. Os períodos com maiores índices de intensidade e atividade para *O. warmingii* ocorreram nos meses de janeiro a abril (pico de intensidade e atividade de floração em fevereiro) e de outubro a dezembro. Baixos índices foram registrados entre maio e setembro (Fig.2 A). *Byrsonima variabilis* floresceu mais intensamente de janeiro a maio e de outubro a dezembro (pico de intensidade em dezembro). Entre os meses de junho e setembro

foram registrados baixos índices, sendo agosto o único mês sem registro de flores nas áreas (Fig.2 B). De um modo geral, os percentuais de atividade foram sempre menores para *O.warmingii*.

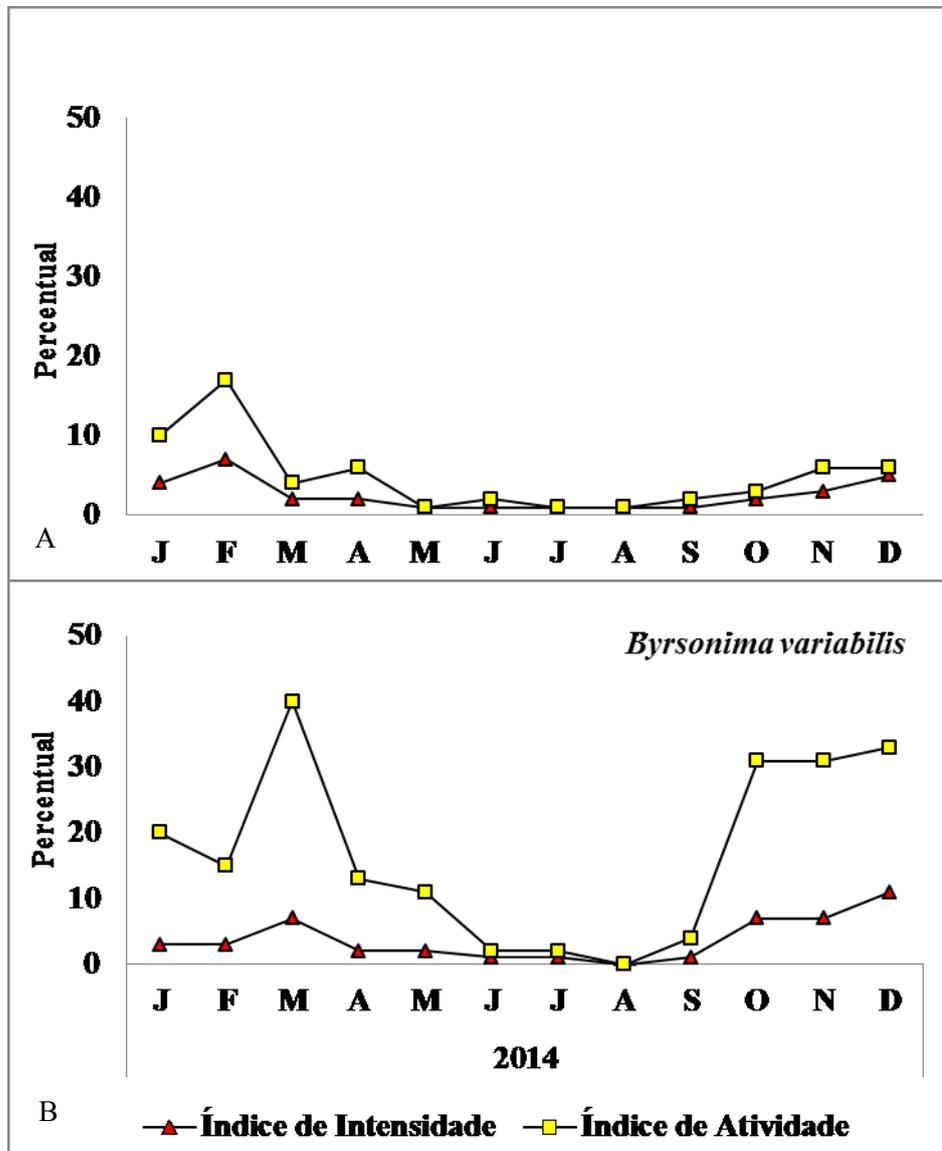


FIGURA 3: Índices de Intensidade e de Atividade da fenofase de floração de *Oncidium warmingii* Rchb.f. Williams e de *Byrsonima variabilis* A. Juss., espécies sincronopátricas no Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, no ano de 2014.

Morfologia e Biologia Floral

Byrsonima variabilis

Byrsonima variabilis apresenta hábito arbustivo. As flores são diurnas e hermafroditas, dispostas em inflorescências racemosas, eretas, terminais, com número variável de botões por inflorescência ($23,28 \pm 10,15$; $n=50$ inflorescências). As flores apresentam simetria bilateral, com comprimento médio de $11,02 \pm 1,76$ mm ($n=30$) e largura média de $10,12 \pm 1,13$ mm ($n=30$), pétalas brancas e uma pétala diferenciada (estandarte) de cor amarela. Possuem 10 elaióforos, um par por sépala; em alguns indivíduos esse número pode ser reduzido, devido à perda dos elaióforos da sépala oposta à pétala estandarte. O androceu é formado por 10 estames com, anteras rimosas, amarelas, e pólen pulverulento, com viabilidade média de $67\% \pm 33\%$ ($n= 20$ flores, 100 grãos de pólen por flor). O gineceu possui ovário súpero, tricarpelar, com um óvulo por lóculo e três estiletos, que se afinam da base para o ápice e terminam numa área estigmática diminuta, localizada acima das anteras. A antese das flores inicia-se geralmente pela manhã (aproximadamente 80%; $n=26$), entre 8h e 12h. Entretanto, foram vistos em menor frequência botões se abrindo no período da tarde (aproximadamente 20%, $n=26$). A abertura leva cerca de 30 minutos para que esteja completa. Ao final do período de antese, as flores permanecem na planta, mas observa-se mudança de coloração das pétalas, iniciando-se pela pétala estandarte, que passa de amarela para alaranjada, seguida pelas demais, que mudam de brancas para alaranjadas, caracterizando a pós-antese. Foi observada uma aparente relação entre o período de antese floral e a temperatura ambiente. Nos dias mais frios, as flores permanecem com a coloração das pétalas inalterada e estigma receptivo por pelo menos 48 horas. Já em dias mais quentes, em 24 horas as flores entram em processo de pós-antese, passando a apresentar coloração rosa alaranjada, anteras e elaióforos ressecados e estigmas não mais receptivos (Fig. 4 A, B, C).

Oncidium warmingii

Oncidium warmingii é uma erva de hábito terrestre ou rupícola. As flores são diurnas e hermafroditas, dispostas em inflorescências paniculadas laterais. As flores apresentam simetria bilateral, com comprimento médio de $15,60 \pm 1,60$ mm ($n=30$) e largura média de $10,72 \pm 1,09$ mm ($n=30$). O perianto exibe contraste de cores:

labelo, tri-lobado e reniforme, é de cor branca, com calo amarelo; os lobos laterais, subelípticos, são alvos e a coluna, curta e alada, sustenta uma tábula infrastigmática amarela, que apresenta guia de cor vinácea. O polinário apresenta um par de polínias amarelas, do tipo cartilaginosa, quase elípticas, unidas a um estipe longo e conectadas por um viscido pequeno. Podem ser observados botões se abrindo ao longo de todo dia, durante a abertura dos botões, a região estigmática já está receptiva (entrada da região estigmática recoberta por secreção). O período de antese das flores não visitadas estende-se por 10 a 25 dias. Entretanto quando as polínias são removidas, a longevidade diminui para 10 a 14 dias e, se a polínia é inserida, as asas da região estigmática fecham e a flor senesce dentro de 3 a 5 dias (Fig. 4 D, E, F).



FIGURA 4: *Byrsonima variabilis* Rich ex. Kunth. (A-C): Hábito (A); Detalhe da inflorescência com botões e flores (B); Detalhe das flores (C). *Oncidium warmingii* Rchb.f. (D-F): Hábito rupícola (D); Detalhe da inflorescência (E); Detalhe das flores (F). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Semelhança das estruturas de atração visual

As medidas referentes às estruturas florais de atração visual estão resumidas na Tabela 1. As estruturas de cor amarela (pétala estandarte de *B. variabilis* e calo do labelo de *O. warmingii*), quanto aquelas de cor branca (labelo de *O. warmingii* e pétala oposta à pétala estandarte de *B. variabilis*) apresentam áreas médias significativamente diferentes ($t=11,97$ e $t=14,84$, $p<0,05$, respectivamente). No entanto, as áreas amarelas ocupadas pelo conjunto de estames em *B. variabilis* e pelo calo do labelo em *O. warmingii* (Fig. 5 e Tab. 1) são equivalentes ($t= 1,71$, $p<0.05$).



FIGURA 5: Estruturas florais de atração visual: estruturas amarelas (círculo vermelho) e estruturas brancas (setas vermelhas); Indivíduo de *Byrsonima variabilis* Rich ex. Kunth(A); Indivíduo de *Oncidium warmingii* Rchb.f. (B); Detalhe das estruturas amarelas: *B.variabilis* - Pétala estandarte (seta azul) e conjunto de estames (seta verde) (C); *O.warmingii* - Tábula infrastigmática (seta azul) e calo (seta verde) (D). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

TABELA 1: Comparação entre as medidas das estruturas florais visualmente atrativas de *Byrsonima variabilis* Rich ex. Kunth. e *Oncidium warmingii* Rchb.f. (média em mm \pm desvio padrão; n=30); c= comprimento em mm; l= largura em mm; área em mm². Em cada coluna foram comparadas as médias obtidas através do Teste *t*, *p*<0,95. Letras diferentes na mesma coluna expressam médias significativamente diferentes.

Espécies	Flor		Estruturas brancas (Área)	Estruturas amarelas (Área)	
	c	l	Pétala oposta a Pétala estandarte	Pétala estandarte	Androceu
<i>B. variabilis</i>					
	11,02 \pm 1,76 ^a	10,12 \pm 1,13 ^a	16,77 \pm 4,43 ^a	4,24 \pm 0,74 ^c	3,29 \pm 0,44 ^d
<i>O. warmingii</i>					
	15,60 \pm 1,6 ^b	10,72 \pm 1,09 ^b	46,96 \pm 10,48 ^b	2,61 \pm 0,74 ^d	

Osmóforos

As flores de *B. variabilis* possuem odor floral muito suave, quase imperceptível ao olfato humano. No entanto, as flores submetidas ao teste com o vermelho neutro mostraram forte reação nos conectivos das anteras, tricomas da face dorsal (abaxial) das sépalas, além de uma leve reação nas unhas e bordas das pétalas e áreas isoladas próximas ao bordo da pétala estandarte. Em *O. warmingii*, o odor floral é também muito suave, embora todo o labelo, incluindo calo, tábula infrastigmática e asas da região estigmática, tenham reagido positivamente ao teste com o vermelho neutro (Fig. 6A, B).

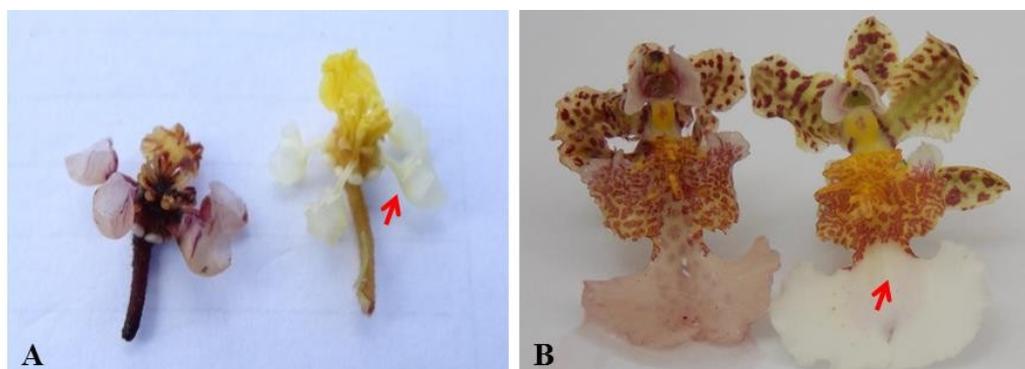


FIGURA 6: Flores evidenciando partes coradas com solução aquosa de vermelho neutro 1:1000: Flores de *Byrsonima variabilis* Rich ex. Kunth(A); Flores de *Oncidium warmingii* Rchb.f. . (B). (flores sem tratamento - controle). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Recurso floral - Elaióforos

Em *B. variabilis* o pólen e o óleo encontram-se disponíveis no início da antese e é possível observar gotículas de óleo nos elaióforos das flores (Fig.7 A). Em *O.warmingii* os elaióforos estão situados simetricamente na base dos dois lóbulos laterais adjacentes ao calo (Fig. 7B), mas o óleo floral não é tão facilmente observável a olho nu, mas sua presença pode ser confirmada no microscópio estereoscópico.

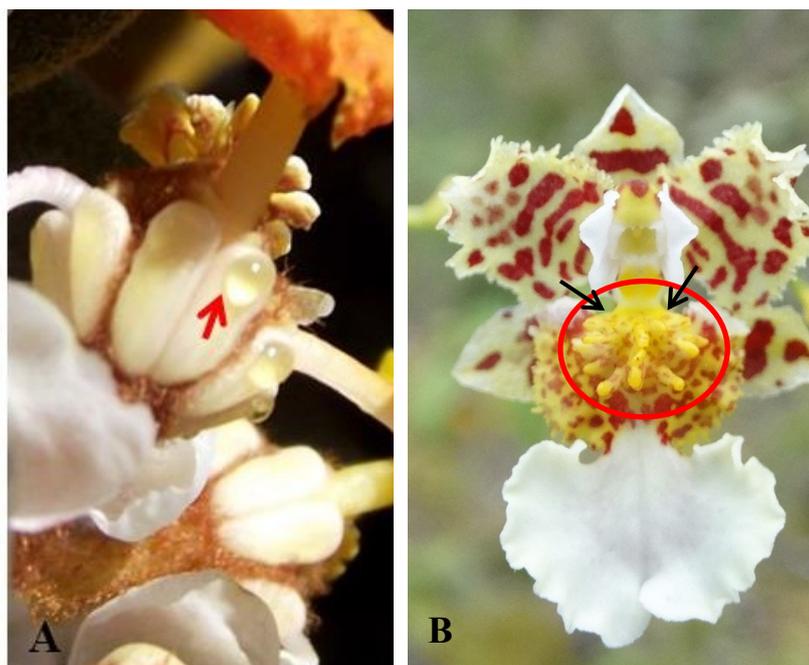


FIGURA 7: Flor de *Byrsonima variabilis* Rich ex. Kunth exibindo extravasamento de óleo pelos elaióforos (A); Flor de *Oncidium warmingii* Rchb.f., mostrando a posição dos elaióforos (B). Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

Visitantes Florais

Byrsonima variabilis

Os visitantes observados nas flores de *B. variabilis* estão relacionados na Tabela 2. *Centris* aff. *Confusa* Moure, 1960 (Fig. 8A) e *Centris varia* Erichson 1848 (Fig. 8B) foram consideradas as abelhas polinizadoras efetivas de *B. variabilis*. A primeira foi observada coletando apenas óleo, enquanto que a segunda coleta óleo e pólen. Na coleta de óleo estas abelhas abraçam a flor com a cabeça voltada para a pétala diferenciada e, com as pernas dianteiras e medianas posicionadas entre pétalas, raspam os elaióforos.

Durante a coleta, as abelhas tocam a parte ventral do tórax nos estigmas e nas anteras, simultaneamente.

Paratetrapedia lugubris Cresson 1878 foi considerada polinizadora ocasional de *B. variabilis*. A espécie foi vista coletando pólen (Fig. 8C) e também óleo, inclusive de botões em pré-antese (Fig. 8D), entre 8h e 15h, com maior número de visitas no início da tarde. Durante a coleta de pólen, *P. lugubris* pousa sobre as estruturas reprodutivas da flor e/ou sobre as pétalas e eventualmente podem polinizar as flores. No entanto, durante a coleta de óleo, estas abelhas visitam as flores por baixo, sem tocar nas estruturas reprodutivas, não sendo capazes de efetuar a polinização.

Tetragonisca angustula Latreille 1811 (Fig. 8E), *Paratrigona subnuda* Moure 1947 (Fig. 8F) e *Apis mellifera* Linnaeus 1758 (Fig. 8G) foram observadas coletando apenas pólen. Estas abelhas pousam sobre as flores e caminham sobre elas durante a coleta de pólen. Após a coleta, elas podem caminhar até outra flor da mesma inflorescência ou voar para outras inflorescências ou para outros indivíduos. *Paratrigona subnuda* realizou visitas entre 8h e 14h, compico entre 10h e 11h. *Tetragonisca angustula* realizou visitas entre 10h e 14h, sendo o visitante menos presente. Todas estas abelhas foram consideradas polinizadoras ocasionais, já que durante a coleta de pólen, a parte ventral de seus corpos e suas pernas entram em contato com as estruturas reprodutoras.

TABELA2: Espécies de Apidae visitantes das flores de *Byrsonima variabilis* Rich ex. Kunth. no Parque Estadual do Ibitipoca, MG.

Tribo	Recurso	Comportamento
Centridini		
<i>Centris</i> aff. <i>Confusa</i> Moure, 1960	óleo	polinizador efetivo
<i>Centris varia</i> Erichson 1848	óleo/pólen	polinizador efetivo
Tapinotaspidini		
<i>Paratetrapedia lugubris</i> Cresson 1878	óleo/pólen	polinizador ocasional
Meliponini		
<i>Paratrigona subnuda</i> Moure 1947	pólen	polinizador ocasional
Trigonini		
<i>Tetragonisca angustula</i> Latreille 1811	pólen	polinizador ocasional
Apini		
<i>Apis mellifera</i> Linnaeus 1758	pólen	polinizador ocasional



FIGURA8: Visitantes florais em *Byrsonima variabilis* Rich ex. Kunth: *Centris* aff. *confusa* coletando óleo (A); *Centris varia* coletando pólen (B); *Paratetrapedia lugubris* coletando pólen (C); *Paratetrapedia lugubris* coletando óleo de um botão (D); *Tetragonisca angustula* coletando pólen (E); *Paratrigona subnuda* coletando pólen (F); *Apis mellifera* coletando polén (G). Parque Estadual do Ibiitpoca, Minas Gerais.

Oncidium warmingii

Apesar do grande esforço de observação, nenhuma visita às flores de *O. warmingii* foi observada. A estimativa indireta das visitas, através da análise de flores com polínias removidas e inseridas, também apontaram uma baixa taxa de visitas, já que de 90 flores analisadas, 36,82% tinham polínias removidas e somente 0,96% tinham polínias inseridas (Capítulo 1).

Interação entre *B. variabilis* e *O. warmingii*

A análise das razões fruto/flor observadas nas plantas de *O. warmingii*, marcadas a diferentes distâncias de indivíduos de *B. variabilis*, mostraram que a proximidade com plantas de *B. variabilis* não está relacionada a um maior sucesso reprodutivo de *O. warmingii*, pelo contrário, quanto mais distantes de *B. variabilis* maior o sucesso reprodutivo de *O. warmingii* (Fig. 9A). Por outro lado, para *B. variabilis*, os dados apontam para uma correlação positiva entre proximidade com *O. warmingii* e razão fruto/flor (Fig. 9B).

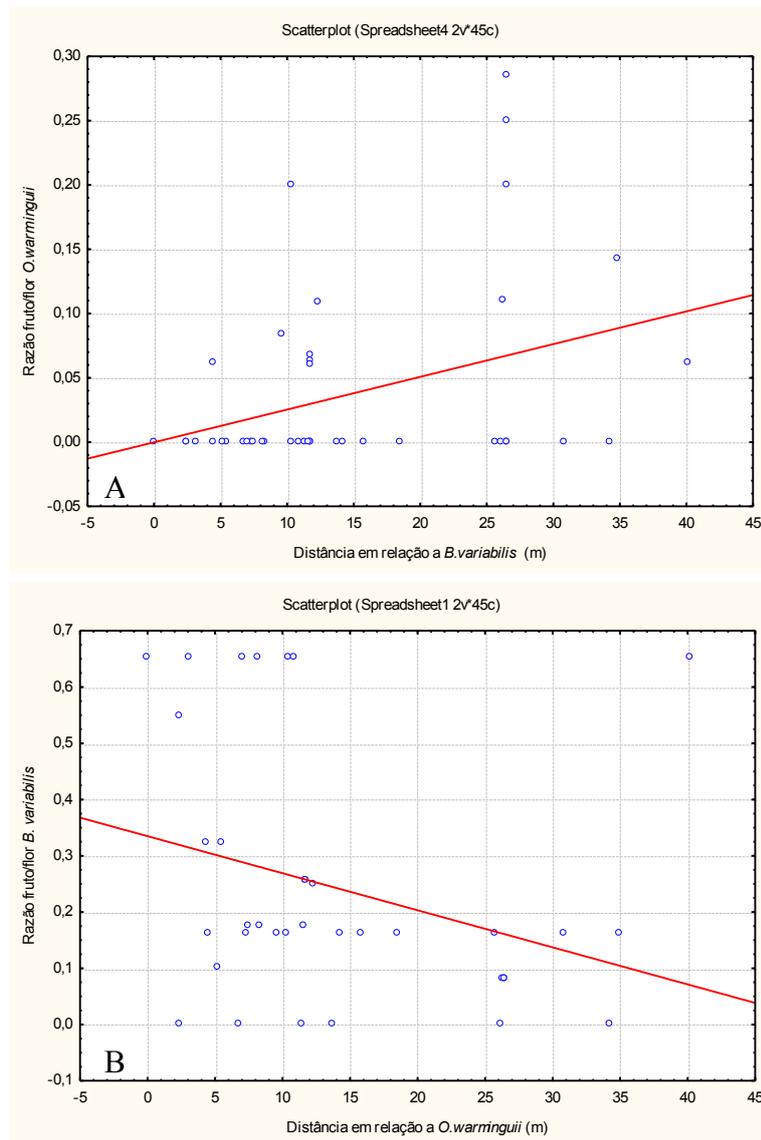


FIGURA 9: Diagramas de dispersão (A - B). Correlação positiva significativa ($r_s = -,3175$; $p < 0,05$) entre a distância de indivíduos de *Byrsonima variabilis* e a razão fruto/flor de *Oncidium warmingii* (A); Correlação negativa significativa ($r_s = 35288$; $p < 0,05$) entre a distância de indivíduos de *O. warmingii* e a razão fruto/flor de *B. variabilis* (B). Circuito Janela do Céu, Parque Estadual do Ibitipoca, Minas Gerais.

A semelhança com flores de óleo de Malpighiaceae é frequentemente sugerida como uma estratégia de polinização de muitas orquídeas da subtribo Oncidiinae (van der Pijl & Dodson, 1966; van der Cingel, 2001; Pemberton, 2008). No entanto, poucas vezes os resultados são suficientemente consistentes para comprovar que as semelhanças observadas são de fato adaptativas, ou seja, promovem um maior sucesso reprodutivo, caracterizando um mimetismo floral (Roy & Widmer, 1999). A hipótese de que *B. variabilis* e *O. warmingii* constituem um complexo mimético parece sustentável, a princípio, com base em algumas premissas assinaladas por Roy & Widmer (1999) para que este tipo de interação se estabeleça, a saber: distribuições geográficas superpostas, sobreposição dos períodos de floração, dependência de vetores bióticos de pólen e compartilhamento de polinizadores.

Byrsonima variabilis, endêmica do Brasil, ocorre nos estados da Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (Flora do Brasil, 2002 a) e *O. warmingii*, restrita aos neotrópicos, ocorre no Brasil nos estados da Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e possivelmente São Paulo (Flora do Brasil, 2002 b), ambas em vegetação do tipo campos rupestres e afloramentos rochosos, o que mostra que a distribuição geográfica das duas espécies é bastante coincidente. Ambas as espécies apresentaram floração contínua ao longo de praticamente todo o ano, embora com picos em meses subsequentes. Além disso, os indivíduos das duas espécies ocorrem muitas vezes lado a lado na área de estudo, distribuindo-se ao longo de todo o Circuito Janela do Céu, entre altitudes de 1300m até 1700m acima do mar.

As flores de *B. variabilis* e de *O. warmingii* apresentam semelhanças superficiais como a antese diurna, a simetria bilateral, a oferta de óleo floral como recurso, a localização dos elaióforos aos pares, em áreas análogas (nos lobos laterais do labelo, em *O. warmingii* e nas sépalas, em *B. variabilis*) e a semelhança entre o calo do labelo, em *O. warmingii*, e o conjunto de estames, em *B. variabilis*, tanto pela cor como pela área ocupada, também contribuem para que, possivelmente, as flores das duas espécies sejam confundidas pelos prováveis polinizadores. Outros autores também registraram semelhanças entre o calo central do labelo de espécies de *Gomesa* e de *Tolumnia* com o conjunto de estames de espécies de Malpighiaceae (*Banisteriopsis*, *Stigmaphyllone*, *Peixotoa*) simpátricas (Pansarin, 2016; Vale *et al.*, 2011).

Embora não tenhamos registrado visitas às flores de *O. warmingii*, a oferta de óleo como recurso floral, permite enquadrá-la, juntamente com *B. variabilis*, na síndrome de polinização por abelhas fêmeas solitárias, das tribos *Centridini*, *Tapinotaspidini* e *Tetrapediini*, as quais rompem os elaióforos por meio de fricção de estruturas especializadas presentes em suas pernas anteriores e medianas (Barros, 1992; Neff & Simpson, 2005; Costa *et al.*, 2006; Pansarin & Pansarin, 2010; Vale *et al.*, 2011). Estas abelhas também coletam grande quantidade de pólen das flores que, misturado ao óleo, serve como alimento para as larvas (Schlindwein *et al.*, 2005), comportamento que não é possível nas flores de *O. warmingii*, em função da aglomeração dos grãos de pólen em polínias, tornando-os indisponíveis como recurso (Pemberton, 2010).

No caso de *B. variabilis*, *Centris* aff. *confusa*, *C. varia* e *Paratetrapedia lugubris* foram observadas coletando óleo floral. Visitas às flores de Oncidiinae polinizadas por abelhas coletoras de óleo são frequentemente referidas como raras (Tremblay *et al.*, 2005; Torretta *et al.*, 2011), o que pode justificar a falta de sucesso nas observações focais de *O. warmingii*. No entanto, as duas espécies dependem de visitantes florais para a produção de sementes, uma vez que são autoincompatíveis (São Leão, Capítulo 1 deste trabalho para *O. warmingii*; Mothé, 2014 para *B. variabilis*). A associação entre abelhas dos gêneros *Centris*, *Paratetrapedia* e *Tetrapedia* e algumas orquídeas da subtribo Oncidiinae é reconhecidamente importante no Neotrópico (Pemberton, 2010) e foi diversas vezes registrada (Singer & Cocucci, 1999; Silveira, 2002; Pansarin & Pansarin, 2010; Renner & Schaefer, 2010; Torretta *et al.* 2011). Assim, considerando ainda a especificidade da polinização de flores de óleo e a floração superposta das espécies estudadas, é razoável pensar que elas compartilhem polinizadores na área de estudos.

Nos casos descritos e confirmados de mimetismo floral entre Oncidiinae e Malpighiaceae, as primeiras não disponibilizam recurso óleo para as abelhas, de modo que as visitas às flores das orquídeas ocorrem por engano (*food deception*), destacando-se os seguintes sistemas: *Tolumnia guibertiana* (A.Rich.) Braem e *Stigmaphyllon diversifolium* (Kunth) A. Juss., ambas polinizadas por *Centris poecila* (Vale *et al.* 2011); e *Trichocentrum luridum* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams (citada como *Oncidium cosymbephorum*) e *Malpighia glabra* L., ambas polinizadas por *C. ruthannae* (Carmona-Diaz & Garcia-Franco, 2009), estudos nos quais fica demonstrado que a semelhança entre as espécies (mímico e modelo) é importante para o sucesso reprodutivo, caracterizando um mimetismo Batesiano (Roy & Widmer, 1999).

Se considerarmos que o mimetismo floral Batesiano prevê que a seleção favoreça a semelhança entre um mímico sem recursos disponíveis e um modelo altamente recompensante (Roy & Widmer, 1999), a presença de elaióforos funcionais em *O. warmingii* poderia afastar a hipótese de mimetismo Batesiano. No entanto, no caso do sistema aqui estudado, a quantidade de óleo floral disponibilizado é muito maior em *B. variabilis* do que em *O. warmingii*, seja pelo maior número de inflorescências e de flores, muito agregadas e com maior *display* floral, pelo número maior de elaióforos por flor e pela maior quantidade de óleo por elaióforo. Assim, embora apresente elaióforos funcionais, *O. warmingii* poderia ser considerada um engodo alimentar, quando comparada à *B. variabilis*. Na área de estudo, *B. variabilis* representa o principal recurso alimentar (destinado à prole) para os polinizadores envolvidos, os quais foram frequentemente registrados nas flores de *B. variabilis*, mas não nas flores de *O. warmingii*.

A despeito de todos os pontos até aqui discutidos, o fato de *O. warmingii* ter o seu sucesso reprodutivo aumentado à medida que está mais distante de *B. variabilis* aponta para uma tendência de competição entre elas, sendo *B. variabilis* a espécie competitivamente superior. No entanto, *B. variabilis* parece se beneficiar da proximidade com *O. warmingii*, sugerindo que *O. warmingii* contribui para a atração das abelhas visitantes, embora a curta distância estas mostrem preferência pelas flores de *B. variabilis*. A fidelidade às flores da espécie de Malpighiaceae está provavelmente relacionada à maior quantidade de óleo disponível, que favorece a relação custo/benefício do forrageio nas flores de *B. variabilis* e causa limitação polínica na produção de frutos e sementes de *O. warmingii*, corroborando a hipótese de uma interação competitiva por polinizadores entre as espécies estudadas.

Não foram encontradas evidências de competição decorrente de polinização interespecífica. Nas flores de *B. variabilis* a polinização é do tipo esternotribica (Mothé, 2014) e, apesar de não terem sido observadas visitas em *O. warmingii*, é provável que nesta espécie ocorra deposição da polínia na parte anterior dorsal do corpo das abelhas visitantes.

Nossos resultados não sustentam a hipótese de que *B. variabilis* e *O. warmingii* constituem um complexo mimético, já que *O. warmingii* não se beneficia da proximidade, da cofloração, nem da semelhança com *B. variabilis*. Os resultados sugerem que as duas espécies fazem parte de um grupo de espécies polinizadas por abelhas coletoras de óleo e que as semelhanças superficiais observadas estão,

provavelmente, mais relacionadas a esta síndrome de polinização do que a uma síndrome de polinização por engodo alimentar (*food deception*), reforçando a ideia de que a polinização por engano é mais uma exceção do que uma regra em Oncidiinae (Torreta *et al.*, 2011; Reis *et al.*, 2007).

- Barros MAG. 1992.** Fenologia da floração, estratégias reprodutivas e polinização de espécies simpátricas do gênero *Byrsonima* Rich (Malpighiaceae). *Revista Brasileira de Biologia* **52**:343-353.
- Bencke CSC, Morellato LPC. 2002.** Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de plantas, sua interpretação e representação. *Revista Brasileira de Botânica* **25**(3): 269-275.
- Carmona-Diaz G, Garcia-Franco JG. 2009.** Reproductive success in the Mexican rewardless *Oncidium cosymbephorum* (Orchidaceae) facilitated by the oil-rewarding *Malpigia glabra* (Malpighiaceae). *Plant Ecology***203**: 253-261.
- Chase MW, Williams NH, Faria AD, Neubig KM, Amaral MCE, Whitten WM. 2009.** Floral convergence in Oncidiinae (Cymbidieae; Orchidaceae): an expanded concept of *Gomesa* and a new genus *Nohawilliamsia*. *Annals of Botany* **104**: 387-402.
- Costa CBN, Costa JAS, Ramalho M. 2006.** Biologia reprodutiva de espécies simpátricas de Malpighiaceae em dunas costeiras da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **29**: 103-114.
- Dafni A, Ivri Y. 1981.** Floral mimicry between *Orchis israelítica* (Bauhmann and Dafni) (Orchidaceae) and *Bellewelia flexuosa* Boiss. (Liliaceae). *Oecologia***49**: 229-240.
- Dafni A. 1984.** Mimicry and deception in pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics***15**:259-2178.
- Dafni A. 1992.** Breeding systems. In: *Pollination ecology – A practical approach*. New York, Oxford University Press, p.25-58.
- Dafni A, Kevan PG, Husband BC. 2005.** *Practical Pollination Biology*. Cambridge, Ontario, Canadá. 590p.
- Dressler RL. 1990.** *The Orchids, Natural History and Classification*. Harvard University Press. Harvard, 314p.
- Endress PK. 1994.** Cambridge tropical biology series: Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge.
- Faegri G, van der Pijl L. 1979.** *The Principles of Pollination Ecology*. Third Revised Edition. Pergamon Press. London, 254p.

- Fishbein M. Venable DL. 1996.** Diversity And Temporal Change In The Effective Pollinators Of *Asclepias Tuberosa*. *Ecology*, 77(4): 1061-1073.
- Fournier LA. 1974.** Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24: 422-423.
- Johnson SD, Peter CI, Nilsson LA, Ágren J. 2003.** Pollination success in a deceptive orchid is enhanced by co-occurring rewarding magnet plants. *Ecology* 84: 2919-2917.
- Kudo G. 2006.** Flowering phenologies of animal-pollinated plants: reproductive strategies and agents of selection. In: Harder LD, Barret SCH (eds.). *Ecology and evolution of flowers*. Oxford, UK: Oxford University Press, 139-158.
- Mothé-A A. 2014.** Estudos Reprodutivos em *Byrsonima Variabilis* Rich Ex. Kunth (Malpighiaceae) com ênfase Na Avaliação De Possível Facilitação Na Polinização De *Oncidium Warmingii* Rchb.F. (Orchidaceae).
- Neff JL, Simpson BB. 2005.** Other rewards; oils, resins, and guns, pp. 314-328. In: Dafni, A., Keavan, P. G., Husband, B. C. (eds). **Practical pollination biology**. 1 ed., chapter 7. Cambridge, Enviroquest Ltd, 590p
- Newstrom LE, Frankie GW, Baker HG. 1994.** A new classification for phenology based on flowering patters in Lowland Tropical Rain Forest trees at La Selva. *Biotropica* 26: 141-159.
- Pansarin ER, Amaral MCE. 2008.** Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization? *Plant Biology*. 10 (2): 211–219
- Pansarin ER, Pansarin LM. 2010.** Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated by oil-collecting bees. *Plant Biology* 13 (2011):576-581.
- Pansarin ER. Alves-dos-Santos I. Pansarin LM. 2016.** Comparative reproductive biology and pollinator specificity among sympatric *Gomesa* (Orchidaceae: Oncidiinae). *Plant Biology*. novembro.
- Pemberton R W. 2008.** Pollination of The Ornamental Orchid *Oncidium sphacelatum* By the Naturalized Oil-Collecting Bee (*Centris nitida*) in Florida. *Selbyana* Vol. 29, No. 1, Orchid Pollinaria pp. 87-91.
- Pemberton R W. 2010.** Biotic Resource Needs of Specialist Orchid Pollinators. *Bot. Rev.* 76:275–292.

- Peter CI, Johnson SD. 2009.** Reproductive biology of *Acrolophia cochlearis* (Orchidaceae): estimating rates of cross-pollination in epidendroid orchids. *Annals of Botany* **104**: 573-581.
- Powell MP, Pupulin F, Warner J, Chase MW, Savolainen V. 2003.** Floral mimicry in Oncidoid orchids. *Lankesteriana* **7**: 109-110.
- Rathcke B, Lacey EP 1985.** Phenological Patterns of Terrestrial Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**:179-214.
- Reis MG, Faria AD, Alves dos Santos I, Amaral MCE, Marsaioli AJ. (2007).** Byrsonic acid – the clue to floral mimicry involving oil-producing flowers and oil-collecting bees. *Journal of Chemical Ecology* **33**:1421-1429.
- Renner SS, Schaeffer H. 2010.** The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phlogenies for angiosperms and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **365**: 423-435.
- Rocca MA, Sazima M. 2006.** The dioecious, sphingophilous species *Citharexylum myrianthum* (Verbenaceae): Pollination and visitor diversity. *Flora* **201**: 440-450.
- Roy BA, Widmer A. 1999.** Floral mimicry: a fascinating yet poorly understood phenomenon. *Trends in Plant Science* **4(8)**: 325-330.
- Schlindwein C, Wittmann D, Martins CF, Hamm A, Siqueira J A, Schiffler D, Machado IC. 2005.** Pollination of *Campanula rapunculus* L. (Campanulaceae): How much pollen flows into pollination and into reproduction of oligolectic pollinators? *Plant Systematics and Evolution*. **250**: 147–156.
- Silvera KL. 2002.** Adaptive radiation of oil-reward compounds among Neotropical orchid species (Oncidiinae). MSc. Thesis, University of Florida.
- Singer RB, Cocucci AA. 1999.** Pollination mechanisms in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* **14**: 47-56
- Singer RB. 2003.** Orchid Pollination: Recent developments from Brazil. *Lankesteriana* **7**:111-114.
- Torreta JP, Gomiz NE, Aliscioni SS, Bello ME. 2011.** Biología Reprodutiva de *Gomesa bifolia* (Orchidaceae, Cymbidieae, Oncidiinae). *Darwiniana* **49**: 16-24.
- Tremblay RL, Ackerman JD, Zimmerman JK, Calvo RN. 2005.** Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of Linnean Society* **84**: 1-54

- Vale A, Navarro L, Rojas D, Álvarez JC. 2011.** Breeding system and pollination by mimicry of the orchid *Tolumnia guibertiana* in Western Cuba. *Plant Species Biol.* 26, 163–173
- van der Cingel NA. 2001.** An atlas of orchid pollination: America, Africa, Asia and Australia. 1 ed. Rotterdam, Netherlands, A. A. Balkema, 260p.
- van der Pijl L, Dodson CH. 1966.** Orchid flowers: their pollination and evolution. University of Miami Press, Coral Gables. 214p
- Vogel S. 1990.** The role of scent glands in pollination: On the structure and function of osmophores. New Delhi: Amerind xvi, 202p. il. Smithsonian Institution Libraries.
- Waser NM. 1978 a.** Competition for hummingbird pollination and sequential flowering in two Colorado wildflowers. *Ecology* 59: 934-944
- Waser NM. 1978 b.** Interspecific pollen transfer and competition between co-occurring plant species. *Oecologia (Berlin)* 36: 223-236
- Waser NM, Fugate ML. 1986.** Pollen precedence and stigma closure: a mechanism of competition for pollination between *Delphinium nelsonii* and *Ipomopsis aggregate*. *Oecologia (Berlin)* 70:573-577.

Em relação às principais questões que nortearam o estudo, chegamos às seguintes conclusões:

1 - As espécies de *Oncidiinae* do Parque Estadual do Ibitipoca apresentam um sistema de polinização do tipo flor de óleo, dependendo da visita de abelhas coletoras de óleo para a produção de frutos? As cinco espécies florescem anualmente, havendo períodos de sobreposição?

As cinco espécies de *Oncidiinae* estudadas diferiram com relação aos padrões de floração na área do Parque Estadual do Ibitipoca. *Gomesawarmingii* e *Oncidium batemannianum* exibiram um padrão contínuo, com tendência de pico no período mais quente e úmido do ano, enquanto que as demais espécies exibiram um padrão anual: *Nohawilliamsia pirarensis*, com floração longa durante toda a estação mais quente e úmida do ano, ao passo que *G. hookeri* e *G. gravesiana*, com floração curta na transição da estação mais quente e úmida para a mais fria e seca.

As análises anatômicas confirmaram a secreção de óleo como recurso floral nas cinco espécies estudadas. Embora nossos resultados tenham apontado limbo do labelo, calo do labelo e lobos laterais adjacentes ao calo como regiões secretoras de óleo, consideramos que o limbo do labelo diferencia-se estrutural e funcionalmente do calo do labelo e dos lobos laterais adjacentes ao calo, o primeiro sendo osmóforo e os dois últimos, elaióforos.

As cinco espécies de *Oncidiinae* estudadas disponibilizam substâncias lipofílicas como recurso floral e dependem de vetores bióticos para a produção de frutos e sementes, já que não são autogâmicas, sugerindo assim um sistema de polinização especializado, envolvendo abelhas coletoras de óleo.

2. Ocorrem mecanismos que impedem ou dificultam cruzamentos entre as espécies *Gomesa warmingii* e *Oncidium batemannianum*?

A ocorrência de períodos de floração sobrepostos ao longo de grande parte do ano, mas com picos de intensidade em diferentes meses sugerem que a fenologia

reprodutiva de *G. warmingii* e de *O. batemmannianum* pode constituir uma fraca barreira pré-polinização, já que períodos de floração, ainda que moderadamente separados, podem reduzir consideravelmente as polinizações interespecíficas, constituindo um possível mecanismo de isolamento temporal entre as espécies estudadas.

Nossos resultados apontam para a não ocorrência de híbridos entre as mesmas, com base nos experimentos de polinização interespecífica: a produção de frutos ocorreu, inicialmente, de forma unidirecional, isto é, frutos são formados somente quando pólen de *G. warmingii* (parental masculino, doador de pólen) é transferido para flores de *O. batemmannianum* (parental feminino, receptor de pólen).

Ressalta-se que a polinização intergenérica usando *O. batemmannianum* como parental feminino e *O. warmingii* como doadora de polínia mostrou o desenvolvimento de tubos polínicos, diferentemente da polinização reversa. No entanto, frutos não continham sementes férteis..

Assim, confirmamos a importância de barreiras pós-polinização para a manutenção da integridade das espécies estudadas. Sugerimos que as barreiras pós-polinização, que excluem a formação de híbridos e preservam a integridade das espécies em estudo, são mantidas por uma forte seleção contra a hibridização, em face da simpatria, da floração sincrônica e do mesmo sistema de polinização observados na área de estudo.

3. *Gomesa warmingii* e *Byrsonima variabilis* estão relacionadas a um complexo mimético ou facilitação?

As flores de *Byrsonima variabilis* e de *Gomesa warmingii* apresentam semelhanças superficiais como a antese diurna, a simetria bilateral, a oferta de óleo floral como recurso, a localização dos elaióforos aos pares, em áreas análogas (nos lobos laterais do labelo, em *G. warmingii* e nas sépalas, em *B. variabilis*) e a semelhança entre o calo do labelo, em *G. warmingii*, e o conjunto de estames, em *B. variabilis*, tanto pela cor como pela área ocupada, também contribuem para que, possivelmente, as flores das duas espécies sejam confundidas pelos prováveis polinizadores.

Gomesa warmingii tem o seu sucesso reprodutivo aumentado à medida que está mais distante de *B. variabilis* apontando para uma tendência de competição entre elas, sendo *B. variabilis* a espécie competitivamente superior. No entanto, *B. variabilis* parece

se beneficiar da proximidade com *G. warmingii*, sugerindo que *G. warmingii* contribui para a atração das abelhas visitantes, embora a curta distância estas mostrem preferência pelas flores de *B. variabilis*. A fidelidade às flores da espécie de Malpighiaceae está provavelmente relacionada à maior quantidade de óleo disponível, que favorece a relação custo/benefício do forrageio nas flores de *B. variabilis* e causa limitação polínica na produção de frutos e sementes de *G. warmingii*, corroborando a hipótese de uma interação competitiva por polinizadores entre as espécies estudadas. .

Nossos resultados não sustentam a hipótese de que *B. variabilis* e *G. warmingii* constituem um complexo mimético, já que *G. warmingii* não se beneficia da proximidade, da cofloração, nem da semelhança com *B. variabilis*. Os resultados sugerem que as duas espécies fazem parte de um grupo de espécies polinizadas por abelhas coletoras de óleo e que as semelhanças superficiais observadas estão, provavelmente, mais relacionadas a esta síndrome de polinização do que a uma síndrome de polinização por engodo alimentar (*food deception*), reforçando a ideia de que a polinização por engano é mais uma exceção do que uma regra em Oncidiinae.