



POLINIZAÇÃO BIÓTICA EM *OECEOCLADES MACULATA* (ORCHIDACEAE: EPIDENDROIDEAE): UM ESTUDO DE BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA EM POPULAÇÕES DO INTERIOR DO ESTADO DE SÃO PAULO

João Marcelo Robazzi Bignelli Valente Aguiar ^{1*}

Ludmila Mickeliunas Pansarin ² ; Emerson Ricardo Pansarin ¹

1 - Universidade de São Paulo, FFCLRP, Departamento de Biologia, 14040 - 901, Ribeirão Preto - SP, *jaumrobazzi@gmail.com

2 - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Vegetal, Cidade Universitária Zeferino Vaz, s/n, CP 6109, 13083 - 970, Campinas - SP

INTRODUÇÃO

Em Orchidaceae a transferência de pólen entre indivíduos normalmente é feita por intermédio de vetores bióticos. Polinização por fatores abióticos tem sido raramente documentada em orquídeas e esse fenômeno pode ocorrer em espécies que se autopolinizam por intermédio de chuva (Pansarin *et al.*, 2008). De acordo com Catling (1990), aproximadamente 350 espécies de orquídeas são autógamas. Em *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl., a ocorrência de autopolinização é intermediada pela ação de chuva sobre as flores (González - Díaz & Ackerman 1988).

Orquídeas que oferecem recompensas florais aos seus visitantes apresentam ampla variedade de recursos, como néctar, pólen, fragrâncias, pseudopólen e óleos florais (van der Pijl & Dodson 1966). Em Orchidaceae o recurso mais comum é o néctar floral (Dressler 1993), que é produzido por uma grande diversidade de estruturas.

A subtribo Cyrtopodiinae (Orchidaceae: Epidendroideae: Cymbidieae) abrange cerca de 12 gêneros e inclui *Oeceoclades* Lindl. (Dressler 1993), que apresenta 31 espécies distribuídas principalmente em regiões tropicais da América do Sul e da África, e porção oeste da Índia. *Oeceoclades maculata* é a espécie com distribuição mais ampla dentro do gênero, sendo encontrada na América do Sul, África tropical, Florida, Panamá e oeste da Índia, ocorrendo em locais perturbados por ação antrópica (Ackerman 1995). No Brasil essa espécie pode ser encontrada em diversas formações vegetacionais.

De acordo com em um estudo realizado por González - Díaz & Ackerman (1988), em populações nativas de Porto Rico, na América Central, foi verificado que a espécie é autógama, e o processo de autopolinização das flores acontece por intermédio da ocorrência de precipitação. Esse estudo aponta que o mecanismo de autopolinização é passivo. As polínias contatam o estigma devido à torção do estipe para baixo após deslocamento da antera pelas gotas de chuva. Durante

a realização desse trabalho nenhum polinizador biótico foi observado em flores de *O. maculata*.

Campbell (1987) aponta os problemas causados por generalizações realizadas em estudos de polinização feitos em uma única área. Estudos realizados em mais de uma área de ocorrência são importantes, principalmente em espécies com ampla distribuição. Muitas vezes, quando estudos de biologia floral de uma espécie são realizados em mais de uma localidade, diferenças qualitativas são observadas em relação aos polinizadores (Cole & Firmage 1984).

OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivo apresentar a biologia floral e reprodutiva de *Oeceoclades maculata* em populações nativas do Estado de São Paulo. Para isso foram investigados aspectos de sua fenologia, a morfo - anatomia floral, seus polinizadores e o mecanismo de polinização, a forma de reprodução da espécie através da realização de polinizações manuais, assim como o sucesso reprodutivo da espécie em condições naturais.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O trabalho foi desenvolvido no campus da Universidade de São Paulo, no município de Ribeirão Preto, cujas coordenadas geográficas aproximadas são 21°09'S e 47°51'W. O clima da região de Ribeirão Preto, de acordo com a classificação de Köppen (1948) é definido como Aw, com presença de sazonalidade bem marcada. Os verões são quentes e chuvosos, cujas temperaturas médias superam a marca dos 22°C e a precipitação médias maiores que 250 mm, e com invernos secos, nos quais as temperaturas raramente são inferiores a 18°C e a precipitação é inferior a 30 mm

nos meses mais frios. As populações estudadas estão localizadas em áreas de sub - bosque, em locais perturbados por ação antrópica.

Fenologia reprodutiva e morfo - anatomia floral

Para acompanhamento da fenologia e biologia floral foram realizadas visitas quinzenais às populações estudadas entre os meses de fevereiro de 2008 e agosto de 2009. A análise da morfologia floral foi feita com auxílio de estereomicroscópio binocular, a partir de flores frescas coletadas no campo (n = 30). Os cortes anatômicos de nectários florais (base do labelo) de *Oeceoclades maculata* foram feitos a partir de flores fixadas em FAA 50% por 48 horas e transferidas para álcool 70%. O material foi desidratado em série butílica e incluído em parafina. Cortes transversais do nectário foram feitos em micrótomo rotativo. Os cortes foram corados com safranina e azul de astra e examinados ao microscópio óptico.

Polinizadores e mecanismos de polinização

As observações de campo para a verificação da ação dos visitantes florais sobre as flores foram realizadas entre os dias 15 de janeiro e 03 de fevereiro de 2009, entre 08:00 e 18:00 h. As observações de campo foram realizadas sob diferentes condições de precipitação, temperatura e nebulosidade. Para verificar a atividade de possíveis polinizadores noturnos, flores intactas (n = 30) foram marcadas ao final de cada dia de observação e checadas no seguinte, pela manhã, quanto à remoção de polinários. Os visitantes florais encontrados durante as observações foram capturados e identificados.

Sistema de reprodução

A análise do sistema de reprodução de *Oeceoclades maculata* foi feita em ambiente natural utilizando 30 plantas (30 inflorescências). A partir de inflorescências previamente ensacadas com tule foram realizados três tipos de tratamentos manuais: autopolinização manual, polinização cruzada e emasculação. Para cada um dos tratamentos foram utilizadas 10 plantas (10 inflorescências). As flores foram manipuladas no primeiro dia de antese.

Para realização do tratamento para a verificação de ocorrência de autopolinização espontânea (flores intactas), 60 plantas coletadas no campo durante o período de floração do ano anterior (janeiro de 2008) foram mantidas em vasos plásticos e submetidas a dois tipos de tratamentos: 30 plantas (30 inflorescências) foram mantidas em um espaço de confeccionado com tule para excluir a ação de possíveis visitantes florais e permitir a ação da chuva sobre as flores. Nos dias com ausência de precipitação foram feitas simulações de chuva sobre as inflorescências. As outras 30 plantas (30 inflorescências) foram colocadas dentro de uma caixa de vidro para impedir tanto a ação da chuva quanto a ação dos visitantes florais. Após dias chuvosos flores foram coletadas no campo (n = 60 em 2008 e n = 162 em 2009) para verificar a possível ocorrência de autopolinização assistida pela chuva, como previamente documentado por González - Díaz & Ackerman (1988) em populações da América Central. Para essa análise, as colunas das flores foram observadas com o auxílio de um estereomicroscópio de modo que se pudesse observar a presença de polínias tocando o estigma da flor.

Sucesso reprodutivo

Para todos os tratamentos manuais realizados, assim como em 100 inflorescências durante o período de floração de 2009

e 105 inflorescências durante o período de floração de 2008, foi feita a quantificação dos frutos formados em relação ao número de flores produzidas.

RESULTADOS

Fenologia reprodutiva e morfo - anatomia floral

Após as observações foi constatado que a maioria das plantas floresce entre o final do mês de dezembro e o início do mês de fevereiro, porém podem ser encontrados indivíduos em flor até o mês de maio. A abertura das flores ocorre da base para o ápice da inflorescência. As flores abrem ao amanhecer e, quando intactas, duram cerca de 5 - 8 dias; flores polinizadas fenescem em cerca de quatro dias. Os frutos levam cerca de 8 meses para amadurecerem.

Os cortes anatômicos evidenciaram a presença de estruturas secretoras de néctar na base do labelo. Esse nectário é semelhante ao documentado para *Epidendrum secundum* Jacq. (Pansarin & Amaral 2008), mas sem papilas. O nectário de *O. maculata* possui formato tubular e apresenta duas fileiras de células secretoras epiteliais cuja secreção é liberada no lúmen. O néctar fica retido por tricomas digitiformes unicelulares localizados na base do nectário. O núcleo dessas células secretoras apresentou - se bem desenvolvido e o citoplasma foi densamente corado, características de células metabolicamente ativas. Há alguns idioblastos com cristais e ráfides de oxalato de cálcio espalhados ao longo do corpo do labelo, entre as células parenquimáticas.

Polinizadores e mecanismos de polinização

Durante as observações de campo foi documentado que as flores de *Oeceoclades maculata* foram visitadas e polinizadas exclusivamente por *Heliconius ethila narcaea* (Godart, 1819) (Nymphalidae, Nymphalinae). As visitas ocorreram ao longo de todo o dia, apenas em dias sem precipitação, sendo mais frequentes entre 11 - 12h. Não houve registro de polinizadores noturnos. O processo de polinização de *O. maculata* é muito semelhante ao que foi previamente documentado para *E. secundum* (Pansarin & Amaral 2008), uma espécie que também é polinizada por *H. ethila narcaea*. Cada visita se inicia com a borboleta pousando em uma ou mais flores da inflorescência. Posteriormente o inseto desenrola a probóscide e a introduz entre as máculas, que atuam como guias de néctar, até atingir o nectário. Após tomar o néctar a borboleta abandona a flor. Nesse momento a porção dorsal da probóscide contata o viscido do polinário, removendo - o.

Sistema de reprodução

Os tratamentos manuais realizados nas flores de *Oeceoclades maculata* mostraram que frutos são formados tanto por meio de autopolinização quanto por polinização cruzada. As flores emasculadas não formam frutos. As plantas submetidas ao tratamento de autopolinização espontânea (precipitação não excluída) tiveram alta taxa de frutificação, enquanto aquelas submetidas a esse mesmo tratamento, mas excluindo a precipitação, formaram poucos frutos. Através de observações às flores do tratamento de autopolinização espontânea (precipitação excluída) foi constatado que o aumento da umidade do ar (em dias chuvosos) causa a torção do estipe e o posterior contato das polínias com o estigma

em algumas flores. Adicionalmente, das 60 flores coletadas após dias chuvosos em 2008, 86,67% sofreram autopolinização, 1,67% tiveram seus polinários removidos e 11,67% estavam intactas. As coletas em 2009 mostraram que ocorreu autopolinização em 76% das flores, 14,8% tiveram seus polinários removidos, 3,1% permaneceram intactas e 6,1% estavam com uma polínia no estigma e o mecanismo de torção do estipe não foi detectado, o que sugere que as flores foram polinizadas por um vetor biótico.

Sucesso reprodutivo

76,05% das flores autopolinizadas manualmente formaram frutos e o tratamento de polinização cruzada proporcionou uma taxa de frutificação de 70,37%. As flores emasculadas não formam frutos. As taxas de frutificação nos tratamentos de autopolinização espontânea foram 5,84% (precipitação excluída) e 41,28% (precipitação não excluída). A quantificação da taxa de frutificação natural em 2008 revelou que 47,94% das flores formadas pelas inflorescências observadas formaram frutos. A contagem também mostrou que a população naquele ano obteve uma média de 9,25 flores e 4,44 frutos formados por inflorescência. Em 2009, a taxa de frutificação natural foi 47,75% e a população nesse ano apresentou uma média de 11,14 flores e 5,32 frutos por inflorescência.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que *Oeceoclades maculata* é autocompatível em populações do interior do estado de São Paulo, inclusive formando frutos através de autopolinização espontânea de suas flores. Nossos dados revelam que a presença de precipitação aumenta a taxa de frutificação da espécie, mas não o único fator responsável pela formação de frutos. O aumento de umidade do ar e a presença de um vetor biótico (*Heliconius ethila narcaea*) também são responsáveis pela formação de frutos em *Oeceoclades maculata*. O registro de polinização biótica é novo para a espécie e garante a formação de frutos derivados de polinização

cruzada, garantindo um aumento da variabilidade genética em *O. maculata*. Flores de *O. maculata* oferecem néctar como recurso que é produzido por células secretoras do interior do nectário presente na base do labelo.

REFERÊNCIAS

- Ackerman, J.D. 1995.** An orchid flora of Puerto Rico and the Virgin Islands. v. 73. NYBG, New York.
- Campbell, D.R. 1987.** Interpopulational variation in fruit production: the role of pollination - limitation in the Olympic Mountains. *American Journal of Botany* 74: 269 - 273.
- Catling, P.M. 1990.** Auto - pollination in the Orchidaceae. In *Orchid Biology, reviews and perspectives*. In (Arditti, J., ed.) Timber Press, Oregon, v.5, p.121 - 158.
- Cole, F.R. & Firmage, D.H. 1984.** The floral ecology of *Platanthera blephariglottis*. *American Journal of Botany* 71: 700 - 710.
- Dressler, R.L. 1993.** Phylogeny and classification of the orchid family. Portland, Dioscorides Press.
- Gonzalez - Díaz, N. & Ackerman, J.D. 1988.** Pollination, fruit set, and seed production in the orchid *Oeceoclades maculata*. *Lindleyana* 3: 150 - 155.
- Köppen, W. 1948.** Climatologia: com um estúdio de los climas de la tierra. México: Fondo de Cultura Econômica.
- Pansarin, E.R. & Amaral, M.C.E. 2008.** Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). *Floral variation: a consequence of natural hybridization?* *Plant Biology* 10: 211 - 219
- Pansarin, L.M.; Pansarin, E.R. & Sazima, M. 2008.** Facultative autogamy in *Cyrtopodium polyphyllum* (Orchidaceae) through a rain - assisted pollination mechanism. *Australian Journal of Botany* 56: 263 - 267.
- Van der Pijl, L. & Dodson, C.H. 1966.** *Orchid Flowers, their Pollination and Evolution*. University of Miami Press, Coral Gables.