

LINA MARIA CABALLERO VILLALOBOS

**MORFOLOGIA FLORAL, BIOLOGIA DA POLINIZAÇÃO E SUCESSO  
REPRODUTIVO EM QUATRO ESPÉCIES DE *Cattleya* Lindl.  
(ORCHIDACEAE: LAELIINAE) NO SUL DO BRASIL**

PORTO ALEGRE- RS  
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**MORFOLOGIA FLORAL, BIOLOGIA DA POLINIZAÇÃO E SUCESSO  
REPRODUTIVO EM QUATRO ESPÉCIES DE *Cattleya* Lindl. (ORCHIDACEAE:  
LAELIINAE) NO SUL DO BRASIL**

LINA MARIA CABALLERO VILLALOBOS

ORIENTAÇÃO: PROF. DR. RODRIGO BUSTOS SINGER

PORTO ALEGRE-RS, BRASIL  
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

**MORFOLOGIA FLORAL, BIOLOGIA DA POLINIZAÇÃO E SUCESSO  
REPRODUTIVO EM QUATRO ESPÉCIES DE *Cattleya* Lindl. (ORCHIDACEAE:  
LAELIINAE) NO SUL DO BRASIL**

LINA MARIA CABALLERO VILLALOBOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Botânica.

ORIENTAÇÃO: PROF. DR. RODRIGO BUSTOS SINGER

PORTO ALEGRE-RS, BRASIL  
2015

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho não teria sido realizado sem a participação de muitas pessoas que, de uma ou outra forma colaboraram nestes dois anos. Agradeço à Organização dos Estados Americanos (OEA) pelo apoio concedido através do *Programa de Alianzas para la Educación y la Capacitación OEA-GCUB 2012* e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Ministério da Educação, pela bolsa concedida durante meus estudos no Brasil. Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da UFRGS pelo subsídio com alguns dos custos de saídas de campo durante os dois anos do presente trabalho.

Aos funcionários do Parque Estadual de Itapuã (Itapuã, RS), Parque Nacional Aparados da Serra e Parque Nacional da Serra Geral (Cambará do Sul, RS), Parque Estadual Itapeva (Torres, RS) e do Ecocamping (Pelotas, RS) pelo apoio logístico e, em especial, um agradecimento sincero ao senhor Jairo Schmitz, o famoso “Seu Jairo”, pelo auxílio, respeito e dedicação demonstrados em todas as ocasiões no Parque Itapuã. Também agradeço ao Analista Ambiental do ICMbio, Sr. Lúcio Marangon dos Santos por sua boa atitude e suporte durante o trabalho de campo na Serra e ao Professor Paulo G. Windisch por seu apoio logístico e colaboração na sua propriedade.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Rodrigo B. Singer por confiar na realização deste trabalho e em geral pela sua ajuda durante estes anos. Agradeço a “minha equipe” Cristiano R. Buzatto, Michelle H. Nervo e Tângela Perleberg, grandes amigos e companheiros de trabalho e de estudos botânicos. Agradeço muito pelas coletas, observações, discussões, viagens, fotos, sugestões, conselhos, enfim, pela valiosa amizade e suas palavras para não desanimar e conseguir superar as dificuldades. Agradeço às amigas Daniele Munareto Rodrigues (Déda), Camila Inácio, Bruna Boeni e Mabel Baéz pelo seu apoio geral e boas conversas durante este tempo.

Agradeço à Equipe Editorial da Revista *Acta Biológica Colombiana*, da Universidade Nacional de Colombia, em especial à sua editora Prof. Dra. Nubia Matta Camacho por sua confiança e permitir realizar meu mestrado. Sou grata por toda sua paciência e ajuda durante estes dois anos distantes.



Finalmente e os mais importantes, agradeço por entender minha ausência e por todo seu amor, apoio moral e econômico, à minha amada família na Colômbia, que é impossível descrever as saudades. Dedico este trabalho que tentei fazer com a maior dedicação e persistência possível para meu querido Gustavo e minha adorada Julieta, agradeço muito sua paciência aguardando em casa durante muitos dias e também toda sua ajuda quando estiveram até no mato me ajudando; o Gustavo foi meu maior suporte em cada assunto pessoal e acadêmico durante o desenvolvimento desta dissertação, foi quem me motivou, me ensinou e acreditou nas minhas capacidades.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUÇÃO .....	4
CAPÍTULO 1 .....	33
<b>A generalized food-deceptive pollination system in four <i>Cattleya</i> Lindl. (Orchidaceae: <i>Laeliinae</i>) species from Southern Brazil</b>	
<i>Lina Caballero Villalobos, Gustavo A. Silva-Arias, Cristiano Roberto Buzatto, Michelle Helena Nervo e Rodrigo B. Singer</i>	
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81

## LISTA DE TABELAS

### INTRODUÇÃO

**Tabela 1.** Localização e características ecológicas das populações amostradas de quatro espécies do gênero *Cattleya* no estado do Rio Grande do Sul, Brasil ..... 19

### CAPÍTULO 1

**Table 1.** Localization, ecological features and sample sizes for populations of *Cattleya* study species in Rio Grande do Sul state, southern Brazil ..... 65

**Table 2.** Breeding system experiments; fruiting formation (%) and percentage of seed viability per fruit in experimental pollinations in four *Cattleya* species for agasmopermy (intact flowers), emasculation, self- and cross-pollination treatments. .... 66

**Table 3.** Summary of pollinator observations in four species of *Cattleya* in Rio Grande do Sul State, Southern Brazil ..... 67

**Table 4.** Observation period and number of hours spend recording the pollination biology of four *Cattleya* species in Rio Grande do Sul State, Southern Brazil..... 68

**Table 5.** Summary results for natural fruit set and Nilsson's efficiency factor in four *Cattleya* species of Rio Grande do Sul state, southern Brazil ..... 69

### Supporting Information

**Table T1.** Main flowers features in four *Cattleya* species of Rio Grande do Sul state, southern Brazil ..... 75

**Table T2.** Number and percentage of pollinia remotions and depositions at three observation points in all localities visited of studied species..... 76

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

**Figura 1.** Biomas e localidades das populações amostradas de quatro espécies do gênero *Cattleya* no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Bioma Pampa**, 1. Parque Estadual Itapuã (Viamão), 2. Ecocamping e CaVG (Pelotas), 3. Lami (Porto Alegre). **Bioma Mata Atlântica**, 4. Parque Estadual Itapeva (Torres), 5. Parque Nacional Aparados da Serra (Cambará do Sul), 6. Parque Nacional da Serra Geral (Cambará do Sul),..... 20

### CAPÍTULO 1

**Figure 1.** Life form and flower frontal view in four *Cattleya* species of Rio Grande do Sul State, southern Brazil. *Cattleya intermedia* (A–B). *C. purpurata* (C–D). *C. tigrina* (E–F). *C. coccinea* (G–H)..... 71

**Figure 2.** Morphological details of fertile flower organs (column ventral view and pollinarium) of four *Cattleya* species of Rio Grande do Sul state, southern Brazil. *Cattleya intermedia* (A–B). *C. purpurata* (C–D). *C. tigrina* (E–F). *C. coccinea* (G–H). **r:** rostellum. **s:** stigmatic surface. **v:** viscidum. Scale bars = 5mm. .... 72

**Figure 3.** The flowers, their pollinators and visitors. A. *Xylocopa augustii* visiting an inflorescence of *Cattleya intermedia*. B. *Xylocopa frontalis* with pollinarium of *C. tigrina* fixed on its scutellum. C. *Bombus atratus* with pollinarium of *C. purpurata* attached to its scutellum. D. *Epicharis* sp. with pollinarium of *C. purpurata* ..... 73

**Figure 4.** Map of Southern Brazil indicating the locations of *Cattleya* populations sampled along Rio Grande do Sul state. Details of the different species of *Cattleya* and their pollinators, by locality ..... 74

## RESUMO

### **Morfologia floral, biologia da polinização e sucesso reprodutivo em quatro espécies de *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae: Laeliinae) no Sul do Brasil**

Lina María Caballero Villalobos

*Cattleya* é um gênero Neotropical com 114 espécies, sendo mais da metade destas exclusivas do Brasil. Embora as espécies de *Cattleya* sejam de grande importância horticultural, o número de trabalhos relativos à polinização, sistema reprodutivo e comportamento dos polinizadores é bastante reduzido. No presente trabalho foram analisadas onze populações para quatro espécies, das quais três são ameaçadas (de acordo com os critérios da IUCN) e nativas de *Cattleya* do Rio Grande do Sul, Brasil. Apresentam-se resultados de caracterização morfológica, fenologia floral, sistema reprodutivo, remoção e deposição de polinários, sucesso na formação de frutos e interações com os polinizadores para *C. coccinea*, *C. intermedia*, *C. tigrina* e *C. purpurata*. Foi documentada pela primeira vez a polinização de *C. intermedia*, *C. purpurata* e *C. tigrina* por quatro espécies de abelhas dos gêneros *Xylocopa*, *Bombus* e *Epicharis*. A visitação exclusiva por beija-flores foi corroborada para *C. coccinea*. De um modo geral, as espécies mostraram-se autocompatíveis, mas polinizadores dependentes. Verificou-se nas quatro espécies ausência de néctar e um sistema de polinização baseado no mecanismo por engodo. Encontrou-se que em todas as espécies estudadas a taxa de visitas é baixa e a frutificação em condições naturais é infrequente. Verificou-se nas quatro espécies um maior sucesso na formação de frutos através de polinização cruzada.

**Palavras-chave:** *Bombus*, Laeliinae, Mata Atlântica, melitofilia, polinização por engodo, Trochilidae, *Xylocopa*.

**ABSTRACT****Floral morphology, pollination biology and reproductive success of four species of *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae: Laeliinae) in southern Brazil**

Lina María Caballero Villalobos

*Cattleya* Lindl. is a Neotropical genus that comprises 114 species with more than a half restricted to Brazil. In spite of the horticultural importance of the *Cattleya* species their pollination, reproductive system, and behaviour of its pollinators is poorly known. In this work were analyzed eleven populations of four species, of which three are endangered (according to the IUCN criteria) native species of *Cattleya* from Rio Grande do Sul, Brazil. Here are shown data and results of morphological characterization, floral phenology, reproductive system, pollinary removal and deposition, fruit set success, and interactions with the pollinator for *C. coccinea*, *C. intermedia*, *C. tigrina* and *C. purpurata*. It was documented for first time the pollination of *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina* by four bee species from the genus *Xylocopa*, *Bombus* and *Epicharis*. The exclusive visitation from the hummingbird was confirmed for *C. coccinea*. All studied species are self-compatible, but pollinator dependent. There were also verified a lack of reward, and a pollination system based on deceit for the four species. The findings show that in all the studied species the visitation ratio is low, and the natural fruiting has a low frequency. All studied species showed higher fruit production after cross-pollination.

**Keywords:** Atlantic rainforest, *Bombus*, Laeliinae, melittophily, pollination by deception, *Xylocopa*.





# INTRODUÇÃO GERAL



## INTRODUÇÃO

### ORCHIDACEAE

Orchidaceae Juss., pertence à ordem Asparagales Link (APG III 2009), sendo constituída por cerca de 24.000 espécies (Dressler 2005) e 736 gêneros (Chase *et al.* 2015). Sua distribuição é cosmopolita (com exceção da Antártica), com maior diversificação e abundância no Neotrópico (Roberts & Dixon 2008). O sistema de Chase *et al.* (2015) sintetiza os trabalhos mais atuais em filogenia dentro da família Orchidaceae. Do ponto de vista morfológico, as subfamílias separam-se, principalmente por características das políneas, anteras e folhas. Estima-se que o Brasil é um dos países que contém a maior diversidade, já que tem aproximadamente 2.400 espécies (Pabst e Dungs 1975, Barros *et al.* 2012), das quais 1.620 são endêmicas principalmente do domínio da Mata Atlântica (Barros *et al.* 2009, 2010). O trabalho de Stehmann *et al.* (2009) apresenta as orquídeas como a família representada com maior riqueza e endemismos a nível genérico e específico para a Mata Atlântica, sendo assim considerado um dos centros de diversidade da família. As flores comumente conhecidas como "orquídeas" (família *sensu* Orchidaceae) apresentam, frente a qualquer outro grupo das angiospermas, uma grande variabilidade e diversidade nas adaptações morfológicas (Chase *et al.* 2003), das quais sua diversidade está no tamanho e nos detalhes das estruturas morfológicas (Dressler 1993). Elaborados arranjos florais chamaram a atenção dos botânicos, principalmente por causa de sua diversidade e variações nos órgãos vegetativos e no mecanismo de polinização (Darwin 1862; van der Pijl e Dodson 1966; Cozzolino & Widmer, 2005; Tremblay *et al.* 2005; Jersáková *et al.* 2006).

Nas orquídeas, as sépalas e pétalas (em verticilos de três) são semelhantes. No entanto, a pétala mediana com tamanho, cor e ornamentação diferente das outras peças



florais, encontra-se oposta ao estame fértil e é chamada de labelo (van der Pijl & Dodson 1966). De forma geral, dentro das características mais destacadas das orquídeas, o ginostêmio é uma estrutura especializada na polinização (van der Pijl & Dodson 1966, Roberts & Dixon 2008). Para destacar, o ginostêmio das orquídeas apresenta: 1) **coluna**, onde o gineceu e o androceu são fusionados em maior ou menor grau, formando esta única estrutura floral (Dressler 1993) e, 2) **políneas**, nas quais os grãos de pólen estão unidos em pacotes (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1993). Por sua vez as políneas podem estar unidas a estruturas e/ou secreções originadas no estigma, antera e/ou tecido estéril da coluna. Este conjunto é denominado como polinário. Suas flores tem ovário ínfero, em regra unilocular e com placentação parietal. Os frutos são cápsulas com numerosas e minúsculas sementes, uniformes, desprovidas de endosperma, com embrião rudimentar e dispersadas pelo vento.

Acredita-se que o amplo padrão de variação morfológica das Orchidaceae tem sido facilitado por sua rápida evolução através de características intrínsecas da família como: indivíduos perenes de vida longa, transferência do pólen em massas compactas (políneas) e produção de grande número de óvulos e sementes sem endosperma, facilitando a dispersão à longas distâncias pelo vento (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1993, Roberts & Dixon 2008). A presença destes atributos morfológicos constitui-se no sucesso da adaptação floral aos insetos e pássaros como principais agentes polinizadores (van der Pijl & Dodson 1966).

As abelhas (Ordem Hymenoptera) têm sido reconhecidas como o grupo mais importante de polinizadores das orquídeas, sendo responsáveis pela polinização de cerca de 60 % das espécies (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981). A polinização por Hymenoptera tem sido indicada como basal na família (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981). No entanto, segundo Schiestl (2005), existem também orquídeas

polinizadas por aves, besouros, dípteros e lepidópteros (diurnos e noturnos). Mesmo reconhecida por sua grande diversidade floral e extraordinários mecanismos de polinização, a família Orchidaceae também apresenta uma alta ocorrência de flores que não oferecem recursos (Jersáková *et al.* 2006). No entanto, a maioria das espécies de orquídeas tendem a ser polinizadas por uma ou poucas espécies de polinizadores (Dodson 1962; van der Pijl & Dodson 1966, Tremblay 1992, Johnson e Steiner 2000), sugerindo que os processos de polinização são altamente especializados ao envolver poucas espécies de vetores animais na reprodução. As adaptações morfológicas especiais em resposta aos polinizadores específicos são consideradas como os fatores mais importantes no desenvolvimento e manutenção do grande número de espécies na família, com o objetivo de assegurar a polinização cruzada (Dodson 1962, van der Pijl & Dodson 1966, Faegri & van der Pijl 1979). Por essa razão, vários autores como Dodson (1962), Dressler (1981, 1993) e van der Pijl & Dodson (1966) enfatizaram a importância de conhecer a biologia reprodutiva das espécies de Orchidaceae, principalmente a polinização, com o fim de conseguir um melhor entendimento dos padrões de variação e da evolução deste grupo.

## **POLINIZAÇÃO NAS ORQUÍDEAS**

A extraordinária diversidade taxonômica e morfológica das orquídeas é acompanhada por uma série notável de polinizadores e sistemas de polinização (Gaskett 2011). O sucesso reprodutivo das orquídeas depende em larga medida da eficiência da dispersão do pólen. Para Papadopulos *et al.* (2013), a polinização de orquídeas é realizada na sua maioria por um vetor animal, motivo pelo qual o sucesso da polinização das orquídeas é altamente suscetível à frequência de visitas e ao comportamento de forrageio dos polinizadores (Kawai & Kudo 2009), e as flores devem exibir estratégias para promover a polinização e o seu sucesso reprodutivo (Armbruster 2014). No entanto um terço das espécies não apresenta recursos florais (Cozzolino & Widmer 2005, Jersáková *et*

*al.* 2006), o qual sugere que os mecanismos de polinização por engodo são comuns, mas ainda representa um grande quebra-cabeça para a biologia evolutiva (Ackerman 1986, Matsui *et al.* 2001, Jersáková *et al.* 2006).

Embora exista autogamia (10–15 %) nesta família (Roberts & Dixon 2008), a reprodução sexual é principalmente polinizador-dependente e é afetada por limitação nos recursos (Matsui *et al.* 2001, Tremblay *et al.* 2005, Walsh *et al.* 2014). Sobre isso, Schiestl (2005) e Ferdey *et al.* (1998) sugerem que as espécies que são polinizador-depedentes, mostram uma notável especialização na atração para os polinizadores. Por outro lado, é conhecido que as orquídeas sem recursos florais apresentam um menor sucesso na formação de frutos do que aquelas que os apresentam (Neiland & Wilcock 1998, Jersáková & Kindlmann 2004, Tremblay *et al.* 2005).

Papadopulos *et al.* (2013) relataram que, dado o impacto forte e direto da atração dos polinizadores no sucesso reprodutivo das plantas, estas preferências podem resultar em pressões seletivas que influenciam a morfologia floral. Para estes autores a previsão é que em espécies sem recursos florais a seleção natural agirá contra a floração sincrônica, porque essa característica pode acelerar a taxa na qual os polinizadores inexperientes conseguem distinguir e, posteriormente, evitariam as flores que não tem recompensa (Papadopoulos *et al.* 2013). Segundo Cozzolino & Widmer (2005) a polinização efetuada por polinizadores em orquídeas sem recursos pode se considerar uma estratégia evolutivamente muito bem sucedida, relacionada com a procura do incremento no sucesso reprodutivo, aumento na variabilidade genética e diminuição da endogamia. Porém tem sido demonstrado que características florais como tamanho, cor, fragrâncias florais, forma e período de florescimento podem influenciar na visitação e conseqüentemente o fluxo de pólen nas orquídeas (Parra-Tabla 2004, Roberts & Dixon 2008, Walsh *et al.* 2014). Fatores abióticos, distribuição espacial, tamanho populacional, exposição floral, densidade floral local e

história de vida das plantas podem modificar a abundância e a distribuição dos recursos para os polinizadores, alterando assim padrões de transporte de pólen, fluxo gênico e pressões seletivas responsáveis pela evolução floral (Parra-Tabla & Vargas 2007, Sun *et al.* 2009). Botânicos, taxonomistas e ecologistas químicos fizeram progressos notáveis no estudo da polinização em orquídeas com engano (Gaskett 2011), mas novas investigações complementares de entomologia e ecologia devem gerar uma compreensão mais completa da evolução e manutenção de tais interações planta-animal ainda enigmáticas.

### **SUBTRIBO LAELIINAE Benth**

O gênero *Cattleya* Lindl., está inserido na subfamília Epidendroideae Lindl. (van den Berg 2004, 2010, 2014). Segundo Cameron *et al.* (1999) esta é a maior e mais diversificada das subfamílias com cerca de 18.000 espécies. Apresenta muitas espécies epífitas, caracterizadas por possuir antera terminal e incumbente, 2–8 políneas rígidas, geralmente dotadas de apêndices como caudícula e víscido. Dentro desta subfamília encontra-se a subtribo Laeliinae, com aproximadamente 2.100 espécies e cerca de 35 gêneros (Chase *et al.* 2015). Esta é a segunda maior subtribo de Orchidaceae (Dressler 1993), constituída de plantas epífitas, rupícolas ou terrestres distribuídas exclusivamente no Neotrópico (Dressler 1993). Laeliinae pode ser considerada um dos melhores exemplos de radiação adaptativa em Orchidaceae, uma vez que neste grupo são encontrados quase todos os tipos de polinizadores (van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1981, van der Cigel 2001, Borba & Braga 2003). A grande diversidade morfológica presente na subtribo provavelmente está relacionada com a especialização dos polinizadores bem como adaptações aos diferentes habitat (van der Pijl & Dodson 1966, van der Berg *et al.* 2009).

Laeliinae é caracterizada por plantas de caules secundários delgados com folhas dísticas, ou formando pseudobulbos, com folhas apicais, inflorescência terminal, raramente lateral, simples ou ramificada, com uma até muitas flores de tamanhos variados.

Caracteriza-se, principalmente, por possuir políneas em número de 2, 4, 6 ou 8, em geral achatadas lateralmente (Dressler 1993). As políneas apresentam-se como estruturas globosas de consistência cerosa que não se fragmentam. Dressler (1981), descreve de forma geral as flores da maioria das espécies de Laeliinae com formato geral de goela ou fauce, nas quais o labelo recobre a coluna (formando uma câmara), na qual os polinizadores tem que entrar durante a procura de possíveis recursos florais e assim, removem as políneas que se aderem na região dorsal do animal.

A subtribo Laeliinae sofreu importantes modificações nomenclaturais nos últimos anos. Van den Berg & Chase (2000) e van den Berg *et al.* (2005, 2009), realizaram análises filogenética para toda a subtribo mostrando que Laeliinae forma um grupo monofilético, com cerca de 35 gêneros. Adicionalmente, a partir de sequências de DNA nuclear e plastidial, estes autores concluíram que as espécies dos gêneros *Laelia* Lindl. e *Sophronitis* Lindl. ocorrentes no Brasil deveriam ser transferidas para o gênero *Cattleya* (van den Berg *et al.* 2009).

Laeliinae apresenta uma ampla radiação adaptativa para diversos grupos de polinizadores com muitas espécies que não oferecem recursos florais (van der Cingel 2001). Para Borba & Braga (2003), a melitofilia e a autocompatibilidade são possivelmente características basais na subtribo, com posterior radiação adaptativa para polinização por beija-flores, lepidópteros, dípteros e outros himenópteros. Provavelmente, todas as síndromes de polinização surgiram várias vezes nas Laeliinae (van der Pijl & Dodson 1966, van den Berg & Chase 2000), e podem ser as principais inovações que explicam o grande número de espécies dentro da subtribo Laeliinae (van den Berg *et al.* 2009).

Apesar das diferentes síndromes de polinização presentes em Laeliinae, Ackerman (1986) indicou a existência de dois padrões gerais: 1) espécies que produzem recompensas (e.g. néctar) e, 2) espécies que só aparentam ter recursos (sistemas de polinização por

engodo). Para Ferdy *et al.* (1998), no segundo grupo, as fragrâncias desempenham um papel importante na atração dos polinizadores, onde as espécies devem assegurar um pequeno número de visitas antes que o inseto consiga “aprender” que a flor não tem recurso. A maioria das orquídeas da subtribo Laeliinae já estudadas não oferecem nenhum recurso para seus polinizadores, sendo assim que Verola *et al.* (2007) mencionaram que o mecanismo de engodo encontra-se como uma das tendências gerais nas Laeliinae. Por outra parte na subtribo já foram reportados sistemas reprodutivos que variam desde autoincompatíveis para autocompatíveis, dependendo da espécie e população [e.g. *Hoffmannseggella* (= *Cattleya*, *sensu* van den Berg *et al.* 2009) segundo Verola *et al.* 2007]. A autocompatibilidade, mas com dependência do polinizador, tem sido reportada para muitas espécies dentro da subtribo (Borba & Braga 2003, Smidt *et al.* 2006, Silva-Pereira *et al.* 2007, Pansarin & Amaral 2008, Storti *et al.* 2011, Vale *et al.* 2012a, Pansarin & Pansarin 2014), no entanto, alguns táxons se reproduzem exclusivamente através de polinizações cruzadas (Higgins 2003, Pansarin 2003, Verola *et al.* 2007).

Embora existam relatos de polinização de alguns membros da subtribo Laeliinae, estes não são frequentes, considerando o tamanho da subtribo (van der Berg 2014). A polinização de *Constantia cipoensis* Porto & Brade por *Xylocopa* sp. (Hymenoptera, Apidae, Xylocopinae: Xylocoptonini) e de *Pseudolaelia corcovadensis* Porto & Brade por *Bombus* (*Fervidobombus*) *atratus* Franklin, 1913, foram verificadas por Matias *et al.* (1996) e Borba & Braga (2003), respectivamente. Estes autores indicam que a melitofilia é a condição basal em Laeliinae. Vale *et al.* (2013) observaram a polinização por abelhas pequenas (gêneros *Ceratina* and *Lasioglossum*) para *Broughtonia cubensis* Cogn. (Epidendreae: Laeliinae). Nos gêneros *Epidendrum* L., *Rhyncholaelia* Schltr., e *Brassavola* R. Br. a polinização é efetuada por borboletas e mariposas (van der Pijl & Dodson 1969, Pansarin 2003, Pansarin & Amaral 2008), embora beija-flores e moscas

também tenham sido registrados como polinizadores no gênero *Epidendrum* (Pansarin & Pansarin 2014). Para *Tetramicra riparia* Vale, Sánchez-Abad & L. Navarro (Vale *et al.* 2012a) e para *Encyclia navarroi* Vale & Rojas (Vale & Rojas 2012b) foram reportadas poucas visitas de abelhas nas flores e mecanismo de engodo.

### **GÊNERO *Cattleya* Lind.**

*Cattleya* é um gênero Neotropical com 113 espécies (van den Berg 2014, Chase *et al.* 2015). O gênero é dividido em diversos subgêneros e mais da metade das espécies são exclusivas do Brasil (van den Berg 2014). O número restante é de distribuição Andina e da América Central (van den Berg 2005), no gênero é observado um diverso espectro em suas relações com os polinizadores (Dressler 1993). No entanto, existem estudos sobre a polinização e biologia reprodutiva para um pequeno número de espécies de *Cattleya* (Buzatto *et al.* 2010).

De modo geral as espécies de *Cattleya* caracterizam-se pelo crescimento simpodial, as raízes são fasciculadas e carnosas, os rizomas são curtos, cilíndricos, semi-lenhosos e ligeiramente reptantes (van der Berg 2005). As folhas 1–2(3), terminais, apresentam-se desde oblongo-ovadas até oblongo-lanceoladas, inteiras de margem lisa (Cruz *et al.* 2003, Buzatto *et al.* 2010). A espata é simples ou dupla, raro ausentes, e geralmente oblíqua (Cruz *et al.* 2003). Possuem flores zigomorfas, ornamentais, de tamanho grande; labelo não fundido à coluna e coluna não protusa dorsalmente (Cruz *et al.* 2003, Buzatto *et al.* 2010, van den Berg 2013). No gênero são reconhecidos dois grupos de espécies: um com pseudobulbos fusiformes e fortemente comprimidos lateralmente e com apenas uma folha (unifolioladas) e, o segundo com pseudobulbos cilíndricos e clavados com duas folhas (bifolioladas).

Segundo van den Berg (2000), dentro do gênero observa-se uma tendência evolutiva na redução do número e tamanho dos polinários, desde grandes dimensões com

oito políneas (atributo considerado pleisomórfico na família Orchidaceae), até polinários pequenos apenas com um quinto do tamanho do anterior e com só quatro políneas. Segundo Mosquera-Mosquera & Valencia-Barrera (2009) as políneas vão desde triangulóides [*Cattleya* série *Sophronitis* (Lindl.) Van den Berg], elíptico-ovalados [*Cattleya* série *Cattleyodes* (Schltr.) Van den Berg], até obtusamente reniformes em *Cattleya* subg. *Intermediae* (Cogn.) Withner.

Estudos detalhados sobre o sistema reprodutivo de espécies hoje incluídas em *Cattleya* (*sensu* van den Berg 2014) foram realizados por Stort (1983, 1986) e Stort & Galdino (1984). Em geral, essas espécies mostraram-se auto-compatíveis (ou seja, capazes de formar frutos e sementes viáveis após polinização com pólen da mesma flor ou da mesma inflorescência), formando um número maior de sementes viáveis após a polinização cruzada (isto é, polinização com pólen de um indivíduo diferente, porém da mesma espécie).

### **POLINIZAÇÃO NO GÊNERO *Cattleya***

Estudos dos sistemas reprodutivos e da polinização no gênero *Cattleya* tiveram um aumento relevante nos últimos anos no Brasil (Smidt *et al.* 2006, Silva-Pereira *et al.* 2007, Costa de Araújo 2010, Storti *et al.* 2011). Apesar de sua importância horticultural (van der Berg 2005, 2014), estudos sobre a biologia da polinização e seus polinizadores são muito escassos ainda. Alguns dos trabalhos focaram no sistema reprodutivo e no sucesso da frutificação de algumas espécies de *Cattleya* (Stort 1973, 1983), renderam na sua maioria poucas informações sobre o comportamento dos polinizadores, alguns carecem de cuidado na distinção entre visitantes e verdadeiros polinizadores ou referem-se às observações esporádicas em determinadas espécies ou inferências sobre os prováveis polinizadores baseadas nos atributos florais [e.g. dados de van der Pijl & Dodson (1966)



para *C. anceps* (Lindl.) Beer, *C. harpophylla* (Rchb. f.) Van den Berg, *C. mendelli* Dombrain, *C. maxima* Lindl. and *C. warszewiczii* Rchb. f.]. No entanto, trabalhos mais recentes em espécies nativas da Amazônia como em *C. eldorado* Linden (Storti *et al.* 2011), espécies da Chapada Diamantina (Bahia) como *C. elongata* Barb. Rodr. e *C. tenuis* Campacci & Vedov (Smidt *et al.* 2006), e espécies do campo rupestre do nordeste do Brasil como *C. pfisteri* (Pabst & Senghas) Van den Berg e *C. sincorana* (Schltr.) Van den Berg (Silva-Pereira *et al.* 2007), concordaram em que as espécies estudadas não tem néctar, são autocompatíveis, mas dependentes de polinizadores (e.g. *Bombus*, *Eualema*), ou seja, o polinizador deve transferir o pólen para formação de frutos viáveis. Estes autores relataram ainda a ocorrência de polinização por mecanismo de engodo nestas cinco espécies. Para *C. granulosa* Lindl., foi realizado um trabalho por Costa de Araújo (2010), no Rio Grande do Norte, onde a autora menciona a ocorrência de polinização por mecanismo de engodo, polinização natural muito rara e frutificação baixa (9,2 %). Mesmo assim, a questão de quem seria o polinizador efetivo ainda continua sem resposta para esta espécie.

É importante salientar que o mecanismo geral da polinização nas espécies de *Cattleya* estudadas recentemente, foi descrito pelo naturalista inglês Charles Darwin em 1862. Darwin estudou em detalhe numerosas espécies de *Cattleya* e, baseando-se na morfologia floral, sugeriu que essas flores deviam ser polinizadas por mamangavas, as quais, devido a seu tamanho e força, pareciam morfológicamente muito adequadas para atuar como polinizadores (Singer 2009). Darwin (1862) recebeu um exemplar de *Bombus hortorum* com polinário de *Cattleya* no dorso, capturado por um horticultor em uma estufa no Reino Unido. A partir destas evidências circunstanciais, Darwin (1862) propôs um mecanismo de polinização no qual o rostelo deve umedecer o dorso de abelhas grandes, nas quais as políneas ficam aderidas ao ser removidas durante a visitação. Há poucos registros de polinização de orquídeas do gênero *Cattleya* por abelhas sociais do gênero

*Bombus*, porém van der Cingel (1995) menciona que estas abelhas são importantes polinizadores de orquídeas.

Tratando-se dos principais tipos de polinizadores, destaca-se o predomínio da melitofilia para este grupo (van der Pijl & Dodson 1966, Smidt *et al.* 2006, Silva Pereira *et al.* 2007, Storti *et al.* 2011). Algumas espécies rupícolas de *Cattleya* (*Hoffmannseggella* H.G. Jones, em Verola *et al.*, 2007) normalmente não produzem néctar ou odores florais, e as espécies registradas até agora são polinizadas por abelhas pertencentes predominantemente às famílias Apidae ou Halictidae (Verola *et al.* 2007). Segundo Rodrigues *et al.* (2014) a ocorrência de beija-flores como polinizadores no subclado *Cattleya coccinea*, formado por espécies que aparentemente oferecem néctar, reforça as hipóteses de seleção fortuita de atributos nas flores, juntamente com a deriva genética, como os processos mais importantes na diversificação da família Orchidaceae. Van der Berg (2013), conclui que os trabalhos de Smidt *et al.* (2006) e Silva-Pereira *et al.* (2007) e Storti *et al.* (2011) mostram o caráter bastante generalista dos mecanismos de polinização por abelhas em *Cattleya*, sendo claro também que as abelhas ocasionalmente visitam espécies polinizadas por aves e esfingídeos quando as flores permanecem abertas por vários dias. Com a falta de recursos florais como néctar e óleos, provavelmente todas as espécies de *Cattleya* são polinizadas por engodo. No entanto, existe uma escassez de dados e de análises detalhadas das características florais, juntamente com as observações dos comportamentos dos polinizadores. Del-Claro *et al.* (2009) mencionam a importância do estudo do comportamento para a compreensão correta do significado das interações entre animais e plantas.

### **CONSERVAÇÃO DAS ORQUÍDEAS DO GÊNERO *Cattleya***

Este gênero é considerado um dos mais importantes da família, tendo em vista sua diversidade e seu elevado valor ornamental, além de seu uso no desenvolvimento de

híbridos interespecíficos e intergenéricos para fins comerciais (van der Berg 2014). Quase todas as espécies do gênero têm sido coletadas intensamente na natureza para cultivo (CNCFlora 2014). A elevada frequência com a qual vem ocorrendo essa procura, tem levado a uma redução e desaparecimento de várias populações e, conseqüentemente, várias destas espécies apresentam-se ameaçadas de extinção (CNCFlora 2014, FZB & SEMA 2014). As orquídeas do gênero *Cattleya* que ocorrem na Mata Atlântica possuem alto apelo comercial pelo seu atrativo ornamental (Pinheiro *et al.* 2012). Porém, as espécies do gênero são pouco representadas em coleções de herbário (Cruz *et al.* 2003). Especialistas em conservação, em um contexto nacional e regional (CNCFlora 2014, FZB & SEMA 2014, respectivamente), sugerem que três das quatro espécies alvo deste estudo necessitam de programas de conservação urgentes. Atualmente estão incluídas nas listas vermelhas oficiais de espécies ameaçadas de extinção (CNCFlora 2014, FZB & SEMA 2014), porque enfrentam um risco muito elevado de extinção na natureza.

Uma investigação exaustiva do sistema de polinização é um pré-requisito para o desenvolvimento de um plano de conservação para quaisquer espécies rara (Dutra & Kane 2009) e para conseguir uma gestão eficaz e conservação das comunidades (Prance 1990). Por exemplo, Chamorro *et al.* (2012), salientam sobre a importância de realizar estudos de polinização e sistema reprodutivo de espécies ameaçadas com o objetivo de propor estratégias de conservação das plantas, visto que muitos estudos de conservação de plantas raras ignoram a importância de seus polinizadores (Memmott *et al.* 2007).

Para Light & MacConaill (2011), suposições do *status* de conservação podem estar erradas se não tiver em conta aspectos críticos da história natural e das relações com outros organismos dentro das espécies de estudo. O apelo para a conservação das orquídeas tem sido realizado mundialmente com diferentes opiniões, ideais e esforços para atacar o problema (Mirenda 2011). Cribb (2011) destaca que a mudança climática tem uma grande

probabilidade de ser um efeito dramático nas orquídeas do mundo. Por outro lado, o papel dos polinizadores na conservação e recuperação não é bem compreendido ainda. Insetos polinizadores são essenciais para a manutenção das populações de plantas ameaçadas e em perigo de extinção em seu habitat natural, mas as populações dos polinizadores sofrem declínios significativos em anos recentes e a perda de hábitat pode causar um declínio na diversidade e abundância dos polinizadores (Kremer *et al.* 2007, Nayak & Davidar 2010, Fox *et al.* 2013).

Segundo Martins (2013) todas as abordagens ecológicas podem ser aplicadas no estudo das interações entre plantas e animais polinizadores, mas ainda requer uma grande disponibilidade de dados ecológicos bem coletados e detalhados (e.g. registro, observação e detalhamento do comportamento dos visitantes, sucesso reprodutivo, sazonalidade, entre outros), o que se pode tornar, na biota Neotropical, em um desafio para a compreensão destas interações. Estabelecer as interações nos locais susceptíveis à perturbações, entre plantas e polinizadores, em espécies especialistas como as orquídeas, será de alto valor, tendo em vista que as redes de interações entre espécies são a espinha dorsal da biodiversidade e afetam diretamente a dinâmica das comunidades (Jordano *et al.* 2006).

## **OBJETIVOS**

Este estudo teve como principal objetivo elucidar a biologia reprodutiva, biologia da polinização e sucesso reprodutivo de quatro espécies do gênero *Cattleya* presentes nos biomas Mata Atlântica e Pampa dentro do estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Determinar o sistema reprodutivo e biologia da polinização de quatro espécies do gênero *Cattleya* nativas do Rio Grande do Sul.
- b) Mostrar e ilustrar os atributos florais de maior relevância no processo da polinização das espécies alvo deste estudo.
- c) Documentar a interação entre espécies nativas de *Cattleya* e seus polinizadores.
- d) Elucidar possíveis fatores limitantes na polinização e na produção de frutos das espécies do gênero *Cattleya* alvo deste estudo.

## **APRESENTAÇÃO DA DISSERTAÇÃO**

Esta dissertação está estruturada em um capítulo apresentado em forma de um artigo elaborado no formato do periódico no qual será submetido (*Botanical Journal of the Linnean Society*).

No capítulo procura-se determinar a biologia reprodutiva de quatro espécies do gênero *Cattleya* nativas da região Sul do Brasil, procurando verificar o sistema reprodutivo, os atributos morfológicos de importância no processo da polinização e finalmente documentar a interação entre os polinizadores e as flores de cada uma das espécies do estudo a fim de compreender o sucesso reprodutivo limitação em orquídeas com polinização por engodo.

## **METODOLOGIA**

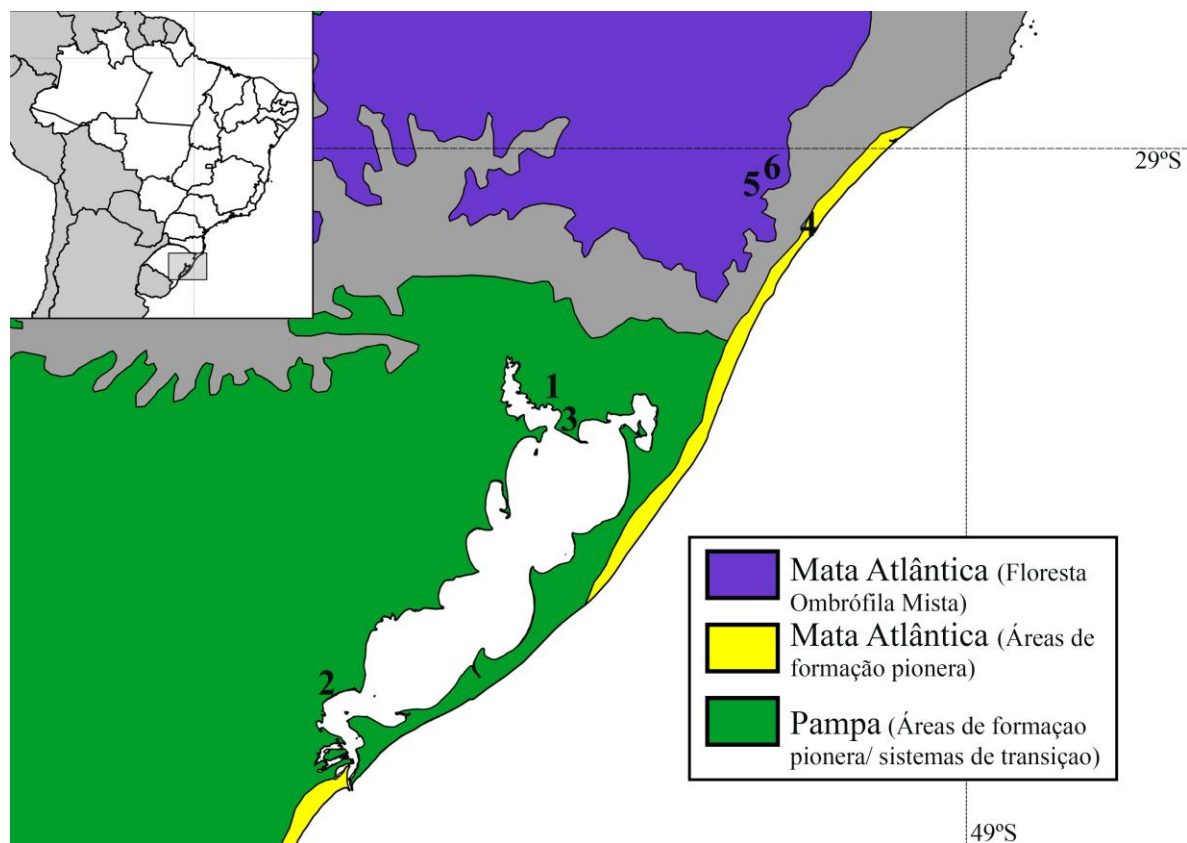
**Áreas do estudo** – O trabalho foi desenvolvido em 11 populações dentro de cinco localidades inseridas nos Biomas Mata Atlântica e Pampa (Olson *et al.* 2001) no estado do Rio Grande do Sul, e abrangendo quatro diferentes regiões fitoecológicas do Brasil (RADAMBRASIL 1981, IBGE 2004, IBGE 2012): Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Semidecidual, Áreas de Formação Pioneira (vegetação com influência lacustre) e Sistemas de Transição (áreas de tensão ecológica). Maior detalhe sobre os pontos de coleta e hábitat das populações encontram-se na Tabela 1 e na Figura 1.

A região do estado do Rio Grande do Sul compreende o limite sul da distribuição das espécies alvo do estudo no Brasil. O clima é descrito como Cfa (classificação de Köppen), e devido à posição geográfica, o sul do Brasil ocupa uma região de transição entre os climas tropical e temperado, com verões quentes e invernos frios, sem estação seca pronunciada (Overbeck *et al.* 2009), com as quatro estações bem definidas e as chuvas estão distribuídas homogeneamente durante o ano (Justus *et al.* 1986, Pereira *et al.* 1989).

Inseridas no Bioma Pampa encontram-se cinco áreas do estudo (Fig. 1). A primeira localidade encontra-se no Parque Estadual de Itapuã, no município de Viamão, sendo banhado pelo Lago Guaíba a oeste e, pela Lagoa dos Patos ao sul. Conta com uma área de 5.566 km<sup>2</sup>, constituindo um importante testemunho da vegetação de restinga e de encosta de morros graníticos do Rio Grande do Sul devido a sua área e seu estado de conservação. O clima é subtropical úmido (Cfa), com temperatura e precipitação média anual de 19,5 °C e 1347 mm, respectivamente (Scherer *et al.* 2005, Muszkopf 2006). Neste local a primeira área de trabalho (ITA1), localiza-se ao longo de uma trilha (Trilha da Onça), onde a vegetação é típica de mata ciliar com afloramentos rochosos (Rio Grande do Sul 1997).

**Tabela 1.** Localização e características ecológicas das populações amostradas de quatro espécies do gênero *Cattleya* no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

População	Localidades (Município)	Bioma	Ecoregião	Hábitat
<b><i>Cattleya intermedia</i></b>				
Ecocamping ( <i>ECO</i> ) e <i>CaVG</i>	Pelotas	Pampa	Áreas de Formação Pionera / Sistemas de Transição	Restinga/Áreas de tensão ecológica
Trilha onça ( <i>ITA 1</i> )	Viamão	Pampa	Áreas de Formação Pionera	Floresta Subcaducifólia
Praia Pedreira ( <i>ITA 2</i> )	Viamão	Pampa	Áreas de Formação Pionera	Restinga
<b><i>Cattleya purpurata</i></b>				
Itapeva ( <i>PEVA 1</i> )	Torres	Floresta Atlântica	Áreas de Formação Pionera	Restinga/Áreas de tensão ecológica
Itapeva ( <i>PEVA 2</i> )	Torres	Floresta Atlântica	Áreas de Formação Pionera	Restinga
<b><i>Cattleya tigrina</i></b>				
Trilha onça ( <i>ITA 1</i> )	Viamão	Pampa	Áreas de Formação Pionera	Floresta Subcaducifólia
Lami	Porto Alegre	Pampa	Sistemas de Transição	Áreas de tensão ecológica
Itapeva ( <i>PEVA 1</i> )	Torres	Floresta Atlântica	Áreas de Formação Pionera	Restinga
<b><i>Cattleya coccinea</i></b>				
Fortaleza ( <i>PNSG 1</i> )	Cambará do Sul	Floresta Atlântica	Floresta Ombrófila Mista	Floresta de Araucária
Itaimbezinho ( <i>PNAS</i> )	Cambará do Sul	Floresta Atlântica	Floresta Ombrófila Mista	Floresta de Araucária
Guarita ( <i>PNSG 2</i> )	Cambará do Sul	Floresta Atlântica	Floresta Ombrófila Mista	Floresta de Araucária



**Figura 1.** Biomas e localidades das populações amostradas de quatro espécies do gênero *Cattleya* no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Bioma Pampa**, 1. Parque Estadual Itapuã (Viamão), 2. Ecocamping e CaVG (Pelotas), 3. Lami (Porto Alegre). **Bioma Mata Atlântica**, 4. Parque Estadual Itapeva (Torres), 5. Parque Nacional Aparados da Serra (Cambará do Sul), 6. Parque Nacional da Serra Geral (Cambará do Sul).

Esta área pode ser classificada, na sua maior parte, como Floresta Estacional Decidual. A segunda área dentro do Parque Itapuã (ITA 2), localiza-se na Praia da Pedreira com orquídeas nas copas de árvores de *Ficus cestrifolia* Schott ex Spreng a vegetação é característica de Mata de Restinga com influência lacustre.

O Município de Pelotas foi a segunda localidade. No Ecocamping (ECO), localiza-se a terceira área, abrangendo aproximadamente sete hectares apresenta vegetação característica de Mata de Restinga com influência lacustre da orla da Laguna dos Patos (Perleberg & Pelicioli Tomkowski 2007). Embora o Ecocamping seja um local sujeito a ação antrópica, ainda preserva espécies que caracterizam a flora epifítica. A quarta área



encontra-se dentro do *Campus* Pelotas-Visconde da Graça (CaVG), distante cerca de 8 km do centro urbano da cidade de Pelotas, com área de 201 ha, entre unidades de ensino existe ainda vegetação característica de Sistemas de Transição.

A quinta área de estudo dentro do Bioma Pampa está inserida na área rural da cidade de Porto Alegre, no Orquidário Salvaterra (Lami), caracteriza-se por apresentar Sistemas de Transição com ação do homem, mas foram observados vários indivíduos sobre as copas das árvores de *Ficus cestrifolia*.

As outras quatro áreas do estudo encontram-se inseridas no Bioma Mata Atlântica (Fig. 1). As primeiras áreas de estudo encontram-se no Parque Estadual de Itapeva (PEVA) localizado no município de Torres, constitui-se numa importante unidade de conservação da Mata Atlântica e de seus ecossistemas associados no Rio Grande do Sul. Conforme Leite & Klein (1990), a unidade fitoecológica correspondente é “Área das Formações Pioneiras Marinhas – Restingas e Dunas”, a qual se caracteriza por formações vegetais de influência direta do mar e distribuídas por terrenos arenosos, com algum teor salino, sujeito à elevada radiação solar e acentuada ação eólica. O clima enquadra-se no sistema de Köppen como Cfa – Clima Tipo Subtropical marítimo úmido. A temperatura média anual é de 18.9 °C e a mínima de 14.8 °C (julho), com precipitação pluviométrica anual de 1.385 mm (Maisonette Duarte & Ariel Bencke 2006). A primeira área (PEVA 1) localiza-se dentro de uma propriedade privada na qual centenas de plantas são parte da coleção particular de uma família, mas os indivíduos foram coletados dentro do Parque Itapeva através dos anos. A área é antropizada e encontra-se próxima de fragmentos de mata paludosa e vegetação de restinga. A segunda área (PEVA 2a) apresenta indivíduos sobre *Ficus* sp. em campos alagados e em fragmentos de mata paludosa.

As outras duas áreas encontra-se no Parque Nacional da Serra Geral (PNSG 1 e PNSG 2) e a quarta área no Parque Nacional Aparados da Serra (PNAS), as três áreas

localizadas no município de Cambará do Sul. As unidades de conservação integram-se na região fisiogeográfica dos Campos de Cima da Serra (Bioma Mata Atlântica), acima dos 800 m de altitude, na Floresta Ombrófila Mista com ocorrência de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, com ambientes saturados de umidade e frequentemente expostos a nevoeiro (Buzatto *et al.* 2010). O clima é do tipo temperado, com temperatura média anual de 15 °C (Citadini-Zanette *et al.* 2010). A precipitação total anual varia entre 1.750 e 2.250 mm (Estação Meteorológica de Cambará do Sul) e é bem distribuída ao longo do ano.

**Espécies do estudo** – As espécies alvo do estudo foram: *Cattleya coccinea* Lindl., *C. intermedia* Graham, *C. purpurata* Beer e *C. tigrina* A. Rich. ex Beer. Para o Brasil, três destas espécies (*C. intermedia*, *C. purpurata* e *C. tigrina*), são categorizadas como Vulneráveis (CNCFlora 2014, FZB & SEMA 2014). Estes táxons são muito similares e ocupam, na maioria das vezes, habitats idênticos em áreas estreitas ao longo do litoral no RS, o que sugere que não se apresenta ocorrência de alguma exclusão competitiva entre estas espécies quando ocorrem em simpatria. *Cattleya coccinea* encontra-se na Floresta Ombrófila Mista, na região dos Campos de Cima da Serra, Rio Grande do Sul.

Cruz *et al.* (2003), Buzatto *et al.* (2010) e van den Berg (2014) apontam como as principais características dentro do gênero *Cattleya* o hábito de ervas epífitas, raramente rupícolas ou terrestres, raízes fasciculadas, rizoma em geral curto e cilíndrico com pseudobulbos cilíndricos, claviformes ou fusiformes, geralmente eretos e comumente recobertos de bainhas paleáceas. As folhas 1–2 (3), terminais, patentes a eretas, conduplicadas, oblongo-ovadas a oblongolanceoladas, coriáceas a carnosas. Espata simples ou dupla, raro ausente e geralmente oblíqua com uma inflorescência terminal, racemosa, contendo de uma até 25 flores, pedúnculo, raramente dotado de brácteas escapais e sempre com brácteas florais. As flores são grandes, vistosas, aromáticas, pétalas e sépalas patentes,

sépalas dorsal e laterais em geral de cor e formato semelhantes, pétalas de coloração similar às sépalas, comumente com a porção mediana dilatada. Labelo ereto, conspícuo a não conspícuamente trilobado, lobos laterais em geral envolvendo a coluna ou raramente reduzidos e expondo a coluna total ou parcialmente, lobo terminal espesso a carnosos, de coloração e forma variáveis e às vezes com verrugas, papilas ou pequenas calosidades. Coluna sem apêndices, em geral branca ou colorida quando exposta, o estigma é trífido. Cunículo não funcional na maioria das espécies e parcialmente decorrente com o ovário. Uma antera, terminal, incumbente, políneas quatro ou oito, paralelas. Frutos em cápsula.

As espécies *C. coccinea* e *C. purpurata* apresentam em comum os pseudobulbos unifoliados, piriformes, cônicos ou claviformes, as flores membranosas e o polinário composto por oito políneas (Buzatto *et al.* 2010). As flores alaranjadas ou avermelhadas, via de regra solitárias em *C. coccinea*, apresentam de 3 a 7 cm de diâmetro. Para *C. purpurata*, as flores são róseas a brancas, com tons de roxo ou vinho. A cor do lobo frontal do labelo é sempre púrpura e fauce com estrias. O labelo é branco e amarelo. O tamanho da flor é grande de 15 até 20 cm de diâmetro. *Cattleya intermedia* e *C. tigrina* se diferenciam pelos pseudobulbos bifoliados, de formato cilíndrico, sendo maiores para *C. tigrina*, que apresenta sépalas e pétalas laterais carnosas, predominantemente marrons manchadas de preto e labelo de tons róseos. Por outro lado, *C. intermedia* possui as sépalas e pétalas laterais membranosas, em tons róseos mais ou menos claros, com o labelo manchado de cor vinho (Buzatto *et al.* 2010). O tamanho das flores é semelhante, sendo de aproximadamente 7–11 cm de diâmetro para *C. tigrina* e de 10–13 cm em *C. intermedia*. O polinário é composto por quatro políneas (Buzatto *et al.* 2010).

Informações sobre polinizadores de algumas das espécies do presente trabalho (*C. coccinea* e *C. intermedia*), já tem sido mencionados por Singer & Sazima (2000), Singer & Sazima (2004) e Buzatto *et al.* (2010), no entanto, estes dados sobre a polinização têm a

desvantagem de não ter registro da interação morfológica entre o inseto e a flor, além de não fornecer dados sobre o sistema reprodutivo, sucesso reprodutivo o comportamento dos polinizadores. Pelo trabalho de Singer & Sazima (2004), pode-se presumir que abelhas carregam polinários de *C. Intermedia*. Para *C. coccínea* beija-flores são mencionados como polinizadores (Singer & Sazima 2000, Rodrigues *et al.* 2014). No entanto, nesta dissertação será apresentada pela primeira vez uma visão clara da interação entre estas orquídeas e os seus polinizadores aprofundando na sua biologia reprodutiva e no sucesso reprodutivo em locais naturais.

**Fenologia** – Levantamentos de informações no herbário ICN da UFRGS e da literatura foram necessários para verificar a existência de sobreposição fenológica entre as espécies e para escolher as populações do trabalho. Adicionalmente foram acompanhadas populações naturais e plantas em coleções privadas [Orquidário Salvaterra (Lami, Porto Alegre, RS) e Orquidário Kakay (Praia Grande, SC)], as quais permitiram obter os dados referentes à fenologia da floração das espécies.

**Revisão da literatura** – Para este trabalho foram reunidas informações disponíveis na literatura sobre polinização, fenologia, sistema reprodutivo e temas afins do gênero *Cattleya sensu* van der Berg (2014), compreendendo um total de 16 referências bibliográficas. Não foram consideradas informações não publicadas em periódicos científicos ou livros com ISBN. Para todas as espécies de *Cattleya* apenas para 34 % já foram reportadas informações quanto aos tipos de polinizadores e/ou sistemas reprodutivos. Contudo, destes dados, apenas 6 % encontram-se baseados em observações de campo e experimentos de polinização controlada (van der Pijl & Dodson 1966, Stort 1983, Stort & Galdino 1984, Smidt *et al.* 2006, Silva Pereira *et al.* 2007, Storti *et al.* 2011).

**LITERATURA CITADA**

- ACKERMAN JD. 1986. Mechanisms and evolution of food deceptive pollination systems in Orchids. *Lindleyana* 1(2): 108–113.
- ARMBRUSTER WS. 2014. Floral specialization and angiosperm diversity: phenotypic divergence, fitness trade-offs and realized pollination accuracy. *AoB Plants*. Doi: 10.1093/aobpla/plu003.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.
- BARROS F, RODRIGUES VT, BATISTA JAN. 2009. Orchidaceae. Em: Stehmann JR, Forzza RC, Salino A, Sobral M, Costa DP, Kamino LHY (eds.). Plantas da Floresta Atlântica. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. p. 372–403.
- BARROS F, VINHOS F, RODRIGUES VT, BARBERENA FFVA, FRAGA CN. 2010. Orchidaceae. Em: Forzza RC, *et al.* (org.). Catálogo de plantas e Fungos do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Volume 2. p. 1344–1426.
- BARROS F, VINHOS F, RODRIGUES VT, BARBERENA FVA, *et al.* 2012. Orchidaceae. Em: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000179>. Acesso em 18 Out. 2014.
- BORBA EL, BRAGA PIS. 2003. Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 541–549.
- BUZATTO CR, PORTO ALEGRE FERREIRA P, WALKER C, SEGER G, HERTZOG A, SINGER R. 2010. O gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae: Laeliinae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 8: 388–398.
- CAMERON KM, CHASE MW, WHITTE NWM, KORES PJ, JARRELL DC, ALBERT, VA, YUKAWA T, HILLS HG, GOLDMAN DH. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from rbcL nucleotide sequences. *American Journal of Botany* 86(2): 208–224.
- CENTRO NACIONAL DE CONSERVAÇÃO DA FLORA (CNCFlora). Lista vermelha da flora do Brasil. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha>. Acesso em Ago 2014.
- CHAMORRO S, HELENO R, OLESEN JM, MCMULLEN CONLEY K, TRAVESET A. 2012. Pollination patterns and plant breeding systems in the Galápagos: a review. *Annals of Botany* 110: 1489–1501.
- CHASE MW, CAMERO KM, BARRET RS, FREUDENSTEIN JV. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. p. 68–89. Em: KW Dixon, SP Kell, RL Barrett, PJ Cribb (eds.). *Orchid Conservation*. Kota Kinabalu, Sabah: Natural History Publications. 418 p.

- CHASE MW, CAMERON KM, FREUDENSTEIN JV, SALAZAR G, van den BERG C, SCHUITEMAN A. 2015. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177:151–174.
- CITADINI-ZANETTE V, LIMA PEREIRA J, JARENKOW JA, SCHARDOSIM KLEIN A, DOS SANTOS R. Estrutura da sinúsia herbácea em Floresta Ombrófila Mista no Parque Nacional de Aparados da Serra, sul do Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 9(1): 56–63.
- COSTA DE ARAÚJO ROSALY. 2010. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Cattleya granulosa* Lindl., uma Orchidaceae ameaçada e endêmica do Nordeste do Brasil. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas, Biologia Vegetal.
- COZZOLINO S, WIDMER A. 2005. Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? *Trends in Ecology & Evolution* 20:487-494.
- CRIBB P. 2011. Orchids in a changing climate. *Lankesteriana* 11(3): 233—238.
- CRUZ D, BORBA E, van den BERG C. 2003. O gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) no estado da Bahia, Brasil. *Sitientibus série Ciências Biológicas* 3(1/2): 26–34.
- DARWIN C. 1862. On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized by insects and on the good effects of intercrossing. 1<sup>st</sup> ed. John Murray; London. 360 p.
- DEL-CLARO K, TOREZAN-SILINGARDI HM, BELCHIOR C, ALVES-SILVA E. 2009. Ecologia comportamental: ferramenta para compreensão das relações animais-plantas. *Oecologia Bras* 13(1): 16–26.
- DRESSLER RL. 1981. The orchids: natural history and classification. Harvard University Press, Cambridge. 332 p.
- DRESSLER RL. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Portland: Dioscorides Press. 314 p.
- DRESSLER RL. 2005. How many orchid species? *Selbyana* 26: 155–158.
- DODSON CH. 1962. The importance of pollinators in the evolution of the orchids of tropical America. *American Orchid Society Bulletin* 31: 525–534.
- DUTRA D, KANE ME. 2009. Reproductive biology of *Cyrtopodium punctatum* in situ: implications for conservation of an endangered Florida orchid. *Plant Species Biology* 24: 92–103.
- FAEGRI K, van der PIJL L. 1979. The principles of pollination ecology. 3rd edn. Oxford: Pergamon Press. 244 p.
- FERDY J, GOUYON P, MORET J, GODELLE B. 1998. Pollinator Behavior and Deceptive Pollination: Learning Process and Floral Evolution. *The American Naturalist* 152: 696–705.
- FOX K, VITT P, ANDERSON K, FAUSKE G, TRAVERS S, VIK D, HARRIS MO. 2013. Pollination of a threatened orchid by an introduced hawk moth species in the tallgrass prairie of North America. *Biological Conservation* 167: 316–324.
- FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA (FZB), SECRETARIA ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE

- (SEMA). 2014. Lista da Flora Ameaçada de Extinção do Rio Grande do Sul. Disponível em: [http://www.fzb.rs.gov.br/conteudo/4809/?Homologada a nova Lista da Flora Ga%C3%BAcha Amea%C3%A7ada de Extin%C3%A7%C3%A3o](http://www.fzb.rs.gov.br/conteudo/4809/?Homologada+a+nova+Lista+da+Flora+Ga%C3%BAcha+Amea%C3%A7ada+de+Extin%C3%A7%C3%A3o). Acesso Set. 2014.
- GASKETT AC. 2011. Orchid pollination by sexual deception: pollinator perspectives. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 86(1): 33–75.
- HIGGINS WE. 2003. *Prosthechea*: a chemical discontinuity in Laeliinae. *Lankesteriana* 7: 39–41.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA–IBGE. 2004. Mapa de Biomas do Brasil, primeira aproximação. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso Fev. 2014.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA–IBGE. 2012. Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Rio de Janeiro, Brasil. Disponível em: [ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/recursos\\_naturais/manuais\\_tecnicos/manual\\_tecnico\\_vegetacao\\_brasileira.pdf](ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/recursos_naturais/manuais_tecnicos/manual_tecnico_vegetacao_brasileira.pdf). Acesso Fev. 2014.
- JERSÁKOVÁ J, KINDLMANN P. 2004. Reproductive success and sex variation in nectarless and rewarding orchids. *International Journal of Plant Sciences* 165:779–785.
- JERSÁKOVÁ J, JOHNSON SD, KINDLMANN P. 2006. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biological Reviews* 81: 219–235.
- JOHNSON SD, STEINER KE. 2000. Generalization versus specialization in plant pollinator systems. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 140–143.
- JORDANO P, BASCOMPTE J, OLESEN JM. 2006. The ecological consequences of complex topology and nested structure in pollination webs. Em: Waser NM, Ollerton J. (eds.) Specialization and generalization in plant–pollinator interactions. University of Chicago Press, Chicago. p. 173–199.
- JUSTUS ARM, MOTTANA CE, OLIVEIRA AAB, RIBEIRO AG. 1986. Uso potencial da terra. Em: Levantamento de recursos naturais. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro. Volume 33. p. 633–791.
- KAWAI Y, KUDO G. 2009. Effectiveness of buzz pollination in *Pedicularis chamissonis*: significance of multiple visits by bumblebees. *Ecological Research* 24: 215–223.
- KREMEN C, WILLIAMS NM, AIZEN MA, GEMMILL-HERREN B, LEBUHN G, *et al.* 2007. Pollination and the other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters* 10: 299–314.
- LEITE PF, KLEIN RM. 1990. Vegetação. Em: Geografia do Brasil: Região Sul. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro. Volume 2. p.113–150.
- LIGHT MHS, MACCONAILL M. 2011. The role of common orchids in appreciating the complexity of biodiversity conservation. *Lankesteriana* 11(3): 293–300.
- MAISONETTE DUARTE M, ARIEL BENCKE G. 2006. Plano do Manejo do Parque Estadual Itapeva. Governo do Estado do Rio Grande do Sul, Secretaria Estadual do Meio Ambiente

- Departamento de florestas e áreas protegidas. Porto Alegre, RS, Brasil. 206 p.
- MARTINS AC. 2013. Abordagens históricas no estudo das interações planta-polinizador. *Oecologia Australis* 17(2): 39–52.
- MATIAS LQ, BRAGA PIS, FREIRE AG. 1996. Biologia reprodutiva de *Constantia cipoensis* Porto & Brade (Orchidaceae), endêmica da Serra do Cipó, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Botânica* 19:119-125.
- MATSUI K, USHIMARU T, FUJITA N. 2001. Pollinator limitation in a deceptive orchid, *Pogonia japonica*, on a floating peat mat. *Plant Species Biology* 16: 231–235.
- MEMMOTT J, GIBSON R, CARVALHEIRO L, *et al.* 2007. The conservation of the ecological interactions. Em: Steward AA, New TR, Lewis OT, (eds.). *Insect conservation biology*. London: The London Entomology Society.
- MIRENDA TJ. 2011. Botanic Gardens, education, and orchid conservation strategies: the need for a coordinated approach. *Lankesteriana* 11(3): 301–305.
- MOSQUERA-MOSQUERA HR, VALENCIA-BARRERA RM. 2009. Morfología del polinario de la subtribu Laeliinae Bentham (tribu Epidendreae I, Orchidaceae) de Colombia. *Polen* 19: 49–71.
- MUSSKOPF EL. 2006. Composição florística e distribuição ecológica de epífitos vasculares no Parque Estadual de Itapuã, Viamão, Rio Grande do Sul. Dissertação Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Botânica.
- NAYAK KG, DAVIDAR P. 2010. Pollinator limitation and the effect of breeding systems on plant reproduction in forest fragments. *Acta Oecologica* 36(2): 191–19.
- NEILAND MR, WILCOCK CC. 1998. Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae. *American Journal of Botany* 85(12): 1657–1671.
- OLSON D.M, DINERSTEIN E, WIKRAMANAYAKE ED, BURGESS ND, POWELL GVN, UNDERWOOD EC, D'AMICO JA, *et al.* 2001. Terrestrial ecoregions of the world: a new map of life on Earth. *Bioscience* 51(11): 933–938.
- OVERBACK GE, MÜLLER SC, FIDELIS A, PFADENHAUER J, PILLAR VD, BLANCO CC, BOLDRINI II, BOTH R, FORNECK ED. 2009. Os Campos Sulinos: um bioma negligenciado. Em: Pillar VP, Müller SC, Castilhos ZMS, Jacques AVA, eds. *Campos Sulinos, conservação e uso sustentável da biodiversidade*. Brasília, MMA. p.26–41.
- PABST GFJ, DUNGS F. 1975. *Orchidaceae brasilienses* I. Hildesheim, Brücke-Verlag: Kurt Schmersov. 408 p.
- PARRA-TABLA V. 2004. Phenology and phenotypic natural selection on the flowering time of a deceit-pollinated tropical orchid, *Myrmecophila christinae*. *Annals of Botany* 94: 243–250.
- PARRA-TABLA V, VARGAS CF. 2007. Flowering synchrony and floral display size affect pollination success in a deceit-pollinated tropical orchid. *Acta Oecologica* 32: 26–35.
- PAPADOPULOS AST, POWELL MP, PUPULIN F, WARNER J, HAWKINS JA, SALAMIN N, CHITTKA L, WILLIAMS NH, WHITTEN WM, LOADER D, *et al.* 2013. Convergent evolution



of floral signals underlies the success of Neotropical orchids. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 280: 1-8.

PANSARIN ER. 2003. Biologia reprodutiva e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz & Pavón (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 203–211.

PANSARIN ER, AMARAL MCE. 2008. Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization? *Plant Biology* 10: 211–219.

PANSARIN ER, PANSARIN LM. 2014. Reproductive biology of *Epidendrum tridactylum* (Orchidaceae: Epidendroideae): a reward-producing species and its deceptive flowers. *Plant Systematics and Evolution* 300: 321–328.

PEREIRA PRB, NETTO LRG, BORIN CJA, SARTORI MGB. 1989. Contribuição à geografia física do município de Santa Maria: unidades de paisagem. *Geografia, Ensino & Pesquisa* 3: 37–68.

PERLEBERG TD, PELICOLI TOMKOWSKI PB. 2007. Bromeliaceae e Orchidaceae Epífitas nas Trilhas do Ecocamping Municipal de Pelotas, RS, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 5(2): 720–722.

PINHEIRO LR, RABBANI ARC, DA SILVA AVC, LÉDO AS, PEREIRA KLG, DINIZ LEC. 2012. Genetic diversity and population structure in the Brazilian *Cattleya labiata* (Orchidaceae) using RAPD and ISSR markers. *Plant Systematic and Evolution* 298: 1815–1825.

PRANCE GT. 1990. Management and conservation of tropical ecosystems requires knowledge of plant-animal interactions: afterword. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55:186–187.

RADAMBRASIL. 1981. Levantamento de Recursos Naturais. Vol. 19, Folha SD 22. Rio de Janeiro, Projeto Radambrasil. 624p.

RIO GRANDE DO SUL. 1997. Plano de Manejo: Parque Estadual de Itapuã. Porto Alegre, Departamento de Recursos Naturais Renováveis. 158p.

ROBERTS DL, DIXON KW. 2008. Orchids. *Current Biology* 18: R325–R329.

RODRIGUES LF, van den BERG C, ABREU AG, NOVELLO M, VEASEY EA, OLIVEIRA GXC, KOEHLER S. 2014. Species delimitation of *Cattleya coccinea* and *C. mantiqueirae* (Orchidaceae): insights from phylogenetic and population genetics analyses. *Plant Systematics and Evolution* 1–15. Doi: 10.1007/s00606-014-1156-z.

SCHERER A, MARASCHIN-SILVA F, BAPTISTA LRM. 2005. Florística e estrutura do componente arbóreo de matas de Restinga arenosa no Parque Estadual de Itapuã, RS, Brasil. *Acta Botânica Brasilica* 19(4): 717–726.

SCHIESTL FP. 2005. On the success of a swindle: pollination by deception in orchids. *Naturwissenschaften* 92: 255–264.

SILVA- PEREIRA V, DE CAMARGO SMITD E, LEITE BORBA E. 2007. Isolation mechanisms between two sympatric *Sophranitis* (Orchidaceae) species endemic to Northeastern Brazil. *Plant*

*Systematic and Evolution* 269: 171–182.

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

SINGER R, SAZIMA M. 2004. Abelhas Euglossini como polinizadoras de orquídeas na região de Picinguaba, São Paulo, Brasil. São Paulo: Centro de Editoração da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo.

SINGER RB. 2009. Morfología floral y polinización de orquídeas: el segundo libro de Charles Darwin. *Acta Biológica Colombiana* 14: 337–348.

SMIDT EC, SILVA-PEREIRA V, BORBA EL. 2006. Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north-eastern Brazil. *Plant Species Biology* 21: 85–91.

STORT MNS. 1973. Natural pollination in *Cattleya loddigesii* Lindl. *American Orchid Society Bulletin* 42: 606–608.

STORT MNS. 1983. Cruzamentos artificiais envolvendo espécies de gênero *Cattleya*, subgêneros *Monophyllae* e *Cattleya* (Orchidaceae). *Ciência e Cultura* 35: 1481–1486.

STORT MNS, GALDINO GL. 1984. Self- and cross-pollination in some species of the genus *Laelia* Lindl. (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Genética* 7: 671–676.

STORT MNS. 1986. Fertilidade de cruzamentos e relação filogenética entre algumas espécies do gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 9: 69–73.

STORTI EF, BRAGA PIS, STORTI FILHO A. 2011. Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado*, uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. *Acta Amazonica* 41: 361–368.

STEHMANN JR, FORZZA RC, SA LINO A, SOBRA L M, COSTA DP, KAMINO LHY. 2009. Diversidade taxonômica na Floresta Atlântica. Em: STEHMANN JR, FORZZA RC, SA LINO A, SOBRAL M, COSTA DP, KAMINO LHY. Plantas da Floresta Atlântica. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Brasil.

SUN HQ, CHENG J, ZHANG FM, LUO YB, GE S. 2009. Reproductive success of non-rewarding *Cypripedium japonicum* benefits from low spatial dispersion pattern and asynchronous flowering. *Annals of Botany* 103: 1227–1237.

TREMBLAY RL. 1992. Trends in the pollinator ecology of the Orchidaceae: evolution and systematic. *Canadian Journal of Botany* 70: 642–650.

TREMBLAY RL, ACKERMAN JD, ZIMMERMAN JK, CALVO RN. 2005. Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of the Linnean Society* 84(1): 1–54.

VALE A, ROJAS D, ÁLVAREZ JC, NAVARRO L. 2011. Breeding system and factors limiting fruit production in the nectarless orchid *Broughtonia lindenii*. *Plant Biology* 3(Suppl. 1): 51–61.

VALE Á, ROJAS D, ACAND Y, SÁNCHEZ-ABAD NL, NAVARRO L. 2012a. A New Species of *Tetramicra* (Orchidaceae: Laeliinae) from Baracoa, Eastern Cuba. *Systematic Botany* 37(4):

883–892.

VALE Á, ROJAS D. 2012b. *Encyclia navarroi* (Orchidaceae), a new species from Cuba. *Annales Botanici Fennici* 49: 83–86.

VALE Á, ROJAS D, ÁLVAREZ JC, NAVARRO L. 2013. Distribution, habitat disturbance and pollination of the endangered orchid *Broughtonia cubensis* (Epidendreae: Laeliinae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 172:345–357.

van den BERG C, CHASE MW. 2000. Nomenclatural notes on Laeliinae - I. *Lindleyana*. 15(2): 115–119.

van den BERG. 2004. Nomenclatural notes in Laeliinae (Orchidaceae)-IV. New combinations in *Laelia* and *Sophranitis*. *Kew Bulletin* 59: 565–567.

van den BERG. 2005. *Cattleya*. Em: Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW, Rasmussen FN (eds.). *Genera Orchidacearum*. Volume 4. New York: Oxford University Press. p. 213–217.

van den BERG C, HIGGINS WE, DRESSLER RL, WHITTEN WM, SOTO-ARENAS MA, CHASE MW. 2009. A phylogenetic study of Laeliinae (Orchidaceae) based on combined nuclear and plastid DNA sequences. *Annals of Botany* 104: 417–430.

van den BERG C. 2014. Reaching a compromise between conflicting nuclear and plastid phylogenetic trees: a new classification for the genus *Cattleya* (Epidendreae; Epidendroideae; Orchidaceae). *Phytotaxa* 186: 75–86.

van der CINGEL NA. 1995. An atlas of orchid pollination: European orchids. Rotterdam: A. A. Balkema Publishers. 260 p.

van der CINGEL NA. 2001. An atlas of orchid pollination: America, Africa, Asia and Australia. AA. Rotterdam: A. A. Balkema Publishers. 308 p.

van der PIJL L, DODSON CH. 1966. Orchid flowers: their pollination and evolution. Coral Gables, Miami, USA: University of Miami Press. 214 p.

VEROLA FC, SEMIR J, ANTONELLI A, KOCH I. 2007. Biosystematic studies in the brazilian endemic genus *Hoffmannseggella* H. G. Jones (Orchidaceae:Laeliinae): a multiple approach applied to conservation. *Lankesteriana* 7(1–2): 419–422.

WALSH RP, ARNOLD PM, MICHAELS HJ. 2014. Effects of pollination limitation and seed predation on female reproductive success of a deceptive orchid. *AoB Plants* 6: plu031–plu031.





# CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1.

**A generalized food-deceptive pollination system in four *Cattleya* Lindl.**

**(Orchidaceae: Laeliinae) species from Southern Brazil**

*Lina Caballero Villalobos, Gustavo A. Silva-Arias, Cristiano Roberto Buzatto, Michelle*

*Helena Nervo e Rodrigo B. Singer*

**Botanical Journal of the Linnean Society** (submetido)

**A generalized food-deceptive pollination system in four *Cattleya* Lindl.  
(Orchidaceae: Laeliinae) species from Southern Brazil**

Running title: Pollination in Brazilian Cattleyas

Lina Caballero Villalobos<sup>a</sup>, Gustavo A. Silva-Arias<sup>b</sup>, Cristiano Roberto Buzatto<sup>c</sup>,  
Michelle Helena Nervo<sup>a</sup> and Rodrigo B. Singer<sup>a</sup>.

<sup>a</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>b</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Genética, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>c</sup> Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas, Av. Transnordestina s.n., 44036-900, Feira de Santana, Bahia, Brazil (current address)

Corresponding author: rbsinger1@yahoo.com



## ABSTRACT

We studied the pollination biology and breeding system in native populations of four Brazilian *Cattleya* species belonging to two different subgenera and three series, respectively: *Cattleya coccinea*, *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina*. Column and pollinarium features, as well as the breeding system and pollination process were studied and documented. The studied species differ in flower size, coloration, pollinarium features (number of pollinia and presence/absence of viscidium), overall phenology and presence/absence of fragrances. Controlled pollination experiments demonstrated that these plants are self-compatible but pollinator-dependent and thus do not exhibit spontaneous autogamy or apomixy. All studied species consistently lack nectar and, therefore, deceive their pollinators. *Cattleya purpurata*, *C. intermedia* and *C. tigrina* adhere their pollinaria onto the scutellum and mesonotum of their bee pollinators (big-sized native Apidae bees of the Genera *Xylocopa*, *Bombus* and *Epicharis* sp.) when they leave the flowers. Regarding *C. coccinea*, only hummingbirds were recorded as visitors and *Chlorostilbon lucidus* was confirmed as pollinator. In all cases pollination takes place when a pollinarium-laden animal visits another flower and retreats, the rounded invisible pollinia being arrested at the very concave stigmatic surface. Natural fruit set in all studied species is low, ranging from 0.5 to 14 %. In agreement with this, all studied species consistently displayed low visitation rates and all species presented Nilsson's male efficiency factors were lower than 1, suggesting that in all of them pollen removal is higher than pollinarium deposition.

**Keywords:** Atlantic Rain Forest, bee pollination, deceit pollination, Laeliinae, non-rewarding orchids, pollen limitation.

## INTRODUCTION

The Neotropical orchid genus *Cattleya* Lindl. (Laeliinae Benth.) contains about 114 species and is currently divided into four strongly supported subgenera (van den Berg, 2014) which are based on both, morphological features and phylogenetic studies based on molecular data (van den Berg *et al.*, 2009; van den Berg, 2014). Most *Cattleya* species occur in Brazil in different types of habitats as epiphytes or, more rarely, as rupicolous (van den Berg, 2005). Generally, the floral morphology in this genus is known as of the “gullet type”, quite often associated with pollination by bees, also known as melittophily (van der Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1981). Species of *Cattleya* are valued ornamental plants due to their form, size, colour and scent. Some populations of ornamental species in this genus used to be very accessible and, consequently, have been heavily harvested by collectors, either commercial or not (Cruz, Borba & van den Berg, 2003; van den Berg, 2005).

Preceding studies on floral biology of Laeliinae orchids suggest bee-pollination and self-compatibility as basal characters with subsequent adaptive radiation to pollination by other insects and hummingbirds (Borba & Braga, 2003). Likewise, it is known that in this orchid subtribe several species present food-deceiving pollination systems (Dressler, 1981; Nilsson, 1992a; Vale *et al.*, 2013).

Detailed studies on the reproductive system of species now included in *Cattleya* were performed by Stort (1983, 1986) and Stort & Galdino (1984). There is only one report indicating spontaneous self-pollination facilitated by rostellum autolysis in *C. aurantiaca* (Bateman ex Lindl.) P.N. Don (Stort & Martins, 1980). Conversely, most published reports indicate that *Cattleya* species are self-compatible but pollinator-dependent with several bees having been reported as pollinators (van der Pijl & Dodson, 1966; Smidt, Silva-Pereira & Borba, 2006; Silva-Pereira, Smidt & Borba, 2007; Storti,



Braga & Storti Filho, 2011). Although *Cattleya* species are widely known and used as ornamental plants and have been massively propagated for horticultural purposes, little is known about their pollination and breeding system in their natural habitat. These topics may be useful not only to improve the knowledge on the pollination strategies within the genus, but also for conservation purposes. The main objective of this study is to broaden the knowledge on the pollination and reproductive biology of *Cattleya* species. This contribution is thus aimed to document main flower features, breeding system, fruiting success and pollination process in four Brazilian *Cattleya* species representing different floral morphologies, clades (subgenera and sections) and pollination syndromes: *C. coccinea* Lindl., *C. intermedia* Graham, *C. purpurata* Beer and *C. tigrina* A. Rich. ex Beer.

## MATERIAL AND METHODS

**Study species** — This study was carried out with four *Cattleya* species with distinct morphologies and belonging to different infrageneric lineages (following to van den Berg, 2014). *Cattleya intermedia* and *C. tigrina* are currently inserted within subgenus *intermediae*. Both species present more or less clavate, bifoliate pseudobulbs and a pollinarium with four pollinia. *Cattleya intermedia* inflorescences present 1-6 membranaceous, light purple-lavender, sweet fragrant flowers. *Cattleya tigrina* presents inflorescences of 3-24 fleshy spicy fragrant flowers with greenish-brown, purple-spotted sepals and petals and a bright fuchsia labellum. Both, *C. coccinea* and *C. purpurata* are currently placed within the subgenus *Cattleya* and present unifoliate, clavate pseudobulbs and a pollinarium made up by eight pollinia. *Cattleya purpurata* is currently classified within series *Cattleyoides* and presents inflorescences of 3-7 membranaceous, white-pink, sweet fragrant flowers clustered in inflorescences of 3-7 flowers. *Cattleya coccinea* is

currently classified within series *Sophronitis* and presents membranaceous, red-orange, scentless, solitary flowers. More detailed morphological characteristics of all studied species are presented in Fig. 1, as well as at the Supplementary Table 1 and in Cruz *et al.* (2003) and Buzatto *et al.* (2010).

All studied species are widespread within southern and southeastern Brazil. *Cattleya tigrina* is the only one that reaches northeastern Brazil (Bahia and Pernambuco Brazilian States) (Buzatto *et al.*, 2010). *Cattleya purpurata* and *C. tigrina* are common in the coastal strip often as epiphytes of *Ficus cestrifolia* Schott ex Spreng. *Cattleya intermedia* and *C. tigrina* occur sympatrically and grow in similar habitats (Buzatto *et al.*, 2010). *Cattleya coccinea* is a high-altitude orchid, being especially common in *Araucaria* forests (Buzatto *et al.*, 2010).

**Study localities** — The pollination biology and breeding system were studied in a total of 1.349 living plants from 11 populations of five municipalities of Rio Grande do Sul state (Table 1). The studied populations occur along the Southern region of Brazil that according to Buzatto *et al.* (2010), represent to the southern edge of the genus's distribution. For conservation purposes we herein cite only the biomes and Brazilian municipalities and omit the exact location details (coordinates) of populations (location details are available for *bona fide* researchers, on request). Vouchers of representative specimens are deposited at the herbarium ICN of Botany Department of Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) under the following accession numbers (L. Caballero 001- L. Caballero 004).

As a whole, the study region represents a transition zone from subtropical to temperate climatic conditions. The climate is characterized by tropical humid summers and dry winters, the mean annual temperature range between 15–20 °C and the rain is equally distributed along year with annual means between 1100 and 1900 mm. The

studied populations of *C. intermedia* and *C. tigrina* are located in the municipality of Viamão, which is characterized by a combination of forests, rocky outcrops and coastal swamps. A population of *C. intermedia* studied at Pelotas municipality dwells in habitats known as coastal “*restingas*” (sandbanks). Additionally, some individuals were studied at the CaVG Campus (8 Km from Pelotas, RS). Some populations of *C. purpurata* and *C. tigrina* were studied at Torres municipality, in swampy forest formations with direct oceanic influence. Other populations of *C. tigrina* were studied in scattered arboreal elements in degraded forest in the periphery of Porto Alegre city. *Cattleya coccinea* was studied in two highland ( $\geq 900$  m. altitude) localities dominated by *Araucaria* forests; both at the municipality of Cambará do Sul. These areas are characterized by constant fog and high humidity (Table 1).

***Overall floral morphology and phenology*** — Orchid morphological terms and concepts used in this paper follow Dressler (1981, 1993). Flower morphological features were recorded using fresh flowers and their parts were photographed using a digital camera Coolpix XP 100 and a USB microscope Veho Discovery VMS-004 Deluxe. For each species, 15 individuals were monitored throughout the flowering period. The parameters recorded for the flowering and fruiting phenology were: 1) total flowering time (days), 2) total of flowering individuals, 3) total flowers per individual, 4) average flowering time/individual, 5) mean flowers/individual. Floral lifespan was examined under natural conditions by marking and bagging (thus excluding eventual pollinators) in fifteen just-opened flowers of each studied species.

***Floral features*** —The presence/absence of nectaries was verified through the dissection of floral structures under a stereomicroscope. The absence/presence of nectar was established with the help of a portable refractometer (Dungan & Beggs, 2004). In addition, as a further attempt to locate nectar, little strips of glucose-reactive paper were used

(Kearns & Inouye, 1993; Singer & Cocucci, 1999). The presence and location of osmophores (scent-producing glands) and nectaries were examined by dipping the flowers into neutral red at 1 % for ten minutes, and then rinsing them in glacial acetic acid at 5 % (modified from Vogel, 1990). The presence of ultraviolet-absorbing pigment was detected by placing fresh flowers (n=5, for each species) in an atmosphere of ammonium hydroxide for five minutes (Scogin, Young & Jones, 1977; Borba & Braga, 2003). Stigma receptivity was verified in 20 intact flowers of each species in different phenological stages (from anthesis to pre-senescent) using drops of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, following the methodology of Galen & Plowright (1987).

**Breeding system** — The breeding system of the four *Cattleya* species was studied by isolating individuals (and thus, excluding eventual pollinators) at the same natural populations where we documented the pollination process. We conducted hand-pollination experiments following Pedron *et al.* (2012) and Suetsugu & Fukushima (2014). Four treatments were applied: 1) Pollinator-exclusion in intact flowers, to test them for spontaneous self-pollination; 2) Emasculation to determine agamospermy (removing the pollinarium); 3) Manual self-pollination to determine self-compatibility (pollinia of a flower deposited on its own stigma); and 4) Manual cross-pollination (flowers pollinated with the pollinarium of a different coespecific individual). Early in the flowering season all flowers were isolated with nylon bags big enough to prevent contact between flowers and nylon mesh (Pedron *et al.*, 2012). All results were expressed as percentage of fruit set and treatments were compared using a Chi-square-test ( $\alpha = 0.05$ ). The numbers of plants (individuals) and flowers used per species and per treatment are show in the Table 2.

In order to compare seed viability, seeds were collected from ten fruits per species and treatment (ten self- and ten cross-pollinations per species) for *C. intermedia*, *C.*

*purpurata* and *C. tigrina*. For *C. coccinea* these tests were performed using five fruits per treatment. We performed the viability tests following Hosomi *et al.* (2011), Hosomi *et al.* (2012), by determining the frequency of seeds with embryo in the two treatments. Three replicates of approximately 300 seeds per treatment and per species were selected for dissection under a stereoscopic microscope TECNIVAL (4X). The effect of the pollination treatments on the proportion of seeds having an embryo was tested using the Student's *t* test with *p* values < 0.01).

**Pollination** —The pollination of the four species was studied in the field during the flowering seasons of years 2013 (*C. intermedia* and *C. tigrina*) and 2014 (*C. coccinea*, *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina*), totalling 713 observation hours (Table 3). To obtain an accurate record of pollinator behaviour and a better understanding of the pollination process, pollinator behaviour was documented by means of field notes, photography and video.

Preliminarily, the relative importance of daytime and night-time visitors was evaluated according with Suetsugu & Fukushima (2014), walking through the populations and checking for the removal of pollinia in the mornings and evenings. This preliminary study revealed that pollinia were only removed during the day, and consequently diurnal observations were performed, between 8:00 h and 18:00 h (Table 4) to coincide with the period of highest pollinator activity. Field visits to the study sites were undertaken to observe, record the pollination process and capture pollinators for later identification. For the purposes of this contribution, animals that do not promote either pollinaria removal or deposition during foraging behaviour are considered non-pollinating flower visitors. Conversely, flower-visiting animals that effectively dislodge and transfer pollinaria between flowers are considered pollinators. The diversity and frequency of pollinators and flower visitors was recorded in the four studied *Cattleya* spp. As we found that

animal visits to natural populations were infrequent and unpredictable (Table 4), we additionally placed four flowering individuals of *C. intermedia* near a foraging patch of native bees at the Pelotas locality in 22/09/2014 and 25 individuals of *C. coccinea* near a hummingbirds foraging patch in Cambará do Sul, in 01/11/2014. Insect floral visitors and pollinators were captured with the help of a net, preferably right after abandoning the flowers. Observed flower-visiting insects were counted and their behaviour was recorded. Insect vouchers were caught for further identification and were later deposited at the Insect Collection at the Pontificia Universidade Catolica de Rio Grande do Sul (PUCRS, Porto Alegre, Brazil). Identification was carried out following Silveira, Melo & Almeida (2002). When necessary, photos of flower visitors were sent to specialists for identification. The hummingbirds were identified through photographs and also compared with the pertaining literature (Sick, 1997).

***Reproductive success and pollination efficiency*** — To estimate reproductive success, fruit-set ratios, seed viability and Nilsson's male efficiency factors were calculated for all species. We calculated a relation between the numbers of fruits divided by the total of flowers produced in each focal observation place, per species (Table 5).

Similar to Pedron *et al.* (2012) we calculated Nilsson's male efficiency factor (Nilsson, 1992b) as an indicative of pollination efficiency. Nilsson's factor is the ratio of the percentage of pollinated flowers divided the percentage of flowers acting as pollen donors.

## RESULTS

***Flower features*** — Only the most important floral features involved in the pollination process are described. Readers interested in further details (further details on perianth shape and measurements) are suggested to read the work of Buzatto *et al.* (2010). All

studied species display terminal inflorescences. The flowers are symmetrical, resupinate and erect with three free petals and three sepals that generally are of the same colour. The median petal (labellum or lip) is larger and showier than the lateral petals (Fig. 2). The labellum is conspicuously to inconspicuously three-lobate. The lateral lobes of the lip are large, usually enveloping the column entirely or for the greater part. The ovary presents a partially decurrent nectary-like structure (cuniculus, sensu Dressler 1993). The generally column lacks lateral appendages, and is white or pink to magenta (Fig. 3). The stigmatic surface is 3-lobed and, as a whole, large and markedly concave. A prominent rostellar flap is present. The anther is erect, terminal and incumbent. The pollinia are generally yellow, entire and laterally compressed, elongated and present conspicuous caudicles (Fig. 3). The capsules are generally globoid to ellipsoid. The species with fragrant flowers produce the odour primarily during the morning hours and persists many days.

*Cattleya coccinea* presents remarkable differences with the other three studied species. The plants are normally uniflorous (vs. pluriflorous in the other species); the column presents two small wings. In addition, the pollinarium of this species presents eight grayish (vs. yellow, in the other species) pollinia and a short viscidium (*sensu* Dressler, 1993).

In the four studied species the pollinaria are kept separated from the stigma by the well-developed rostellar flap. So, spontaneous self-pollination is precluded (Table 2). The pollinarium of *C. coccinea* and *C. purpurata* bears eight pollinia in four pairs (each pair united by caudicles, with one pollinia at each end of the caudicle). The pollinarium of *Cattleya intermedia* and *C. tigrina* displays four pollinia, each one at the end of a caudicle.

After checking several fresh flowers of all studied species, no nectar was found neither on the labellum nor within the nectary-like structure below the column (cuniculus

sensu Dressler 1993). In agreement with this, tests with refractometer and glucose-reactive paper were negative for all flowers tested indicating nectar absence for all of the populations studied. Except for *C. coccinea*, the flowers of the studied species have extrafloral nectaries at the base of the ovary and undetermined species of ant workers were observed collecting this nectar.

In *C. intermedia*, *C. tigrina* and *C. purpurata* the reaction with ammonium hydroxide revealed the presence of ultraviolet-absorbing pigments in the proximal half of the lip, coinciding with the purple colored region or the dark-magenta calluses for *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina*. No ultraviolet-absorbing pigments were detected in *C. coccinea*.

Red-neutral test revealed the presence of osmophores in the median-central position on the labellum (coinciding with the lip calli) of *C. tigrina*, *C. intermedia* and *C. purpurata*. To a lesser extent, osmophores were also observed on the lateral lobes of the lip in *C. intermedia* and *C. purpurata*. No osmophores were detected in *C. coccinea*. Indeed, the flowers of this species are odourless to the human nose.

**Floral lifespan and flowering period** —The flower lifespan observed in *C. intermedia* was of approximately 21.2 ( $\pm$  2.40) days; this of *C. purpurata* of approximately 13.8 ( $\pm$  1.60) days, this of *C. tigrina* 18.9 ( $\pm$  2.11) days and that of *C. coccinea* 16.1 ( $\pm$  2.29) days. All studied species exhibited stigmatic receptivity (evidenced by bubbling after application of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.) either in recently opened, older or almost pre-senescent flowers. All species showed rapid senescence after pollination (either natural or manual), with floral senescence becoming evident just one day after pollination. In *C. coccinea* the post-pollination flower senescence was evident after two days.

The flowering period of *Cattleya intermedia* begins in late August, peaking in September and extending to the end of October. *Cattleya purpurata* and *C. tigrina* mostly



flower in November and December respectively. *Cattleya coccinea* presents an extended flowering period between July and December, with more intensity between August and October. In the two years of study, there was no clear pattern of flowering overlapping between sympatric species (except three isolated individuals of the *C. intermedia* that appeared flowering together with *C. tigrina* in Viamão locality: one in December 2014 and two individuals at the beginning of January 2015). Indeed, we didn't find any natural hybrid during fieldwork.

**Breeding system** — The four studied *Cattleya* species presented a similar breeding system. They are self-compatible and pollinator-dependent. Only manually self- and cross-pollinated flowers yielded fruit in all studied species (Table 2). Indeed, Chi-square tests indicated no significant differences ( $p$ -value  $> 0.1$ ) between self- and cross-pollination for all studied species, except for *C. coccinea* ( $p$ -value = 0.1). Neither spontaneous self-pollinations occurred nor emasculated flowers formed capsules, indicating no evidence of automatic self-pollination or apomixy (Table 2). It was verified that in the four studied species cross-pollinations yielded higher values of seeds with embryo and in all cases the observed differences (% of embryo bearing seeds in cross-pollinated vs. self-pollinated fruits) was statistically significant (Table 2).

Perianth senescence was quickly induced by pollination. Twenty four hours after pollination changes such as the absence of scent emission, wilting and changes in flower orientation (the lip rises and the perianth droops and closes) and a slight swelling are evident. Following pollination the perianth does not retain its color for more than 48 hours. We did not measure capsules size, but no evident differences were found between self-pollination and cross-pollination treatments.

**Pollination mechanism** — In *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina* the pollination mechanism is quite the same, irrespective of the pollinators (Supporting Information

Movie S1). Bees hover for a few seconds in front of the flowers, settle on the labellum (or more rarely on the column and perianth) and enter the cavity between the column and labellum, inserting their mouthparts in the nectary-like cavity (cuniculus). The pollinarium withdrawal takes place when the bee backs out, pushing its scutellum or scutum against the rostellar flap. The rostellar flap wets bee's body surface with rostellar glue that sticks the caudicles of pollinarium to the bee (Fig. 3). Pollination takes place when a pollinarium-laden bee leaving a flower backs out. The pollinia are thus arrested at the markedly concave stigmatic surface (Supporting Information Movie S1). The removed pollinaria frequently retained their anther caps (Supporting Information Movie S2).

In *C. coccinea* the hummingbirds hover in front of the flower and introduce their bills into the flower tube (Supporting Information Movie S2) searching for nectar at the column base. The beak of the hummingbird is the primary site of pollinarium deposition. The pollinarium is removed when the hummingbird leaves the flower. We suppose that when a pollinarium-carrying hummingbird probes another flower, the pollinia are caught by the concave stigmatic surface.

***Pollinators, flower visitors and pollinator behaviour*** — No pollinarium removal occurred at night in the examined flowers. All pollinator visits to flowers of *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina* occurred between 9.00 and 14.00 hours, in coincidence with the emission of flower fragrances. Native bees of *Bombus atratus* Franklin, *Bombus brasiliensis* Lepeletier, *Xylocopa augusti* Lepeletier and *X. frontalis* Olivier (all Hymenoptera: Apidae) were recorded as confirmed pollinators of *C. intermedia*. Bees laden with pollinaria occasionally tried to actively remove them with their forelegs (Supporting Information Movie S2). *Xylocopa frontalis* was first captured carrying pollinaria of *C. intermedia* while visiting nearby flowers of *Passiflora edulis*

Sims (Passifloraceae) and later observed visiting this orchid's inflorescences. Bees of *Bombus morio* Swederus and *Xylocopa nigrocincta* Smith (both, Apidae) were observed as non-pollinating floral visitors of *C. intermedia*. Remarkably, bees of *Xylocopa augusti* (a species confirmed as a pollinator) were occasionally observed trying to pierce the floral tube of *C. intermedia* flowers.

Bees of *Bombus atratus* and an individual of genus *Epicharis* Klug (Apidae) were observed as pollinators of *C. purpurata*. The pollination of *C. purpurata* by *Epicharis* sp. was recorded once in December 2013 by means of photographs (Fig. 3) obtained in a greenhouse in Santo Antônio da Patrulha (RS). New observations were made at the same locality, but this bee wasn't recorded again. Bees of *Xylocopa frontalis* were recorded as the pollinators of *C. tigrina* (Fig. 3) Bees of *Bombus atratus*, *B. morio* and *Xylocopa nigrocincta* (all, Apidae) were observed as non-pollinating floral visitors of *C. tigrina*. Pollinator behavior in *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina* suggests that bee pollinators visited the flowers in search of nectar, with the insects quickly leaving the flowers (Supporting Information Movie S2). In many cases, bees were found to quit the clusters of flowers immediately after leaving an orchid flower. Yet, the transfer of pollinaria within a cluster of flowers (potential geitonogamy) is not a rare event. On the basis of our observations, we believe that self-pollination in its strictest sense (the pollinarium of a flower being deposited on its own stigmatic surface) may be a rare event (Table 4). Most of recorded bee visits ranged between 1.5 to 6 seconds; with few cases in *C. intermedia* having longer visits that coincided with effective pollinarium removals (Table 4). As a whole, bees tend to visit dense groups of individuals that bloom at the same time. Pollinators mostly behaved in two ways: 1) stayed for a short period in a focal flower and then visited a few flowers nearby before departing or 2) tried to visit nearby flowers of the same individual or individuals nearby. Bees laden with pollinaria were

observed foraging more than once on other non-orchid plants nearby, but they were never seen to repeat visitation to the orchid flowers after leaving them. Although it was difficult to determinate the gender of all recorded pollinators (because of their quick movements and fast flying patterns), it is clear that most of the bees visiting and pollinating *C. intermedia*, *C. tigrina* and *C. purpurata* were females, since they could be sighted while visiting rewarding flowers nearby. Indeed, all recorded *Xylocopa* spp. have very differently-coloured (mostly clear yellow vs. a dark colouration in the females) males, so it is clear that no *Xylocopa* male acted as a pollinator during our observations. However, three males of *Xylocopa frontalis* were recorded while displaying a patrolling behaviour on flowers of *C. intermedia*, in October 6, 2013 (at Pelotas, RS). The filmic record clearly indicates that males were seeking for receptive females. Mate-seeking males patrolled among inflorescences with a brief inspection (by hovering) in front of each flower. In one instance, a male tried to grasp a visiting female and, in another occasion, a copulating attempt was observed (Supporting Information Movie S2). Occasionally, workers of *Apis mellifera* L. and stingless bees (Hymenoptera, Meliponini) visited the flowers, but they were unable to carry pollinia as a result of their small body size.

Pollinator behavior in *C. coccinea* was quite infrequent and elusive. The verification of hummingbirds as the pollinators of this species was made by checking undisturbed flowers before and after a bird visit. By doing this, we could confirm that *Chlorostilbon lucidus* (Shaw, 1812) (Trochilidae) is a legitimate pollinator (Supporting Information Movie S2), since we observed that this hummingbird removed and deposited pollinia between neighboring plants. Owing to the video record, the hummingbirds spend less than five seconds per visit to a flower. Few fruits are observed, and they appear to occur in places nearby nectar sources frequently used by the birds. After more than 150 hours of fieldwork no other pollinators or flower visitors were recorded at the flowers of

*C. coccinea*. The hummingbirds *Thalurania glaucopis* (Gmelin, 1788) and *Leucochloris albicollis* (Vieillot, 1818) (both, Trochilidae) were observed on one occasion in front or near of *C. coccinea* flowers, respectively, without effectively visiting them.

In all studied species (except *C. coccinea*) ants are attracted to the extrafloral nectaries on the outside of sepals and bracts and Curculionidae beetles often infest the ovaries where they lay their eggs. The larvae of these Coleoptera feed upon ovarian content.

***Fruit set and pollinator efficiency*** — All studied species displayed low natural fruiting success that varied from 0.5 to 14 % (Table 5). These results, together with breeding system results, suggest that reproductive success in the studied species is pollinator-dependent (Table 2). Animal-mediated rates of pollinarium removal were always higher than rates of pollinia depositions on stigmas for all studied species (Table 5). Indeed, all studied species displayed male efficiency factors lower than 1 (Table 5), suggesting that in all these species there is less than one flower pollinated per pollinarium removed.

## DISCUSSION

***Flower features*** — All recorded floral features (column and pollinarium structure, overall perianth shape, presence of a nectarless cuniculus) are well known and widespread within both, the Subtribe Laeliinae and the genus *Cattleya* as well (Dressler 1993; van den Berg, 2014). Remarkably, the flowers of *C. coccinea* somewhat deviate from this pattern, since their pollinaria are grayish (vs. yellow in the other three studied species) and provided with a somewhat glandular viscidium (a detachable, viscous part of the rostellar median lobe, see Dressler 1993). Remarkably, both features have already been associated with hummingbird pollination (see Dressler 1993). Flower features in *Cattleya intermedia*, *C. tigrina* and *C. purpurata* such as light colors, diurnal fragrance emission, presence of

ultraviolet nectar guides and presence of platform-like labella are in full agreement with the pollination strategy of melittophily (pollination by bees) (van der Pijl & Dodson 1966; Dressler 1981). The lip of the species from subtribe Laeliinae, constitutes a landing platform for the pollinator, in which the lateral lobes enclose the column and form a tunnel-shaped structure that directs the pollinators against the column. This general groundplan is in fully agreement with the herein observed pollination mechanism of *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina*. The presence of light colours and pleasant fragrances (except for *C. coccinea*), are remarkably consistent within the studied species, probably reflecting a trend to specifically attracting appropriate-sized bees (van der Pijl & Dodson, 1969; Dressler, 1993; Knudsen *et al.*, 2006). According to Smidt *et al.* (2006) the pollination mechanisms within species of *Cattleya* are quite similar and differences in perianth size and surface (ex: waxy, papilose) have prompted the radiation to different pollinator groups.

The flowers of all studied species are rewardless (devoid of nectar), another consistent and widespread feature among *Cattleya* species and within orchids of Subtribe Laeliinae as a whole (van der Pijl & Dodson, 1966; Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007; Storti *et al.*, 2011; Vale *et al.*, 2013). Authors such as Nilsson (1992a) and Suetsugu & Fukushima (2014) have already highlighted that deceptive (rewardless) orchids exhibit trait such as conspicuous floral displays and long flower lifespan that optimise pollinator attraction and efficiency. In agreement with this, three of the studied species (*C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina*) present showy, long-lasting, fragrant flowers.

***Floral lifespan and flowering period***— The four studied *Cattleya* species display a floral lifespan of several weeks, a fact that could be seen as a compensation for the low frequencies of visits or unpredictability of pollinators. In *C. coccinea* and *C. intermedia*

the observed flowering period (late winter and early spring, in Brazil) agrees with the pattern of ‘early spring blooming’ suggested for food-deceptive orchids (Munguía-Rosas *et al.*, 2011). This pollination strategy has been considered an adaptive trait to guarantee pollination by emergent animals. Analyses of pollinator-mediated phenotypic selection in the rewardless flowers of *Cypripedium japonicum* (Orchidaceae: Cypripedioideae) performed by Sun *et al.* (2009) indicated that earlier flowering individuals have a greater probability of reproductive success. Conversely, *C. purpurata* and *C. tigrina* flower during the Brazilian late spring and summer and may highly rely on pollinator abundance. It is important to keep in mind that the pollinators of *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina* are multivoltine, with fresh individuals emerging continuously during the warm-hot seasons, as was already found by Nilsson while studying bumble-bee pollination in *Dactylorhiza sambucina* (Nilsson, 1980). In fact, we observed that in *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina* the probability of the flowers being pollinated is higher at the beginning or near to the end of the blooming season (Supporting Information Table T2). In the study areas, natural hybrids were not found.

**Breeding system** — The four studied *Cattleya* species are self-compatible and pollinator-dependent. Our results showed that –with the exception of *C. Coccinea*– the treatments of manual self-pollination and manual cross-pollination resulted in quite similar percentages of fruit set (Table 2), in agreement with previous and analogous studies on *Cattleya* species (Stort, 1983; 2001; Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007; Storti *et al.*, 2011). Other studied Laeliinae orchids have shown a similar pattern, suggesting that pollinator-dependence and self-compatibility may be widespread –if not the rule- within the Subtribe (Pansarin & Amaral, 2008; Vale *et al.*, 2013; Pansarin & Pansarin, 2014). Remarkably, partial self-compatibility (as we found in *C. coccinea*, Table 2) was already reported for *Cattleya sincorana* and *C. pfisteri* (Silva-Pereira *et al.*, 2007). In the four

species we studied, fruits produced through cross-pollination yielded statistically significant higher percentages of embryo-bearing seeds when compared to those produced through hand self-pollination (Table 2). A similar situation has been observed in other species of *Cattleya* (Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007, Storti *et al.*, 2011) and Laeliinae orchids (Borba & Braga, 2003).

**Pollination mechanism-** In essence, the three bee-pollinated species we studied (*C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina*) presented a very similar pollination mechanics which, in turn, is the same already described for other bee-pollinated Brazilian species (Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007; Storti *et al.*, 2011). Owing to their overall flower features, column and pollinarium structure, it is to be expected that most non-autogamous *Cattleya* species within the subgenera *Intermedia*, *Cattleyella* and *Maxima* (sensu van den Berg, 2014) be pollinated by appropriately-sized bees through a similar pollination mechanism. Within the subgenus *Cattleya* (sensu van den Berg, 2014), most taxa may be pollinated in the same way, with the exception of all the species currently included into the series *Sophronitis* (see below) and two species of the series *Parviflorae* (see below) that present overall flower features suggesting hummingbird pollination. Although pollination in *C. coccinea* couldn't be recorded in much detail; the obtained evidence complies with preceding observations suggesting that this orchid is pollinated by hummingbirds that carry the pollinaria onto the distal part of the beak (Manuel, Warren & Miller, 1996; Singer & Sazima, 2000). In *C. coccinea*, pollinarium adherence onto the bird's bill is facilitated by the presence of a viscidium, a feature absent in the bee-pollinated taxa. Remarkably, all *Cattleya* species currently included in series *Sophronitis* (nine species, according to van den Berg, 2014) present flowers with ornitophilous (bird-pollination syndrome) features and pollinaria provided with a viscidium, indicating that all species within this complex may be pollinated by



hummingbirds, in a similar way. Two species of subgenus *Cattleya*, series *Parviflorae* (*C. cinnabarina* (Bateman ex Lindl.) Van den Berg and *C. harpophylla* (Rchb.f.) Van den Berg) present small, reddish flowers suggestive of hummingbird pollination but bearing pollinaria devoid of viscidia. However, pollination in both taxa is yet to be documented.

***Pollinators, flower visitors and pollinator behaviour*** — To our knowledge, this contribution is the first complete description of the pollination biology in *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina*. These three species are pollinated by appropriately-sized native bees and this is in general agreement with the preceding literature (see below). Stingless bees have been reported as the pollinators of *Cattleya luteola* Lindl. (van der Pijl & Dodson, 1966), carpenter bees (*Xylocopa* spp.) as the pollinators of *C. warscewiczii* (van der Pijl & Dodson 1966) and Euglossini bees as the pollinators of *C. maxima* Lindl., *C. warscewiczii* Rchb.f., *C. mendelii* Backh. (van der Pijl & Dodson, 1966) and *C. wallisii* (Linden) Rollison (as *C. eldorado* Linden (Rchb. f.)) (Storti *et al.*, 2011). In North-Eastern Brazil, native bumble-bees of *Bombus* (*Fervidobombus*) *brevivillus* Franklin have been confirmed as the pollinators of *C. elongata* Barb. Rodr., *C. tenuis* Campacci & Vedov., *C. pfisteri* (Pabst & Senghas) Van den Berg and *C. sincorana* (Schltr.) Van den Berg (Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007). Remarkably, in all these contributions a single bee species was found as the pollinator of each orchid species. This contribution is –to our knowledge– the first one to indicate bees of different groups pollinating the same *Cattleya* species. In fact, among the bee-pollinated species, only *C. tigrina* presented a single pollinator during our observations. Since the three bee-pollinated species are widespread in Eastern Brazil (Buzatto *et al.*, 2010), it is to be expected that the same orchids be pollinated by other appropriately sized bees throughout their distribution. In fact, a male of *Eulaema nigrita* Lepeletier (Euglossini) laden with a pollinarium of *C. intermedia* was found in Picinbuaba (Mun. of Ubatuba, North-Eastern

São Paulo State) by Singer & Sazima (2004). However, this interaction was observed only once in a two-year monitoring program of the local orchid-pollinating Euglossine bees and no further details were recovered (Singer & Sazima, 2004). This contribution highlights the importance of carpenter bees (*Xylocopa* spp.) as *Cattleya* pollinators in Southern Brazil. In a recent review, Sugiura (2013) revealed that only 38 orchid species were then known to be pollinated by carpenter bees. Among them, *C. warscewiczii* was the only *Cattleya* known to be pollinated by *Xylocopa* spp. (van der Pijl & Dodson 1966; Sugiura, 2013). Prior to Sugiura's (2013) review, Singer (2009) presented a photo of a female carpenter bee dislodging a pollinarium in a *Cattleya nobilior* Rchb. F. flower. This observation, however, was made in semi-cultivation conditions and no further details were provided (Singer, 2009).

During our study, males of *Xylocopa* were recorded using flowers of *C. intermedia* as patrolling points, without entering or pollinating them. To our knowledge, this is the first report of male bees using *Cattleya* flowers as patrolling points. However, such behaviour has already been recorded in unrelated orchids such as *Cephalanthera rubra* (Nilsson, 1983), *Disa tenuifolia* (Johnson & Steiner, 1994) and *Bletilla striata* (Sugiura, 1995).

Bumble-bees, on the other hand, have already been proven as important *Cattleya* pollinators in North-Eastern Brazil (Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007). Remarkably, the very first clue on the eventual importance of bumble-bees as *Cattleya* pollinators dates to Darwin (1862) who mentions having examined a bumble-bee of *Bombus hortorum* (Linnaeus, 1761) captured in a british greenhouse, laden with a pollinarium of a cultivated *Cattleya* sp. Whereas this is obviously an *ex-situ* pollination record, Darwin (1862) correctly pondered that bumble-bees were probably pollinators of *Cattleya* spp. in their natural habitat, since these bees are morphologically well-suited to

dislodge and deposit the pollinaria. Remarkably, no Euglossine bees approached the flowers during our observations. For instance, at Viamão (where populations of *C. intermedia* and *C. tigrina* were studied) four Euglossine species are known to occur (Truylio & Harter-Marques, 2007) and none of them was recorded at the flowers, even when they were observed visiting plants nearby.

*Cattleya coccinea* is herein confirmed as hummingbird-pollinated since flowers had pollinaria transferred and deposited after recorded visitations of *Chlorostilbon lucidus*. Manuel, Warren & Miller (1996) experimentally offered flowered plants of this orchid species to hummingbirds habituated to visit feeders at the house of the latter autor, in Macaé de Cima, Rio de Janeiro. In this way, these authors documented pollinarium removal and deposition by hummingbirds of *Stephanoxis lalandi* (Vieillot, 1818) (Manuel, Warren & Miller, 1996). Later, at the same locality, Singer & Sazima (2000) observed a male specimen of *Clytolaema rubricauda* (Boddaert, 1783) bearing a pollinarium fitting these of *C. coccinea* at the distal part of the bill. Visits to flowers of *C. coccinea* by hummingbirds of *Leucochloris albicollis* (Vieillot, 1818) (a photo of this hummingbird visiting *C. coccinea* was published in Singer *et al*, 2006, page 570) and *Phaethornis eurynome* (Lesson, 1832) were recorded but these latter flowers weren't checked for pollinaria removal or deposition (R.B.Singer, pers. comm.). During our observations, hummingbirds of *Stephanoxis lalandi* and *Leucochloris albicollis* were seen nearby of flowering *C. coccinea* plants, but showed no interest in these flowers. Since hummingbirds were the sole observed flower visitors during our observations and since pollinarium removal and deposition was confirmed after the visits of one hummingbird species (namely, *Chlorostilbon lucidus*), we suggest that *C. coccinea* is solely pollinated by hummingbirds, as already suggested by preceding literature (Manuel, Warren & Miller, 1996; Singer & Sazima, 2000). Since all currently accepted species within

*Cattleya* series *Sophronitis* (sensu van den Berg, 2014) share a set of flower features often associated with bird pollination (ornithophily, van der Pijl & Dodson, 1966) such as reddish, fleshy, relatively hard flowers devoid of fragrances and bearing relatively small and narrow labella with fleshy labellar calli; we herein suggest that all species within this complex may be pollinated by hummingbirds.

As a whole, the behaviour of all recorded pollinators (either bees or hummingbirds) indicates that these animals visit and pollinate the flowers while looking for nectar. Since it is clear that all studied species are rewardless (devoid of nectar) and since no obvious “model” was detected for the studied species, we herein suggest that all studied orchids are pollinated through a “generalized food-deception” strategy (Dafni, 1984; Jersáková, Johnson & Kindlmann, 2006). This pollination strategy is widespread in Orchidaceae and is known to occur in at least 38 orchid genera that exploit the instinctive foraging behaviour of their pollinators (Dafni, 1984; Jersáková, Johnson & Kindlmann, 2006). Pollination through food-deception has already been reported for species of *Cattleya* (Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007; Storti *et al.*, 2011) and other species within Subtribe Laeliinae (Pansarin & Pansarin, 2013; Vale *et al.*, 2013.).

Several insect-mediated geitonogamous (between flowers of the same inflorescence) pollination events between flowers of same inflorescences were recorded in *C. intermedia* and *C. tigrina* (Table 4). Since all studied species are self-compatible and there are no mechanical barriers to hinder self-pollination; we infer that insect-mediated geitonogamy is responsible for part of the observed fruit-set in these species.

**Fruit set and pollinator efficiency-** Overall, the four studied *Cattleya* spp. displayed low fruit-sets (<14%). This is in general agreement with preceding literature (reviewed by Neiland & Wilcock 1998 and Tremblay *et al.*, 2005). Tremblay *et al.* (2005) indicated that, as a whole, orchids display low fruit-sets and, in particular, deceptive orchids present

a median fruit set of ca. 20.7 %. In agreement, low fruit-sets have already been found in other Brazilian *Cattleya* spp. (Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007; Storti *et al.*, 2011). Smidt *et al.* (2006) reported fruit-sets of 10 and 25% for *C. tenuis* and *C. elongata*, respectively, suggesting that the relatively high value obtained for the second orchid may be caused by a combination of plant abundance, higher number of flowers and pollinator abundance as well. Storti *et al.* (2011), on the other hand, found a fruiting success of 5.3% in *Cattleya wallisii* (as *C. eldorado*). The observed natural fruit-set (<14%) in all studied species contrasts with the fruiting-sets obtained through controlled pollinations (Table 2) strongly supporting that all studied species are pollinator-dependent, as already found in other Brazilian *Cattleya* species (Smidt *et al.*, 2006; Storti *et al.*, 2011).

Although this contribution wasn't set out with this purpose and, thus, a rigorous quantification is lacking, it appears (Table 5) that pollinator activity (pollinarium removals and deposition) increased with the proximity of other non-orchid rewarding species used by the foraging bees; suggesting a "magnet species" effect (Jersakova *et al.*, 2006; Laverty, 1992; Peter & Johnson 2008). We observed (Table 5) that the natural pollination in *Cattleya intermedia*, *C. tigrina* and *C. purpurata* was higher (reaching an apparent increase of ca. 50% in fruiting success, Table 5) in localities such as Viamao (ITA2), Porto Alegre and Torres (PEVA1), where studied plants grow close to *Handroanthus heptaphyllus* (Vell) Mattos (Bignoniaceae), *Passiflora edulis* Sims (Passifloraceae) and *Hibiscus rosa-sinensis* L (Malvaceae) plants. During our observations, all these sympatric non-orchid species were in bloom and actively visited by the recorded pollinators (some bees laden with pollinaria were recorded at these species). All studied *Cattleya* species exhibited male efficiency factors lower than 1 (Table 5), indicating that less than one flower was pollinated per flower acting as pollinarium-donor, or, in other words, that pollinarium removals were higher than

pollinarium deposition. Similar results were already recorded for *C. tenuis* and *C. elongata* (Smidt *et al.*, 2006). All herein studied *Cattleya* species presented statistically significant higher numbers of embryo-bearing seeds following cross-pollination (Table 2). As a whole, fruits produced through manual self-pollination presented smaller percentages of embryo-bearing seeds ( $\leq 50.3\%$ ) than their cross-pollinated counterparts ( $\leq 75.3\%$ ). These findings are in agreement with preceding reports in other *Cattleya* species (Stort & Martins, 1980; Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007; Storti *et al.*, 2011). As already suggested for other *Cattleya* spp., the smaller numbers of embryo-bearing seeds obtained from manual self-pollinations suggest that inbreeding depression, at least in its initial stages of development, may be taking place (Stort & Martins, 1980; Smidt *et al.*, 2006; Silva-Pereira *et al.*, 2007).

## CONCLUDING REMARKS

The present study is a contribution to the knowledge of the breeding system and pollination biology of four species of genus *Cattleya* from Southern Brazil belonging to two different subgenera and four series (following van den Berg, 2014). To our knowledge, this is, to date, the most taxonomically comprehensive study on the pollination biology of this orchid genus. Our results support that pollination by appropriately-sized native bees is widespread in this orchid genus, as could be expected from floral structure and overall flower features (light, brilliant colours, fragrant flowers). Pollination by native bees is here confirmed for Brazilian population of *C. intermedia*, *C. purpurata* and *C. tigrina*. In addition, this is the first detailed report of *Cattleya* species being pollinated by different groups of native bees. Hummingbird pollination is verified for *C. coccinea* and this pollination strategy is suggested to occur in the remaining, similarly shaped species of *Cattleya* series *Sophronitis*. Self-compatibility coupled with

pollinator-dependency is confirmed in the four studied *Cattleya* species and may be widespread features in orchid subtribe Laeliinae as a whole. All studied species are consistently devoid of rewards (nectar) and display low pollination efficiencies (as expressed by Nilsson's male efficiency factors  $\leq 1$ ) and low fruit-sets ( $\leq 14\%$ ). All these features point to the existence of a generalized food-deceptive pollination strategy. The fact that morphologically and behaviourally diverse bees and hummingbird were observed as visitors and pollinators indicates that these *Cattleya* species are not morphologically restricted to a particular kind of pollinator and to the absence of species-specific relationships. No evident "model" flowers were detected during our studies suggesting that mimicry may not be involved in pollinator attraction. However, fruiting success was higher in localities where pollinators foraged on other non-orchid plants, suggesting that a "magnet species effect" may be taking place. This possibility, however, is yet to be tested and we intend to do it so soon.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This contribution is part of first author's M.Sc. dissertation under the supervision of RBS and made possible through a CAPES grant and to a facility by the OEA-GCUB Brazil program, which are greatly acknowledged. The authors thank PPGBOT-UFRGS for financial support. SISBIO is thanked for collecting permits (number 40448-2) and logistical support. Tângela Perleberg (EMBRAPA) is thanked for valuable help during fieldwork. Dr. Felipe Vivallo (Museu Nacional/ UFRJ) and Dr. Víctor H. Gonzalez Betancourt (University of Kansas, Lawrence, KS) are thanked for insect identification. The comments and suggestions of Dr. Eduardo Borba Leite (UFABC, Santo André, SP, Brazil) and Dr. Amots Dafni (Haifa University) greatly improved the earlier version of this text and are greatly acknowledged. Dr. Loreta Brandão de Freitas (UFRGS) and Daniele Munareto are thanked for the loan of camcorders and logistic support. Julio Pilla, Ronir, Eduardo Luis Masiero and Luis Filipe Varella helped in many ways.

## REFERENCES

- van den Berg C. 2014.** Reaching a compromise between conflicting nuclear and plastid phylogenetic trees: a new classification for the genus *Cattleya* (Epidendreae; Epidendroideae; Orchidaceae). *Phytotaxa* **186**: 75-86.
- van den Berg C, Higgins WE, Dressler RL, Whitten WM, Soto-Arenas MA, Chase MW. 2009.** A phylogenetic study of Laeliinae (Orchidaceae) based on combined nuclear and plastid DNA sequences. *Annals of Botany* **104**: 417–430.
- Borba EL, Braga PIS. 2003.** Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. *Revista Brasileira de Botânica* **26**: 541–549.
- Buzatto C, Porto Alegre Ferreira P, Walker C, Seger G, Hertzog A, Singer R. 2010.** O gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae: Laeliinae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* **8**: 388–398.
- Cruz D, Borba E, van den Berg C. 2003.** O gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) no estado da Bahia, Brasil. *Sitientibus série Ciências Biológicas* **3**: 26–34.
- Dafni A. 1984.** Mimicry and Deception in Pollination. *Annual Review of Ecology and Systematics* **15**: 259–278.



**Darwin C. 1862.** *On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized by insects and on the good effects of intercrossing.* John Murray; London. 360 p.

**Dressler RL. 1981.** *The orchids: natural history and classification.* Cambridge, Mass: Harvard University Press.

**Dressler RL. 1993.** *Phylogeny and Classification of the Orchid Family.* Cambridge: Cambridge University Press.

**Dungan R, Beggs J. 2004.** A simple gravimetric technique for estimating honeydew or nectar production. *New Zealand Journal of Ecology* **69**: 1306–1307.

**Galen C, Plowright RC. 1987.** Testing the accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptivity. *Canadian Journal of Botany* **65**: 107–111.

**Hosomi ST, Santos RB, Custodio CC, Seaton PT, Marks TR, Machado-Neto NB. 2011.** Preconditioning *Cattleya* seeds to improve the efficacy of the tetrazolium test for viability. *Seed Science and Technology* **39**: 178-189.

**Hosomi ST, Custodio CC, Seaton PT, Marks TR, Machado-Neto NB. 2012.** Improved assessment of viability and germination of *Cattleya* (Orchidaceae) seeds following storage. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* **48**: 127–136.

**Jersáková J, Johnson SD, Kindlmann P. 2006.** Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biological Reviews* **81**: 219-235.

**Johnson SD, Steiner KE. 1994.** Pollination by megachilid bees and determinants of fruit-set in the Cape orchid *Disa tenuifolia*. *Nordic Journal of Botany* **14**: 481–485.

**Kearns C, Inouye D. 1993.** *Techniques for pollination biologists.* Colorado: University Press of Colorado.

**Knudsen JT, Eriksson R, Gershenzon J, Ståhl B. 2006.** Diversity and distribution of floral scent. *The Botanical Review* **71**:1-120.

**Laverty TM. 1992.** Plant interactions for pollinator visits: a test of the magnet species effect. *Oecologia* **89**: 502–508.

**Manuel R, Warren R, Miller D. 1996.** *Sophranitis coccinea*: a pollination study. *Orchids* **65**: 612–616.

**Munguía-Rosas MA, Ollerton J, Parra-Tabla V, De-Nova JA. 2011.** Meta-analysis of phenotypic selection on flowering phenology suggests that early flowering plants are favoured: Phenotypic selection on flowering phenology. *Ecology Letters* **14**: 511–521.

**Neiland MRM, Wilcock CC. 1998.** Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae. *American Journal of Botany* **85**: 1657–1671.

**Nilsson A. 1980.** The pollination of *Dactylorhiza sambucina* (Orchidaceae). *Botaniske Notiser* **133**: 367–385.

- Nilsson, L. A. 1983.** Mimesis of bellflower (*Campanula*) by the red helleborine orchid *Cephalanthera rubra*. *Nature* **305**: 799-800.
- Nilsson LA. 1992a.** Orchid pollination biology. *Trends in Ecology & Evolution* **7**: 255–259.
- Nilsson LA. 1992b.** Long pollinia on eyes: hawk-moth pollination of *Cynorkis uniflora* Lindley (Orchidaceae) in Madagascar. *Botanical Journal of the Linnean Society* **109**: 145–160.
- Pansarin ER, Amaral MCE. 2008.** Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization? *Plant Biology* **10**: 211–219.
- Pansarin ER, Pansarin LM. 2014.** Reproductive biology of *Epidendrum tridactylum* (Orchidaceae: Epidendroideae): a reward-producing species and its deceptive flowers. *Plant Systematics and Evolution* **300**: 321–328.
- Pedron M, Buzatto CR, Singer RB, Batista JAN, Moser A. 2012.** Pollination biology of four sympatric species of *Habenaria* (Orchidaceae: Orchidinae) from southern Brazil: Pollination in Brazilian *Habenaria* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **170**: 141–156.
- Peter CI, Johnson SD. 2008.** Mimics and magnets: the importance of color and ecological facilitation in floral deception. *Ecology* **89**: 1583–1595.
- van der Pijl L, Dodson CH. 1966.** *Orchid flowers: their pollination and evolution*. Coral Gables: University of Miami Press.
- Scogin R, Young D, Jones C. 1977.** Anthochlor pigments and pollination biology: II. The ultraviolet patterns of *Coreopsis gigantea* (Asteraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **104**: 155–159.
- Sick H. 1997.** *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro, Brazil: Nova Fronteira.
- Silva-Pereira V, Smidt EC, Borba EL. 2007.** Isolation mechanisms between two sympatric *Sophranitis* (Orchidaceae) species endemic to Northeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* **269**: 171–182.
- Silveira F, Melo G, Almeida E. 2002.** *Brazilian bees: systematics and identification*. Belo Horizonte, Brazil: Ministério do Meio Ambiente.
- Singer RB. 2009.** Morfología floral y polinización de orquídeas: el segundo libro de Charles Darwin. *Acta Biológica Colombiana* **14**: 337-348.
- Singer RB, Cocucci AA. 1999.** Pollination mechanism in southern Brazilian orchids which are exclusively or mainly pollinated by halictid bees. *Plant Systematics and Evolution* **217**: 101–117.
- Singer R, Marsaioli A, Flach A, Reis M. 2006.** The ecology and chemistry of pollination in Brazilian orchids: recent advances. In: J. Texeira da Silva, ed. *Floriculture, ornamental and plant biotechnology*. England: Global Science Books, 570-583.

- Singer RB, Sazima M. 2000.** The pollination of *Stenorrhynchos lanceolatus* (Aublet) L. C. Rich. (Orchidaceae: Spiranthinae) by hummingbirds in southeastern Brazil. *Plant Systematics and Evolution* **223**: 221–227.
- Singer RB, Sazima M. 2004.** Abelhas Euglossini como polinizadoras de orquídeas na região de Picinguaba, São Paulo, Brasil. In: Fábio de Barros, ed. *Orquídeas no Brasil: uma compilação científica*. São Paulo: Instituto de Botânica, 175-187.
- Smidt EC, Silva-Pereira V, Borba EL. 2006.** Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to North-eastern Brazil. *Plant Species Biology* **21**: 85–91.
- Stort MNS. 1983.** Cruzamentos artificiais envolvendo espécies de gênero *Cattleya*, subgêneros *Monophyllae* e *Cattleya* (Orchidaceae). *Ciência e Cultura* **35**: 1481–1486.
- Stort MNS. 1986.** Fertilidade de cruzamentos e relação filogenética entre algumas espécies do gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **9**: 69–73.
- Stort MNS, Galdino GL. 1984.** Self- and cross-pollination in some species of the genus *Laelia* Lindl. (Orchidaceae). *Revista Brasileira de Genética* **7**: 671–676.
- Stort MNS, Martins PS. 1980.** Self-pollination e cross pollination in some species of the genus *Cattleya* (Orchidaceae). *Ciência e Cultura* **32**: 1080–1083.
- Storti EF, Braga PIS, Storti Filho A. 2011.** Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado*, uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. *Acta Amazonica* **41**: 361–368.
- Suetsugu K, Fukushima S. 2014.** Bee pollination of the endangered orchid *Calanthe discolor* through a generalized food-deceptive system. *Plant Systematics and Evolution* **300**: 453-759.
- Sugiura N. 1995.** The pollination ecology of *Bletilla striata* (Orchidaceae). *Ecological Research* **10**: 171–177.
- Sugiura N. 2013.** Specialized pollination by carpenter bees in *Calanthe striata* (Orchidaceae), with a review of carpenter bee pollination in orchids. *Botanical Journal of the Linnean Society* **171**: 730-743.
- Sugiura N. 2014.** Pollination and floral ecology of *Arundina graminifolia* (Orchidaceae) at the northern border of the species' natural distribution. *Journal of Plant Research* **127**: 131-139.
- Sun HQ, Cheng J, Zhang FM, Luo YB, Ge S. 2009.** Reproductive success of non-rewarding *Cypripedium japonicum* benefits from low spatial dispersion pattern and asynchronous flowering. *Annals of Botany* **103**: 1227–1237.
- Tremblay RL, Ackerman JD, Zimmerman JK, Calvo R. 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.
- Truylio B, Harter-Marques B. 2007.** A comunidade de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em áreas florestais do Parque Estadual de Itapuã (Viamão, RS): Diversidade, abundância relativa e atividade sazonal. *Iheringia, Sér. Zool* **97**: 392–397.

**Vale Á, Rojas D, Álvarez JC, Navarro L. 2013.** Distribution, habitat disturbance and pollination of the endangered orchid *Broughtonia cubensis* (Epidendreae: Laeliinae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **172**:345–357.

**Vogel S. 1990.** *The role of scent glands in pollination*. Rotterdam; Brookfield, VT: A.A. Balkema.

## FIGURE LEGENDS

**Figure 1.** Habit and flower morphology of four *Cattleya* species of Rio Grande do Sul state, southern Brazil. *Cattleya intermedia* (A–B). *C. purpurata* (C–D). *C. tigrina* (E–F). *C. coccinea* (G–H).

**Figure 2.** Column and pollinarium features in the studied *Cattleya* species of Rio Grande do Sul state, southern Brazil. *Cattleya intermedia* (A–B). *C. purpurata* (C–D). *C. tigrina* (E–F). *C. coccinea* (G–H). **r**: rostellum. **s**: stigmatic surface. **v**: viscidum. Scale bars = 5mm.

**Figure 3.** The pollinators. A. *Xylocopa augustii* visiting an inflorescence of *Cattleya intermedia* (inset: bee laden with pollinarium). B. *Xylocopa frontalis* with pollinarium of *C. tigrina* fixed on its scutellum. C. *Bombus atratus* with pollinarium of *C. purpurata* attached to its scutellum. D. *Epicharis* sp. with pollinarium of *C. purpurata*.

**Figure 4.** Map of Southern Brazil indicating the locations of the *Cattleya* populations studied along Rio Grande do Sul State. For each locality, studied *Cattleya* species, pollinators and habitat are indicated. The background shows altitude, from light to dark gray for lower to higher altitudes, respectively.

## TABLES

**Table 1.** Localizaton, ecological features and sample sizes for populations of *Cattleya* study species in Rio Grande do Sul state, Southern Brazil.

Municipality/ Population	Biome/Domain	Habitat	<i>n</i> individuals	<i>n</i> flowers
<i>Cattleya intermedia</i>				
Pelotas ( <i>PEL</i> )	Pampa	sandbanks/transitional system	291	878
Viamão ( <i>VIA1</i> )	Pampa	seasonal semideciduous forest	87	261
Viamão ( <i>VIA2</i> )	Pampa	sandbank	43	111
<b>Total</b>			<b>421</b>	<b>1250</b>
<i>Cattleya purpurata</i>				
Torres ( <i>TOR1</i> )	Atlantic Forest	sandbank/transitional system	348	1377
Torres ( <i>TOR 2</i> )	Atlantic Forest	sandbank	41	117
<b>Total</b>			<b>389</b>	<b>1494</b>
<i>Cattleya tigrina</i>				
Viamão ( <i>VIA 1</i> )	Pampa	seasonal semideciduous forest	66	613
Porto Alegre	Pampa	transitional system	21	218
Torres ( <i>TOR1</i> )	Pampa	sandbank	17	196
<b>Total</b>			<b>104</b>	<b>1027</b>
<i>Cattleya coccinea</i>				
Cambará do Sul( <i>CDS1</i> )	Atlantic Forest	Araucaria moist forest	204	204
Cambará do Sul ( <i>CDS 2</i> )	Atlantic Forest	Araucaria moist forest	119	119
Cambará do Sul ( <i>CDS 3</i> )	Atlantic Forest	Araucaria moist forest	112	112
<b>Total</b>			<b>435</b>	<b>435</b>

**Table 2.** Breeding system experiments; fruiting success (%) and percentage of seed viability per fruit in experimental pollinations in four *Cattleya* species, following agasmopermy (intact flowers), emasculation, self- and cross-pollination treatments.

	Experimental fruit set (%)				Mean ( $\pm$ sd) seed viability per fruit (%)	
	Agamospermy	Emasculation	Hand-selfed	Hand-	Hand-selfed	Hand-crossed
				crossed		
<i>C. intermedia</i>	(0/63)	(0/62)	(59/69), 85%	(62/70), 88%	50.3 ( $\pm$ 30)	75.3 ( $\pm$ 11)**
<i>C. purpurata</i>	(0/30)	(0/27)	(22/29), 75%	(24/26), 92%	12.4 ( $\pm$ 14)	38.4 ( $\pm$ 26)**
<i>C. tigrina</i>	(0/89)	(0/51)	(48/62), 77%	(46/54), 85%	25.1 ( $\pm$ 15)	54.8 ( $\pm$ 13)**
<i>C. coccinea</i>	(0/36)	(0/29)	(15/33), 45%	(20/26), 77%*	8.8 ( $\pm$ 6)	41.9 ( $\pm$ 12)**

\*Significant differences between self and cross pollination treatments (X2 test; d.f.=1; p values > 0.05)

\*\*Significant differences between self and cross pollination treatments (t-test; p values < 0.01)

**Table 3.** Observation periods and number of hours spend recording the pollination biology of four *Cattleya* species in Rio Grande do Sul state, southern Brazil.

Locality	Observation days	Daily observation period	Hours spent per locality
<b><i>Cattleya intermedia</i></b>			
Pelotas ( <i>PEL</i> )	29–30 September; 5–8,10,18–19 October 2013	8 to 16:30h	86
	8,9,11,17–23 September; 13–15 October 2014	7 to 17:30 h	97
Viamão ( <i>VIA1</i> )	15, 21, 25–27,29 August; 13,14,16,25 Setember 2014	9 to 16 h	56
Viamão ( <i>VIA2</i> )	19, 22, 27–28 August; 30 September 2014	10 to 16 h	23
			<b>Total 262</b>
<b><i>Cattleya purpurata</i></b>			
Torres ( <i>TOR1</i> )	14–15, 22–23 November 2014	9:30 to 18:30 h	30.5
Torres ( <i>TOR 2</i> )	17–18, 24–30 November 2014	7:30 to 18:30 h	69.5
			<b>Total 100</b>
<b><i>Cattleya tigrina</i></b>			
Viamão ( <i>VIA 1</i> )	18–21, 23, 26–29 December 2013	9 to 16:30 h	49
	4–8 January; 3–5 December 2014	7 to 18:30 h	45
Porto Alegre	24–25, 27 November; 9,15,16,22–23 December 2014	8 to 18:30 h	63
Torres ( <i>TOR1</i> )	18–19 December 2014	9 to 18 h	16
			<b>Total 173</b>
<b><i>Cattleya coccinea</i></b>			
Cambará do Sul( <i>CDS1</i> )	23 August; 4, 28–29 September; 3 October 2014	8 to 17:30 h	65
Cambará do Sul ( <i>CDS 2</i> )	4–9, 24–27 October 2014	8 to 18 h	101
Cambará do Sul ( <i>CDS 3</i> )	27 September 2014	7 to 17 h	12
			<b>Total 178</b>

**Table 4.** Summary of pollinator observations in four species of *Cattleya* in Rio Grande do Sul state, southern Brazil.

Locality	Year	Visits	Pollinations	Period of observed activity	Observed pollinarium with drawals	Time (s) spent by pollinators inside the flowers‡	Observed animal-mediated geitonogamy	Bees laden with pollinaria observed in other plants
<i>Cattleya intermedia</i>								
Pelotas (PEL)	2013	7	-	10 to 15 h	-	3 (0.83)	-	3
	2014	5	1	10 to 16 h	1	12.8 (2.85)	2*	5
Viamão (VIA1)	2014	-	-	-	-	-	-	-
Viamão (VIA 2)	2014	2	1	12 to 16 h	1	4 (1.73)	1*-	3†
<i>Cattleya purpurata</i>								
Torres (TOR1)	2014	2	2	9 to 17 h	1	4.5 (2.12)	-	3
Torres (TOR 2)	2014	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cattleya tigrina</i>								
Viamão (VIA1)	2013	2	-	9 to 17 h	-	-	-	-
	2014	7	3	8 16 h	3	6 (3.16)	2	3*
Porto Alegre	2014	5	1	10 to 18 h	1	4.6 (2.1)	1*	3
Torres (TOR1)	2014	1	-	9 to 15 h	-	-	-	-
<i>Cattleya coccinea</i>								
Cambará do Sul (CDS1)	2014	1	-	10 to 11 h	-	1.5	-	-
Cambará do Sul (CDS 2)	2014	-	1	10 to 14h	1	2	-	-
Cambará do Sul (CDS 3)	2014	-	-	-	-	-	-	-

\* Observed only once. † During video record. ‡ Values represent mean (s.d.).



**Table 5.** Summary results for natural fruit-set and Nilsson's efficiency factor in four *Cattleya* species of Rio Grande do Sul state, southern Brazil.

Locality	Sample size Plants (Flowers)	Predation (%)	Fruit set (%)†	Natural flowers pollinated per species (%)	Nilsson's Male efficiency factor‡ (Total Flowers)
<i>Cattleya intermedia</i>					
Pelotas (PEL)	291(878)		<b>2.6</b> (0.09 ± 0.43)		<b>0.65</b> (2.84/4.33)
Viamão (VIA1)	87(261)	6.5	<b>1.5</b> (0.05 ± 0.26)	2.6	<b>0.44</b> (1.53/3.45)
Viamão (VIA2)	43(111)		<b>5.4</b> (0.12 ± 0.54)		
<i>Cattleya purpurata</i>					
Torres (TOR 1)	389(1377)		<b>1.3</b> (0.05 ± 0.31)		<b>0.66</b> (1.30/1.96)
Torres (TOR 2)	41(117)	0.1	0	1.3	
<i>Cattleya tigrina</i>					
Viamão (VIA1)	66(613)		<b>5.9</b> (0.54 ± 1.41)		<b>0.54</b> (5.87/10.77)
Porto Alegre	21(218)	2.9	<b>14.2</b> (1.38 ± 2.25)	6.6	
Torres(TOR1)	17(196)		<b>0.51</b> (0.06 ± 0.23)		<b>0.09</b> (0.51/5.61)
<i>Cattleya coccinea</i>					
Cambará do Sul (CDS 1)	204		<b>5.4</b>		<b>0.87</b> (3.43/3.92)
Cambará do Sul (CDS 2)	119	1.6	<b>6.7</b>	5.5	
Cambará do Sul (CDS 3)	112		<b>4.5</b>		<b>0.62</b> (4.46/7.14)

†Numbers in parentheses represents mean number of capsules per inflorescence.

‡ Numbers in parenthesis represent Nilsson's male efficiency factor, % pollination flowers /

‡ Flowers acting as pollen donors.

**SUPPORTING INFORMATION**

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

**Supporting Table T1.** Main flowers features in four *Cattleya* species of Rio Grande do Sul state, southern Brazil.

**Supporting Table T2.** Number and percentage of pollinia remotions and depositions at three observation points in all localities visited of studied species.

**Supporting information movie S1.** Digital animation depicting the pollination mechanism in bee-pollinated *Cattleya* spp.

**Supporting information movie S2.** Pollination in *Cattleya intermedia* and *Cattleya coccinea*.

Figure 1.

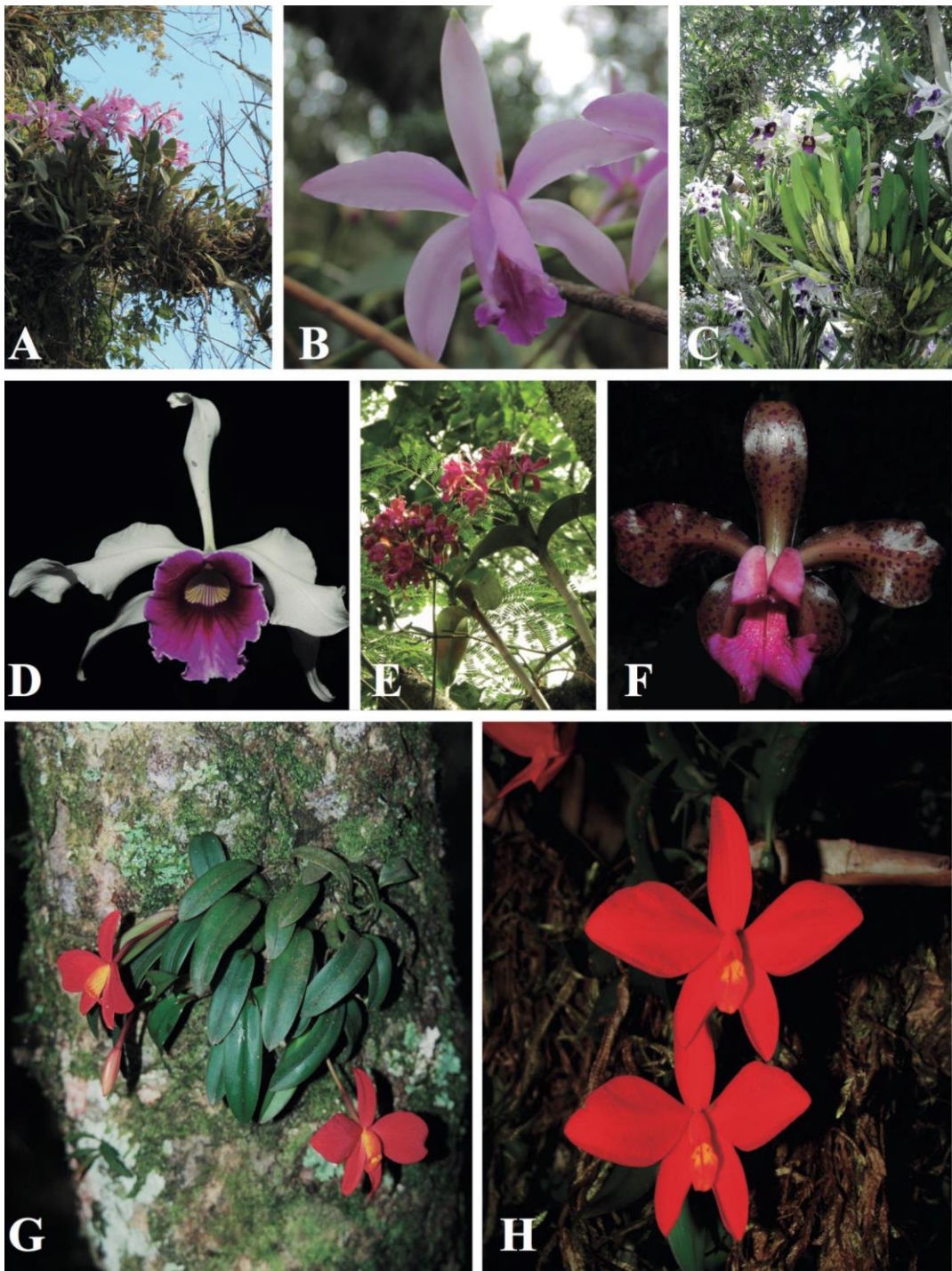


Figure 2

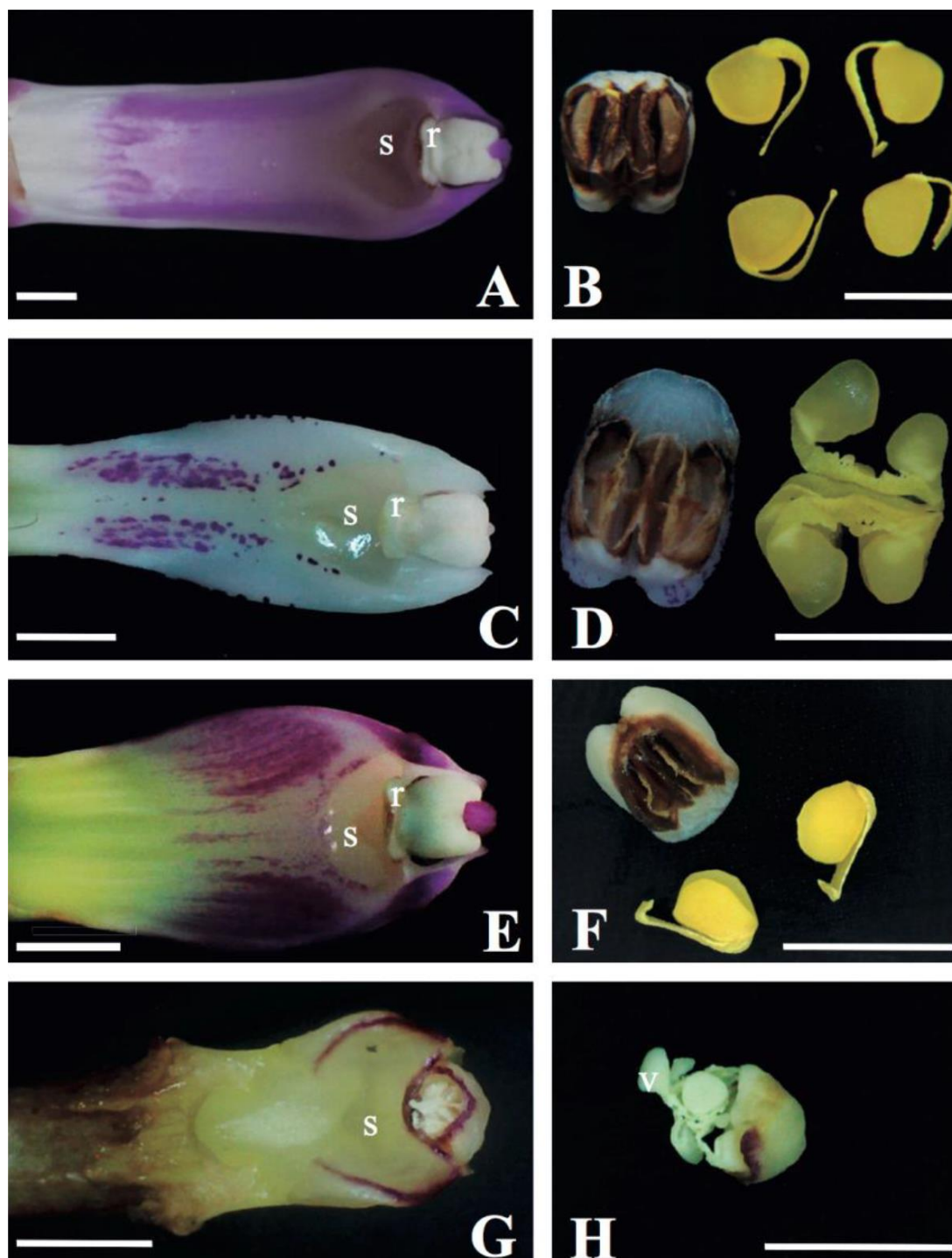




Figure 3.

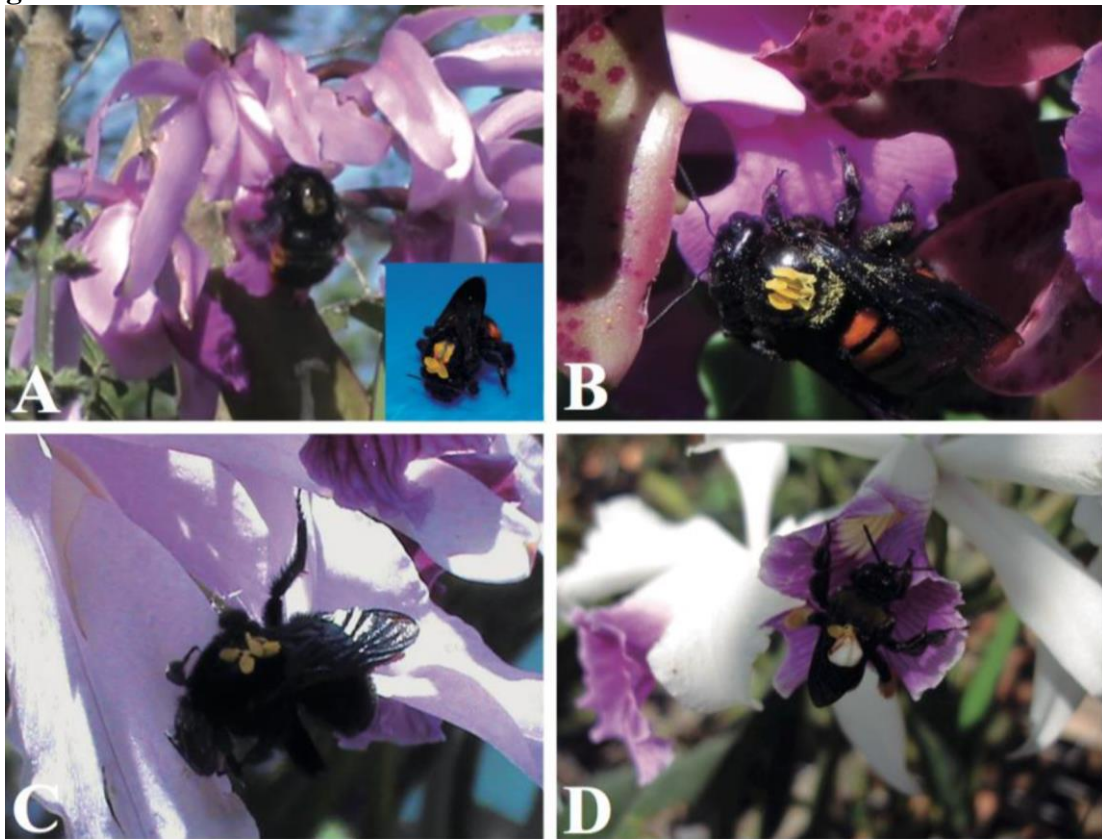
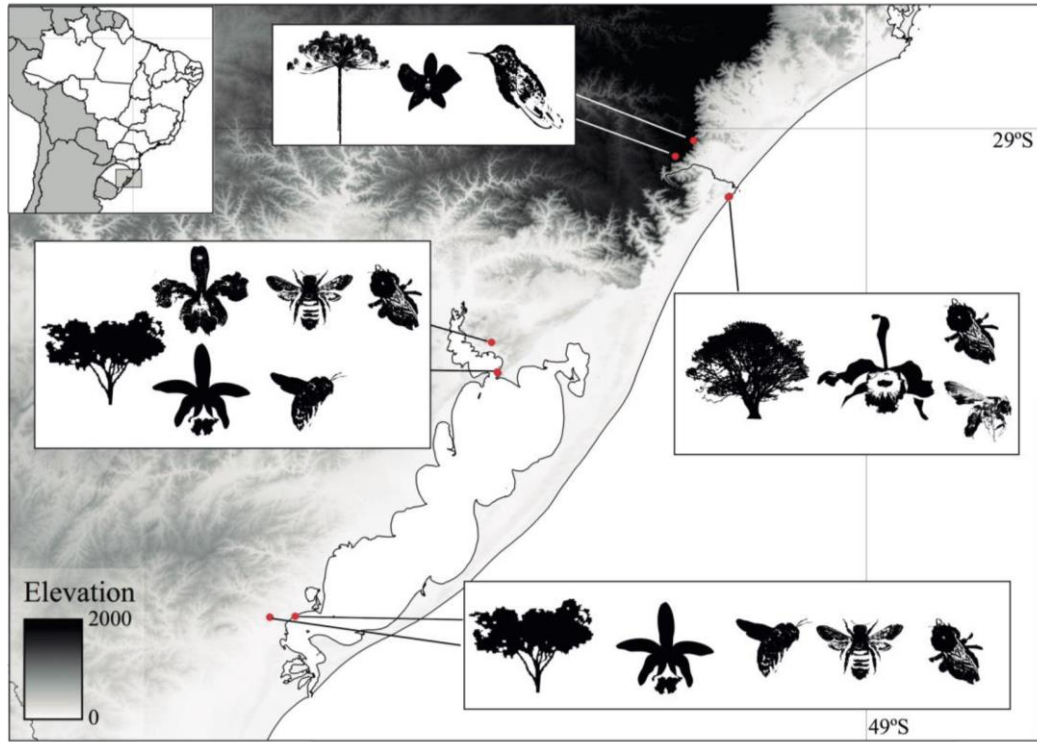






Figure 4.






**Cattleya species**

-  *C. intermedia*
-  *C. purpurata*
-  *C. tigrina*
-  *C. coccinea*

**Pollinators**

-  *Bombus atratus*
-  *Xylocopa frontalis*
-  *Xylocopa angusti*
-  *Epicharis* sp.
-  *Chlorostilbon lucidus berlepschi*

**Habitat**

-  Araucaria forest
-  Open areas of marine influence
-  Open areas of lake influence

**Supporting Information Table T1.**Main flowers features in four *Cattleya* species of Rio

Grande do Sul state, southern Brazil.

<b>Character</b>	<i>C. intermedia</i>	<i>C. purpurata</i>	<i>C. tigrina</i>	<i>C. coccinea</i>
<b>Infrageneric taxon</b>	<b>Intermediae</b>	<b>Cattleyodes</b>	<b>Intermediae</b>	<b>Sophronitis</b>
<b>Habitat</b>	moderate height	Coast	moderate height	above 600 m
<b>Peak flowering</b>	sept-oct	november	december	august-october
<b>Pseudobulbs</b>	<b>cylindrical or subcylindrical</b>	<b>clavates</b>	<b>cylindrical or subcylindrical</b>	<b>clavates</b>
<b>Habit</b>	epiphytic/rupicolous	epiphytic/rupicolous	epiphytic/rupicolous	epiphytic
<b>Plant size</b>	10-35 cm	30-40 cm	robust can grow over 35 cm	5-15 cm
<b>Leaves</b>	<b>bifoliate</b>	<b>unifoliate</b>	<b>bifoliate</b>	<b>unifoliate</b>
<b>Spathaceous bract</b>	present	Present	present	present
<b># of flowers/inflorescence</b>	<b>1 to 6</b>	<b>3 to 7</b>	<b>3 to 24</b>	<b>solitary</b>
<b>Odor</b>	<b>sweet fragrance present</b>	<b>sweet fragrance present</b>	<b>strong spicy fragrance present</b>	<b>absent</b>
<b>Flower time</b>	over 20 days	more or less 15 days	more or less 20 days	more or less 15 days
<b>Sepals texture</b>	membranous	membranous	fleshy	membranous
<b>Flower size</b>	<b>8-15 cm</b>	<b>larger than 15 cm</b>	<b>6- 11 cm</b>	<b>3-7 cm</b>
<b>Sepal shape</b>	margin entire	margin entire	margin entire	margin entire
<b>lateral sepal size</b>	3.0-5.8x1.0-1.5 cm	6.2-9.2x1.0-1.9	3.3-5.0x1-1.8 cm	1,6-2,3x0,3-1 cm
<b>dorsal sepal size</b>	4.7-6.3x1.0-1.5 cm	6.7-8.5x0.9-1.7 cm	4.2-5.3x1.0-1.4 cm	1.7-2.4x0.6-1.8cm
<b>Petal shape</b>	5.5-7x1.5-1.8 cm	4-7x2-2.5 cm	4-4.9x1-2.7 cm	2.2-2.6x1.4-1.6 cm
<b>Petal margin</b>	slightly wavy margin	wavy	slightly crenate	slightly wavy
<b>Petal surface</b>	membranous	membranous	fleshy	membranous
<b>Lip</b>	trilobate	trilobate	trilobate	conspicuously trilobed
<b>Lip margin</b>	smooth-ondulate	smooth-ondulate	smooth-ondulate	entire
<b>Lip surface</b>	papillose	papillose	papillose	
<b>Pollinarium</b>	without viscidium	without viscidium	without viscidium	<b>viscidium</b>
<b>Pollinias</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>8</b>
<b>Pollinia shape</b>	yellow, parallel and laterally compresses	yellow, liguliform	yellow, laterally compresses	with- light gray, laterally compresses
<b>Pollinia caudicules</b>	long	long	long	long
<b>Column</b>	without side wings	without side wings	without side wings	<b>side wings</b>
<b>Capsule fruit size</b>	4.5-5.2x2.0-3.3 cm	4.7-5.8x1.6-3.3 cm	4.6-5.3x1.8.0-3.4 cm	1.8-2.3x1.0-1.3 cm
<b>dehiscence (aprox. days)</b>	<b>140-300</b>	<b>160-250</b>	<b>160-250</b>	<b>80-120</b>

**Supporting Information Table T2.** Number and percentage of pollinia remotions and depositions at three observation points in all localities visited of studied species.

Species	Locality		Observation 1	Observation 2	Observation 3	TOTAL
<i>Cattleya intermedia</i>	Ecocamping (ECO)	Monitoring dates	19-23 Sep	5-8 oct	13-15 oct	
		remotions (%)	14 (77.7)	1 (5.5)	3 (16.6)	18
		depositions (%)	19 (76)	2 (8)	4 (16)	25
	Trilha onça (ITA 1)	Monitoring dates	25-29 aug	13-16 sep	21-22 oct	
		remotions (%)	4 (44.4)	2 (22.2)	3 (33.3)	9
		depositions (%)	3 (75)		1 (25)	4
<i>Cattleya purpurata</i>	Itapeva (PEVA 1)	Monitoring dates	24-29 nov	30 nov- 10 dec	10-19 dec	
		remotions (%)	18 (66.6)	3 (11.1)	6 (22.2)	27
		depositions (%)	13 (72.2)	1 (5.5)	4 (22.2)	18
<i>Cattleya tigrina</i>	Trilha onça (ITA 1)	Monitoring dates	4-8 dec	26 dec	10 jan	
		remotions (%)	42(66.7)	6 (9.1)	18 (27.3)	66
		depositions (%)	20 (55.5)	4 (11.11)	12 (33.3)	36
	Itapeva (PEVA 1)	Monitoring dates	30-nov	10 dec	19 dec	
		remotions (%)	9 (81.8)		2 (18.2)	11
		depositions (%)	1 (100)			1
<i>Cattleya coccinea</i>	Fortaleza (PNSG 1)	Monitoring dates	25 aug	4-sept	29-sept	
		remotions (%)	5 (62.5)	2 (25)	1 (12.5)	8
		depositions (%)	3 (42.8)	1 (14.3)	3 (42.8)	7
	Guarita (PNSG 2)	Monitoring dates	28-sept	27-oct	16 dec	
		remotions (%)	2 (25)	1 (12.5)	5 (62.5)	8
		depositions (%)	1 (20)		4 (80)	5



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As quatro espécies do gênero *Cattleya* alvo do estudo apresentaram tamanho e forma diferente, mas as flores mostraram padrões semelhantes quanto a estruturas funcionais e sua biologia floral e reprodutiva. Estas espécies são autocompatíveis, mas polinizador-dependentes, precisando que animais vetores efetuem a polinização com o fim de formar frutos e sementes. As espécies do estudo não apresentaram diferenças significativas entre a produção de frutos decorrentes de autopolinização ou polinização cruzada, contudo a produção de sementes viáveis é maior nos frutos providentes de polinização cruzada. A existência do mecanismo de polinização por engodo foi verificada para as quatro espécies.

Este trabalho apresentou pela primeira vez a biologia reprodutiva e detalhes do comportamento dos polinizadores de quatro espécies do gênero *Cattleya* nativas da Mata Atlântica e do Pampa. Foram realizadas observações no campo durante aproximadamente 700 horas em oito populações de 11 localidades diferentes dentro do estado de Rio Grande do Sul, o qual permitiu verificar que estas orquídeas de um modo geral mostram baixa taxa de frutificação na natureza e apresentam limitação pelo polinizador no seu sucesso reprodutivo.

Existem caracteres morfológicos intrínsecos comuns nas quatro espécies estudadas que favorecem a polinização cruzada, como as amplas superfícies estigmáticas, presença de rostelo, longas caudículas e víscido (o que pode favorecer o transporte do pólen por longas distâncias). Embora esperávamos encontrar um alto grau de interações espécie-específicas (uma orquídea-um polinizador), verificou-se que no gênero a estratégia tende a ser generalista. Além disso, sugerimos que fatores como a fenologia, densidade de

indivíduos próximos à mesma espécie ou de proximidade com outras plantas que oferecem recursos mais a diversidade, abundância e comportamento dos possíveis polinizadores emergentes podem aumentar a probabilidade de polinização de espécies que usam o engano.

Apesar que para duas das espécies de *Cattleyas* do estudo já tinham sido reportados dados de polinizadores efetivos, este trabalho gera dados abrangentes sobre o comportamento do visitante e amplia o número de espécies encontradas como polinizadores efetivos no gênero *Cattleya*. No entanto, como os nossos resultados foram obtidos na região Sul do Brasil, consideramos importante realizar observações em populações naturais de outras regiões, nas quais fenologia e abundância e diversidade de polinizadores pode ser maior.