

Biologia reprodutiva e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (Orchidaceae)

EMERSON R. PANSARIN¹

(recebido: 13 de março de 2002; aceito: 6 de março de 2003)

ABSTRACT – (Reproductive biology and pollination in *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (Orchidaceae)). *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón occurs in Central and South America. The populations studied grows on rocks of semidecidual forests at the Serra do Japi (São Paulo State - Brazil). The flowers are green and white, and fragrant during the day and the night. In the study area, the pollinators are Ithomiinae butterflies and diurnal moths of the family Arctiidae, both reported to collect alkaloids of certain flowers. The tests performed revealed, however, that alkaloids are not present in flowers of *E. paniculatum*. The pollinators are attracted by the flowers of this species probably due to fragrance and nectar production. The treatments carried out revealed a high level of self-incompatibility within the flowers of *E. paniculatum*. Due to the tendency of many Lepidoptera to remain at specific micro-habitats, the occurrence of self-pollination is very common. The high level of self-incompatibility, combined with pollinator inefficiency, promotes a strong loss of pollen and consequently low fruit set. The small number of fruits produced is derived from cross-pollination. This fact plus to the production of thousands of seeds dispersed by wind in each fruit, probably is sufficient to maintain of the number individuals constant in the region, genetic variation, and extensive distribution of *E. paniculatum*.

Key words - *Epidendrum*, Orchidaceae, pirrolizidine alkaloid, pollination, reproductive biology

RESUMO – (Biologia reprodutiva e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (Orchidaceae)). *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón ocorre na América Central e do Sul. As populações estudadas desenvolvem-se como rupícola em matas semidecíduas de altitude, na Serra do Japi (Judiaí-SP). Suas flores são verdes e brancas, e fragrantas durante o dia e à noite. Na Serra do Japi, os polinizadores são borboletas da subfamília Ithomiinae e mariposas diurnas da família Arctiidae, ambas conhecidas por coletar alcalóides em flores. Os testes realizados, no entanto, demonstraram que alcalóides estão ausentes em flores de *E. paniculatum*, que atrai seus polinizadores provavelmente pela produção de néctar e fragrância. Os tratamentos realizados revelaram um alto grau de auto-incompatibilidade para a espécie. No entanto, devido à tendência de muitos lepidópteros permanecerem em seus micro-hábitats, muitas autopolinizações ocorrem. O alto grau de auto-incompatibilidade, somado à ineficiência por parte dos agentes polinizadores, provoca grande perda de pólen e, conseqüentemente, uma baixa produção de frutos. Mesmo com a baixa frutificação, os frutos produzidos são derivados de polinizações cruzadas. Este fato, adicionado à produção de milhares de sementes dispersas pelo vento em cada fruto, pode ser suficiente para a manutenção do número de indivíduos da espécie na região, bem como para a promoção de maior variabilidade genética e da ampla distribuição de *E. paniculatum*.

Palavras-chave - Alcalóide pirrolizidínico, biologia reprodutiva, *Epidendrum*, Orchidaceae, polinização

Introdução

Epidendrum paniculatum Ruiz & Pavón ocorre na América Central e do Sul. Na América do Norte, em indivíduos cultivados em casas de vegetação, foram observadas borboletas da subfamília Danainae visitando suas flores (Wagner 1973). Em condições naturais, van der Pijl & Dodson (1966) e DeVries & Stiles (1990) observaram que flores de *E. paniculatum* atraíam machos de lepidópteros da subfamília Ithomiinae, e sugeriram que a atração poderia ser causada pela

presença de alcalóides pirrolizidínicos. Pliske (1975a) sugeriu que a atração de lepidópteros por *E. paniculatum* se deve não somente à existência de alcalóides, mas também devido ao odor emitido por suas flores. Alcalóides pirrolizidínicos (PAs) são substâncias importantes na corte e defesa de machos de borboletas das subfamílias Danainae e Ithomiinae e de mariposas das famílias Arctiidae e Ctenuchidae (DeVries & Stiles 1990). Masters (1990) relatou que não apenas machos de borboletas Ithomiinae obtêm PAs, mas também fêmeas podem adquirir alcalóides diretamente de flores. Algumas espécies de borboletas adquirem PAs em seu estágio larval, predando algumas espécies de plantas que apresentam essas substâncias (Edgar 1982). Muitos Ithomiinae, no entanto, adquirem PAs quando adultos, de partes de plantas em decomposição (Boppre 1986),

1. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Caixa Postal 6109, 13083-970 Campinas, SP, Brasil. pansarin@unicamp.br

de outros insetos (Bernays *et al.* 1977) e, possivelmente, do néctar de algumas plantas (Pliske 1975a, Brown Jr. 1987). Esses alcalóides podem ser encontrados em gêneros pertencentes às famílias Asteraceae e Boraginaceae, sendo fundamentais para o sistema de polinização de muitas espécies (Pliske 1975a, b).

DeVries & Stiles (1990) relataram que borboletas da subfamília Ithomiinae podem viver grandes períodos e percorrer grandes distâncias transportando polinários, atuando, assim, como eficientes polinizadores. Um sistema clássico de polinização a longas distâncias pode ser observado em alguns grupos de orquídeas que ocorrem na América tropical, principalmente das subtribos Stanhopeinae e Catasetinae que, em geral, apresentam populações com baixa densidade e, suas flores, oferecem fragrâncias que são coletadas por machos de abelhas da tribo Euglossini. Machos de abelhas euglossine podem percorrer grandes distâncias e garantir o sucesso reprodutivo dessas orquídeas. Conforme a composição da fragrância floral, ocorrerá a atração de uma a várias espécies de abelhas Euglossini. Essa especificidade tem grande importância nos mecanismos de isolamento reprodutivo e especiação das orquídeas (Williams & Dodson 1972). A especialização floral para polinizadores específicos e a conseqüente diminuição da diversidade de polinizadores podem propiciar uma redução do gasto de energia da planta para garantir o sucesso da transferência de pólen entre indivíduos (Tremblay 1992). Herrera (1989) relata que polinizadores abundantes são ineficientes e que polinizadores eficientes são raros.

Em Orchidaceae, a ocorrência de autopolinização é evitada, principalmente, devido à existência de mecanismos florais. Em alguns casos, quando esses mecanismos florais são ineficientes ou inexistentes, barreiras genéticas, como a presença de alelos recessivos, podem evitar que frutos sejam formados através de autopolinização (Johansen 1990, Tremblay 1994).

Apesar de *Epidendrum* ser um gênero numeroso, com aproximadamente 1.000 espécies descritas (Morrison 1997), pouco se sabe a respeito da biologia reprodutiva dessas espécies, existindo somente alguns trabalhos realizados (Iannotti *et al.* 1987, Adams & Goss 1976, Goss & Adams 1976, Goss 1977). Dados a respeito dos agentes polinizadores das espécies de *Epidendrum* são mais numerosos (van der Pijl & Dodson 1966, Adams & Goss 1976, Goss & Adams 1976, Goss 1977, Catling 1990, DeVries & Stiles 1990).

É notável que os estudos com *Epidendrum paniculatum* tenham apenas sugerido que a espécie

apresente PAs em suas flores, com base apenas nos grupos de polinizadores encontrados, sem nunca realizarem qualquer teste para detecção dessas substâncias (van der Pijl & Dodson 1966, Pliske 1975a, DeVries & Stiles 1990). O presente trabalho teve por objetivos estudar a biologia reprodutiva de *E. paniculatum*, seus agentes polinizadores e mecanismos de polinização, bem como o sucesso reprodutivo para a espécie em ambiente natural. O estudo investigou, ainda, a presença de alcalóides nas flores, relacionando o grupo de polinizadores observados com a presença ou não dessas substâncias.

Material e métodos

O estudo foi realizado na Serra do Japi, nas proximidades da fazenda Ermida, no município de Jundiá, SP, cujas coordenadas geográficas aproximadas são 23°15' S e 46°52' W. A Serra do Japi é uma região composta predominantemente por matas semidecíduas de altitude e abrange quatro municípios. Segundo Pinto (1992), a região é caracterizada por altitudes que variam entre 700 a 1.300 m e temperaturas médias anuais entre 15,7 °C e 19,2 °C. A região apresenta uma sazonalidade bem marcada, com período de estiagem no inverno, principalmente no mês de julho, quando os níveis de precipitação podem ser inferiores a 41 mm, e períodos de chuva no verão, entre os meses de dezembro e janeiro, quando a precipitação alcança níveis superiores a 250 mm mensais.

Os tratamentos foram realizados em casa de vegetação, com seis indivíduos provenientes de três populações (denominadas A, B e C), localizadas a distâncias de aproximadamente 2,5 km uma da outra. De cada população foram selecionados dois indivíduos, cada um portando uma inflorescência. Em cada inflorescência foram realizados quatro tratamentos: autopolinização espontânea, autopolinização manual, emasculação e polinização cruzada, em vários grupos de três repetições de cada tratamento, nessa seqüência, ao longo de toda a inflorescência. As polinizações cruzadas foram realizadas sempre com pólen proveniente de indivíduos de populações distintas.

Foram, também, realizados tratamentos no campo com três indivíduos, em uma única população (A). Em cada uma das inflorescências, para cada indivíduo, foram realizados os mesmos tratamentos já mencionados, na mesma seqüência dos realizados em casa de vegetação, porém, foram reservadas somente cinco flores para cada tratamento. Tentou-se, com isso, não manipular toda a inflorescência, como foi feito nos indivíduos em cultivo. Os cruzamentos foram realizados, neste caso, com polinários de indivíduos distantes, na mesma população. Os indivíduos de *Epidendrum paniculatum* são facilmente distinguíveis entre si, no campo, já que não ocorre propagação vegetativa para a espécie (Pansarin, dados não publicados).

Todos os tratamentos, tanto em casa de vegetação como no campo, foram realizados sob as mesmas condições, forçando a deposição de polinários recém removidos e ainda túrgidos nos estigmas das flores. Para realização das polinizações cruzadas no campo, os polinários foram colocados em uma placa de petri com um disco de papel filtro previamente umedecido com água destilada. Deste modo, tanto as autopolinizações manuais como as polinizações cruzadas foram realizadas sob as mesmas condições, utilizando polínias ainda túrgidas.

As informações sobre taxa de frutificação em condições naturais (controle) foram obtidas em duas das três populações estudadas (A e B). Para cada população foram investigadas dez inflorescências, sendo duas de cada indivíduo, contando o número total de flores produzidas e o número de frutos formados por inflorescência.

A taxa de remoção de polinários foi avaliada em cinco indivíduos de uma mesma população (A). Para cada indivíduo foi utilizada uma inflorescência, na qual foram contados o número de flores disponíveis e o número de polinários removidos.

As observações de campo foram realizadas em uma das populações (A) entre os dias 21 de outubro e 2 de novembro de 1999, no período de 7:30 às 19:30, perfazendo 22 horas. Os dados sobre polinização noturna foram obtidos através da verificação, pela manhã, do número de polinários removidos em flores marcadas na noite anterior.

Os testes para detecção de alcalóides foram realizados utilizando-se flores de várias idades, coletadas no campo e congeladas. Os testes realizados foram o de Meyer (Abish & Reichstein 1960) e o de Dragendorff (Harborne 1984), indicados para análise de alcalóides totais, incluindo os pirrolizidínicos.

Para estudo dos tubos polínicos foram coletadas flores provenientes de autopolinização e polinização cruzada após 12, 24, 48, 72 e 96 horas da realização dos tratamentos. Também foi analisado o crescimento de tubos polínicos em flores abortadas, provenientes das autopolinizações. As flores foram fixadas em Carnoy durante 24 horas e, posteriormente, transferidas para álcool 70%. Para confecção das lâminas, os pistilos foram imersos em NaOH durante um tempo médio de 30 minutos, lavado em seguida em água destilada, corado com azul de anilina e, posteriormente, pressionado com o auxílio de uma lamínula e observado em microscópio de fluorescência (adaptado de Martin 1959).

A viabilidade do pólen e a receptividade do estigma foram testadas “*in vivo*”, ou seja, os cruzamentos foram realizados desde a antese das flores até a período de pré-fecundamento da flor.

O material testemunho de *Epidendrum paniculatum* (E.R. Pansarin 70, IX-1997) está depositado no herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC), e o material entomológico no Museu de História Natural da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC).

Resultados

Epidendrum paniculatum, na Serra do Japi, ocorre no interior da mata, ao longo de riachos, como rupícola ou, raramente, como epífita na base de algumas árvores. Nestes locais, pode formar densas touceiras, chegando a produzir até dez inflorescências por indivíduo. As inflorescências são terminais, nutantes e com numerosas flores ressupinadas, podendo chegar a mais de 270 por inflorescência (figura 1A). As flores são verdes e brancas, com aproximadamente 3 cm compr., incluindo o pedicelo (figura 1B). As flores são fragrantas durante todo o período em que a flor permanece receptiva e a fragrância pode ser percebida tanto durante o dia como à noite. Assim como a liberação dos voláteis florais, o início da antese das flores também pode ocorrer tanto durante o dia como à noite. Várias flores podem abrir simultaneamente, no entanto, a seqüência de abertura acontece sempre da base para o ápice da inflorescência. O labelo apresenta-se adnato à coluna, formando um tubo que se estende até aproximadamente 3/4 do comprimento total do ovário, disposto paralelamente a este, na porção inferior. Este canal é um nectário do tipo cunículo, que apresenta numerosas papilas.

Os tratamentos realizados na casa de vegetação revelaram um alto grau de auto-incompatibilidade para a espécie, pois aproximadamente 95% das polinizações cruzadas formaram frutos, sendo observado apenas um fruto derivado de autopolinização manual. Nenhuma das flores utilizadas para os tratamentos de emasculação e autopolinização espontânea formou frutos, indicando que a espécie não se reproduz por apomixia e necessita de um agente polinizador para que haja a formação de frutos (ver tabela 1).

Os resultados dos tratamentos realizados no campo concordaram com o obtidos em casa de vegetação. Não foi observado aborto de frutos formados através de polinizações cruzadas e nem formação de frutos derivados das autopolinizações manuais (tabela 1).

A análise dos tubos polínicos nos tratamentos em *Epidendrum paniculatum* demonstra que a auto-incompatibilidade da espécie ocorre ao nível do estigma. Frutos abortados, derivados de autopolinizações manuais, foram analisados e comparados com frutos em formação, derivados de polinizações cruzadas, coletados após o mesmo tempo de desenvolvimento. Os abortos das autopolinizações ocorreram em um intervalo compreendido entre sete e 10 dias após a polinização. Em todos os casos, é possível observar diversas áreas com formação de depósitos de calose (figura 1F). O mesmo não ocorre quando se analisam

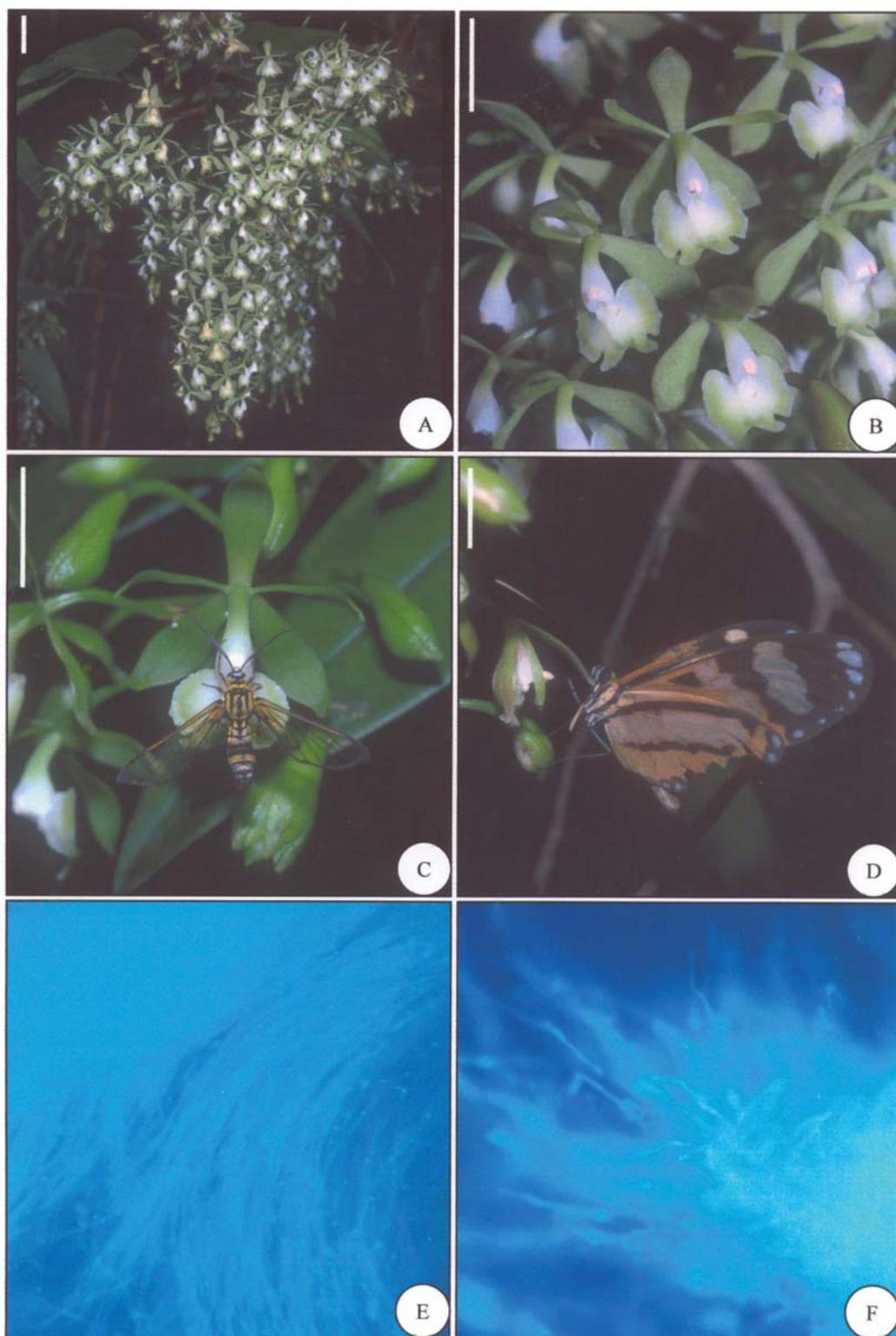


Figura 1. A-F. *Epidendrum paniculatum*. A. Inflorescência. B. Flores. C. Espécie de Arctiidae. D. *Hypothyris ninonia*. E. Tubos polínicos de uma flor na qual foi realizada polinização cruzada. F. Tubos polínicos de uma flor autopolinizada; Note a formação de depósitos de calose na extremidade dos tubos. Barras de escala: A = 2 cm; B-D = 1 cm; E = $\times 10$; F = $\times 40$.

Figure 1. A-F. *Epidendrum paniculatum*. A. Inflorescence. B. Flowers. C. Species of Arctiidae. D. *Hypothyris ninonia*. E. Pollen tubes of a cross-pollinated flower. F. Pollen tubes of a self-pollinated flower; Note the formation of calose deposits in the tip of the tubes. Escalae bars: A = 2 cm; B-D = 1 cm; E = $\times 10$; F = $\times 40$.

Tabela 1. Número total de flores utilizadas para cada tratamento em seis indivíduos na estufa e três no campo, e a proporção de frutos formados em cada tratamento, respectivamente.

Table 1. Total number of flowers used by each treatment from six plants in the greenhouse and three in the field, and fruit set by each treatment, respectively.

| Tratamentos realizados | Estufa | | Campo | |
|----------------------------|--------|------------|--------|-----------|
| | Flores | Frutos | Flores | Frutos |
| Autopolinização espontânea | 90 | 0 (0%) | 15 | 0 (0%) |
| Autopolinização manual | 78 | 1 (1,28%) | 15 | 0 (0%) |
| Emasculação | 78 | 0 (0%) | 15 | 0 (0%) |
| Polinização cruzada | 91 | 87 (95,6%) | 15 | 15 (100%) |

os tubos polínicos em crescimento nos frutos em formação, provenientes de polinizações cruzadas, nos quais pode ser observado um número muito elevado de tubos bem formados e sem deposição de calose (figura 1E). O tempo decorrido (12 dias), entretanto, não foi suficiente para que os tubos chegassem a atingir os óvulos.

A presença de frutos abortados, derivados de polinizações cruzadas na casa de vegetação, pode estar relacionada à grande carga de frutos a que foram submetidas as inflorescências, uma vez que toda a inflorescência foi utilizada para os experimentos. Isso não aconteceu com as inflorescências em que foram realizados os tratamentos no campo, nas quais o número de cruzamentos por inflorescência foi menor (tabela 1).

As flores de *Epidendrum paniculatum* iniciam o processo de fenecimento após aproximadamente sete dias da antese. Os testes de cruzamentos realizados neste período demonstraram que tanto o estigma permanece receptivo como o pólen viável desde a antese até a pré-fenecimento das flores.

As observações de campo realizadas na população A revelaram que lepidópteros, principalmente espécies de borboletas da subfamília Ithomiinae, são os principais agentes polinizadores para *Epidendrum paniculatum*. Outros lepidópteros diurnos, como borboletas da família HesperIIDae e mariposas da família ArctIIDae, também podem atuar como polinizadores, porém, são menos freqüentes (tabela 2). Embora observações não tenham sido realizadas à noite, as flores marcadas ao anoitecer e observadas no dia seguinte, antes do nascer do sol, revelaram que há remoção de polinários nesse período. A remoção de polinários por mariposas noturnas, entretanto, foi baixa (apenas dois polinários durante o período de observação) quando comparada com aquela realizada pelos demais polinizadores diurnos. Abelhas do gênero *Centris* sp. foram vistas durante três dias de

observação, pela manhã, visitando várias inflorescências sem, no entanto, removerem polinários.

A taxa de frutificação (controle) no ambiente natural revelou um número muito baixo de frutos formados em relação ao número total de flores produzidas (0,25%). Essa diferença passa a ser ainda maior quando se comparam as duas populações amostradas (A e B), com os indivíduos da população B, produzindo apenas um dos seis frutos amostrados (tabela 3).

Tabela 2. Visitantes florais observados na população A de *Epidendrum paniculatum*, no período de 21/10 a 2/11/1999.

Table 2. Floral visitors observed in the population A of *Epidendrum paniculatum* from 10/21 to 11/2/1999.

| Família / Espécies | Visitas | Polinários removidos |
|--|---------|----------------------|
| NYMPHALIDAE: ITHOMIINAE | | |
| <i>Episcada carcinia</i> Schaus 1902 | 16 | 7 |
| <i>Episcada clausina</i> Haensch 1909 | 2 | 1 |
| <i>Hypothesis ninonia</i> Bdv. 1836 (figura 1D) | 8 | 5 |
| <i>Placidula euryanassa</i> Feld. & Feld. 1860 | 1 | 1 |
| Ithomiinae sp. 1 | 1 | 1 |
| NYMPHALIDAE: NYMPHALINAE | | |
| <i>Philaethria wernickei</i> Röber 1906 | 1 | 1 |
| HESPERIIDAE: PYRGINAE | | |
| <i>Milanion leocaspis</i> Mab. 1878 | 1 | 1 |
| HESPERIIDAE: HESPERIINAE | | |
| <i>Urbanus simplicius</i> Stoll 1790 | 1 | 0 |
| Hesperiiinae sp. 1 | 1 | 0 |
| Hesperiiinae sp. 2 | 1 | 0 |
| ARCTIIDAE | | |
| ArctIIDae sp. 1 | 2 | 1 |
| ArctIIDae sp. 2 (figura 1C) | 1 | 1 |
| ArctIIDae sp. 3 | 1 | 1 |

A verificação do número de polinários removidos em relação a quantidade de flores disponíveis aos polinizadores revelou que, apesar do baixo índice de frutificação verificado para a espécie, é grande o número de polinários removidos. Dos 5 indivíduos amostrados, que juntos apresentaram 1.057 flores disponíveis, 230 (21,75%) polinários foram removidos. Foi verificado também, embora não quantificado, um número muito superior de polinários de *Epidendrum paniculatum* depositados nos estigmas das flores em relação ao número de frutos formados.

Independentemente do grupo de lepidópteros que visita a flor, a conduta do animal é semelhante, porém, há algumas particularidades, dependendo do grupo. Os lepidópteros de maior porte pousam na inflorescência apoiando-se em algumas flores. Algumas espécies menores, como os Arctiidae, pousam em uma única flor (figura 1C). Em seguida, desenrolam a probóscide introduzindo-a no nectário. O néctar não fica exposto e o lepidóptero, provavelmente, precisa raspar a probóscide na epiderme do nectário e danificar a cutícula para poder acessá-lo. O indivíduo pode visitar várias flores de uma mesma inflorescência ou inflorescências próximas da mesma planta, sem que ocorra a remoção de polinários. Quando, em uma determinada flor, a probóscide do animal entra em contato com a porção adesiva do polinário, imediatamente ocorre a aderência. O inseto, ao tentar deixar a flor, fica preso devido a um estreitamento na entrada do nectário, e também pelo fato do polinário ainda estar bastante túrgido. O tempo que cada espécie fica presa à flor depende do tamanho do animal e, conseqüentemente, da força que ele possa exercer para se libertar. Algumas espécies de Arctiidae podem ficar presas por até aproximadamente 30 minutos até conseguirem retirar o polinário e se libertarem da flor. Já as espécies de Ithomiinae podem ficar apenas

alguns segundos, libertando-se em seguida. Quando um inseto de tamanho muito reduzido, como mariposas diminutas e mosquitos, visita as flores e a porção adesiva do polinário adere à probóscide, ele pode ficar definitivamente preso, podendo morrer pendurado à flor.

Todos os visitantes florais que foram observados presos ao polinário pela probóscide e, posteriormente, debatendo-se para se libertarem da flor, jamais foram vistos visitando flores logo em seguida, distanciando-se do local. Por outro lado, por duas vezes, em flores e dias distintos, foram observados indivíduos de *Hypothyris ninonia* (figura 1D) depositando polínias no estigma de flores de *Epidendrum paniculatum*.

Os testes de Dragendorff e Meyer, a que foram submetidas as flores de *Epidendrum paniculatum* para detecção de alcalóides, revelaram resultado negativo, indicando ausência dessas substâncias para a espécie em indivíduos da região da Serra do Japi.

Discussão

O alto índice de polinários removidos em relação ao baixo índice de formação de frutos indica que a maioria dos visitantes que conseguem retirar polinários em *Epidendrum paniculatum* não tendem a retornar às flores. Os visitantes que retornam às flores podem estar trazendo polinários da mesma planta de onde foram retirados, já que a frutificação também é baixa em relação ao número de polinários que foram observados (embora não quantificados) nos estigmas. As autopolinizações não chegam a formar frutos, já que, como observado experimentalmente, esses só se formam quando há promoção de polinização cruzada. Tremblay (1992) relata que na maioria das Orchidaceae, nas quais os grãos de pólen são reunidos em polínias, a remoção do polinário por um polinizador ineficiente pode

Tabela 3. Taxa de frutificação (controle) em dez indivíduos amostrados em duas das populações estudadas (A e B). Caracteres entre parênteses indicam número de flores/números de frutos, respectivamente.

Table 3. Fruit set (control) in ten plants sampled from two of the studied populations (A and B). Parenthesised characters indicates number of flowers/number of fruits, respectively.

| Indivíduos amostrados | População A | | População B | |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Inflorescência A | Inflorescência B | Inflorescência A | Inflorescência B |
| Planta 1 | (131/1) | (98/0) | (121/0) | (124/0) |
| Planta 2 | (177/0) | (214/1) | (79/0) | (51/0) |
| Planta 3 | (37/1) | (99/0) | (92/0) | (70/0) |
| Planta 4 | (101/1) | (76/0) | (44/0) | (91/0) |
| Planta 5 | (205/1) | (276/0) | (102/1) | (184/0) |

resultar em grande perda de pólen, o que pode influenciar negativamente o sucesso reprodutivo das espécies.

Epidendrum paniculatum apresenta um conjunto de fatores que pode favorecer o processo de polinização cruzada. O primeiro fator é o tamanho do polinário que, quando túrgido, apresenta dimensões maiores que a abertura formada pelo labelo da flor e a coluna, oferecendo uma certa dificuldade para ser depositado no estigma. Para deposição do polinário no estigma é necessária uma desidratação prévia das polínias. Neste caso, a perda de água provoca uma diminuição nas dimensões do polinário, facilitando sua entrada no estigma. Padrão semelhante tem sido observado em algumas espécies do gênero *Bulbophyllum* (Borba & Semir 1999), em *Cirrhaea dependens* (Rchb. f.), em *Stanhopea lietzei* (Regel) Schltr. e *S. insignis* Frost ex Hook. (Pansarin 2000), e em *Trigonidium obtusum* Lindl. (Singer 2002). Outro fator está relacionado com a interrupção das visitas dos polinizadores às flores após a aderência do polinário na probóscide. Foi observado que os visitantes se debatem na tentativa de se libertarem da flor afastando-se em seguida, sem visitar outras flores.

Na família Orchidaceae, a maioria das espécies é auto-compatível, no entanto, a polinização cruzada parece ser a regra (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981). A prevenção da autopolinização é favorecida principalmente pela presença de mecanismos florais (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981, Catling & Catling 1991). Em *Epidendrum paniculatum*, apesar de existirem mecanismos florais que previnem a autopolinização, os principais polinizadores (borboletas Ithomiinae) tendem a permanecer em seus micro-habitats e, conseqüentemente, realizar autopolinizações. Neste caso, em *E. paniculatum*, a polinização cruzada é favorecida principalmente pelo alto grau de auto-incompatibilidade das flores, que induz aborto em frutos formados por autopolinizações. Johansen (1990) e Tremblay (1994) relatam que barreiras genéticas, como a presença de alelos recessivos letais, podem induzir aborto em flores autopolinizadas.

DeVries & Stiles (1990) relatam que borboletas Ithomiinae podem percorrer grandes distâncias, fato que favoreceria a polinização cruzada em *Epidendrum paniculatum*. No entanto, Brown Jr. (1992) relata que borboletas da subfamília Ithomiinae, na Serra do Japi, tendem a se agrupar em micro-habitats denominados “bolsões”, onde muitas espécies podem ser encontradas, principalmente devido à maior concentração de umidade e disponibilidade de recursos.

Quando se considera o baixo número de frutos formados, em relação à quantidade de polinários removidos, juntamente com as observações de polinários depositados nos estigmas das flores, pode-se concluir que as espécies de Ithomiinae observadas tendem a permanecer em seus micro-habitats e, eventualmente, a retornar aos mesmos indivíduos de onde os polinários foram retirados, realizando muitas autopolinizações.

Como não foram detectados alcalóides em flores de *Epidendrum paniculatum*, pode-se eliminar a hipótese de que, na Serra do Japi, a atração dos polinizadores ocorra pela presença dessas substâncias. A atração, neste caso, pode estar ocorrendo pelo simples fato de que estas plantas ocorrem nos mesmos micro-habitats que as espécies de Ithomiinae, que se dirigem às flores para obterem néctar, ou atraídos pela fragrância, como proposto por Pliske (1975a). Resultado negativo em testes para detecção de alcalóides também foi obtido em *Epidendrum floribundum* H.B.K. (Luning 1964) que, atualmente, é considerado um sinônimo de *E. paniculatum* (Cullen 1992).

DeVries & Stiles (1990) observaram que borboletas da subfamília Ithomiinae são os principais polinizadores de *Epidendrum paniculatum* na Costa Rica. Esses autores não realizaram testes para detecção de alcalóides para a espécie e podem ter inferido, erroneamente, a presença dessas substâncias com base na grande quantidade de borboletas (Ithomiinae) que visitam as flores. Não se pode, no entanto, descartar a hipótese de se estar investigando, na Serra do Japi, uma raça distinta de *E. paniculatum*, já que na Costa Rica esta espécie apresenta pequenas diferenças na morfologia floral quando comparada com as flores da região do presente estudo. DeVries & Stiles (1990) descrevem que somente nas regiões onde foram concentrados seus estudos, são encontradas duas formas distintas para a espécie, as quais, além de apresentarem pequenas diferenças morfológicas nas flores e inflorescência, florescem em períodos distintos do ano.

Apesar do baixo número de frutos formados, em relação ao número de flores produzidas em cada indivíduo de *Epidendrum paniculatum*, eles são derivados de polinizações cruzadas, o que pode ter como conseqüência uma maior variabilidade genética para as populações. Embora, em Orchidaceae, a maioria das espécies seja auto-compatível (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981, 1993), fatores ecológicos adicionados a mecanismos florais e auto-incompatibilidade, como observado em *E. paniculatum*,

evitam que frutos sejam formados a partir de autopolinizações. Mesmo com baixa produção de frutos em condições naturais, a espécie encontra-se bem estabelecida na região, onde podem ser observados vários indivíduos jovens desenvolvendo-se em todas as populações estudadas. Espécies de *Epidendrum*, assim como de outros gêneros da família Orchidaceae, produzem, em um único fruto, milhares de sementes que são dispersas pelo vento (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981, 1993). Esse fato pode ser uma importante estratégia para o estabelecimento de novas plantas de *E. paniculatum* na Serra do Japi, promoção de uma maior variabilidade genética, e ampla distribuição geográfica apresentada pela espécie.

Agradecimentos – O autor agradece a Marisa G. Mendonça, do Instituto de Química da Unicamp, pela realização dos testes para detecção de alcalóides, a André V. L. Freitas, do Instituto de Zoologia da Unicamp, pela confirmação das identificações dos lepidópteros, e a Lara F. Bressan pelo auxílio na confecção das lâminas para a observação dos tubos polínicos. Agradeço ao Prof. George J. Shepherd pela revisão crítica e sugestões, que muito contribuíram para o enriquecimento do presente trabalho. Agradeço também à Base Ecológica da Serra do Japi e à Guarda Municipal de Jundiá, pela autorização concedida para realização dos estudos e coletas na região e à Fapesp, pelo financiamento deste estudo (Processo n. 98/05097-0).

Referências bibliográficas

- ABISH, E. & REICHSTEIN, T. 1960. Reactivo de Meyer. *Helvetica Chimica Acta* 43:1844.
- ADAMS, R.M. & GOSS, G.L. 1976. The reproductive biology of the epiphytic orchids of Florida III – *Epidendrum anceps* Jacquin. *American Orchid Society Bulletin* 45:488-492.
- BERNAYS, E.A., EDGAR, J.A. & ROTHSCHILD, M. 1977. Pyrrolizidine alkaloids sequestered and stored by the aposematic grasshopper, *Zonocerus variegatus*. *Journal of Zoology (London)* 182:85-87.
- BOPPRE, M. 1986. Insects pharmacophagously utilizing defensive plant chemicals (pyrrolizidine alkaloids). *Naturwissenschaften* 73:17-26.
- BORBA, E.L. & SEMIR, J. 1999. Temporal variation in pollinarium size after its removal in species of *Bulbophyllum*: a different mechanism preventing self-pollination in Orchidaceae. *Plant Systematics and Evolution* 217:197-204.
- BROWN JUNIOR, K.S. 1987. Chemistry at the Solanaceae/Ithomiinae interface. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74:359-397.
- BROWN JUNIOR, K.S. 1992. Borboletas da Serra do Japi: diversidade, habitats, recursos alimentares e variação temporal. In *História natural da Serra do Japi* (L.P.C. Morellato, org.). Editora da Unicamp/Fapesp, Campinas, p.142-186.
- CATLING, P.M. 1990. Auto-pollination in the Orchidaceae. In *Orchid biology, reviews and perspectives* (J. Arditti, ed.). Timber Press, Oregon, v.5, p.121-158.
- CATLING, P.M. & CATLING, V.R. 1991. A synopsis of breeding systems and pollination in North American orchids. *Lindleyana* 6:187-210.
- CULLEN, J. 1992. *The orchid book: a guide to identification of cultivated orchid species*. Cambridge University Press, Cambridge.
- DEVRIES, P.J. & STILES, F.G. 1990. Attraction of pyrrolizidine alkaloid seeking lepidoptera to *Epidendrum paniculatum* orchids. *Biotropica* 22:290-297.
- DRESSLER, R.L. 1981. *The orchids: natural history and classification*. Harvard University Press, Cambridge.
- DRESSLER, R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge University Press, Cambridge.
- EDGAR, J.A. 1982. Pyrrolizidine alkaloids sequestered by Solomon Island danaine butterflies. The feeding preferences of the Danainae and Ithomiinae. *Journal of Zoology (London)* 196:385-399.
- GOSS, G.J. 1977. The reproductive biology of the epiphytic orchids of Florida V – *Epidendrum difforme* Jacquin. *American Orchid Society Bulletin* 46:630-636.
- GOSS, G.J. & ADAMS, R.M. 1976. The reproductive biology of the epiphytic orchids in Florida IV – Sexually selective attraction of moths to the floral fragrance of *Epidendrum anceps* Jacquin. *American Orchid Society Bulletin* 45:997-1001.
- HARBORNE, J.B. 1984. *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman & Hall, London.
- HERRERA, C. 1989. Pollinator abundance, morphology, and flower visitation rate: analysis of the “quantity” component in plant - pollinator system. *Oecologia* 80:241-148.
- IANNOTTI, M.A., STORT, M.N.S. & MORALES, M.A.M. 1987. O sistema reprodutivo de *Epidendrum rigidum* Jacq. (Orchidaceae). *Ciência e Cultura* 39:641-644.
- JOHANSEN, B. 1990. Incompatibility in *Dendrobium* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 103:165-196.
- LÜNING, B. 1964. Studies on Orchidaceae alkaloids I. *Acta Chemica Scandinavica* 18:1507-1516.
- MARTIN, F.W. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 37:125-128.
- MASTERS, A.R. 1990. Pyrrolizidine alkaloids in artificial nectar protect adult ithomiine butterflies from a spider predator. *Biotropica* 22:298-304.

- MORRISON, A. 1997. *Epidendrum*. In The illustrated encyclopedia of orchids (A. Pridgeon, ed.). Timber Press, Oregon, p.118-127.
- PANSARIN, E.R. 2000. Biologia reprodutiva e morfologia floral de espécies de Orchidaceae em diferentes ambientes no Estado de São Paulo. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- PINTO, H.S. 1992. Clima da Serra do Japi. In História natural da Serra do Japi (L.P.C. Morellato, org.). Editora da Unicamp/Fapesp, Campinas, p.30-38.
- PLISKE, T.E. 1975a. Attraction of Lepidoptera to plants containing pyrrolizidine alkaloids. Environmental Entomology 4:455-473.
- PLISKE, T.E. 1975b. Pollination of pyrrolizidine alkaloid-containing plants by male Lepidoptera. Environmental Entomology 4:474-479.
- SINGER, R.B. 2002. The pollination mechanism in *Trigonidium obtusum* Lindl. (Orchidaceae: Maxillariinae): sexual mimicry and trap-flowers. Annals of Botany 89:157-63.
- TREMBLAY, R.L. 1992. Trends in pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. Canadian Journal of Botany 70:642-650.
- TREMBLAY, R.L. 1994. Frequency and consequences of multi-parental pollinators of *Cypripedium calceolus* var. *pubescens* (Orchidaceae). Lindleyana 9:161-167.
- VAN DER PIJL, L. & DODSON, C.H. 1966. Orchid flowers: Their pollination and evolution. University of Miami, Coral Gables.
- WAGNER JR., W.H. 1973. An orchid attractant for monarch butterflies (Danidae). Journal of the Lepidopterists Society 27:192-196.
- WILLIAMS, N.H. & DODSON, C.H. 1972. Selective attraction of male euglossine bees to orchid floral fragrances and its importance in long distance pollen flow. Evolution 28:84-95.