

JOSÉ FARIAS DOS SANTOS FILHO

**POLINIZAÇÃO E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE TRÊS ESPÉCIES
DO GÊNERO *Acianthera* Scheidw. (ORCHIDACEAE) EM FLORESTA
OMBRÓFILA MISTA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia e Conservação, Curso de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof. Dra. Isabela Galarda
Varassin

CURITIBA

2007

Agradecimentos

Agradeço a todas as pessoas que não só durante estes dois anos me ajudaram de uma forma direta ou indireta na realização deste trabalho, mas desde um processo que se começou na época de graduação e veio refletir neste momento. Facilmente cometerei a injustiça de esquecer alguém, minha memória sempre me prega peças, mas estas pessoas, assim como as citadas aqui, têm o reconhecimento delas guardadas comigo e, serão lembradas em várias ocasiões da minha vida.

Começando, agradeço a minha orientadora, Professora Dra Isabela Galarda Varassin, pela confiança depositada em mim, um farmacêutico perdido no que queria fazer da vida, e que gostava de Biologia. Gostaria de agradecer a ela, por todos os auxílios que me deu, sempre que eu precisei, na forma de conselhos, tardes na frente do microscópio de epifluorescência e, muitas vezes, na forma de artigos, que sempre tiraram as minhas dúvidas, me deram segurança e novas idéias. Grande parte deste trabalho eu devo a ela.

Com muito carinho agradeço ao Professor Dr. Sílvio Sanchez Veiga pelos conselhos, pelas oportunidades e pela amizade. Gostaria de agradecer a paciência e a didática do Professor Dr. Marcelo Aranha em todas as vezes que fui tirar minhas dúvidas de Ecologia básica, desta forma, devo a ele, minha passagem na seleção de mestrado.

Ao Professor Dr. Albino Sakakibara pela paciência dispensada e pelas ótimas fotos dos insetos. Não poderia esquecer a simpatia contagiante e o carinho da Professora Dra. Danúncia Urban que gentilmente me cedeu sua lupa e a máquina fotográfica para fazer o registro fotográfico dos insetos.

Ao Diretor do Departamento de zoológicos de Curitiba, Marcos Elias Traad por permitir que eu fizesse minhas observações focais no bosque do zoológico. Aos funcionários

do Zoológico: Álvaro, “Batatinha”, “Tamandaré” e tantos outros que mostraram curiosidade pelo meu trabalho e se tornaram grandes amigos.

À professora Dra. Luciane Marinoni e ao Professor Dr. Cláudio José Barros de Carvalho pela identificação de Diptera.

Ao Professor Dr. Dalton Amorin (Universidade de São Paulo) pela identificação do material de Sciaridae. Ao Professor Dr. Ângelo Pires do Prado (Dep. Parasitologia, UNICAMP) pela identificação do material de Phoridae. À Maria Luiza Bauer (Instituto Oswaldo Cruz) pela identificação do material de Ceratopogonidae, e ao Professor Dr. Carlos Roberto Ferreira Brandão (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo) pela identificação do material de Formicidae.

Aos membros da pré-banca (Professor Dr. Eduardo Borba e Professor Dr. Leandro Freitas) pelas ótimas sugestões para melhorar a dissertação.

Agradeço as minhas mães e ao meu pai, por sempre me apoiarem nos caminhos que decido trilhar.

Sou muito grato a Jorge Bizarro e Thiago Bevilaqua pela ajuda em preparar as figuras, e aos “irmãos” Jean Vitulle, Luciano Wolff e Ricardo de Campo Leinig pelas palavras de apoio e a grande amizade.

Agradeço aos companheiros de turma (Luciano, Fábio, Kaká, César, Renato, Germinal, Rodrigo, as “Aninhas”, Carlos, André, Bianca, Cássio, Marja, Renato), assim como o Antônio, pelos grandes momentos e pela amizade adquirida no decorrer do curso, que sem dúvida, será duradoura.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....	V
Resumo.....	1
Métodos.....	5
<i>Área de estudo e espécies estudadas</i>	5
<i>Biologia floral e polinização</i>	6
<i>Biologia reprodutiva</i>	7
Resultados.....	8
<i>Morfologia floral, antese e produção de odores</i>	8
<i>Visitantes florais</i>	14
<i>Biologia reprodutiva e taxa de frutificação</i>	19
Referências Bibliográficas.....	28

Anexos

Instrução aos autores – Plant Biology

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

- Figura 1:** Período de floração de *A. aveniformis* (**Aa**), *A. hygrophila* (**Ah**) e *A. sonderana* (**As**), com as variações de temperatura média mensal (linha contínua) e precipitação mensal (linha pontilhada) do período de julho de 2005 a julho de 2006. Dados climatológicos de julho de 2005 a julho de 2006 do Simepar-PR..... **6**
- Figura 2:** Indivíduos em floração de **(a)** *A. aveniformis*. **(b)** *A. hygrophila*. **(c)** *A. sonderana*. Escalas: 10mm..... **11**
- Figura 3:** Vista lateral das flores de **(a)** *A. aveniformis*; **(b)** *A. hygrophila*; **(c)** *A. sonderana*. Esquerda: flores com todas as peças do perianto. Direita: **(a)** flor com sépalas laterais, sépala distal e pétalas laterais retiradas; **(b, c)** flores com uma sépala lateral e uma pétala lateral retiradas. Escala: 1mm **12**
- Figura 4:** Eletromicrografias **(a)** da região de inserção entre o labelo e a coluna de *A. hygrophila* (seta pequena: calo da base do labelo, seta grande: região com tricomas no pé da coluna); **(b)** do labelo de *A. sonderana* (seta: região central do labelo com superfície diferenciada rica em tricomas). Escalas: 100µm..... **13**
- Figura 5:** Polinizadores das espécies de *Acianthera* estudadas: **(a)**: *Bradysia* sp.1 (Sciaridae); com polinário de *A. aveniformis*. **(b)**: *Zygoneura* sp. (Sciaridae); polinizador mais frequente de *A. hygrophila*. **(c)**: *Atrichopogon* sp. (Ceratopogonidae); com polinário de *A. hygrophila*. **(d)**: *Megaselia* sp. (Phoridae) com polinário de *A. sonderana* **(e)** *Conicera* sp. (Phoridae); com polinário de *A. sonderana*. Escala: 0,5mm..... **18**
- Figura 6:** Acompanhamento dos frutos formados no tratamento de polinização cruzada (20 flores) em *A. aveniformis*, *A. hygrophila* e *A. sonderana*. **(frutos)**: Frutos formados no tratamento de polinização cruzada; **(herb)**: Frutos perdidos por herbivoria; **(ene)**: frutos enegrecidos e abortados sem ser identificada a causa **(desc)**: frutos perdidos sem ser observada a causa; **(sem)**: Frutos que liberaram sementes. **19**
- Figura 7:** Crescimento dos tubos polínicos em *A. sonderana* 15 dias após a polinização **(a, b)** e em flores abortadas de *A. aveniformis* **(c,d)**. **(a,c)** Autopolinização manual. **(b,d)** Polinização cruzada. Observe crescimento menor dos tubos polínicos em **(a)** e malformações nos tubos polínicos em **(c)**. Escala: 0,5mm. **21**
- Tabela 1:** Percentual de formação de frutos em *A. aveniformis*, *A. hygrophila* e *A. sonderana* em polinizações experimentais e em condições naturais. **19**

Resumo

A polinização e a biologia reprodutiva de *Acianthera aveniformis* (Hoehne) C.N.Gonç. & Waechter, *A. hygrophila* (Barb.Rodr.) Pridgeon & M.W.Chase. e *A. sonderana* (Rchb.f.) Pridgeon & M.W.Chase, foram estudadas em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista, Curitiba, Paraná, Brasil. *Acianthera aveniformis* e *A. sonderana* possuem a articulação do labelo e a base da coluna formando um ângulo aproximado de 45°, enquanto que em *A. hygrophila* este ângulo é de aproximadamente 90°. As três espécies produzem odores e recompensas florais, e foram polinizadas por espécies de Diptera. Em *A. aveniformis*, foi registrado *Bradysia* sp (Sciaridae). Em *A. hygrophila* foram registrados *Zygoneura* sp. (Sciaridae) e *Atrichopogon* sp. (Ceratopogonidae), enquanto que em *A. sonderana* a polinização foi realizada por *Megaselia* sp e *Conicera* sp. (Phoridae). As três espécies foram auto-incompatíveis. Em *A. sonderana* os tubos polínicos dos testes de autopolinizações cresceram mais lentamente que os de polinização cruzada, e em *A. aveniformis* foi observado malformações com aumento de deposição de calose dos tubos polínicos em flores de tratamentos de autopolinização. A taxa de formação de frutos variou de 0,2% a 1,5%, o que pode estar relacionado à baixa frequência de visitas dos polinizadores, mas também pode ser decorrente de uma baixa constância dos polinizadores e da perda de políneas em eventos de autopolinizações.

Abstract

The pollination and the reproductive biology of *Acianthera aveniformis* (Hoehne) C.N.Gonç. & Waechter., *A. hygrophila* (Barb.Rodr.) Pridgeon & M.W.Chase. and *A. sonderana* (Rchb.f.) Pridgeon & M.W.Chase. were studied in an Atlantic mixed forest (Araucaria forest) fragment in Curitiba, Parana, Brazil. *Acianthera aveniformis* and *A. sonderana* has the junction of the lip and the column foot forming close to a 45° angle, while in *A. hygrophila* this angle is about 90°. The three species produced smell and floral resources, and were pollinated by flies. In *A. aveniformis*, *Bradysia* sp (Sciaridae) was recorded. In *A. hygrophila*, *Zygoneura* sp. (Sciaridae) and *Atrichopogon* sp. (Ceratopogonidae) were reported, while in *A. sonderana* the pollination was achieved by *Megaselia* sp and *Conicera* sp. (Phoridae). The three species were self-incompatible. In *A. sonderana* pollen tubes from self-pollinations grew slower than that from cross-pollinations, and in *A. aveniformis* anomalous pollen tubes growth with increased callose deposition was observed in flowers from self-pollinations. The fruit set ranged from 0,2% to 1,5%, which may be related to the low frequency of the pollinators, but also may be due to a low constancy of pollinators and to the pollinaria loss in self-pollination events.

Introdução¹

A família Orchidaceae é uma das maiores famílias das angiospermas. Estimativas apontam aproximadamente 19.000 espécies (Dressler, 1993). Esta família possui grande diversidade morfológica que, supostamente, é resultado da relação entre as orquídeas e seus polinizadores (van der Pijl e Dodson, 1969; Endress, 1994). Apesar das abelhas serem os mais frequentes polinizadores das orquídeas, vários outros insetos e algumas poucas aves também atuam como polinizadores (van der Pijl e Dodson, 1969).

Os dípteros são o segundo maior grupo de polinizadores em orquídeas (van der Pijl e Dodson, 1969; Christensen, 1994). Embora a ordem Diptera tenha uma grande importância na polinização das orquídeas, poucos estudos têm focado este assunto, e a maioria dos trabalhos, são embasados em observações casuais, ou feitos em casas de vegetação. Isto é decorrente da reputação dos dípteros como polinizadores pouco efetivos e inconstantes (van der Pijl e Dodson, 1969; Chase, 1985; Christensen, 1994). No entanto, alguns estudos, sugerem especificidade em algumas espécies polinizadas por díptera (Manning e Goldblatt 1997; Borba e Semir, 1998, 2001).

Na família Orchidaceae, a autocompatibilidade parece ser comum, e a polinização cruzada é garantida por barreiras pré-polinização, como mecanismos florais associados ao comportamento dos polinizadores (Dressler, 1968, 1993; van der Pijl e Dodson, 1969; Borba e Semir, 1999). Apesar disso, espécies de orquídeas podem desenvolver barreiras genéticas quando polinizadas por grupos de insetos que costumam permanecer por muito tempo nas inflorescências promovendo eventos de autopolinização (auto- e geitonogamia) (Christensen, 1992; Borba e Semir, 2001; Borba et al., 2001a; Pansarin, 2003).

¹ Texto formatado segundo normas da revista *Plant Biology*

A subtribo Pleurothallidinae é basicamente polinizada por Diptera, embora existam poucos casos de polinização por beija-flores (Dressler, 1993). Porém, apesar do seu grande número de espécies (aproximadamente 4000), poucos registros de polinização e biologia reprodutiva neste grupo são conhecidos (Dodson, 1962; van der Pijl e Dodson, 1969; Chase, 1985; Christensen, 1992, 1994; Dressler, 1993; Singer e Coccuci, 1999; Borba e Semir, 2001; Blanco e Barboza, 2005; Albores-Ortiz e Sosa, 2006; Ribeiro et al, 2006).

Estudos com algumas espécies do gênero *Acianthera* em ambiente de campos rupestres mostram especificidade na relação planta polinizador, auto-incompatibilidade total e parcial e uma alta variação genética nas populações (Borba e Semir, 2001; Borba et al., 2001a, 2001b), o que sugere que a auto-incompatibilidade pode ser um mecanismo importante para a manutenção da variabilidade genética em espécies cujo polinizador promove um grande número de eventos de autopolinização. Em regiões de floresta ombrófila mista, há o registro da polinização de *Acianthera luteola* (Lindl.) Pridgeon & M.W.Chase por *Megaselia* sp. (Díptera) (Singer e Coccuci, 1999), e nenhum registro de biologia reprodutiva neste gênero.

Neste trabalho a polinização e a biologia reprodutiva de *Acianthera aveniformis*, *A. hygrophila* e *A. sonderana*, foram estudadas em um fragmento urbano de floresta ombrófila mista, com o objetivo de investigar se a relação já observada em ambiente de Campos Rupestres, entre o sistema reprodutivo e o comportamento dos polinizadores (Borba e Semir 2001; Borba et al., 2001a), se mantém nesta formação florestal.

Métodos

Área de estudo e espécies estudadas

O estudo de campo foi realizado no Bosque do Zoológico de Curitiba, um remanescente de Floresta Ombrófila Mista, com florestas ribeirinhas dominadas por *Sebastiania commersoniana* (Baillon) L.B.Sm. & R.J.Downs (Euphorbiaceae), nas áreas alagadas pelo rio Iguaçu e por lagoas artificiais construídas próximas ao rio (observação pessoal). Este bosque está localizado na região sudeste da cidade de Curitiba (25°33'35''S; 49°14'05''W) e situado dentro do Parque Natural Municipal do Iguaçu. Observações adicionais em *A. sonderana* foram realizadas em plantas cultivadas na região urbana da mesma cidade (25°25'23'' S; 49°16'59'' W). O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfb (Köppen, 1948), com temperatura média anual de 16,5°C, sem deficiência hídrica. O mês mais chuvoso é janeiro, com 190 mm de precipitação e o menos chuvoso é agosto com 78,2 mm. A precipitação anual é de 1451,8mm (Maack, 1981).

As espécies estudadas possuem hábito epifítico, ocorrendo em simpatria na área de estudo, porém sem sobreposição no período de floração (observação pessoal) (Figura 1). *Acianthera aveniformis* e *A. sonderana* ocorre geralmente em locais mais expostos à luz, principalmente na borda da mata, clareiras e galhos mais altos, e *A. hygrophila* é geralmente encontrada à meia sombra. As três espécies são comuns na área de estudo e, *A. sonderana* e *A. hygrophila* estão entre as mais representativas epífitas vasculares da Bacia do Alto Iguaçu (Kersten, 2006). O material testemunho foi depositado no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UPCB), *A. aveniformis*: UPCB 55341, *A. hygrophila*: UPCB 55338 e *A. sonderana*: UPCB 55342.

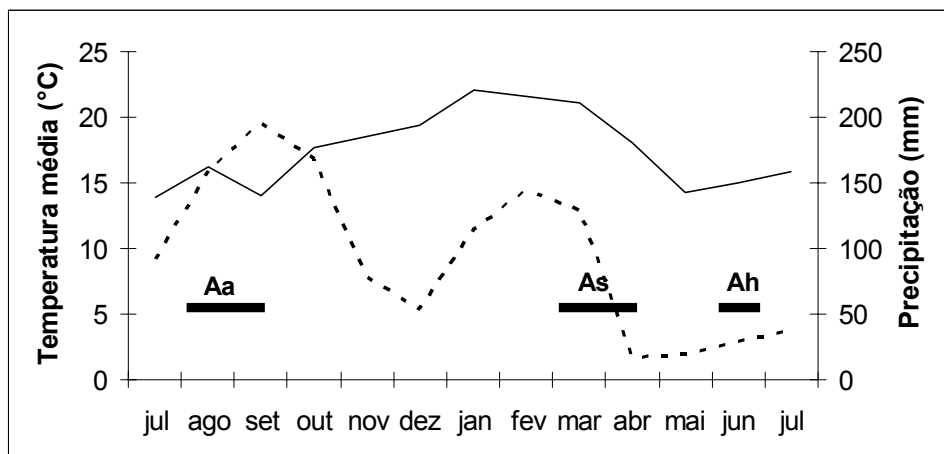


Figura 1: Período de floração de *A. aveniformis* (**Aa**), *A. hygrophila* (**Ah**) e *A. sonderana* (**As**), com as variações de temperatura média mensal (linha contínua) e precipitação mensal (linha pontilhada) do período de julho de 2005 a julho de 2006. Dados climatológicos de julho de 2005 a julho de 2006 do Simepar-PR.

Biologia floral e polinização

Para a descrição da morfologia floral e região secretora de néctar, flores frescas e flores conservadas em FAA foram observadas em microscópio estereoscópio óptico acoplado a câmara clara. Para observação em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-5410, flores conservadas em álcool 70% ou FAA foram submetidas a uma série acetônica, desidratadas à vácuo em secador a ponto crítico por cinco minutos e cobertas com ouro-paládio por 4,5 minutos. A presença de néctar nas flores foi avaliada mergulhando 10 labelos (10 colunas, no caso de *A. hygrophila*) em uma gota de água destilada, e então, foi utilizado glicofita Diastix® (modificado de Kearns e Inouye, 1993). Na detecção de óleos nas flores de *A. hygrophila*, cortes finos do labelo e coluna foram mergulhados em solução Sudan III e então observados em microscopia óptica (Foster, 1949). Para a detecção de osmóforos, foi utilizada solução aquosa de vermelho neutro à 1:10.000 (Vogel, 1963), precedido de testes de concentração de odor, onde flores foram colocadas em um recipiente fechado por 20 minutos para detecção olfativa de voláteis (Dafni, 1992).

Para identificação dos polinizadores, foi empregado o método de observação focal (Dafni, 1992). Para *A. aveniformis* foram realizadas dez observações focais no período de 25 de agosto a 23 de setembro de 2005 e duas no período de 14 de agosto a 17 de agosto de 2006 perfazendo um total de 31,5 horas. Em *A. hygrophyla* foram realizadas quatro observações focais no período entre 7 e 12 de junho de 2005 e seis entre 6 e 16 de junho de 2006 em um total de 33,5 horas. Para *A. sonderana* foram realizadas observações focais nos dias 8 e 13 de março de 2005 e oito no período entre 10 e 31 de março de 2006 em um total de 33 horas de observação.

As observações foram realizadas nos períodos das 8:00 às 16:00h para *A. hygrophyla* e *A. sonderana* e das 9:00 às 14:00h para *A. aveniformis*. Concomitantemente, foram registradas as variações de temperatura e umidade do ar com auxílio de termo-higrômetro. O comportamento dos insetos nas flores foi registrado, os insetos foram coletados, montados com alfinetes entomológicos e enviados para identificação e, então, depositados na Coleção Entomológica Pe. Jesus Santiago Moure, em Curitiba; na Coleção de Referência da Coleção de Ceratopogonidae do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (material de Ceratopogonidae), e no museu de Zoologia da USP (material de Sciaridae).

Biologia reprodutiva

Para determinação do sistema reprodutivo, foram realizados os experimentos de polinização cruzada e autopolinização manual em 6 indivíduos para *A. hygrophyla* e *A. aveniformis*, e em 5 indivíduos para *A. sonderana*, totalizando 20 flores (entre um e três dias de antese) para cada tratamento. Os tratamentos foram realizados na primeira flor da inflorescência para *A. aveniformis* e *A. sonderana*. Em *A. hygrophyla* foram realizados no máximo dois cruzamentos por inflorescência, a ordem dos tratamentos de polinização cruzada e autopolinização manual

na haste floral e as flores utilizadas não foram padronizados nesta espécie. Foram considerados frutos formados aqueles contabilizados um mês após a realização dos tratamentos, e o número de frutos que liberaram sementes foi acompanhado. Também, 10 indivíduos de cada espécie foram acompanhados para medir a formação de frutos em condições naturais, e os frutos formados foram acompanhados por visitas quinzenais.

Na espécie mais abundante, *A. sonderana*, foi acompanhado o crescimento dos tubos polínicos em autopolinizações e polinizações cruzadas 12 e 24 horas, 3, 5, 7, 10, 13 e 15 dias após o tratamento. Em *A. aveniformis* o crescimento dos tubos polínicos foi acompanhado em flores abortadas do tratamento de autopolinização (4 flores) e do tratamento de polinização cruzada (1 flor). As amostras foram fixadas em FAA, e posteriormente tratadas com NaOH 9N a 50°C por 40 minutos, lavadas em água destilada, coradas com azul de anilina e observadas em microscopia de epifluorescência (modificado de Martin, 1959).

Resultados

Morfologia floral, antese e produção de odores

Acianthera aveniformis possui inflorescência terminal ereta contendo uma flor, e menos freqüentemente duas flores. As flores são ressuspínadas, castanho-amareladas com linhas longitudinais púrpuras, pêndulas, com aproximadamente 9 mm de comprimento (Figura 2a). A sépala dorsal é ereta, elíptica, aguda, geralmente contendo três linhas púrpuras, com aproximadamente 8 mm de comprimento e 2,5 mm de largura. As sépalas laterais são eretas unidas na base, com uma gibosa na base, normalmente recurvadas no ápice, geralmente com três linhas longitudinais púrpuras, e possuem aproximadamente 8 mm de comprimento e 2 mm de largura cada. As pétalas laterais são eretas, elípticas, oblongas, um pouco assimétricas, com 6 mm de comprimento e 2 mm de largura. O labelo é articulado ao pé da

coluna em um ângulo de aproximadamente de 50°, trilobado, com ápice truncado, de aproximadamente 7 mm de comprimento e 1 mm de largura. A coluna é prolongada basalmente em um pé (Figura 3a). O polinário é composto de duas políneas cerosas prolongadas em curtas caudículas. O rostelo é laminar, móvel, cobrindo toda a extensão do estigma. O estigma é côncavo, inteiro. As flores ficam em antese por 4 a 7 dias e produzem um forte odor desagradável espermático no fim da manhã e primeiras horas da tarde. A superfície adaxial da parte distal do labelo cora-se intensamente ao vermelho neutro.

Acianthera hygrophila possui inflorescência terminal pêndula, tipo racemo, podendo ter de três a nove flores ressupinadas, creme esverdeadas, com aproximadamente 8 mm de comprimento (Figura 2b). A sépala dorsal é ereto-patente, elíptica, aguda, de aproximadamente 7 mm de comprimento e 1,5mm de largura. As sépalas laterais são ereto-patentes, unidas, freqüentemente livres no ápice, com 5mm de comprimento e 1 mm de largura cada. As pétalas laterais são eretas, lanceoladas, agudas, de aproximadamente 5 mm de comprimento e 2 mm de largura. O labelo é articulado ao pé da coluna em um ângulo aproximado de 90°, trilobado, obtuso, com aproximadamente 4 mm de comprimento e 1mm de largura (Figura 3b), apresentando um pequeno calo de coloração castanho-amarelada na base. A coluna possui apêndices laterais e é ornamentada na região da antera prolongada basalmente em um pé. O polinário é composto de duas políneas cerosas prolongadas em curtas caudículas. O rostelo é laminar, móvel. O estigma é côncavo e inteiro. As flores ficam em antese por 9 a 13 dias, não foi detectada emissão de odores em campo, mas em flores acondicionadas dentro de um recipiente por vinte minutos, nas últimas horas da manhã, foi notado um odor adocicado. As pétalas laterais, a face adaxial da parte distal do labelo e as margens dos lobos laterais do labelo, coram-se ao vermelho neutro.

Acianthera sonderana possui inflorescência terminal ereta, tipo racemo, podendo ter de uma a cinco flores amarelo alaranjadas, ressupinadas, eretas ou pêndulas, um pouco

tubulares, com aproximadamente 7 mm de comprimento (Figura 2c). A sépala dorsal é ereta, elíptica, aguda, com aproximadamente 5,5mm de comprimento e 2 mm de largura. As sépalas laterais são eretas, unidas e freqüentemente livres no ápice, agudas, com aproximadamente 4,5 mm de comprimento e 1 mm de largura cada. As pétalas laterais são espatuladas, agudas, com aproximadamente 3 mm de comprimento e 1 mm de largura. O labelo é articulado ao pé da coluna em um ângulo aproximado de 45°, sendo levemente trilobado com lobos laterais espiniformes, com aproximadamente 2,5 mm de comprimento e 1mm de largura (Figura 3c). A coluna possui apêndices laterais, e é prolongada basalmente em um pé. O polinário é composto de duas políneas cerosas prolongadas em curtas caudículas. O rostelo é laminar, móvel. O estigma é côncavo e inteiro. As flores ficam em antese de 20 a 31 dias, e produzem um fraco odor laranja passada, nas horas mais quentes do dia. A superfície adaxial da parte distal do labelo cora-se ao vermelho neutro.



Figura 2: Indivíduos em floração de (a) *A. aveniformis*. (b) *A. hygrophila*. (c) *A. sonderana*. Escalas: 10mm

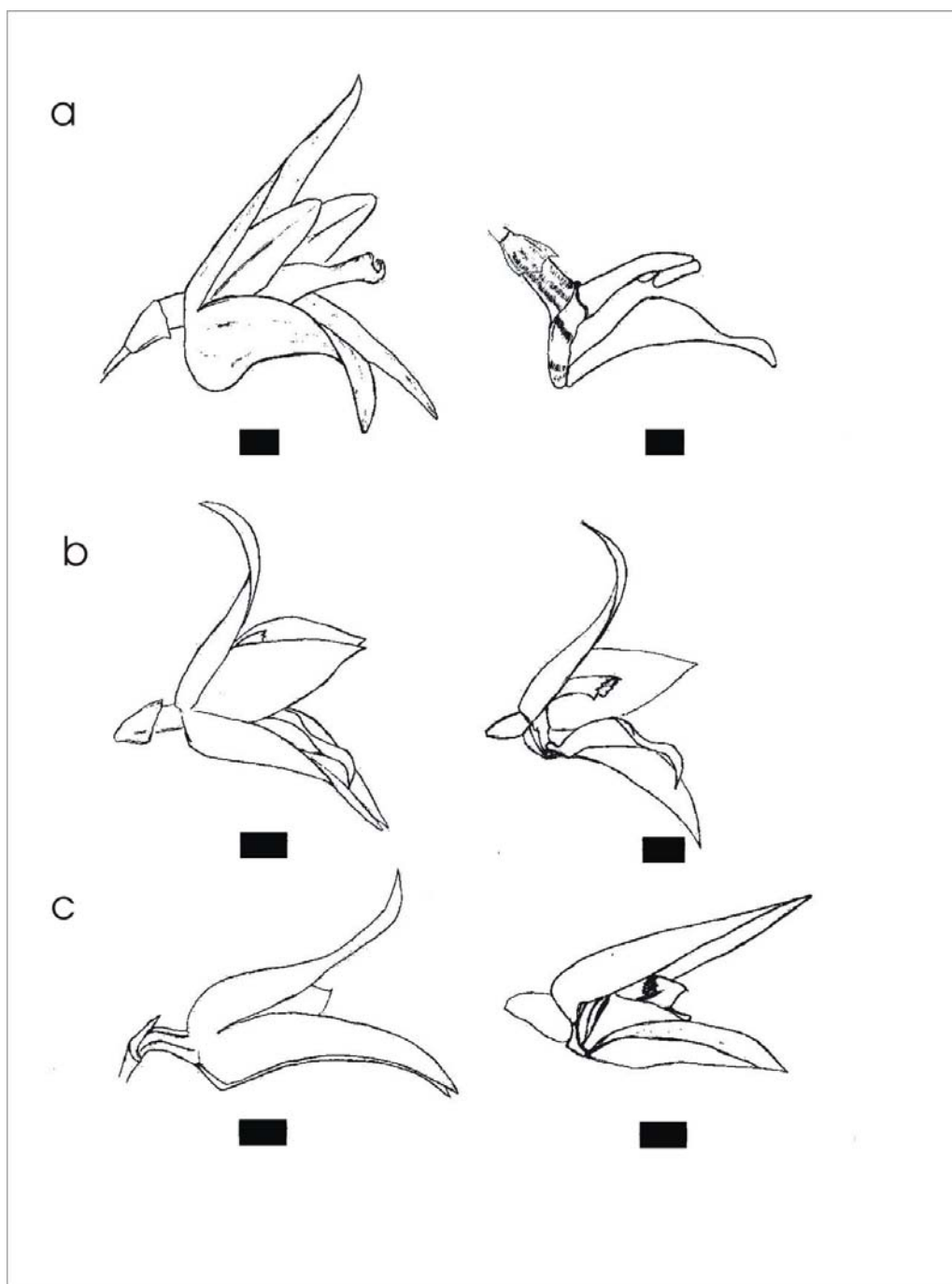


Figura 3: Vista lateral das flores de (a) *A. aveniformis*; (b) *A. hygrophila*; (c) *A. sonderana*. Esquerda: flores com todas as peças do perianto. Direita: (a) flor com sépalas laterais, sépala distal e pétalas laterais retiradas; (b, c) flores com uma sépala lateral e uma pétala lateral retiradas. Escala: 1 mm

Recompensa floral

Todas as três espécies estudadas oferecem recompensa aos polinizadores. Em *A. aveniformis* foi observado um filme fino de néctar em uma região bem delimitada na base do labelo, identificado pela análise com glicofita. Em *A. hygrophila* foram observadas duas regiões ricas em tricomas, aparentemente unicelulares, uma na base do labelo, na forma de um pequeno calo e outra no pé da coluna (Figura 4a), nesta última região foi observada um líquido que escorre para a região basal do labelo. Este líquido quando analisado na coluna, reage com a glicofita.

Em *A. sonderana* foram observadas pequenas gotículas na região mediana do labelo, com o aumento da quantidade à medida que se aproxima da base, nesta espécie foi confirmada a presença de néctar com a glicofita. Quando observada em microscopia eletrônica, esta região do labelo é diferenciada, rica em tricomas (Figura 4b). A base do pé da coluna apresentou uma região rica em tricomas de coloração violácea escura.

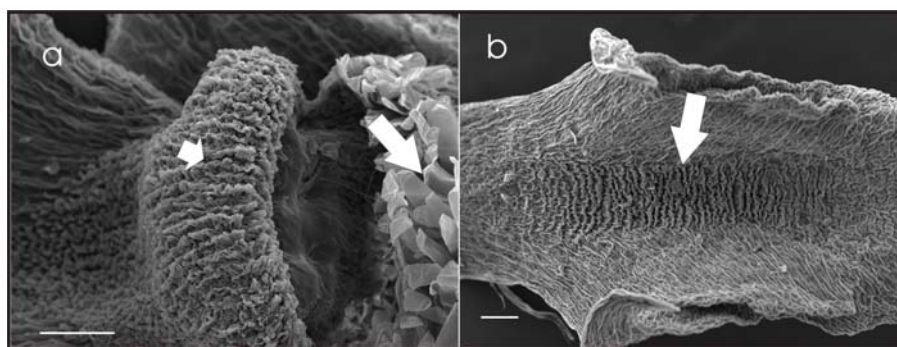


Figura 4: Eletromicrografias (a) da região de inserção entre o labelo e a coluna de *A. hygrophila* (seta pequena: calo da base do labelo, seta grande: região com tricomas no pé da coluna); (b) do labelo de *A. sonderana* (seta: região central do labelo com superfície diferenciada rica em tricomas). Escalas: 100µm.

Visitantes florais

Em *A. aveniformis* foram observadas casualmente formigas *Crematogaster* sp. e dípteros das famílias Cecidomyidae e Sciaridae. As visitas de formigas às flores de *A. aveniformis* dependeram, aparentemente, da ocorrência de colônias desses insetos nas proximidades. Estes insetos buscavam recursos entrando na cavidade formada entre o labelo e a coluna, forrageando na base do labelo. Não foi observada remoção de polinário por formigas. Um indivíduo da família Cecidomyidae visitou várias flores, buscando recursos na base do labelo, mas não houve remoção de polinário. *Bradysia* sp1 (Sciaridae), foi também observado casualmente uma vez, o inseto visitou várias flores, libava a parte distal do labelo e, quando se dirigia para o interior da flor, o inseto escorregava sem conseguir alcançar a base do labelo. Nas observações focais em *A. aveniformis*, foram observadas formigas *Pseudomyrmex* sp., e um indivíduo de *Bradysia* sp1 (Sciaridae). *Pseudomyrmex* sp. teve um comportamento semelhante às outras formigas observadas casualmente. Um indivíduo de *Bradysia* sp1 foi observado carregando polinário, no intervalo entre 11:00 e 12:00 horas, com uma frequência de 0,1 visitas/hora por planta neste intervalo (Figura 5a). O inseto libava a extremidade do labelo de uma flor de *A. aveniformis*, sendo coletado em seguida sem observações adicionais de seu comportamento. Os dois indivíduos de *Bradysia* sp1 eram fêmeas, e não foi observado comportamento de oviposição nas flores. Apesar da baixa frequência de polinizadores, era comum observar flores com polinário deslocado (resultado não quantificado).

Em *A. higrrophylla*, foram observadas visitas de insetos de várias famílias de Díptera: Sciaridae, Drosophilidae, Tachinidae, Muscidae, Phoridae, Chloropidae, Culicidae e Ceratopogonidae, e em duas ocasiões foi observado moscas provavelmente Calliphoridae visitando esta espécie. Foram observadas duas visitas de uma espécie da família Hybotidae, que aparentemente não buscava recursos nas flores. As visitas ocorreram principalmente entre

as 09:00 e 13:00h. Em um evento foi observado um indivíduo de Drosophilidae ser preso pelo labelo tendo que forçar deixar a flor, mas não houve retirada do polinário. Dípteros pequenos, como Phoridae e uma espécie de Chloropidae, saíram da cavidade formada entre o labelo também sem deslocar o polinário. Insetos maiores como moscas Muscidae, Tachinidae e provavelmente Calliphoridae visitavam várias flores, aparentemente conseguindo obter recursos. Fomigas de duas espécies não identificadas foram observadas casualmente visitando as flores de *A. higrphylla* em busca de recursos, com comportamento semelhante aos das formigas que visitaram *A. aveniformis*.

Apesar da variedade de famílias de díptera entre os visitantes florais desta espécie, apenas dípteros Sciaridae e Ceratopogonidae deslocaram o polinário. Da primeira família foram observadas duas espécies, *Bradysia* sp2 foi observado em apenas uma ocasião, no intervalo entre 10:00 e 11:00 horas, em uma frequência de 0,16 visitas/hora por planta neste intervalo. O inseto carregava o polinário e visitou algumas flores libando até a parte mediana do labelo, sem alcançar a base. Ele realizava curtos vôos trocando de haste floral e de flores, muitas vezes tocando as pernas nas peças florais enquanto voava de uma flor a outra, o inseto foi coletado sem observações adicionais de seu comportamento. *Zygoneura* sp1, foi observado em quatro ocasiões, duas destas em observações ocasionais, e em todas as observações desta espécie, o inseto transportava ou deslocou polinários (Figura 5b). Nas observações focais, as visitas de *Zygoneura* sp1 ocorreram nos intervalos entre 11:00 e 12:00 horas e entre 12:00 e 13:00 horas, com frequências de 0,2 e 0,33 visitas/hora por planta para cada intervalo respectivamente. Em uma das visitas foi observada deposição de polinário no estigma; a flor foi acompanhada, mas não gerou fruto. Nas duas vezes em que foi observada a aproximação do inseto à planta, ele chegou pousando na parte abaxial de uma folha, caminhou pela folha até atingir a haste floral, onde o inseto pode visitar algumas flores sem atingir a base do labelo, e mudar de haste floral através de vôos curtos. Ao entrar na flor alcançando as

proximidades da base do labelo, o labelo moveu-se lentamente em direção à coluna, o escutelo do díptero entrou em contato com o rostelo, podendo o inseto ficar preso à flor por 5 a 25 minutos e, ao forçar para sair da flor, o inseto deslocou o polinário junto com o capuz da antera. O díptero tentou remover o polinário do escutelo com movimentos das asas, mas em seguida continuou a forragear nas flores. A retenção do capuz da antera dificulta o inseto a libar até o interior da flor e o mesmo deixou a planta em aproximadamente 10 minutos após a remoção do polinário. Em outra ocasião, o inseto ao deslocar o polinário, caiu da flor e se afastou da planta. Os dois indivíduos de *Zygoneura* sp1 coletados eram fêmeas, e a visita destes insetos à planta pode durar até 50 minutos.

Atrichopogon sp. (Ceratopogonidae) foi observado em duas ocasiões em um mesmo dia de observação focal, nos intervalos entre 8:00 e 9:00 horas e entre 11:00 e 12:00 horas, com frequências de 0,5 visitas/ hora por planta e 0,2 visitas/hora por planta respectivamente para cada intervalo (Figura 5c). O inseto se aproximou da planta pousando sobre a inflorescência ou sobre folhas de *A. hygrophila*, podendo ficar parado por vários minutos antes de forragear nas flores. Este se moveu lentamente na inflorescência, libando pétalas e sépalas até atingir o labelo, quando ele se aproximou da base do labelo, o labelo moveu-se lentamente em direção a coluna, aprisionando o inseto na cavidade formada, o rostelo entrou em contato com o escutelo do díptero, que ao deixar a flor, deslocou o polinário junto com o capuz da antera. Em uma das duas ocasiões observadas, *Atrichopogon* sp. saiu da flor sem deslocar o polinário e deixou a planta em seguida. Os dois indivíduos de *Atrichopogon* sp. observados eram machos.

Nas observações de *A. sonderana* na área de estudo, foi registrada uma visita de um díptero da família Chloropidae e de formigas *Pheidole* sp. e, ocasionalmente, uma espécie de formiga não identificada. O díptero visitou várias flores buscando recursos na base do labelo, aparentemente, a pequena altura do inseto impediu a remoção do polinário, pois este saía da

flor sem ficar preso entre o labelo e a coluna. O comportamento das formigas em *A. sonderana* foi semelhante ao descrito para as formigas que visitaram *A. aveniformis*, e nenhum dos visitantes florais observados na área de estudo carregavam ou deslocaram polinários. Porém, a atividade de polinizadores foi registrada em observações casuais em plantas cultivadas em jardins na zona urbana. Neste caso, os polinizadores foram dípteros *Megaselia* sp. e *Conicera* sp. (Phoridae), e foram observados em seis ocasiões (três observações de cada espécie) no período das 12:00-15:00h (Figura 5d,e). Os insetos pousavam na inflorescência ou nas folhas da planta e caminhavam até as flores utilizando a haste floral, e com movimentos rápidos circulavam o eixo floral até libarem o labelo. Quando o inseto subia no labelo, ele forçava o mesmo para baixo e, à medida que ele se aproximou da base, o labelo retornava a sua posição original prendendo o inseto por cerca de 3 minutos. O inseto forçava para sair da flor tocando o rostelo com o escutelo, removendo o polinário e o capuz da antera. Nos dois eventos em que foi observada a retirada do polinário, o díptero deixou a planta carregando consigo o capuz da antera.

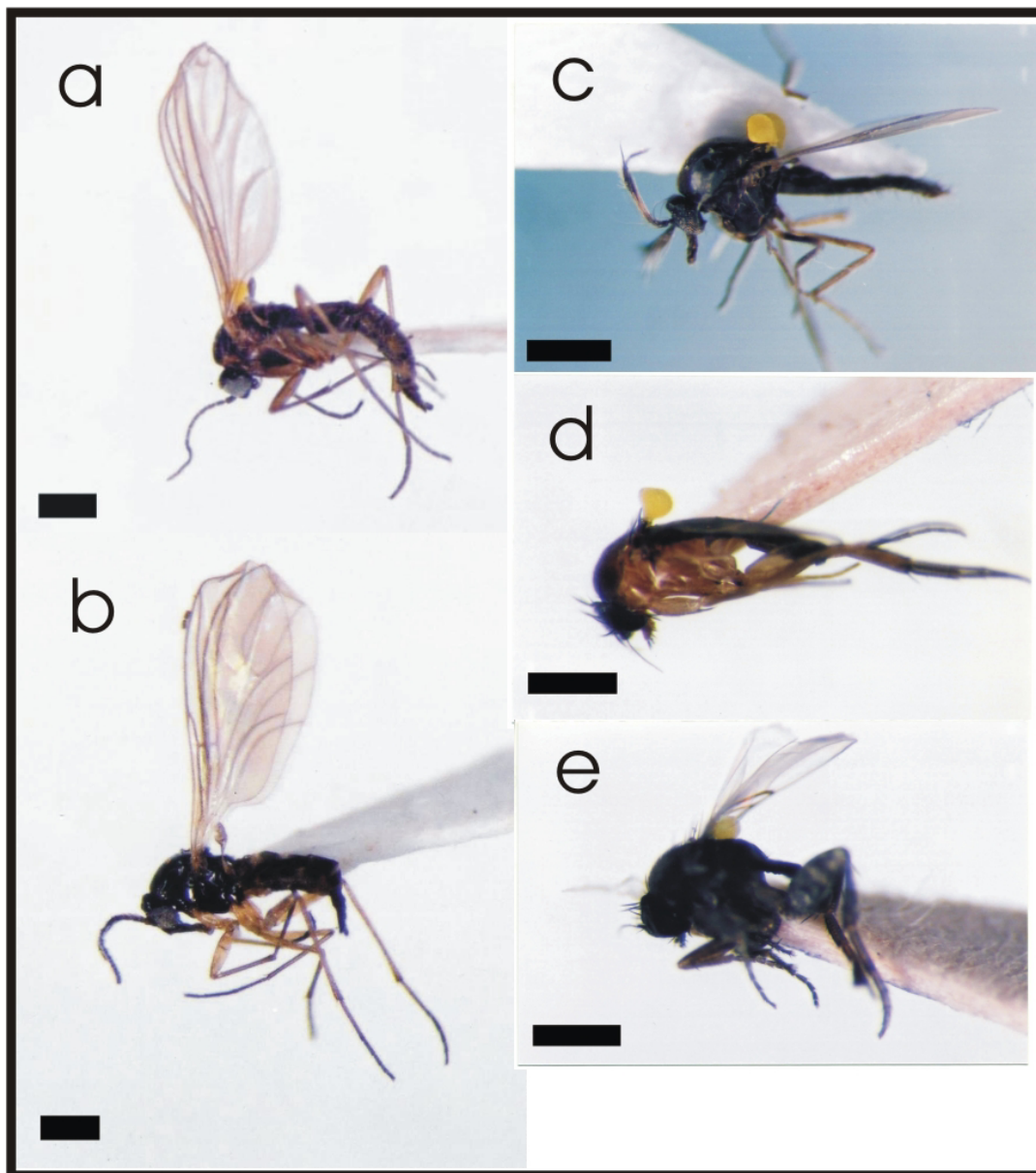


Figura 5: Polinizadores das espécies de *Acianthera* estudadas: (a): *Bradysia* sp.1 (Sciaridae); com polinário de *A. aveniformis*. (b): *Zygoneura* sp. (Sciaridae); polinizador mais frequente de *A. hygrophila*. (c): *Atrichopogon* sp. (Ceratopogonidae); com polinário de *A. hygrophila*. (d): *Megaselia* sp. (Phoridae) com polinário de *A. sonderana* (e) *Conicera* sp. (Phoridae); com polinário de *A. sonderana*. Escala: 0,5mm.

Biologia reprodutiva e taxa de frutificação

Ocorreu uma variação entre as espécies de 35% a 70% de frutos formados nos tratamentos de polinização cruzada, e nenhum fruto foi formado nas autopolinizações. A frutificação em condições naturais foi muito baixa, variando de 0,2% a 1,51% (Tabela 1), sendo reduzido para 0,16% a 0,65% considerando os frutos que chegaram a liberar sementes. O acompanhamento dos frutos formados nos tratamentos de polinização cruzada mostra perdas de frutos, principalmente em *A. aveniformis* e *A. hygrophila* (Figura 6).

Tabela 1: Percentual de formação de frutos em *A. aveniformis*, *A. hygrophila* e *A. sonderana* em polinizações experimentais e em condições naturais.

	PC% ^a	AM% ^b	C% ^c
<i>A. aveniformis</i>	35 (20)	0 (20)	1.51 (464)
<i>A. hygrophila</i>	60 (20)	0 (20)	0.41 (1210)
<i>A. sonderana</i>	70 (20)	0 (20)	0.2 (993)

^a Tratamento de polinização cruzada; ^b Tratamento de autopolinização manual; ^c Condições naturais. Número entre parênteses indica o número de flores acompanhadas em cada ensaio e em condições naturais.

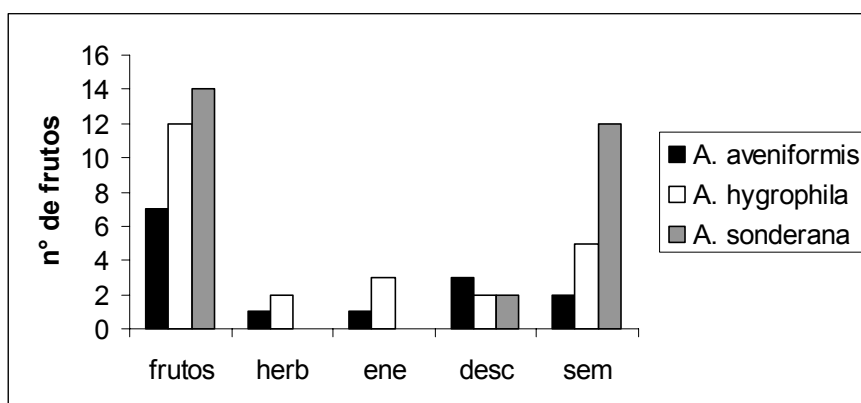


Figura 6: Acompanhamento dos frutos formados no tratamento de polinização cruzada (20 flores) em *A. aveniformis*, *A. hygrophila* e *A. sonderana*. (**frutos**): Frutos formados no tratamento de polinização cruzada; (**herb**): Frutos perdidos por herbivoria; (**ene**): frutos enegrecidos e abortados sem ser identificada a causa (**desc**): frutos perdidos sem ser observada a causa; (**sem**): Frutos que liberaram sementes.

Na observação do crescimento de tubos polínicos, em tratamentos de autopolinizações, não foram observados tubos polínicos alcançando o ovário para todas as espécies analisadas. Em flores fenescidas de tratamentos de autopolinização e polinização cruzada em *A. aveniformis*, foram observadas malformações nos tubos polínicos com aumento na deposição de calose nos tratamentos de autopolinização (Figura 7c), enquanto que tubos polínicos normais foram observados na flor fenescida proveniente de polinização cruzada (Figura 7d). O crescimento dos tubos polínicos em polinizações cruzadas e em autopolinizações manuais em *A. sonderana* foi distinto, sendo registrada uma taxa de crescimento reduzido nos tratamentos de autopolinização manual, os quais não avançaram mais que dois terços do tecido de transmissão do estilete. Não foram observadas malformações com aumento de deposição de calose nos tubos polínicos em *A. sonderana* (Figura 7a). Em *A. sonderana*, nos tratamentos de polinização cruzada foi observada a entrada dos tubos polínicos no ovário 10 dias após o tratamento, embora não tenha ocorrido fecundação de óvulos durante período observado (Figura 7b). Nesta espécie foi observado aborto das flores entre 10 a 15 dias após o tratamento de autopolinização.

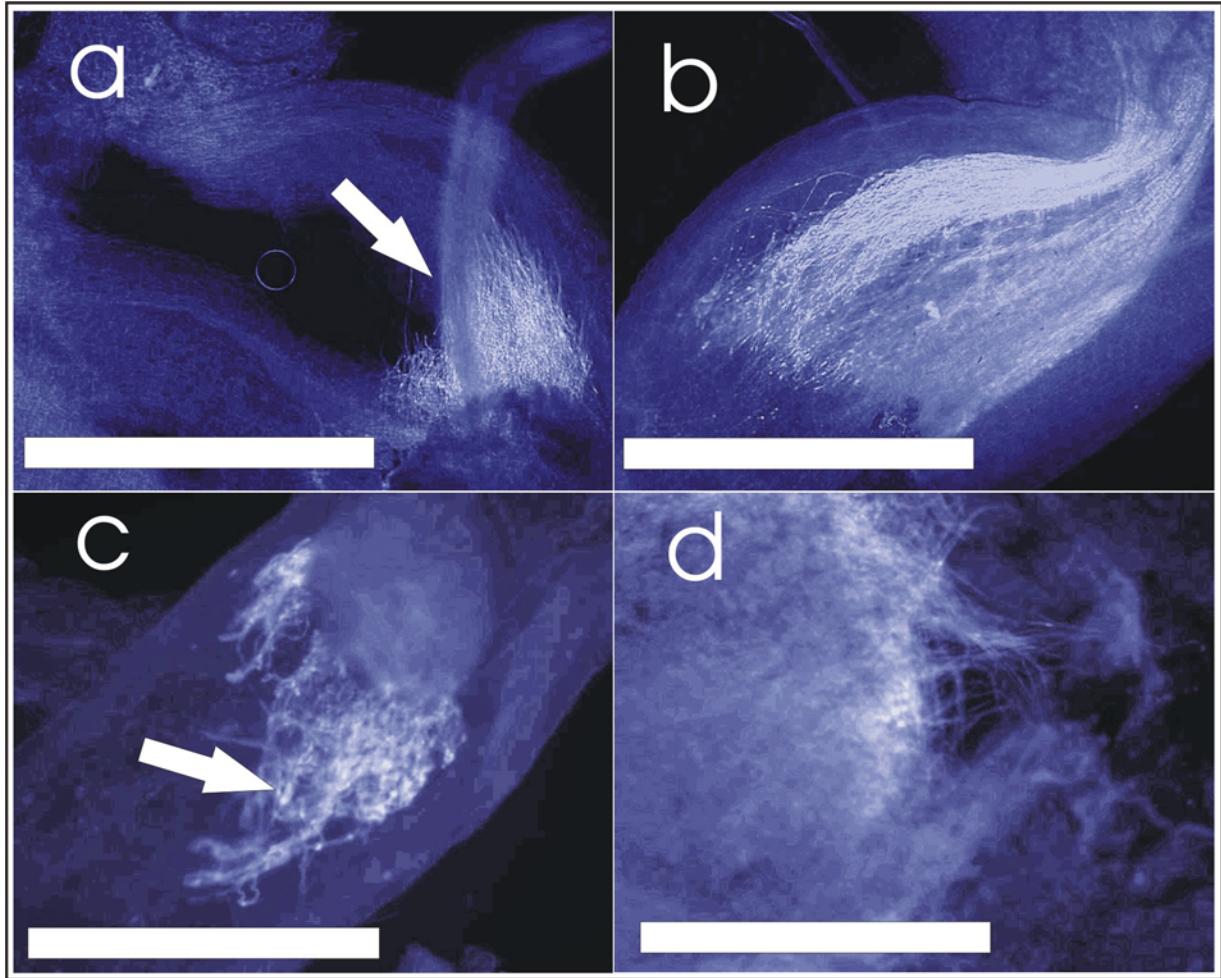


Figura 7: Crescimento dos tubos polínicos em *A. sonderana* 15 dias após a polinização (**a, b**) e em flores abortadas de *A. aveniformis* (**c,d**). (**a,c**) Autopolinização manual. (**b,d**) Polinização cruzada. Observe crescimento menor dos tubos polínicos em (**a**) e malformações nos tubos polínicos em (**c**). Escala: 0,5mm.

Discussão

Os dípteros são o segundo mais importante grupo de polinizadores, embora a maioria deles não seja dependente das flores para obtenção de recursos (Endress, 1994). A maior parte destes insetos (com exceção das famílias Syrphidae, Bombyliidae, Tachinidae e Nemestrinidae) é considerada ineficiente devido ao seu comportamento inconstante (Faegri e van der Pijl, 1979; Christensen, 1994). Pequenos dípteros são limitados pelo seu tamanho, não podendo desta forma transportar grandes quantidades de pólen (Faegri e van der Pijl, 1979). Entretanto, Mesler et al. (1980) reportam eficiência de dípteros Sciaridae e Mycetophilidae na polinização de *Listeria cordata* (L.) R.Br. (Orchidaceae) e *Scolopus bigelovii* Torr. (Liliaceae), devido a um grande número de visitas destes insetos.

Dípteros Sciaridae atuam como polinizadores em alguns grupos em Orchidaceae (Ackerman e Mesler, 1979; Christensen, 1994) e são considerados importantes agentes polinizadores em Pleurothallidinae (van der Pijl e Dodson, 1969; Christensen, 1994), sendo documentada a polinização por estes dípteros nos gêneros *Stelis* Sw., *Zosterophyllum* Szlach. & Marg. e *Lepanthes* Sw., embora ainda não tivessem sido documentados como polinizadores em *Acianthera*. Recentemente foi documentada a polinização por pseudocópula em *Lepanthes* Sw. (Pleurothallidinae) por dípteros Sciaridae (Blanco e Barboza, 2005). No presente estudo, estes dípteros foram observados com polinário de *A. aveniformis* e foram os principais polinizadores em *A. hygrophila*. Embora em *A. aveniformis* não podemos afirmar que *Bradysia* sp1 é o seu polinizador.

A presença de mosquitos Ceratopogonidae como polinizadores em Pleurothallidinae é controversa. Archila (2001 apud Blanco e Barbosa, 2005) relata que mosquitos ceratopogonídeos visitam e polinizam várias espécies de *Lepanthes* na Guatemala, embora estes dados não tenham sido documentados com fotos nem tenha havido deposição de material biológico em museu. A polinização por *Atrichopogon* sp. em *A. hygrophila* é o

primeiro registro desta família de Diptera envolvida na polinização de uma espécie de *Acianthera*.

Entre os dípteros observados como polinizadores em *A. sonderana*, *Conicera* sp. (Phoridae) ainda não tinha sido documentado como polinizador em Pleurothallidinae, enquanto que *Megaselia* spp. haviam sido documentados como polinizadores no gênero *Stelis* (Alboris-Ortiz e Sosa, 2006), em *A. luteola* (Singer e Coccuci, 1999), *A. ochreatea* (Lindl.) Pridgeon & M.W.Chase, e *A. teres* (Lindl.) Borba (Borba e Semir, 2001). Em todas as observações de dípteros Phoridae polinizando espécies de *Acianthera*, inclusive as do presente trabalho, os insetos, ao deslocarem o polinário, carregam junto o capuz da antera que pode ficar unido ao polinário por vários minutos. As flores destas espécies possuem certas características em comum, como tendência a uma corola tubular, o labelo formando um ângulo aproximado de 45° com a coluna (exceto em *A. luteola*), e oferta de recompensa no labelo. Além disso, *Acianthera luteola* e *A. sonderana* se assemelham em coloração, com *A. luteola* possuindo pontos escuros no labelo que podem funcionar como guias de néctar (Singer e Coccuci, 1999), sendo que em *A. sonderana*, uma região de semelhante coloração é encontrada na base da coluna.

Apesar de *Acianthera luteola* e *A. sonderana* serem sincronopátricas e ambas serem visitadas por *Megaselia* spp., a hibridação entre estas espécies não é esperada devido à auto-incompatibilidade interespecífica (resultados preliminares) associada a diferenças no tamanho das flores das duas espécies, sendo que *A. sonderana* é polinizada por dípteros menores que os polinizadores de *A. luteola*. Também foi observado sincronopatria entre outras espécies de Pleurothallidinae que ocorrem na área de estudo, embora nestes casos, as morfologias florais destas espécies foram distintas, o que sugere diferentes agentes polinizadores ou diferentes mecanismos de polinização.

Assim como observado em *A. sonderana*, os polinizadores de *A. hygrophila* (dípteros Ceratopogonidae e Sciaridae) retêm a antera quando deslocam o mesmo. Nos três casos em que foi observado o mecanismo de polinização em *Acianthera* em ambientes de Floresta Ombrófila Mista (Singer e Coccuci, 1999; o presente trabalho), esta característica foi observada, o que sugere que este mecanismo deve ser comum. Esta adaptação pode funcionar como uma barreira para evitar a perda de pólenes em autopolinizações (Singer e Coccuci, 1999; Borba e Semir, 2001) quando o hábito dos insetos polinizadores é de longa permanência em um mesmo indivíduo.

Foi observado que dípteros Sciaridae foram atraídos por cheiros adocicados em *A. hygrophila*, e odores espermáticos em *A. aveniformis*, sugerindo diferentes mecanismos de atração. *Zygoneura* não é reportado como visitante floral (Dalton Amorim comun. pessoal), e foi o agente polinizador de *A. hygrophila*, espécie que possui um odor floral adocicado. Interessante ressaltar que entre as espécies do gênero *Acianthera* polinizadas por dípteros Phoridae, *A. ochreata* e *A. teres* possuem coloração que tendem ao vermelho ou púrpuro e emitem um odor de queijo rançoso (Borba e Semir, 2001), enquanto *A. luteola* e *A. sonderana* possuem coloração amarela-alaranjada, cheiros adocicado e de laranja passada respectivamente (Singer e Coccuci, 1999; presente trabalho). Em outra espécie de Pleurothallidinae polinizada por *Megaselia*, *Stelis immersa* (Linden & Rochb.f.) Pridgeon & M.W.Chase, é observada uma coloração amarelo-alaranjada e um odor semelhante a melão (Albores-Ortiz e Sosa, 2006). É conhecido que moscas Caliphoridae e Sarcophagidae preferem a cor amarela em vez de púrpura na presença na presença de cheiros adocicados e que esta preferência é revertida quando na presença de cheiros de fezes ou carne em putrefação (Kugler, 1951, 1956 apud Christensen 1992; Kay, 1978 apud Christensen 1992). Aparentemente esta associação de um sinal visual ao sinal olfativo pode estar ocorrendo em Phoridae, especificamente em *Megaselia* spp.

O mecanismo de polinização em *A. sonderana* é o mesmo já reportado para outras espécies dentro da subtribo (Chase, 1985; Singer e Coccuci, 1999; Borba e Semir, 2001). Em *A. hygrophila*, o mecanismo de polinização é distinto, pois o labelo forma um ângulo maior em relação à base da coluna, e está frequentemente apoiado sobre as sépalas laterais. Da mesma forma, à medida que o inseto se aproxima da base do labelo, o inseto é preso entre a coluna e o labelo, mas neste caso, o labelo movimenta-se diminuindo seu ângulo com a coluna. Não foi possível identificar o mecanismo pelo qual este deslocamento acontece. Embora não ocorra uma mudança repentina da posição do labelo, é possível que uma mudança mecânica desencadeada por um mecanismo sensitivo, pode ocorrer nesta espécie. Mecanismos de movimentos ativos do labelo em Pleurothallidinae são conhecidos (Oliver, 1888; Christensen, 1994)

Foi observado que a frequência dos polinizadores na área de estudo para a três espécies é muito baixa, o que é reportado em muitas orquídeas (Dodson, 1962; Calvo, 1990). Em *A. aveniformis*, a ausência de visitas de polinizadores pode ser devido a uma baixa atividade dos mesmos, nos horários de observação, embora o período do dia no qual as flores exalavam odores estivesse compreendido nos períodos de observação focal.

Em *A. hygrophila*, o período com maior número de visitantes florais, final da manhã e primeiras horas da tarde, é o momento onde há emissão de odor (Singer, 1996). Embora a observação de polinizadores tenha sido rara, foram observados dípteros de várias famílias visitando esta espécie, sugerindo que os voláteis florais não são específicos na atração dos visitantes. Em *A. hygrophila*, como citado anteriormente, foram encontradas duas famílias de dípteros como polinizadoras. É possível que o mecanismo de polinização encontrado nesta espécie, somada a uma forma de atração não específica, pode resultar em uma maior generalização do sistema de polinização.

A ausência de observações dos polinizadores em *A. sonderana* no Bosque do Zoológico é difícil de explicar, pois, os horários nos quais foram observados os polinizadores na zona urbana, coincidem com os das observações focais. Entretanto, esta ausência de visitas pode ser devido ao tempo de observação focal ter sido insuficiente, à população reduzida dos polinizadores, ou a preferência dos polinizadores por outro recurso abundante. *Acianthera sonderana* é uma espécie muito comum no município de Curitiba (Singer, 1996; Borgo et al., 2002), e frequentemente é observada com frutos (observação pessoal, Singer, 1996). A taxa de frutificação observada no Bosque do Zoológico corrobora a ausência de visitas de polinizadores nas observações focais, sendo a menor taxa de frutificação controlada entre as espécies estudadas. Nos Mananciais da Serra, uma região de transição entre Floresta Ombrófila Mista e Floresta Ombrófila Densa (Reginato & Goldenberg, subm) em Piraquara, município vizinho à Curitiba, a taxa de formação de frutos em *A. sonderana* no mesmo ano foi 10 vezes maior, chegando a 2% de flores originando frutos (observação pessoal).

Foi observado em *A. hygrophila* um grande espectro de visitantes florais, porém com poucos polinizadores efetivos, isto pode ocorrer em muitas espécies consideradas equivocadamente como generalistas (Stebbins, 1970; Olerton, 1996; Freitas e Sazima, 2006). As espécies de *Acianthera* polinizadas por dípteros Phoridae (Singer e Cocucci, 1999; Borba e Semir, 2001; presente trabalho) possuem morfologias florais semelhantes, oferta de recursos florais, e retenção do capuz da antera. Isto sugere que estas espécies responderam a pressões seletivas semelhantes exercidas por este grupo de polinizadores, como já proposto para *A. ochreatea* e *A. theres* (Borba e Semir, 2001). A auto-incompatibilidade observada nas três espécies estudadas também foi encontrada em espécies de *Acianthera* com sistemas específicos de polinização (Borba e Semir 2001; Borba et. al., 2001a). Alguns autores têm apontado que a generalização predomina nos sistemas de polinização nas angiospermas (Olerton, 1996; Waser et al., 1996), enquanto que Johnson e Steiner (2000) sugerem que as

relações específicas podem não ser tão raras. Também ao se considerar cada espécie como um polinizador diferente, pode-se gerar padrões artificiais quando se avalia a generalização ou especificidade de uma comunidade, pois as características florais podem ser selecionadas por grupos funcionais de polinizadores (Fenster, 2004; Freitas e Sazima, 2006). Em um estudo com várias populações isoladas, Borba e Semir (2001) reportaram especificidade espacial em cinco espécies de *Acianthera*, mesmo em populações separadas por distâncias maiores que mil quilômetros. Os estudos até agora realizados em *Acianthera* reforçam a proposta de que a especificidade é uma característica na família orchidaceae (Tremblay, 1992).

Neste estudo, considerando-se apenas os frutos que liberaram as sementes, os valores de taxa de frutificação foram muito menores do que outros valores reportados dentro da subtribo (Calvo, 1990; Christensen, 1992; Borba e Semir, 2001, Tremblay, 2006). Aparentemente, muitas espécies de Pleurothallidinae têm garantido o sucesso reprodutivo devido ao número de sementes por frutos ser grande, associado à reprodução vegetativa (Christensen, 1992). Taxa de frutificação baixa é uma característica comum em Orchidaceae (Tremblay, 2005), assim como pode ser observada em outras famílias de plantas (Anderson e Hill, 2002). Além da baixa frequência dos polinizadores na área, a baixa taxa de formação de frutos pode também ocorrer devido à baixa constância dos polinizadores e à perda de políneas em autopolinizações.

As três espécies estudadas são auto-incompatíveis, demonstrando que a auto-incompatibilidade em espécies de *Acianthera* também ocorre em ambiente de Floresta Ombrófila Mista. O crescimento diminuído dos tubos polínicos em tratamentos de autopolinização em *A. sonderana* e as malformações nos tubos polínicos de flores abortadas de *A. aveniformis* sugerem uma inibição do crescimento dos tubos polínicos no estilete, o que é característico de auto-incompatibilidade homomórfica gametofítica (Richards, 1986). Não foi possível avaliar a presença de depressão endogâmica nos frutos provenientes de

autopolinização devido à ausência de frutos neste tratamento, porém a ocorrência de auto-incompatibilidade total ou parcial foi descrita em espécies de *Acianthera*, e em algumas espécies pode ocorrer depressão endogâmica nos raros frutos originados a partir de autopolinizações (Borba et al., 2001a).

Possivelmente, como um mecanismo de compensação do comportamento de seus polinizadores, caracterizado por longas visitas em cada inflorescência, estas espécies desenvolveram barreiras genéticas (auto-incompatibilidade) associadas a barreiras pré-polinização. Em ambientes onde pode ocorrer restrição de recursos (epifitismo), os eventos reprodutivos podem ter um custo alto, e um número grande de frutos resultantes de autopolinizações, poderia resultar em uma diminuição de recursos, para investir em reprodução nas estações reprodutivas futuras (Montalvo e Ackerman 1987). A produção de uma quantidade menor de frutos, desta forma, asseguraria recursos suficientes para uma quantidade maior de eventos reprodutivos, associados a uma maior variabilidade genética.

Referências Bibliográficas

- Albores-Ortiz O. e Sosa V. (2006) Polinización de dos species simpátricas de *Stelis* (Pleurothallidinae, Orchidaceae). *Acta Botanica Mexicana* 74, 155-168.
- Ackerman, J. D. e Mesler, M. R. (1979) Pollination biology of *Listera cordata* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 66, 820-824.
- Blanco, M. A. e Barboza, G. (2005) Pseudocopulatory pollination in *Lepanthes* (Orchidaceae: Pleurothallidinae) by fungus gnats. *Annals of Botany* 95, 763-772.
- Borba, E. L. e Semir, J. (1998) Wind-assisted fly pollination in three *Bulbophyllum* (Orchidaceae) species occurring in the Brazilian 'campos rupestres'. *Lindleyana* 13, 203-218.

- Borba, E. L. e 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, E. L. e Semir, J. (2001) Pollinator specificity and convergence in fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: a multiple population approach. *Annals of Botany* 88, 75-88.
- Borba, E. L., Semir, J. e Shepherd, G. J. (2001a) Self-incompatibility, inbreeding depression, and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. *Annals of Botany* 88, 89-99.
- Borba, E. L., Felix, J. M., Solferini, V. N., e Semir, J. (2001b) Fly-pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species have high genetic variability: evidence from isozyme markers. *American Journal of Botany* 88, 419-428.
- Borgo, M., Silva, S. M., e Petean, M. (2002) Epífitos vasculares em fragmentos de floresta ombrófila mista, Curitiba, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 26, 391-401.
- Calvo, R. N. (1990) Inflorescence size and fruit distribution among individuals in three orchid species. *American Journal of Botany* 77, 1378-1381.
- Chase, M. W. (1985) Pollination of *Pleurothallis endotrachys*. *American Orchid Society Bulletin* 54, 431-434.
- Christensen, D. E. (1992) Notes on the reproductive biology of *Stelis argentata* Lindl. (Orchidaceae: Pleurothallidinae) in eastern Ecuador. *Lindleyana* 7, 28-33.
- Christensen, D. E. (1994) Fly pollination in the Orchidaceae. In *Orchid Biology: Reviews and Perspectives VI* (Arditti J, ed.) John Wiley & Sons, New York, pp.415-454.
- Dafni, A. (1992) *Pollination Ecology. A Practical Approach*. Oxford: IRL Press at Oxford University Press.

- Dodson, C. H. (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, R. L. (1968) Observations on orchids and euglossine bees in Panama and Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 15: 143-183.
- Dressler, R. L. (1993) *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*. Oregon: Dioscorides Press.
- Endress, P. K. (1994) *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Faegri, K., e van der Pijl, L. (1979) *The Principles of Pollination Ecology*. Oxford: Pergamon Press.
- Fenster, C. B., Ambruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M. R., e Thomson, J. D. (2004) Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35, 375-403.
- Forster A. S. (1949) *Practical Plant Anatomy*. New York: Van Nostrand.
- Freitas, L. e Sazima, M. (2006) Pollination biology in a tropical high-altitude grassland in Brazil: interactions at the community level. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 93, 465-516.
- Johnson, S. D. e Steiner, K. E. (2000) Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends in Ecology and Evolution* 15, 140-143.
- Kearns, C. e Inouye, W. (1993) *Techniques for pollination biologists*. Niwot: University Press of Colorado.
- Koëppen, W. (1948) *Climatologia com un estudio de los climas de la tierra* (Transl. by Peres PRH). Mexico: Fondo de Cultura Econômica.
- Maack, R. (1981) *Geografia Física do Estado do Paraná*. Rio de Janeiro: 2 ed. J. Olympio-Secretaria da Cultura e do Esporte do governo do Paraná.

- Manning, J. C. e Goldblatt, P. (1997) The *Moegistorhynchus longirostris* (Diptera: Nemestrinidae) pollination guild: long tubed flowers and a specialized long-proboscid fly pollination system in southern Africa. *Plant Systematics and Evolution* 206, 51-69
- Martin, F. W. (1959) Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 37, 125-128.
- Mesler, M. R., Ackerman J. D., e Lu K. L. (1980) The effectiveness of fungus gnats as pollinators. *American Journal of Botany* 67, 564-567.
- Montalvo, A. M. e Ackerman, J. D. (1987) Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *Biotropica* 19, 24-31.
- Ollerton, J. (1996) Reconciling ecological processes with phylogenetic patterns: the apparent paradox of plant-pollinator systems. *Journal of Ecology* 84, 767-769.
- Oliver, F. W. (1888) On the sensitive labellum of *Masdevallia muscosa* Reichb. f. *Annals of Botany* 1, 461-480.
- Pansarin, E. R. (2003) Biologia reprodutiva e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26, 203-211.
- van der Pijl, L., e Dodson, C. H. (1969). *Orchid Flowers: their Pollination and Evolution*. Miami, USA: University of Miami Press ,Coral Gables.
- Reginato, M., e Goldenberg, R. Análise florística, estrutural e fitogeográfica da vegetação arbórea/arborescente em um trecho de transição entre as Florestas Ombrófila Densa Montana e Mista, Piraquara, Paraná, Brasil. Hoehnea. Submetido.
- Ribeiro, F. R., Köhler, A. e Boelter, C. R. (2006) Pollination of *Acianthera aphyta* (Lindl.) Pridgeon & M. W. Chase (Orchidaceae) by Otitidae (Diptera). *Uruguiana* 2, 185-189.
- Richards, A. J. (1986) *Plant breeding systems*. London: George Allen & Unwin.
- Singer, R. B. (1996) Morfologia floral e biologia da polinização de Orchidaceae de Curitiba, Paraná. Dissertação. Universidade Federal do Paraná.

- Singer, R. B. e Coccuci, A. A. (1999) Pollination mechanism in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* 14, 47-56.
- Stebbins, G. L. (1970) Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. *Annual review of ecology and systematics* 1, 307-326.
- Tremblay, R. L. (1992) Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Canadian Journal of Botany* 70, 642-650.
- Tremblay, R. L. (2006) The effect of flower position on male and female reproductive success in a deceptively pollinated tropical orchid. *Botanical Journal of the Linnean Society* 151, 405-410.
- Tremblay, R. L., Ackerman, J. D., Zimmerman, J. K., e Calvo, R. N. (2005) Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of the Linnean Society* 84, 1-54.
- Vogel, S. (1963) Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung: Über Bau und Funktion der Osmophoren. *Abhandlungen der Akademie der Wissenschaften und der Literatur in Mainz Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Klasse* 10, 601-763.
- Waser, N. M., Chittka, L., Price, M. V., Williams, N. M., e Ollerton, J. (1996) Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77, 1043-1060.