

LAMARTINE ANTONIO DA CUNHA FILHO
Engenheiro Agrônomo

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA EVOLUÇÃO
DO SUBGÊNERO CYRTOLAELIA (ORCHIDACEAE) COM BASE NA
DETERMINAÇÃO DAS DISTÂNCIAS GENERALIZADAS DE MAHALANOBIS

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Uni
versidade de São Paulo, para obtenção
do título de Magister Scientiae.

Junho de 1966
PIRACICABA - ESTADO DE SÃO PAULO
B R A S I L

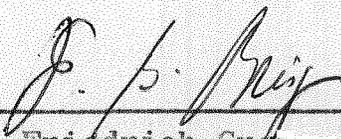
CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA EVOLUÇÃO DO SUBGÊNERO
CYRTOLAELIA (ORCHIDACEAE) COM BASE NA DETERMINAÇÃO
DAS DISTÂNCIAS GENERALIZADAS DE MAHALANOBIS

LAMARTINE ANTONIO DA CUNHA FILHO

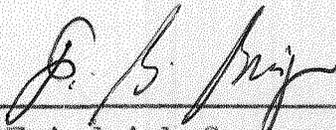
TESE DE 'MAGISTER SCIENTIAE' APROVADA EM 12 DE
OUTUBRO DE 1966 PELA BANCA JULGADORA COMPOSTA
DOS SEGUINTE MEMBROS: -

Prof. Friedrich Gustav Brieger
Prof. Almiro Blumenschein
Prof. Frederico Pimentel Gomes
Prof. Izaias Rangel Nogueira
Prof. Major M. Goodman

AUTORIZADA A PUBLICAÇÃO:



Prof. Friedrich Gustav Brieger
-SECRETÁRIO EXECUTIVO DO CD/CPG-



Prof. Friedrich Gustav Brieger
COORDENADOR DO CURSO PÓS-GRADUADO DE "GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS"



Prof. Almiro Blumenschein
-ORIENTADOR DA TESE-

ÍNDICE

	página
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DA LITERATURA	3
Referências relativas ao método estatístico	3
Referências relativas à Sistemática e Híbridões	5
Referências relativas à Citologia	7
Referências relativas à distribuição geográfica..	10
Referências relativas às épocas de florescimento.	10
MATERIAL E MÉTODO	12
RESULTADOS	16
Teste F	16
Teste de Tukey	17
Observação dos caracteres florais	17
Observação dos caracteres vegetativos	18
Teste de Tukey para caracteres florais	20
Teste de Tukey para caracteres vegetativos...	25
Teste de Tukey para caracteres florais e vegetativos	27
Análise estatística multidimensional	28
DISCUSSÃO	30
Considerações sôbre a disposição das espécies em grupos	30
Considerações sôbre híbridões	33
CONCLUSÕES	46
RESUMO	49
BIBLIOGRAFIA	51
AGRADECIMENTOS	53
QUADRO 1 - Distâncias morfológicas D e D^2	54
Matriz Dentro de Variâncias e Covariâncias	57
Inversa da Matriz Dentro de Variâncias e Covariâncias	58

INTRODUÇÃO

Os estudos de evolução de plantas têm sido feitos intensamente com apóio em pesquisas relacionadas com a morfologia vegetal, complementadas com a determinação das áreas de distribuição das espécies e com observações de ordem fisiológica e ecológica. Como um aperfeiçoamento desses estudos, foram também empregadas técnicas citológicas não somente com a finalidade de se conhecer o número de cromossomas das diferentes espécies, como também o seu grau de ploidia e as possíveis irregularidades cromossômicas estruturais ou fisiológicas. Cada um desses conhecimentos contribui com uma pequena parcela de conclusões que, em conjunto, podem trazer alguma luz para a resolução dos complexos problemas relativos à evolução. É de se esperar, porém, que a maioria desses problemas continue sem solução ainda por muito tempo e que muitos deles jamais possam ser resolvidos, tudo dependendo da maior ou menor intensidade dos sinais deixados pelo processo evolutivo. Enquanto continuarem existindo questões demandando soluções, continuarão os pesquisadores na busca de novos métodos de trabalho ou de novos processos, como uma tentativa de se acrescentar mais um resultado positivo aos demais já obtidos ou mesmo para diminuir um pouco a subjetividade das conclusões a que estão sujeitos tais métodos de pesquisa.

Assim sendo, surgiu a oportunidade de se utilizar métodos analíticos mais objetivos, tais como métodos estatísticos, os quais, com tais características, podem trazer conclusões menos sujeitas a opiniões pessoais e, portanto, menos afetadas a falsas interpretações. Dentre tais métodos, o das distâncias generalizadas de Mahalanobis, tem sido apontado como bastante apropriado para se avaliar os diferentes graus de afinidade entre grupos de indivíduos, com base na determinação das distâncias morfológicas. A estimação dessas distâncias diminui grandemente a subjetividade dos agrupamentos feitos sem base estatística, pois o método permite a consideração simultânea de numerosos caracteres para os quais são determinadas não somente as médias, como as variâncias e as covariâncias.

Dos grupos vegetais aos quais os autores têm se dedica

do intensamente no estudo de **Sistemática** e **Evolução**, o das orquídeas tem assumido um papel de destaque entre nós, dadas as características próprias do grupo, quais sejam: tipo de reprodução, estado evolutivo atual, número de espécies, etc.. E, entre as orquídeas, o subgênero Cyrtolaelia oferece condições muito propícias para a aplicação do método de Mahalanobis pois suas espécies foram amplamente estudadas, não somente do ponto de vista morfológico, como também, citológico, podendo-se, presentemente, contar com numerosas e utilíssimas informações aplicáveis do ponto de vista evolutivo, no tocante à organização de agrupamentos naturais. Assim sendo, tornou-se oportuno este estudo, pois ele nos permitirá não apenas o estabelecimento de comparações entre os resultados obtidos com a aplicação do método estatístico e aqueles que se assentam em bases de morfologia e de citologia, como também poderá oferecer conclusões adicionais de importância.

Evidentemente, a aplicação do método de Mahalanobis não poderá resolver de forma definitiva todos os problemas de avaliação do grau de afinidade entre espécies porque algumas características de grande importância tanto sistemática como de ordem evolutiva tais como caracteres qualitativos, número de cromossomas, época de florescimento e área de distribuição geográfica, fogem à consideração pelo método e também porque só poderão ser obtidos resultados satisfatórios a partir de uma escolha criteriosa dos caracteres para as mensurações.

: : : : : : : :

REVISÃO DA LITERATURA

Nesta revisão bibliográfica, consideraremos as citações dos diferentes autores, reunidas em dois grupos principais, um com aquelas relativas ao método de Mahalanobis e, outro, com aquelas referentes aos problemas de evolução e sistemática do grupo.

As referências bibliográficas que dizem respeito diretamente à aplicação do método de Mahalanobis, são as seguintes:

MAHALANOBIS, MAJUMDAR e RAO (1949), apud RAO (1952) empregaram o método da distância morfológica de Mahalanobis para a análise de 12 tribus de nativos da Índia, estudadas sob 9 caracteres morfológicos mensuráveis e mostraram os diferentes graus de semelhança existentes entre os grupos.

CUNHA, PISANI, VIANNA, CARVALHO, GABRIELLI e SILVA (1963) empregaram as distâncias generalizadas D^2 (Mahalanobis) para obter o grau de afinidade entre populações de gado Zebú, Charolês, 5/8 Charolês-Zebú e Bimestiço (descendentes de animais 5/8 Charolês-Zebú e sujeitos à seleção) e concluíram que as posições relativas dos quatro grupos eram, de certo modo, esperadas em face da seleção para um germoplasma mais adaptável às condições ecológicas a que as populações estavam submetidas. Determinaram também a função discriminante para separar os grupos Charolês e Zebú.

VENCOVSKY (1960) teceu considerações sobre o método das distâncias morfológicas de Mahalanobis, descrevendo-o em suas linhas gerais e citando-o, entre outros, como um método biométrico que pode ser utilizado no estudo da morfologia de grupos de indivíduos, particularmente aplicável à Sistemática. Discorrendo sobre a aplicabilidade do método nesse particular, fez notar que, como os grupos específicos representam um estágio filogenético mais adiantado do que o representado pelos grupos sub-específicos correspondentes, torna-se possível formular a hipótese de que deve existir, entre duas espécies, em termos médios, um contraste morfológico mais amplo do que o existente entre duas sub-espécies. Concluiu desse fato, ser muito bem possível a aplicação de métodos estatísticos para a avaliação

da intensidade dêsse contraste ou grau de diversificação morfológica em grupos naturais de indivíduos, com finalidade de se tirar conclusões de ordem filogenética. Lembrou, entretanto, - que, embora os processos evolutivos sejam de natureza gradativa, pois dependem do acúmulo progressivo de mutações novas e da modificação de sua frequência sob os efeitos da seleção, a ação fenotípica de uma mutação não é essencialmente dessa natureza. Assim, contrastes morfológicos consideráveis que surgiram durante uma diversificação, na evolução, tanto podem ser o resultado de um acúmulo lento de muitas mutações, em que cada uma tem um efeito fenotípico fraco, como o resultado do aparecimento repentino de umas poucas mutações com efeito fenotípico acentuado. Daí o fato de nem sempre se poder concluir sobre as distâncias filogenéticas a partir de distâncias morfológicas.

BRIEGER, VENCovsky e PAKER (1963) empregaram a distância D de Mahalanobis no estudo de 11 espécies do gênero Cattleya Ldl. e analisaram três grupos de dados, cada um referente a 6 caracteres dos órgãos florais: o comprimento, a largura e o quociente largura/comprimento. Verificaram que os arranjos das espécies em grupos podem ser modificados pela inclusão de outros caracteres na análise, de modo a se obter os mesmos grupos reconhecidos pelos taxônomos, o que não tinha sido obtido sem êsse cuidado. Concluíram que a aplicação do método de Mahalanobis fornece informações valiosas em adição às informações que se obtém com o método clássico da comparação subjetiva de grupos taxonômicos, mas nem é completamente objetivo, nem representa um substituto a êsse método clássico.

VENCovsky e BLUMENSCHIEIN (1961) aplicaram a distância morfológica de Mahalanobis para 6 caracteres morfológicos tomados nas espécies Laelia flava, Laelia cinnabarina, Laelia mixta e Laelia sp. (grupo ainda não descrito como nova espécie na ocasião) e concluíram ser possível considerar Laelia mixta e Laelia sp. como resultantes de uma hibridação entre Laelia flava e Laelia cinnabarina, embora tal conclusão fôsse apenas parcial já que o estudo estava ainda em andamento.

As referências bibliográficas que dizem respeito aos problemas de Sistemática e Evolução do grupo, citadas a seguir, serão subdivididas da seguinte forma: 1) Sistemática e hibrida

ções, 2) Citologia, 3) Distribuição geográfica e 4) Época de florescimento.

1) Sistemática e hibridações

HOEHNE (1938) levantou a hipótese de ser Laelia mixta provavelmente uma forma híbrida entre Laelia harpophylla e Laelia flava, sugestão esta, baseada na comparação entre os aspectos morfológicos das plantas dessas espécies. Afirmou também ser Laelia ostermayerii bastante próxima de Laelia longipes e que, pela observação de seus caracteres relativos ao comprimento do rácimo floral e à cor das flôres, chega-se à conclusão de ser um híbrido natural entre Laelia longipes e Laelia flava.

HOEHNE (1952) assinalou a grande semelhança entre Laelia rupestris e Laelia tereticaulis mas não julgou indicado, por mais empenho que fizesse, determinar esta, como eventual variedade daquela e, muito menos, subordiná-la a ela. Lembrou ainda que Laelia gloedeniana deve ter se cruzado naturalmente com Laelia harpophylla para produzir Laelia mixta.

BLUMENSCHNEIN (1960-a) fez notar as semelhanças entre Laelia ostermayerii e Laelia esalqueana com respeito aos caracteres vegetativos e florais, assinalando as dimensões mais reduzidas nos bulbos e folhas e maior largura nas peças florais para Laelia esalqueana. Os cruzamentos entre plantas de ambas as espécies não foram férteis. Afirmou também o autor, ser Laelia flava a espécie com a qual mais se assemelha Laelia milleri a qual, possivelmente, teve origem de uma hibridação entre Laelia flava e Laelia cinnabarina. Adiantou ainda, ter a espécie Laelia briegeri folhas e pseudobulbos muito semelhantes à Laelia crispilabia, porém, mais longos e grossos. Notou também semelhança entre as peças florais de Laelia briegeri e Laelia rupestris.

BLUMENSCHNEIN (1960-b) demonstrou que Laelia tereticaulis Hoehne devia entrar para a sinonímia de Laelia rupestris pela verificação de serem maiores as diferenças entre plantas de duas origens de Laelia rupestris - Serra do Cipó e Serra do Cabral - do que entre estas e as plantas de Laelia tereticaulis. Verificou ainda, pela análise detalhada da morfologia e tamanho dos diversos órgãos vegetativos e florais, que as espécies de

Cyrtolaelia são muito semelhantes entre si, havendo, para algumas características, uma certa continuidade na variação entre espécies, sendo possível duas explicações para o fato: serem tais espécies resultantes de hibridações interespecíficas dentro do subgênero, ou ser o fenômeno um resultado de evolução paralela devido à distribuição simpátrica das espécies as quais estariam, portanto, sujeitas à mesma seleção. Julgou mais provável a explicação pelas hibridações, pois as semelhanças e continuidades eram verificadas mais em características quantitativas. No tocante a essas possíveis e prováveis origens híbridas, lembrou a importância da consideração das épocas de florescimento das espécies e a sua distribuição geográfica. Quanto à época de florescimento, o autor se baseou nesse caráter para preferir considerar Laelia ostermayerii como um híbrido entre Laelia esalqueana e Laelia longipes e não conforme sugeriu Hoehne(1938). Da mesma forma achou bem viável a hipótese da origem de Laelia milleri a partir da hibridação de Laelia flava e Laelia cinnabarina, pois as épocas de florescimento destas espécies são coincidentes. Ainda mais, o autor preferiu considerar Laelia mixta como o resultado da hibridação entre Laelia gloedeniana e Laelia cinnabarina, não somente pelas semelhanças morfológicas entre estas três espécies, como também pela maior coincidência da floração, distribuição geográfica e ecológica entre Laelia gloedeniana e Laelia cinnabarina do que entre Laelia flava e Laelia harpophylla, como considerou Hoehne (1938), ou do que entre Laelia gloedeniana e Laelia harpophylla como também lembrou Hoehne (1952). Estudando a variação intraespecífica relativa à época de florescimento, o autor verificou em Laelia briegeri, Laelia crispilabia e Laelia longipes, a primeira estudada em quatro origens diferentes e as demais em duas origens cada uma, que a época de florescimento para as diferentes origens dentro de cada espécie era a mesma. Para Laelia flava, estudada em quatro origens e Laelia rupestris, em três origens, as épocas diferiam entre as origens mas formavam um gradiente perfeito. Com respeito à distribuição geográfica, o autor verificou um grau bem alto de simpatrismo apresentado pelas espécies do subgênero de modo que, mesmo para os casos em que a distância entre plantas de espécies diferentes era maior que o raio de --

ação dos insetos polinizadores, seria possível o cruzamento devido às sementes, de reduzido tamanho, poderem ser transportadas pelo vento a longas distâncias. Assim sendo, somente a pressão de seleção proveniente das condições ecológicas de cada região, impedindo o desenvolvimento de determinadas espécies, dificultaria o aparecimento de maior número de formas híbridas. Finalmente, mostrou o autor que a poliploidia, bastante frequente entre as Cyrtolaelia, pode ser responsabilizada pela fixação dos produtos de hibridações.

WITHNER e ADAMS (1960) apontaram a ocorrência natural de hibridação e introgressão como, indubitavelmente, um fenômeno de grande importância no processo de especiação nas Orchidaceae e um fator de desenvolvimento deste grupo taxonômico. Para os autores, a hibridação natural nas Orchidaceae não é um acontecimento ocasional mas um processo que se repete constantemente, mais frequentemente com formas próximas e que tem como consequência a produção de populações variáveis e completamente híbridas. Para justificar a idéia básica do trabalho, os autores organizaram gráficos com pontos dispersos relativos aos diferentes valores dos coeficientes comprimento/largura da pétala e comprimento/largura da sépala para indivíduos de diferentes espécies e respectivos híbridos, apontando a localização aproximadamente intermediária das populações híbridas. Considerando as interrelações de certos membros de Laeliinae, reuniram Laelia flava, Laelia harpophylla e Laelia cinnabarina num grupo resultante de um padrão segregante de um complexo original e Laelia longipes e Laelia crispilabia em outro grupo originado do mesmo complexo. Os autores julgaram que estudos futuros a respeito de outros caracteres, tais como estrutura mais íntima de órgãos florais e vegetativos, estrutura cromossômica, pigmentação, etc., deverão confirmar a idéia básica por eles defendida.

2) Citologia

BLUMENSCHNEIN (1957) fez um estudo minucioso referente à citologia em orquídeas e do qual, no tocante às espécies do subgênero Cyrtolaelia (considerado, na oportunidade, como subgênero Flavae), julgamos a propósito citar as seguintes considerações:

Da espécie Laelia flava, o autor examinou cinco clones

provenientes de São Tomé das Letras, encontrando regularidade na meiose em só um dêles, no qual a metáfase I mostrou sempre 20 unidades, enquanto que, nos outros, de 20 a 26 unidades. Verificou ainda que, na anáfase, os cromossomas mostravam comportamento irregular, não havendo uma sincronização no caminhamento para os polos, alguns aparecendo bem mais adiantados e, outros, bem mais atrasados. Além disso, encontrou tétrades até com dois micronúcleos.

Da espécie Laelia mixta, examinou a meiose de quatro plantas coletadas na Serra do Cipó, encontrando irregularidades em tôdas elas. A anáfase se mostrou mais regular do que em Laelia flava e diminuiu a frequência de micronúcleos nas tétrades.

Da espécie Laelia cinnabarina, examinou a meiose de uma só planta, observando, na metáfase I, de 20 a 24 unidades. A anáfase I mostrou-se irregular mas não foram observados micronúcleos.

Para a espécie Laelia rupestris, constatou a presença de 40 unidades nas células haplóides e verificou que o número de cromossomas nos grãos de pólen podia variar, sendo, no entanto, mais comum, o número 40. Nas tétrades não foram encontrados micronúcleos.

Para Laelia caulescens, encontrou 40 bivalentes na metáfase I da divisão das células mãe dos grãos de pólen.

Para Laelia longipes, encontrou 40 unidades na metáfase I da meiose.

Com base nesses achados citológicos, o autor teceu considerações sôbre as possibilidades de uma origem híbrida para certas espécies. Com relação a Laelia flava, pelas irregularidades observadas na meiose, preferiu explicar o fenômeno pela ocorrência de poliploidia e não por falta de pareamento devida à hibridação, pois a grande uniformidade morfológica das plantas não indicava constituição híbrida. Entretanto, só uma análise das células somáticas poderia, talvez, solucionar a questão. Com relação a Laelia mixta, considerou improvável a possibilidade de constituição híbrida, devido à grande uniformidade morfológica do conjunto de plantas coletadas. Para o caso de Laelia cinnabarina, julgou que talvez a condição híbrida possa

ser a explicação para as irregularidades observadas na meiose, pois os caracteres morfológicos da parte vegetativa da planta observada, divergiam do padrão da espécie, fazendo-a se assemelhar a Laelia flava.

BLUMENSCHNEIN (1960-b) apresentou um estudo bastante detalhado a respeito do papel da poliploidia como um fenômeno de atuação bastante efetiva na evolução dos vegetais de um modo geral, sendo ela considerada, embora com exceções, como um dos processos capaz de isolar populações simpátricas. Relatou os resultados dos exames citológicos feitos na maioria das espécies de Cyrtolaelia, os quais foram os seguintes:

Em Laelia crispilabia de duas origens diferentes, o número de cromossomas somáticos foi igual a 80.

Em Laelia longipes o número somático de cromossomas foi igual a 40 em uma das origens e, em outra, 40, 60 e 80.

Em Laelia flava as plantas de três diferentes origens tinham sempre 20 bivalente na metáfase I, enquanto que, numa quarta origem, foram contadas de 20 a 24 unidades na metáfase I da meiose, embora nas células meristemáticas da raiz o número de cromossomas tenha sido sempre 40. Não foram constatadas alterações estruturais.

Em Laelia briegeri as plantas de duas origens mostraram 80 cromossomas nas células somáticas, enquanto que, as plantas de uma terceira origem mostraram, em suas células somáticas 42, 44 e 48 cromossomas. A meiose dessas plantas era irregular, podendo-se contar de 20 a 23 unidades na metáfase I. Nos grãos de pólen dessas plantas foram encontrados de 19 a 23 cromossomas.

Em Laelia rupestris as plantas de três diferentes origens possuíam 80 cromossomas nas células somáticas.

Em Laelia caulescens, para uma só origem, o número de cromossomas somáticos foi igual a 80.

Considerando êsses resultados o autor teceu as seguintes considerações sobre os estados evolutivos dessas espécies:

Quanto a Laelia rupestris, Laelia crispilabia e Laelia caulescens, aceitou a impossibilidade, pelo menos atual, de se reconhecer as espécies diplóides que as originaram. Quanto a Laelia longipes, duas situações foram imaginadas: a) as formas

triplóides funcionam como uma ponte de ligação ou troca de gens entre as duas outras formas; b) as formas triplóides são de origem recente, não tendo ainda havido tempo para uma definição de sua conservação ou eliminação pela seleção natural. Quanto a Laelia briegeri foi ideada a seguinte marcha evolutiva: por poliploidia, um ancestral diplóide, provavelmente Laelia esalqueana, deu origem a uma população tetraplóide e, do cruzamento entre plantas de ambas as populações, foram originados indivíduos triplóides em cuja descendência estão sendo selecionados os tipos mais próximos do nível diplóide.

3) Distribuição geográfica

BLUMENSCHHEIN (1960-b) relacionou as distribuições geográficas das espécies de Cyrtolaelia, dando uma idéia bastante precisa do elevado grau de simpatrismo a que tais espécies estão submetidas. São elas as seguintes:

Laelia harpophylla e Laelia cinnabarina, ocorrem nos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro, sendo que, a segunda, penetra também no Estado de Minas Gerais. Laelia ostermayeri e Laelia mixta ocorrem no Estado do Espírito Santo e no centro e leste de Minas Gerais, tendo a primeira sido coletada em Santa Bárbara e, a segunda, na Serra do Cipó. Laelia flava foi encontrada na Serra do Curral, em Itajubá, ao sul de São Tomé das Letras e ao sul de Cambuquira. Laelia caulescens ocorre ao norte de São João del Rei. Laelia milleri, na Serra dos Ingleses. Laelia crispilabia, na Serra dos Ingleses e na Serra do Curral. Laelia longipes, na Serra do Cipó. Laelia rupestris, na Serra do Cipó, na Serra do Cabral e ao norte de Sêrro. Laelia briegeri, nas regiões chamadas Cabeça do Bernardo e Lapinha, ao norte de Sêrro e entre Gouveia e Curvelo. Laelia esalqueana, entre Gouveia e Curvelo.

4) Épocas de florescimento

BLUMENSCHHEIN (1960-b) fez um levantamento das épocas de florescimento das espécies de Cyrtolaelia e, resumidamente, os dados são os seguintes:

	Outono			Inverno			Primavera			Verão			
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
<u>Laelia crispilabia</u>	xxxxxxx												
<u>Laelia flava</u>	xxxxxxxxxxxx	xxxxxxxxxxxx	xxxxxxxxxxxx										
<u>Laelia mixta</u>			xxxxxxxxxxx										
<u>Laelia rupestris</u>				xxxxxxxxxxxx	xxxxxxxxxxxx	xxxxxxxxxxxx	xxxxxxxxxxxx						
<u>Laelia caulescens</u>					xxxxxxx								
<u>Laelia cinnabarina</u>						xxxxxxx							
<u>Laelia harpophylla</u>						xxxxxxx							
<u>Laelia longipes</u>								xxxxxxxxx					
<u>Laelia briegei</u>									xxxxxxxxx				
<u>Laelia esalqueana</u>									xxxxxxxxx				
<u>Laelia ostermayerii</u>										xxxxxxxxx			
<u>Laelia milleri</u>											xxxxxxxxxxx		

MATERIAL E MÉTODO

O material usado no presente trabalho constou de um grupo ainda não descrito e 12 espécies das 14 que constituem hoje o subgênero Cyrtolaelia. As espécies Laelia gloedeniana Hoehne e Laelia bahiensis Schlechter não foram consideradas em nosso trabalho pelo fato de não existirem exemplares das mesmas na coleção do Instituto de Genética. Cada uma das demais, quais sejam, Laelia briegeri Blum., Laelia caulescens Lindl., Laelia cinnabarina Batem., Laelia crispilabia A. Rich., Laelia esalqueana Blum., Laelia flava Lindl., Laelia harpophylla Reichb. f., Laelia longipes Reich. f., Laelia milleri Blum., Laelia mixta Hoehne, Laelia ostermayerii Hoehne e Laelia rupestris Lindl, foram estudadas com números variados de exemplares. O grupo ainda não descrito como nova espécie será designado pelo nome do local de sua ocorrência, ou seja, por Laelia sp. (Vieira Machado). Quanto à espécie Laelia rupestris, não nos preocuparemos com as subespécies que a constituem, pois nosso objetivo será apenas a organização dos grupos de espécies dentro do subgênero e não das subespécies dentro das espécies.

Para maior facilidade de expressão, consideraremos, neste trabalho, dêste ponto em diante, o grupo Laelia sp. (Vieira Machado) como espécie, embora tal consideração não possa ser feita estritamente pelas regras de nomenclatura, por ainda não ter sido descrito, êste grupo, como nova espécie. Somos levados a isso entretanto, tão somente para ganharmos maior facilidade na construção das expressões utilizadas no texto.

Os números de exemplares examinados de cada uma das espécies estudadas foram os seguintes:

<u>Laelia briegeri</u>	29	exemplares
<u>Laelia caulescens</u>	38	"
<u>Laelia cinnabarina</u>	16	"
<u>Laelia crispilabia</u>	38	"
<u>Laelia esalqueana</u>	27	"
<u>Laelia flava</u>	102	"
<u>Laelia harpophylla</u>	10	"
<u>Laelia longipes</u>	38	"

<u>Laelia milleri</u>	79	exemplares
<u>Laelia mixta</u>	25	"
<u>Laelia ostermayerii</u>	36	"
<u>Laelia rupestris</u>	34	"
<u>Laelia</u> sp. (Vieira Machado)	46	"

Todos os espécimes estudados já se encontravam sob as condições ambientes de Piracicaba, em cultivo sob ripados, por mais de cinco anos.

De tôdas as Cyrtolaelia da coleção, sòmente foram estudadas as plantas das quais já haviam sido preparados os herbários referentes à flor, tal como se faz como rotina para as Orchidaceae pertencentes ao Instituto de Genética, e que ainda se encontravam no ripado em condições favoráveis para permitirem a tomada das medidas relativas à parte vegetativa.

De cada exemplar foram tomadas as medidas dos seguintes caracteres:

- 1 - Comprimento da sépala dorsal
- 2 - Largura da sépala dorsal
- 3 - Comprimento da sépala ventral
- 4 - Largura da sépala ventral
- 5 - Comprimento da pétala
- 6 - Largura da pétala
- 7 - Comprimento do lóbulo lateral do labelo
- 8 - Largura do lóbulo lateral do labelo
- 9 - Comprimento do lóbulo central do labelo
- 10 - Largura do lóbulo central do labelo
- 11 - Comprimento do istmo
- 12 - Largura total do labelo
- 13 - Comprimento do pedúnculo
- 14 - Comprimento da coluna
- 15 - Comprimento do pseudobulbo
- 16 - Espessura do pseudobulbo
- 17 - Comprimento da fôlha
- 18 - Largura da fôlha.

Tôdas essas medidas foram tomadas com o auxílio de uma régua milimetrada comum com exceção da espessura do pseudobulbo

a qual foi obtida por meio de um paquímetro também milimetrado. Tanto a régua como o paquímetro foram sempre aplicados no ponto de maior dimensão do órgão vegetal, quer para comprimento, quer para largura, quer para espessura. As 14 medidas relativas à flor, constam dos herbários feitos por funcionários do Instituto de Genética e de onde retiramos os dados e as 4 medidas relativas à parte vegetativa foram por nós obtidas diretamente nas plantas do ripado. Para a tomada destas últimas medidas escolhemos sempre, de cada exemplar, uma fôlha adulta e perfeita, produzida no último ano e o pseudobulbo correspondente.

A razão da escolha desses caracteres se prendeu ao facto de serem os mesmos os mais importantes do ponto de vista da sistemática do grupo.

Em primeiro lugar foi feita uma análise da variância em relação a cada um desses caracteres para se saber quais deles deveriam ser considerados na aplicação do método de Mahalanobis. Se para alguns se tivesse obtido um valor F não significativo, tais caracteres não deveriam entrar na análise multidimensional, pois sua presença não iria influir, de modo eficiente, nos resultados finais.

As 18 análises da variância para a constatação das possíveis diferenças significativas para os contrastes de médias entre espécies, obedeceram ao seguinte modelo:

Causas de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Entre espécies	12			
Resíduo	505			
T o t a l	517			

Em segundo lugar foi empregado o teste de Tukey para os contrastes das médias dos caracteres florais, apenas entre as espécies mais afins com relação aos mesmos e foi organizado um quadro geral para a comparação entre as espécies, levando-se em conta, ao mesmo tempo, todos os caracteres florais, embora de

um modo um tanto subjetivo. Os resultados obtidos com êsse teste já dariam uma idéia aproximada dos graus de afinidade entre os grupos, facilitando a interpretação das distâncias D que seriam obtidas pela aplicação do método de Mahalanobis.

Em terceiro lugar e com o mesmo objetivo, foi aplicado o mesmo teste e organizado o quadro correspondente, para o caso dos caracteres vegetativos.

Em quarto lugar foi feita a mesma comparação entre espécies, utilizando-se, simultaneamente, caracteres florais e vegetativos. Assim se procedendo, poder-se-ia verificar se os graus de afinidade entre espécies, avaliados pelos caracteres florais ou se aquêles avaliados pelos caracteres vegetativos, seriam ou não modificados, pela consideração simultânea desses dois tipos de caracteres. Se isso realmente ocorresse - o que já suspeitávamos pela simples observação dos dados - estaria justificada a aplicação do método de Mahalanobis, o qual, por sua natureza, permite a consideração simultânea e de forma objetiva, de todos os caracteres florais e vegetativos para a determinação das distâncias morfológicas entre as espécies.

Em quinto e último lugar foi feita a análise estatística multidimensional, empregando-se o método de Mahalanobis para a determinação das distâncias generalizadas D^2 , sendo esta a finalidade principal do trabalho. Essas distâncias foram obtidas por meio da seguinte operação matricial:

$$D^2 = d' S^{-1} d$$

sendo,

d = matriz coluna das diferenças entre as médias de cada um dos caracteres das duas espécies consideradas.

d' = transposta dessa matriz.

S^{-1} = inversa da matriz dentro de variâncias e covariâncias.

::::::::::

RESULTADOS

Os resultados obtidos com o emprêgo dos métodos estatísticos referidos nesses 5 ítems anteriormente relacionados, foram os seguintes:

A) Teste F

Os resultados obtidos para o teste F relativo a cada uma das 18 análises da variância, foram os seguintes:

Caracteres	F
1. comp. sépala dorsal	69,47***
2. larg. " "	59,20***
3. comp. " ventral	79,92***
4. larg. " "	57,94***
5. comp. pétala	84,73***
6. larg. "	70,36***
7. comp. lob. lat. labelo	101,80***
8. larg. " " "	46,48***
9. comp. " cent. "	118,36***
10. larg. " " "	56,87***
11. comp. istmo	45,93***
12. larg. total labelo	69,88***
13. comp. pedúnculo	26,35***
14. comp. coluna	68,11***
15. comp. pseudobulbo	79,53***
16. esp. "	67,22***
17. comp. fôlha	75,09***
18. larg. "	138,51***

A significância desses valores de F ao nível de 0,1% indica que pelo menos um dos contrastes de médias entre espécies para cada um dos 18 caracteres considerados, tem uma probabili-

dade maior do que 99,9% de ser diferente de zero.

Em vista desses resultados, resolvemos utilizar todos esses 18 caracteres para os cálculos dos valores D^2 , pelo método de Mahalanobis.

B) Teste de Tukey

Evidentemente, o emprêgo do teste de Tukey para todos os contrastes possíveis, seria uma tarefa muitíssimo trabalhosa e de poucos resultados práticos, pois nada menos do que 1.404 contrastes poderiam ser testados. Em vista disso, procuramos escolher para o teste, apenas os contrastes mais interessantes, isto é, aqueles com maior probabilidade de indicar não significância, já que o problema se constituia na reunião das espécies em grupos homogêneos. Assim sendo, procuramos fazer agrupamentos subjetivos das espécies, pela simples observação visual dos seus caracteres, levando em conta, primeiramente, apenas os caracteres florais e, depois, apenas os vegetativos. Dessas observações, obtivemos os seguintes resultados:

Observação dos caracteres florais.

Não se levando em conta as diferenças relativas à colocação das flôres mas apenas o seu desenvolvimento e o seu aspecto geral, pudemos reunir as 13 espécies estudadas nos seguintes grupos:

1) Grupo de espécies com flôres pequenas: Laelia esalqueana e Laelia ostermayerii. Neste grupo, chama a atenção o pequeno desenvolvimento das flôres, como consequência das dimensões reduzidas das pétalas e sépalas, tanto em comprimento como em largura.

2) Grupo de espécies com flôres de pétalas e sépalas largas e relativamente longas: Laelia longipes, Laelia briege-ri e Laelia rupestris. Neste grupo, chama a atenção o fato das pétalas e sépalas, embora relativamente longas, apresentarem -- tal desenvolvimento no sentido da largura destes órgãos, que o comprimento não chega a ultrapassar três vezes a largura.

3) Grupo de espécies com flôres de pétalas e sépalas longas e estreitas: Laelia crispilabia, Laelia caulescens, Lae-

lia flava, Laelia mixta, Laelia milleri e Laelia sp. (Vieira Machado). Neste grupo verifica-se que as pétalas e sépalas são longas e apresentam uma largura que corresponde, aproximadamente, à quarta parte do comprimento.

4) Grupo de espécies com flores de pétalas e sépalas muito longas e estreitas: Laelia cinnabarina e Laelia harpophylla. Neste grupo, as pétalas e sépalas atingem as maiores dimensões quanto ao comprimento e apresentam uma largura equivalente à quinta parte daquele.

Esta classificação é muito subjetiva mas, como veremos mais adiante, um teste de significância para contrastes de médias, mostrará que a mesma tem algo de verdadeiro.

Observação dos caracteres vegetativos.

Quanto aos caracteres vegetativos, a uma simples observação dos conjuntos de plantas de cada uma das 13 espécies, poderíamos, agora já com maiores dificuldades do que no caso anteriormente visto, reuni-las em 8 grupos:

1) Laelia longipes, Laelia esalqueana e Laelia ostermayerii, constituindo um grupo de espécies de reduzido desenvolvimento vegetativo. Este grupo chama logo a atenção por ser constituído de plantas muito baixas devido ao reduzido desenvolvimento não somente dos pseudobulbos como também das folhas. As folhas ainda se apresentam, caracteristicamente, bastante espessas, carnosas e pouco flexíveis, com a face dorsal do limbo dobrada em calha. Os exemplares se mostram, às vezes, com todas as folhas e todos os pseudobulbos verdes, outras vezes com todas as folhas e todos os pseudobulbos arroxeados e, outras vezes com algumas folhas e alguns pseudobulbos verdes e outros arroxeados.

2) Laelia flava, constituindo um grupo de uma só espécie, com plantas de porte médio para alto, de folhas largas e sempre verdes. Os pseudobulbos às vezes são todos verdes, outras vezes são todos arroxeados e outras vezes são alguns verdes e outros arroxeados.

3) Laelia briegeri, Laelia crispilabia e Laelia caules

cens, constituindo um grupo de plantas de porte médio, as quais vistas em conjunto, se mostram menos desenvolvidas do que Laelia flava. As fôlhas são ainda mais estreitas que em Laelia flava, mesmo levando-se em conta serem mais curtas. Em Laelia crispilabia tanto as fôlhas como os pseudobulbos apresentam sempre a cor verde, enquanto que em Laelia briegeri e Laelia caulescens, às vezes as fôlhas e outras vezes os pseudobulbos se mostram arroxeados, embora, na maioria das vezes, tanto as fôlhas como os pseudobulbos são verdes.

4) Laelia mixta, constituindo um grupo de uma só espécie, com plantas que podem ser consideradas como de porte médio, embora com desenvolvimento um tanto maior do que no grupo 3). A cor arroxeadada aparece nas fôlhas e nos pseudobulbos mais frequentemente do que em Laelia briegeri e Laelia caulescens. As fôlhas são estreitas e, por esse motivo e pela cor arroxeadada, faz lembrar Laelia cinnabarina, diferindo apenas pelo menor desenvolvimento. Outras vezes, porém, quando associa um menor desenvolvimento à presença de fôlhas e pseudobulbos verdes, se assemelha a Laelia briegeri, Laelia caulescens e Laelia crispilabia.

5) Laelia cinnabarina e Laelia harpophylla, constituindo um grupo bem característico, onde se nota o grande desenvolvimento das plantas em altura. As fôlhas são longas e estreitas sendo que em Laelia harpophylla a largura das fôlhas é mais reduzida do que em Laelia cinnabarina. Quanto à coloração, aparece tanto o verde como o arroxeadado mas, em Laelia cinnabarina o arroxeadado das fôlhas e pseudobulbos é mais frequente do que o verde enquanto que, em Laelia harpophylla ocorre o contrário. Em Laelia harpophylla há uma característica diminuição gradual da largura da fôlha em direção à extremidade a qual se torna pontiaguda e também uma característica redução na espessura dos pseudobulbos que se apresentam praticamente cilíndricos.

6) Laelia milleri, constituindo um grupo de uma só espécie, com plantas baixas, menos desenvolvidas que as do grupo 3) mas não tão pouco desenvolvidas como as do grupo 1). As fôlhas são curtas e largas e de cor arroxeadada assim como os pseudobulbos. O formato das fôlhas e a cor das plantas tornam fá-

cil o reconhecimento da espécie.

7) Laelia rupestris, constituindo um grupo de uma só espécie e muito característico. As plantas são altas, erectas e as fôlhas, de bordas paralelas até muito próximo à extremidade, se dispõem com a mesma direção que os pseudobulbos, originando o aspecto de espátula estreita e longa. As fôlhas são verdes e os pseudobulbos mostram um ligeiro tom acinzentado.

8) Laelia sp. (Vieira Machado), constituindo um grupo com uma só espécie, caracterizada pela cor amarelada absolutamente geral para o pseudobulbo fazendo contraste com o verde da fôlha. As fôlhas são bastante largas e o desenvolvimento da planta é maior do que em Laelia flava mas não tanto quanto em Laelia rupestris.

Esta classificação, que discorda bastante daquela baseada nos caracteres florais, também é muito subjetiva mas, como veremos adiante, um teste de significância para contrastes de médias, mostrará que a mesma tem algum fundamento.

Nessas duas classificações foram, muitas vezes, empregados termos tais como: curtos, longos, muito longos, largos, estreitos, médio, etc.. Com tais termos procuramos qualificar os caracteres considerando-se apenas o subgênero em estudo. Evidentemente, uma pétala considerada longa em Cyrtolaelia pode ser muito curta considerando-se outros grupos.

Teste de Tukey para caracteres florais

Um exame do quadro geral das médias obtidas para os caracteres florais, servirá para se ter uma idéia melhor das espécies que devem ser escolhidas para se formar os contrastes de médias, com a finalidade de mostrar o grau de semelhança entre essas espécies em relação a tais caracteres. Nesse quadro geral, que se segue, os caracteres foram enumerados tal como na fôlha 13

Médias, em milímetros, dos 14 caracteres florais

Espécies	caracteres						
	1	2	3	4	5	6	7
L. cinn.	35,44	6,44	31,81	6,81	33,75	6,75	18,94
L. mixta	21,56	5,76	19,72	5,88	21,00	5,68	11,00
L. esalq.	16,44	5,19	13,52	5,26	14,78	5,07	8,15
L. brieg.	23,52	8,55	20,21	8,52	22,00	8,66	12,03
L. harp.	33,80	7,10	30,10	7,90	31,20	7,30	17,10
L. long.	21,68	8,05	19,03	8,29	20,03	8,05	11,45
L. rupes.	23,62	8,44	20,88	8,82	22,71	8,15	12,79
L. sp. (VM)	24,74	6,46	20,83	7,04	23,87	5,78	11,26
L. caul.	24,58	5,84	20,82	6,39	23,79	5,16	13,79
L. oster.	18,22	4,81	15,08	5,14	16,92	4,19	9,19
L. crisp.	27,29	6,79	22,66	7,63	26,03	6,34	14,21
L. mill.	25,78	7,53	22,61	8,00	24,73	7,68	13,91
L. flava	25,46	7,45	22,71	7,60	25,88	7,53	15,70

Espécies	caracteres						
	8	9	10	11	12	13	14
L. cinn.	5,25	16,19	8,31	9,38	13,06	36,56	7,00
L. mixta	4,88	7,04	4,88	7,24	11,28	33,52	6,00
L. esalq.	4,15	4,48	3,26	5,30	9,41	23,59	6,19
L. brieg.	6,59	7,76	6,48	7,79	14,97	40,83	9,10
L. harp.	5,90	15,30	5,60	10,00	14,90	32,90	9,80
L. long.	6,32	7,50	6,00	7,21	14,45	34,66	8,39
L. rupes.	6,59	8,18	8,35	9,50	15,82	39,71	8,97
L. sp. (VM)	5,39	9,15	6,61	8,07	12,83	38,48	8,35
L. caul.	5,47	7,84	6,58	9,16	12,92	32,58	8,08
L. oster.	4,19	6,22	4,72	5,75	10,00	32,28	5,47
L. crisp.	6,18	9,00	7,11	9,18	14,55	31,32	9,16
L. mill.	5,86	9,39	7,66	8,87	14,30	28,86	6,97
L. flava	6,18	9,00	7,23	9,74	15,08	31,91	7,83

Para a aplicação do teste de Tukey, obtivemos, por interpolação harmônica, o valor 4,704 para a amplitude total estudada (q) correspondente a 13 tratamentos e 505 graus de li

berdade do resíduo, para o nível de probabilidade de 5%. Os valores obtidos para "delta" e as respectivas indicações da significância ou não significância, constam dos dois quadros seguintes, onde a numeração dos caracteres corresponde àquela da folha 13

Contrastes	Caracteres florais						
	1	2	3	4	5	6	7
L. brieg. L. long.	2,3818 NS	0,7520 NS	2,0990 NS	0,7515 NS	2,2339 NS	0,8250 NS	1,3124 NS
L. brieg. L. rupes.	2,4405 NS	0,7705 NS	2,1508 NS	0,7701 NS	2,2890 NS	0,8453 NS	1,3447 NS
L. rupes. L. long.	2,2794 NS	0,7196 NS	2,0088 NS	0,7192 NS	2,1378 *	0,7895 NS	1,2559 *
L. oster. L. esalq.	2,4583 NS	0,7761 NS	2,1664 NS	0,7757 NS	2,3056 NS	0,8515 *	1,3545 NS
L. cinn. L. harp.	3,8923 NS	1,2288 NS	3,4302 NS	1,2282 NS	3,6506 NS	1,3481 NS	2,1446 NS
L. crisp. L. mill.	1,9065 NS	0,6019 *	1,6802 NS	0,6016 NS	1,7881 NS	0,6604 *	1,0505 NS
L. crisp. L. flava	1,8355 NS	0,5795 *	1,6176 NS	0,5792 NS	1,7215 NS	0,6358 *	1,0114 *
L. caul. L. sp(VM)	2,1169 NS	0,6683 NS	1,8655 NS	0,6679 NS	1,9854 NS	0,7332 NS	1,1664 *
L. flava L. mill.	1,4477 NS	0,4570 NS	1,2758 NS	0,4568 NS	1,3578 NS	0,5014 NS	0,7976 *
L. caul. L. mixta	2,4870 *	0,7852 NS	2,1917 NS	0,7847 NS	2,3325 *	0,8614 NS	1,3703 *
L. crisp. L. sp(VM)	2,1169 *	0,6683 NS	1,8655 NS	0,6679 NS	1,9854 *	0,7332 NS	1,1664 *
L. crisp. L. caul.	2,2152 *	0,6994 *	1,9522 NS	0,6989 *	2,0776 *	0,7673 *	1,2206 NS
L. caul. L. mill.	1,9065 NS	0,6019 *	1,6802 *	0,6016 *	1,7881 NS	0,6604 *	1,0505 NS
L. caul. L. flava	1,8355 NS	0,5795 *	1,6176 *	0,5792 *	1,7215 *	0,6358 *	1,0114 *
L. flava L. sp(VM)	1,7153 NS	0,5415 *	1,5117 *	0,5413 *	1,6088 *	0,5941 *	0,9451 *
L. mill. L. sp(VM)	1,7904 NS	0,5653 *	1,5779 *	0,5650 *	1,6793 NS	0,6201 *	0,9865 *

Contrastes	Caracteres florais						
	8	9	10	11	12	13	14
L. brieg. L. long.	0,5720 NS	1,0377 NS	0,8967 NS	1,0743 NS	1,1634 NS	4,3757 *	0,7281 NS
L. brieg. L. rupes.	0,5861 NS	1,0633 NS	0,9188 *	1,1008 *	1,1921 NS	4,4836 NS	0,7460 NS
L. rupes. L. long.	0,5474 NS	0,9931 NS	0,8581 *	1,0281 *	1,1133 *	4,1876 *	0,6968 NS
L. oster. L. esalq.	0,5903 NS	1,0710 *	0,9255 *	1,1088 NS	1,2007 NS	4,5162 *	0,7515 NS
L. cinn. L. harp.	0,9347 NS	1,6958 NS	1,4653 *	1,7556 NS	1,9012 NS	7,1507 NS	1,1898 *
L. crisp. L. mill.	0,4578 NS	0,8306 NS	0,7177 NS	0,8599 NS	0,9312 NS	3,5026 NS	0,5828 *
L. crisp. L. flava	0,4408 NS	0,7997 NS	0,6910 NS	0,8279 NS	0,8965 NS	3,3721 NS	0,5611 *
L. caul. L. sp(VM)	0,5083 NS	0,9223 *	0,7969 NS	0,9548 *	1,0340 NS	3,8890 *	0,6471 NS
L. flava L. mill.	0,3476 NS	0,6307 NS	0,5450 NS	0,6529 *	0,7071 *	2,6596 *	0,4425 *
L. caul. L. mixta	0,5972 NS	1,0835 NS	0,9363 *	1,1217 *	1,2147 *	4,5689 NS	0,7602 *
L. crisp. L. sp(VM)	0,5083 *	0,9223 NS	0,7969 NS	0,9548 *	1,0340 *	3,8890 *	0,6471 *
L. crisp. L. caul.	0,5320 *	0,9651 *	0,8339 NS	0,9991 NS	1,0820 *	4,0696 NS	0,6772 *
L. caul. L. mill.	0,4578 NS	0,8306 *	0,7177 *	0,8599 NS	0,9312 *	3,5026 *	0,5828 *
L. caul. L. flava	0,4408 *	0,7997 *	0,6910 NS	0,8279 NS	0,8965 *	3,3721 NS	0,5611 NS
L. flava L. sp(VM)	0,4119 *	0,7473 NS	0,6458 NS	0,7737 *	0,8378 *	3,1513 *	0,5244 NS
L. mill. L. sp(VM)	0,4300 *	0,7801 NS	0,6740 *	0,8076 *	0,8745 *	3,2893 *	0,5473 *

A significância das estimativas dos contrastes foi verificada apenas ao nível de 5% somente para maior facilidade dos cálculos, de modo que, a presença de um asterisco apenas, não de monstra a não significância à outros níveis (1% ou 0,1%).

Comparação entre as espécies do grupo Laelia rupestris, Laelia briegeri e Laelia longipes:

Do exame dos dados referentes ao teste de Tukey para os contrastes entre essas três espécies, conclui-se que as mesmas são muito semelhantes entre si, formando um grupo em que deve haver, provavelmente, um certo grau de parentesco, o que confirma nossa primeira suposição (págs.17-18). A semelhança entre Laelia briegeri e Laelia longipes e entre Laelia briegeri e Laelia rupestris é extremamente grande, embora entre Laelia rupestris e Laelia longipes não haja tanta semelhança. Isso nos poderia levar a imaginar, para Laelia briegeri, uma situação intermediária entre Laelia longipes e Laelia rupestris. Essa situação -- que aqui já se esboça, será confirmada plenamente pelos valores D obtidos na análise multidimensional.

Comparação entre as espécies do grupo Laelia ostermayeri e Laelia esalqueana:

Da observação dos dados relativos aos contrastes entre essas duas espécies, verifica-se a semelhança relativamente -- grande entre ambas, cuja união em um grupo, já estaria justificada, até certo ponto, por êsse resultado.

Comparação entre as espécies do grupo Laelia cinnabarina e Laelia harpophylla:

Os resultados do teste de Tukey para os contrastes entre essas duas espécies, nos levam a concluir pela grande semelhança entre elas. Entretanto, essa conclusão não merece muita confiança pois, para tal tipo de análise estatística, as amostras tomadas para ambas as espécies foram muito pequenas. É possível e mesmo provável que, se o mesmo teste for repetido com amostras maiores, será obtido um maior número de contrastes significativos.

Comparação entre as espécies do grupo restante:

Do exame dos valores obtidos no teste de Tukey verifica-se que há bastante semelhança entre Laelia crispilabia e Laelia milleri, entre Laelia crispilabia e Laelia flava, entre Laelia causlescens e Laelia sp. (Vieira Machado) e entre Laelia flava e Laelia milleri. Para as demais comparações, as diferenças são tantas que nada se pode concluir sobre possíveis parentescos. Entretanto, a conclusão a que se chega com toda a certeza, é que êsse grupo de seis espécies é bastante heterogêneo.

Teste de Tukey para os caracteres vegetativos

Assim como foi feito para o caso dos caracteres florais, um exame de um quadro geral das médias dos caracteres vegetativos facilitará a escolha das espécies que deverão ser tomadas para os testes dos contrastes. Essa escolha também deverá ser orientada no sentido de se assinalar as espécies mais semelhantes entre si sob esse aspecto, já que o fim visado é a organização, das mesmas, em grupos homogêneos. No quadro geral, que vem a seguir, os caracteres foram enumerados tal como na fôlha 13.

Médias, em milímetros, dos 4 caracteres vegetativos

Espécies	caracteres			
	15	16	17	18
L. cinn.	221,75	19,75	191,69	30,12
L. mixta	98,16	15,16	128,84	29,20
L. esalq.	37,70	11,44	43,15	13,04
L. brieg.	81,83	12,07	89,62	18,03
L. harp.	249,90	7,50	177,70	22,10
L. long.	39,11	11,11	47,87	13,18
L. rupes.	170,15	17,65	165,41	26,74
L. sp. (VM)	106,26	23,57	154,52	42,67
L. caul.	62,71	16,89	114,29	22,97
L. oster.	43,94	11,06	48,33	14,69
L. crisp.	62,61	13,95	101,82	24,53
L. mill.	65,44	16,54	89,99	28,92
L. flava	84,99	18,72	120,93	36,30

Os valores obtidos para "delta" e as respectivas indicações da significância ou não significância, constam do quadro da página seguinte, onde a numeração dos caracteres corresponde àquela da fôlha 13.

Contrastes	Caracteres vegetativos			
	15	16	17	18
L. esalq. L. long.	28,5835 NS	2,5451 NS	25,2229 NS	4,2135 NS
L. oster. L. long.	26,4156 NS	2,3521 NS	23,3099 NS	3,8940 NS
L. esalq. L. oster.	28,9046 NS	2,5737 NS	25,5063 NS	4,2609 NS
L. brieg. L. crisp.	28,0054 NS	2,4936 NS	24,7127 NS	4,1283 *
L. brieg. L. caul.	28,0054 NS	2,4936 *	24,7127 NS	4,1283 *
L. crisp. L. caul.	26,0463 NS	2,3192 *	22,9840 NS	3,8395 NS
L. brieg. L. long.	28,0054 *	2,4936 NS	24,7127 *	4,1283 *
L. brieg. L.	28,6959 *	2,5551 *	25,3220 *	4,2301 *
L. rupes. L. long.	26,8010 *	2,3864 *	23,6500 *	3,9508 *
L. cinn. L. harp.	45,7657 NS	4,0750 *	40,3849 NS	6,7464 *
L. flava L. mill.	17,0216 *	1,5156 *	15,0203 *	2,5092 *
L. flava L. sp(VM)	20,1690 *	1,7959 *	17,7977 *	2,9731 *
L. mill. L. sp(VM)	21,0522 *	1,8745 *	18,5771 *	3,1033 *
L. caul. L. sp(VM)	24,8901 *	2,2162 *	21,9637 *	3,6691 *
L. caul. L. flava	21,5821 *	1,9217 NS	19,0447 NS	3,1814 *
L. caul. L. mill.	22,4172 NS	1,9960 NS	19,7815 *	3,3045 *
L. caul. L. mixta	29,2419 *	2,6037 NS	25,8038 NS	4,3106 *
L. crisp. L. mill.	22,4172 NS	1,9960 *	19,7815 NS	3,3045 *
L. crisp. L. flava	21,5821 *	1,9217 *	19,0447 *	3,1814 *
L. crisp. L. sp(VM)	24,8901 *	2,2162 *	21,9637 *	3,6691 *
L. crisp. L. caul.	26,0463 NS	2,3192 *	22,9840 NS	3,8395 NS

Também aqui, a significância das estimativas dos contrastes foi verificada apenas ao nível de 5%.

Considerando-se êsses resultados obtidos com o teste de Tukey para os caracteres vegetativos estudados, pode-se concluir o seguinte:

a) As espécies Laelia esalqueana, Laelia ostermayerii e Laelia longipes são difícilmente distinguíveis uma das outras pela simples comparação das médias dos seus caracteres vegetativos, formando, portanto, um grupo bem homogêneo.

b) As espécies Laelia crispilabia, Laelia caulescens e Laelia briegeri mostram alguma semelhança entre si, principalmente na comparação entre Laelia crispilabia e as outras duas.

c) O grupo formado pelas espécies restantes é bastante heterogêneo.

Resultados obtidos com o teste de Tukey considerando-se, simultâneamente, os caracteres florais e os caracteres vegetativos.

Considerando-se simultâneamente os testes de significância feitos para caracteres florais e para caracteres vegetativos, poucas conclusões se poderá tirar, pois os agrupamentos indicados pelos resultados obtidos ao se considerar os caracteres florais não são mantidos pelos resultados da análise dos caracteres vegetativos. Entretanto, pode-se ainda chegar às três seguintes conclusões:

a) As espécies Laelia ostermayerii e Laelia esalqueana formam um grupo bem homogêneo e bem distinto das demais espécies.

b) As espécies Laelia briegeri, Laelia rupestris e Laelia longipes, provàvelmente, também formam um grupo com um certo grau de homogeneidade.

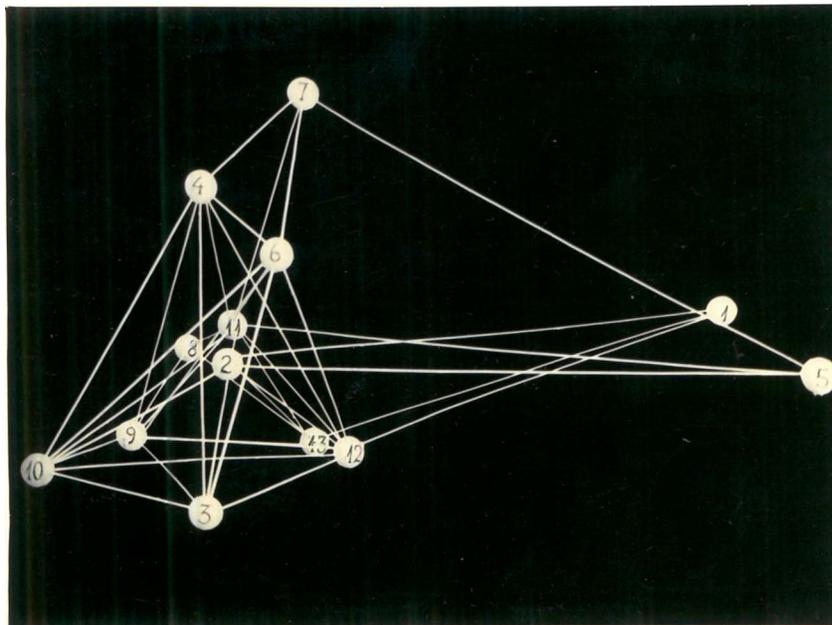
c) As espécies Laelia flava, Laelia milleri, Laelia crispilabia, Laelia caulescens, Laelia mixta e Laelia sp. (Vieira Machado) apresentam tanto semelhanças como dissemelhanças entre si tornando-se impossível, por êste método de análise, chegar-se a qualquer conclusão a respeito de possíveis afinidades filogenéticas entre elas.

Em face de tais resultados, torna-se evidente a neces-

cidade do emprêgo de um método estatístico mais refinado e mais apropriado para o fim em mira, qual seja, o de se obter maiores e mais seguras informações sôbre a filogenia do grupo. Assim - sendo, o emprêgo do método de Mahalanobis poderá contornar grande parte dessas dificuldades, trazendo mais alguma luz ao problema.

C) ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIDIMENSIONAL

Os 78 valores de D^2 obtidos pelo método de Mahalanobis e os respectivos valores D utilizáveis na representação gráfica das 13 espécies distribuídas no espaço, encontram-se no quadro 1. A figura abaixo dá uma idéia aproximada dessa distribuição espacial.



Observando-se essa figura pode-se reconhecer, com facilidade, as posições extremamente isoladas das espécies Laelia harpophylla e Laelia cinnabarina, tanto uma em relação à outra,

como cada uma em relação às 11 espécies restantes.

Uma observação mais minuciosa também nos levará a reconhecer para a espécie Laelia mixta, uma posição quase equidistante das 10 espécies restantes, pois Laelia mixta ocupa, aproximadamente, o centro geométrico de um elipsóide, em cuja superfície estas 10 espécies estão distribuídas.

Estudando-se, agora, a distribuição dessas 10 espécies na superfície desse elipsóide imaginário, percebe-se a grande proximidade entre Laelia longipes e Laelia briegeri, sugerindo a possibilidade da reunião de ambas em um só grupo. Da mesma forma, também se reconhece igual situação para as espécies Laelia crispilabia e Laelia caulescens, para Laelia milleri e Laelia flava e para Laelia esalqueana e Laelia ostermayerii. A espécie Laelia rupestris, embora um tanto afastada, se situa em um ponto mais próximo do grupo constituído por Laelia longipes e Laelia briegeri do que das demais espécies. Com tal situação, teríamos quatro grupos assim constituídos:

Grupo a) Laelia esalqueana e Laelia ostermayerii

Grupo b) Laelia crispilabia e Laelia caulescens

Grupo c) Laelia milleri e Laelia flava

Grupo d) Laelia longipes, Laelia briegeri e Laelia rupestris.

Finalmente, a espécie Laelia sp. (Vieira Machado) mostra-se isolada de todas as demais, embora também esteja localizada sobre o elipsóide.

:::~::~:

DISCUSSÃO

Para conseguirmos atingir com maior facilidade nosso objetivo neste capítulo da discussão, consideraremos a matéria dividida em duas partes: 1- considerações sôbre a disposição das espécies em grupos e 2- considerações sôbre hibridações.

1- Considerações sôbre a disposição das espécies em grupos.

Para se avaliar o grau de eficiência pelo qual o emprego do método de Mahalanobis permitiu organizar agrupamentos naturais das espécies dentro do subgênero Cyrtolaelia, poderemos fazer um paralelo entre os resultados obtidos pela análise multidimensional e aquêles apontados pelos diversos autores que trabalharam no grupo.

Conforme se depreende do exame do modelo espacial organizado para as 13 espécies, o qual é um resumo aproximado de todos os valores D obtidos, podem ser, as mesmas, reunidas nos seguintes grupos:

- 1º grupo: Laelia cinnabarina
- 2º grupo: Laelia harpophylla
- 3º grupo: Laelia mixta
- 4º grupo: Laelia sp. (Vieira Machado)
- 5º grupo: Laelia milleri e Laelia flava
- 6º grupo: Laelia caulescens e Laelia crispilabia
- 7º grupo: Laelia ostermayerii e Laelia esalqueana
- 8º grupo: Laelia briegeri, Laelia longipes e Laelia rupestris.

Uma referência geral abrangendo tôdas essas espécies, não foi feita ainda pelos autores que pesquisaram em tórno da Sistemática e Evolução do subgênero Cyrtolaelia. Consta, porém, da literatura uma série de observações isoladas as quais, tomadas uma a uma, servirão para a comparação entre o resultado acima exposto e aquêle já estabelecido com base em fortes argumentos principalmente morfológicos e citológicos. Tais observações

e os respectivos comentários que poderíamos fazer a respeito, - são os seguintes.

1) Hoehne (1938), com base em observações morfológicas, sugeriu a possibilidade de Laelia mixta ter se originado de uma hibridação entre Laelia harpophylla e Laelia flava e, mais tarde (1952), lembrou a possibilidade da mesma espécie ter se originado do cruzamento entre Laelia gloedeniana e Laelia harpophylla.

Pela disposição espacial das espécies, não resta a menor dúvida a respeito da posição intermediária de Laelia mixta em relação a várias outras espécies.

2) Hoehne (1938) afirmou ser Laelia ostermayerii bastante próxima de Laelia longipes, baseando-se, para isso, em observações morfológicas.

Pelo valor $D = 5,4454$ obtido para a distância morfológica entre Laelia ostermayerii e Laelia longipes, conclui-se pela existência, entre ambas, de alguma afinidade, embora não muito acentuada.

3) Vencovsky e Blumenschein (1961) anteviram a possibilidade da origem híbrida de Laelia mixta e Laelia sp. (Vieira Machado) a partir do cruzamento entre Laelia flava e Laelia cinnabarina, embora a conclusão não fôsse definitiva. Essa possível origem híbrida para aquelas duas espécies, foi prevista pela constatação, em ambas, de características intermediárias entre Laelia flava e Laelia cinnabarina.

Uma posição morfológica intermediária das espécies -- Laelia mixta e Laelia sp. (Vieira Machado) em relação a várias outras, também pode ser vislumbrada no diagrama espacial.

4) Blumenschein (1960-a), baseado em observações morfológicas, assinalou as semelhanças entre Laelia ostermayerii e Laelia esalqueana, entre Laelia flava e Laelia milleri, entre Laelia briegeri e Laelia rupestris e entre Laelia briegeri e Laelia crispilabia.

Os valores $D = 3,4492$ para a distância morfológica entre Laelia ostermayerii e Laelia esalqueana, $D = 3,1135$ para a distância entre Laelia flava e Laelia milleri, $D = 4,2067$ para

a distância entre Laelia briegeri e Laelia rupestris e $D=5,3805$ para a distância entre Laelia briegeri e Laelia crispilabia, -- confirmam plenamente essas afirmações, principalmente as três primeiras. O valor mais elevado para a distância entre Laelia briegeri e Laelia crispilabia se deve ao fato de existir, entre ambas, grandes diferenças em relação à flor. Dessa forma, fica justificada a afirmação do autor, porque a semelhança por êle notada, dizia respeito apenas a caracteres vegetativos.

5) Blumenschein (1960-b) verificou que as espécies de Cyrtolaelia eram muito semelhantes entre si havendo, para algumas características, uma certa continuidade na variação entre espécies.

Essa observação também foi amplamente confirmada pelos resultados obtidos com o método de Mahalanobis, segundo os -- quais, das 13 espécies consideradas, 11 se distribuíram no espaço, muito próximo das outras, ficando apenas duas -- Laelia harpophylla e Laelia cinnabarina -- mais afastadas do conjunto restante.

6) Blumenschein (1960-b) sugeriu a origem híbrida de Laelia ostermayerii em relação a Laelia esalqueana e Laelia longipes; de Laelia milleri, em relação a Laelia flava e Laelia cinnabarina e de Laelia mixta, em relação a Laelia gloedeniana e Laelia cinnabarina, com base em observações morfológicas.

Pela observação das posições espaciais de Laelia ostermayerii, Laelia milleri e Laelia mixta, também se confirma a -- possibilidade da origem híbrida para cada uma delas, pois as -- mesmas se distribuem nas proximidades de várias outras.

7) Withner e Adams (1960) reuniram Laelia flava, Laelia harpophylla e Laelia cinnabarina em um grupo e Laelia longipes e Laelia crispilabia em outro, sendo ambos resultantes da diferenciação de um mesmo complexo original.

A distância $D = 5,3307$ entre Laelia longipes e Laelia crispilabia, embora não muito reduzida, mostra um certo grau de afinidade morfológica entre ambas as espécies. As distâncias -- morfológicas entre Laelia flava, Laelia harpophylla e Laelia cinnabarina, porém, são grandes demais para se reunir as três -- espécies em um só grupo. Entretanto, não resta dúvida que deve

haver alguma afinidade entre Laelia harpophylla e Laelia cinna-
barina pois ambas, embora bastante afastadas entre si ($D=8,4861$),
mantêm, com as demais espécies do grupo, distâncias ainda muito
maiores.

8) Blumenschein (1960-b) levantou a hipótese de que as
formas aneuplóides de Laelia briegeri teriam sido originadas a
partir de uma população tetraplóide de Laelia esalqueana cujas
plantas teriam se cruzado com as plantas diplóides da mesma es-
pécie, originando indivíduos triplóides, em cuja descendência -
foram selecionados os tipos mais próximos do nível diplóide.

A formulação dessa hipótese nos leva a concluir que o
autor percebeu certas semelhanças entre Laelia esalqueana e -
Laelia briegeri. Realmente, a distância morfológica $D = 5,4654$
entre essas duas espécies mostra que as mesmas apresentam um --
certo grau de afinidade.

Considerando-se, finalmente, os resultados a que chega-
mos apenas pelo exame visual dos caracteres florais e vegetati-
vos das plantas pertencentes às 13 espécies que utilizamos nes-
te trabalho (págs.17,18,19 e 20), verifica-se uma concordância -
bastante grande entre os resultados assim obtidos no tocante à
classificação das espécies em grupos e aquêles decorrentes dos
valores D resultantes da aplicação do método de Mahalanobis.

Por tôdas essas considerações, podemos concluir que a
disposição espacial das espécies, obtida pela análise multidi-
mensional, concorda, em suas linhas gerais, com os resultados a
que já se havia chegado pelo método subjetivo de reunião das es-
pécies em grupos, com base na simples observação morfológica.

2- Considerações sôbre hibridações.

Os valores D obtidos pela aplicação do método de Maha-
lanobis, não fornecem indicação direta alguma, relativamente à
ocorrência de possíveis hibridações. Indicam, tão sômente, a -
maior ou menor afinidade morfológica entre os grupos em relação
aos caracteres analisados. Assim, se duas espécies forem bas-
tante semelhantes entre si quanto às médias dos caracteres uti-
lizados na análise multidimensional, o valor D calculado para a
distância morfológica entre elas, será reduzido. Portanto, um

valor D reduzido indica afinidade morfológica. Se a análise foi baseada em um número elevado de caracteres e se êsses caracteres foram bem escolhidos, essa afinidade morfológica corresponderá a uma afinidade genética. Porém, é possível que não se tenha tomado um número suficiente de caracteres ou que a escolha dos mesmos tenha sido feita mais subjetiva do que objetivamente sob o ponto de vista filogenético. Assim sendo, deve-se admitir a possibilidade de nem sempre uma afinidade morfológica corresponder a uma afinidade genética. Por exemplo, é possível que duas espécies bastante afins entre si, geneticamente, estejam separadas, uma da outra, por um valor D mais elevado do que duas espécies menos afins entre si e vice-versa. Isso poderia ocorrer como consequência da ação do meio ambiente ou da ação gênica. Vejamos, separadamente, essas duas possibilidades:

Ação do meio:- Consideremos uma população constituída por um número elevado de indivíduos e distribuída por uma grande área. Se as condições ambientais presentes forem diferentes nas diversas regiões dessa área, os diferentes genótipos poderão dar reações fenotípicas especiais para cada área. Assim sendo, é possível obter-se, entre êsses grupos, valores D maiores do que os que se poderia esperar para tão reduzidas diferenças genéticas. Portanto, em populações desse tipo, as diferenças morfológicas não servem para avaliar as afinidades genéticas entre os grupos. Entretanto, se outra população ocorrer em um meio bastante homogêneo, as diferenças morfológicas acaso estimadas pelos valores D, refletirão as divergências genéticas entre os grupos.

Ação gênica:- Consideremos, agora, uma espécie constituída por uma população F_n originada do cruzamento entre duas espécies. É de se esperar que a população contenha gens de ambas as espécies paternas em proporção variável. Assim, se após o aparecimento do F₁, houve alguns retrocruzamentos apenas em relação a uma das espécies originais, é provável que a população F_n tenha mais alta frequência dos gens da espécie implicada no retrocruzamento do que da outra. Porém, se houve apenas cruzamentos entre as plantas F₁, é possível que a população F_n tenha gens de ambas as espécies paternas numa proporção equivalente. Entretanto, com retrocruzamentos ou não, a população em

evolução segregou e o meio ambiente agiu sôbre os fenótipos resultantes da segregação e das interações gênicas que acaso tenham ocorrido. Em vista disso, é de se esperar que um certo número de gens tenha sido eliminado, principalmente se o meio ambiente onde se desenvolveu a população era diferente daquele das duas populações originais. Portanto, três fatores podem influir no estabelecimento do germoplasma da população: ocorrência de retrocruzamentos com uma das espécies paternas, ocorrência de cruzamentos apenas entre as plantas híbridas e ação seletiva do meio ambiente sôbre certos genótipos. O fenótipo médio dessa população será a consequência da natureza dos seus gens (podendo prevalecer os gens de um ou de outro pai, ou haver um equilíbrio entre êles) e do tipo de atividade dos mesmos gens (presença ou ausência de interação não alélica e diferentes modos de ação gênica - aditividade, dominância ou sobredominância). Com base nesses comentários, consideremos alguns casos para argumentação:

Suponhamos um primeiro caso em que o fenótipo médio da população é consequente das interações gênicas estabelecidas pela hibridação. Este fenótipo pode ser tão diferente daqueles das duas espécies paternas, que mascare a influência de ambas na origem da população. Nesse caso, as distâncias D entre a população e cada uma das espécies paternas, serão elevadas mas há, entre elas, afinidades genéticas, ou seja, semelhanças nos germoplasmas.

Suponhamos um segundo caso em que não houve retrocruzamentos mas o meio ambiente foi tal que determinou a manifestação do genótipo das plantas da população, de forma semelhante àquêle de uma das espécies paternas. Nesse caso, a distância morfológica entre a população e essa espécie paterna será pequena, fazendo parecer que existe maior afinidade genética entre ambas as espécies do que realmente ocorre. Essa maior afinidade morfológica poderia ser explicada, erroneamente, pela ocorrência de retrocruzamentos com essa espécie paterna.

Suponhamos um terceiro caso em que também não tenha ocorrido retrocruzamentos mas que, por causa da ação gênica dominante, a população híbrida mostre um fenótipo mais próximo ao de uma das espécies paternas, tal como ocorreria se tivesse ha-

vido retrocruzamentos. Nesse caso, a população híbrida teria iguais afinidades genéticas com ambos os pais, mas teria maior afinidade morfológica em relação a um deles.

Todos êsses casos, entretanto, não podem ser considerados como norma geral, principalmente porque os valores D devem ser calculados com base em número elevado de caracteres quantitativos. Para gens relacionados com caracteres quantitativos, não são muito comuns as interações de grandes efeitos e, mesmo que elas ocorram com alguns deles, não ocorrem com a grande maioria. Da mesma forma, o meio não deve afetar muitos caracteres simultaneamente e, mesmo que o faça, é pouco provável que todos êles sejam afetados sempre no sentido de uma das espécies paternas. Em terceiro lugar, a ação gênica dominante ou mesmo sobredominante, não é a mais comum, principalmente quando muitos caracteres são considerados simultaneamente. E mesmo que ocorram tais tipos de ação gênica, o fenótipo deverá ser levado em direção a um dos pais, em relação a alguns caracteres e, em direção ao outro pai, em relação a outros caracteres. Finalmente, ao se fazer uma análise multidimensional com o fim visado no presente trabalho, é recomendável tomar-se as amostras em apenas um meio ambiente o mais uniforme possível, como foi o caso em aprêço. Para a execução do presente trabalho, tôdas as espécies, embora provenientes de meios ambientes diferentes, já se encontravam nas condições de Piracicaba, há mais de cinco anos, em um meio uniforme.

Assim sendo, os valores D obtidos devem representar, pelo menos até certo ponto, os diferentes graus de afinidade genética entre as espécies. Portanto, nada há contra-indicando a utilização das distâncias morfológicas na argumentação sobre a possibilidade da origem de certas espécies pela hibridação de outras.

Suponhamos, então, o caso em que uma forma híbrida apresente semelhanças morfológicas com ambos os pais, como consequência de semelhanças genéticas. Se essa forma híbrida se assemelha morfológicamente aos pais, a distância D entre aquela e cada um destes, deverá ser pequena. Porém, até onde poder-se-á considerar suficientemente pequeno um valor D para indicar a possibilidade de origem híbrida? Para analisarmos êsse aspecto

do problema, consideremos o seguinte caso teórico de hibridação: presença exclusiva de ação gênica aditiva para todos os caracteres considerados no híbrido, para a análise multidimensional.

Se uma forma híbrida entre duas espécies, tiver a média de cada um de todos os seus caracteres situada exatamente - na média entre as respectivas médias paternas, tal forma híbrida manterá, para cada uma dessas espécies paternas, o mesmo valor D. Portanto, a localização espacial dos três grupos será feita sobre um segmento de reta onde as espécies paternas ocupam as extremidades e, a forma híbrida, o ponto central, como pode ser facilmente demonstrado numericamente. Tal situação, repetimos, é puramente teórica, pois uma população híbrida não teria uma posição exatamente central, em relação aos pais, para cada um de todos os seus caracteres. Certamente poderia apresentar média aproximadamente central para alguns caracteres, média mais voltada para um dos pais com relação a outros caracteres e média mais próxima do outro pai, com respeito a terceiros caracteres. Esta outra situação teria, como consequência, uma disposição espacial em triângulo o que é, aliás, a disposição mais comum para três pontos quaisquer no espaço.

Assim sendo, quando as posições relativas de três espécies tomadas pelos valores D calculados, formarem um triângulo, dificilmente se poderá relacionar tal fato com uma hibridação, pois três espécies inteiramente estranhas umas das outras, em termos de parentesco, também se dispõem, mais provavelmente, em triângulo.

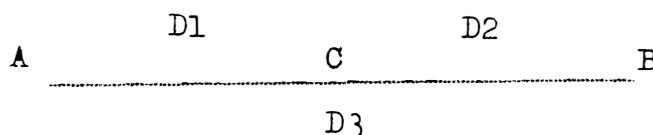
Nem mesmo se poderia afirmar que os valores D elevados entre a espécie tida como híbrida (por outras indicações) e os supostos pais, indicariam ausência de hibridação. Isso porque, se forem cruzadas duas espécies acentuadamente distintas entre si sob o ponto de vista morfológico - valor D elevado - e se a forma híbrida resultante tiver uma posição aproximadamente intermediária aos pais em relação aos caracteres morfológicos, os valores D entre essa forma híbrida e seus pais, também serão elevados, embora não tanto quanto aquêles.

Portanto, para se concluir pela possibilidade ou não de hibridação em face de valores D quaisquer obtidos, deve-se levar em conta que tais valores são função de duas variáveis:

a) grau de afinidade morfológica entre os pais e b) grau de afinidade morfológica entre a forma híbrida e cada um dos pais. Se os pais tiverem pouca afinidade morfológica entre si, mesmo que a forma híbrida tenha, para cada um dêles, grande afinidade, obter-se-á valores D elevados para as distâncias morfológicas entre êsse híbrido e os ascendentes. Assim sendo, quanto mais -- afins entre si forem os pais, mais reduzidos deverão ser os valores D entre a forma híbrida e cada um dêles e vice-versa. Tudo isso, repetimos, considerando-se exclusivamente ação gênica aditiva para todos os caracteres considerados, no híbrido, para a análise multidimensional.

Na realidade, o grau de afinidade entre a forma híbrida e as formas progenitoras, poderá ser melhor avaliado pela distância entre o ponto espacial que representa a forma híbrida e aquêle representativo da geração F₁, situado no segmento de reta em cujas extremidades estão situadas as espécies paternas. É evidente que o ponto espacial ocupado pela geração F₁ é desconhecido e, por isso, não se poderá medir exatamente a distância entre tal ponto e aquêle ocupado pela geração F_n. Resta, portanto, apenas a possibilidade de se avaliar o grau de afinidade entre a forma híbrida e as formas progenitoras pelos três valores D obtidos entre elas.

Para demonstrarmos êste ponto de vista, voltemos ao caso teórico já referido, no qual a forma híbrida se localiza exatamente no meio do segmento de reta cujas extremidades são ocupadas pelas espécies paternas. As menores distâncias possíveis entre uma forma híbrida e as formas ascendentes, são aquelas obtidas quando os três pontos se distribuem sôbre uma única linha, tal como ocorre no referido caso teórico. Portanto, teremos:

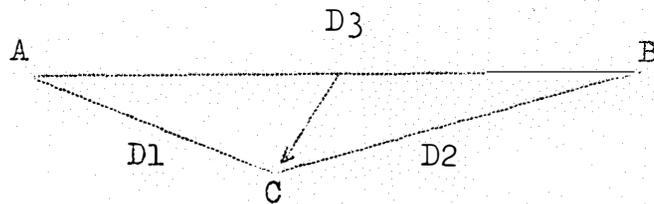


onde

$$D_3 = D_1 + D_2$$

À medida que essa forma híbrida vai sofrendo modificações devido à ação seletiva do meio ambiente sôbre determinados segrega

tes, mais o ponto representativo da mesma vai se afastando dessa reta, às vèzes se dirigindo mais para a direita e, outras vèzes, mais para a esquerda:



Haverá um ponto em que a população C estará tão afasta da das duas populações paternas que o diagrama espacial das três espécies já não mais mostrará a influência dessas duas na origem da primeira.

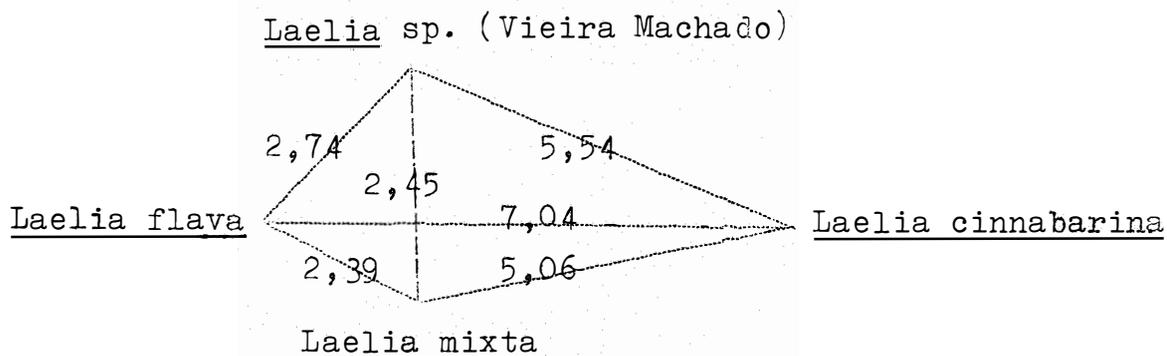
Assim sendo, quando se tiver $(D1 + D2) / D3 = 1$, o grau de afinidade morfológica conseqüente da hibridação e, portanto, o grau de afinidade genética entre a população C e as espécies A e B será máximo. E quanto mais êsse valor crescer afastando-se de 1, menor será êsse grau de afinidade genética, indicando ou a não ocorrência da hibridação ou o fato de já ter transcorrido muito tempo após a hibridação, tendo sido apagados seus vestígios. Se a distância D3 entre as espécies paternas, representasse o grau zero de afinidade genética entre elas, um valor D1 igual ou maior do que D3 e um valor D2 igual ou maior do que D3, indicariam a inexistência de afinidade genética entre a espécie tida como híbrida e cada um dos supostos pais. Nesse caso, sendo $(D1 + D2) / D3$ igual ou superior a 2 indicaria ausência de afinidade genética entre a forma híbrida e seus supostos ascendentes. Porém, é possível que haja um certo grau de afinidade genética entre ambos os pais, cuja detecção não pôde ainda ser feita. Assim sendo, não se poderá obter o valor do limite superior do quociente $(D1 + D2) / D3$ indicativo de ausência de afinidade genética entre o híbrido e as espécies paternas.

Por meio dêsse quociente, o qual chamaremos de índice de distâncias morfológicas, poder-se-á apreciar os valores das distâncias morfológicas D, considerando-as suficientemente pequenas e, por isso, indicativas da possibilidade de hibridação, ou suficientemente grandes e, por isso, não indicativas da possibilidade de hibridação.

Além disso, a observação da forma do triângulo constituído pelas distâncias D1, D2 e D3, poderá dar alguma indicação sobre a ocorrência ou não de retrocruzamentos durante a evolução da espécie híbrida. Assim, as formas mais aproximadas de um triângulo isósceles (com base D3), indicam ausência de retrocruzamentos e as formas mais afastadas desta em direção a do triângulo escaleno, indicam retrocruzamentos em relação à espécie paterna relacionada com o lado menor do triângulo.

Esta maneira de se encarar os valores D, confirma plenamente a maioria das hipóteses de hibridação levantadas com base em outros argumentos, como passaremos a comentar:

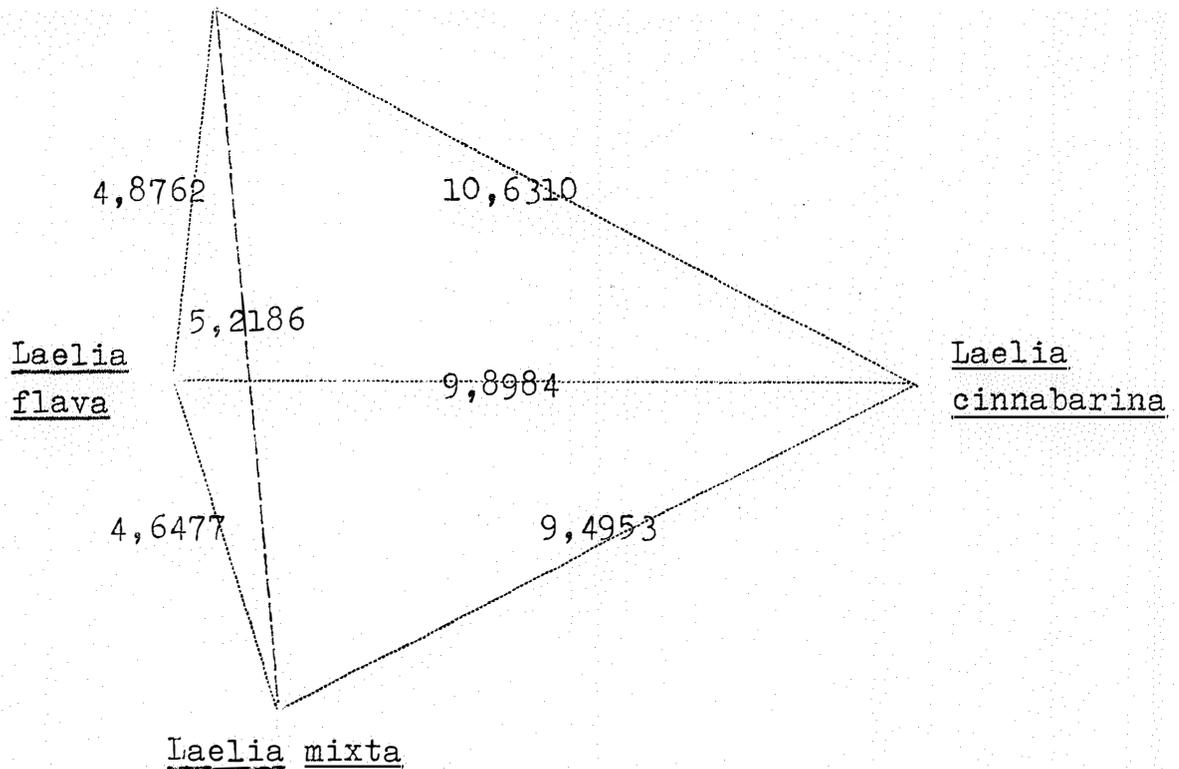
Vencovsky e Blumenschein (1961) verificaram a possibilidade de se considerar Laelia mixta e Laelia sp. (Vieira Machado) como resultantes de uma hibridação entre Laelia flava e Laelia cinnabarina, embora o trabalho não tenha sido conduzido até um resultado definitivo. Empregando o método de Mahalanobis com a utilização de 6 caracteres florais, obtiveram a seguinte disposição espacial:



O índice referente à hibridação para Laelia sp. (Vieira Machado) foi igual a 1,18 e o índice relativo à origem híbrida de Laelia mixta foi igual a 1,06, ambos confirmando a possibilidade de tais hibridações.

De acordo com os dados que obtivemos, o diagrama espacial para essas quatro espécies foi o seguinte:

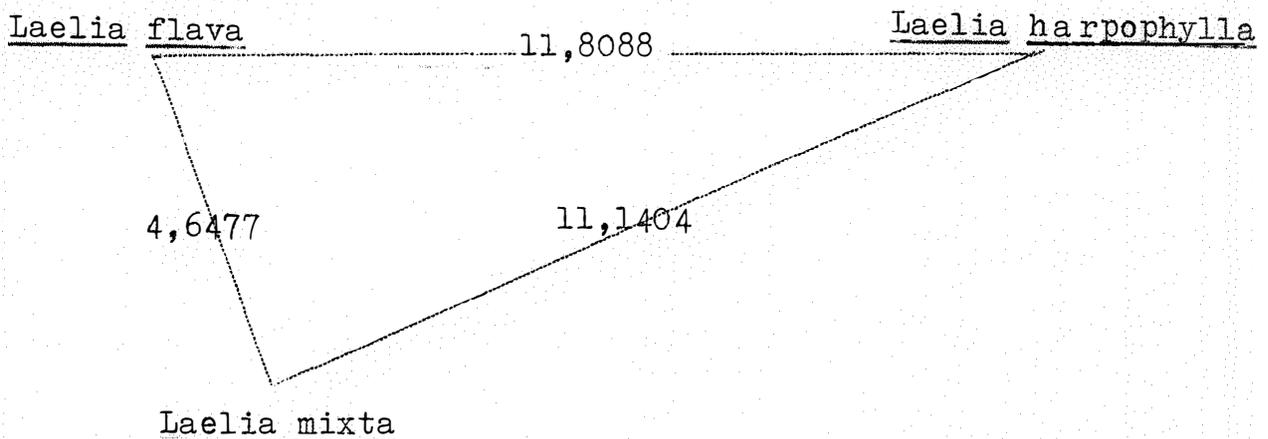
Laelia sp. (Vieira Machado)



O índice referente a essa origem híbrida para Laelia sp. (Vieira Machado) foi igual a 1,57 e o índice relativo a essa origem híbrida para Laelia mixta foi igual a 1,43, ambos também confirmando a possibilidade de tais hibridações.

Hoehne (1938) viu a possibilidade de ser Laelia mixta, provavelmente, uma forma híbrida entre Laelia harpophylla e Laelia flava, com base apenas na comparação dos caracteres morfológicos dessas espécies.

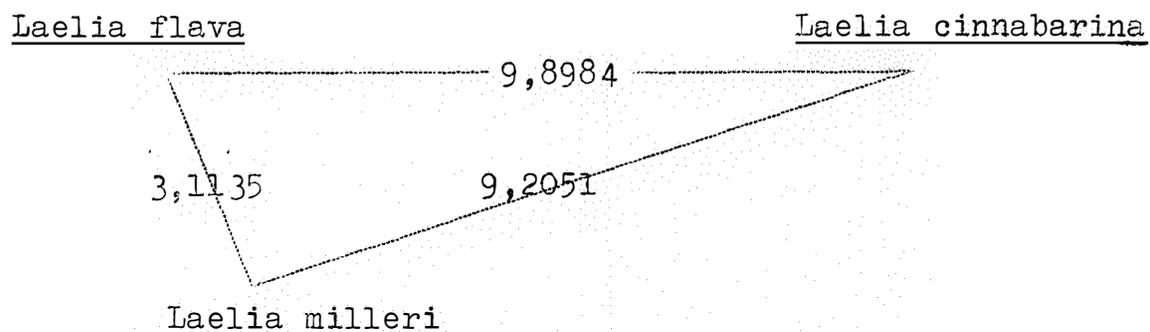
Segundo os dados que obtivemos relativamente às distâncias morfológicas para essas três espécies, o diagrama espacial foi o seguinte:



O índice referente à esta origem de Laelia mixta foi igual a 1,34, confirmando a possibilidade de tal hibridação.

Blumenschein (1960-a) admitiu a possibilidade de Laelia milleri ser um híbrido entre Laelia flava e Laelia cinnabarina, com base em semelhanças morfológicas entre essas espécies.

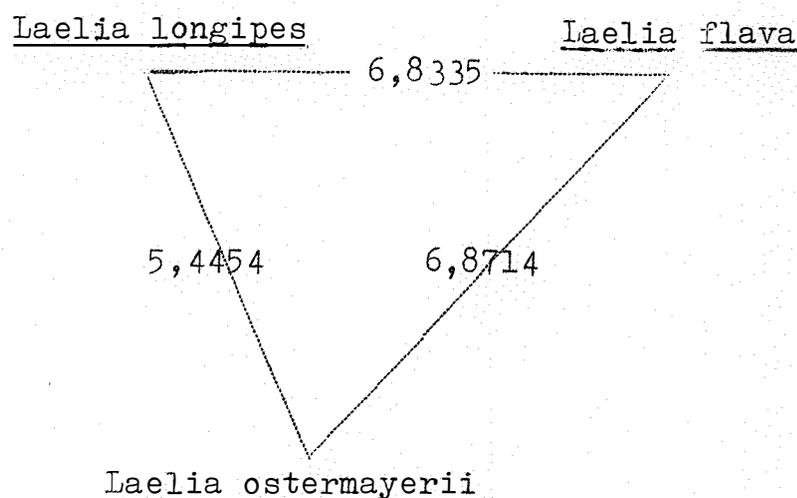
A disposição espacial que obtivemos para as mesmas espécies, foi a seguinte:



O índice referente à esta origem de Laelia milleri foi igual a 1,24, confirmando a possibilidade de tal hibridação.

Hoehne (1938) assinalou a possibilidade de Laelia ostermayerii ser um híbrido natural entre Laelia longipes e Laelia flava.

O diagrama espacial relativo a essas três espécies, em função das distâncias D, foi o seguinte:



O índice referente a esta origem de Laelia ostermayerii foi igual a 1,80. Esse valor já é mais elevado, distanciando-se bastante do limite inferior 1 e, por isso, não confirma plenamente a possibilidade dessa origem híbrida para a espécie. Entretanto, também é verdade que esse resultado não indica a im-

possibilidade de tal origem. Se ela realmente ocorreu, pode-se explicar o valor elevado 1,80, por ter havido uma ação mais intensa do meio ambiente na evolução da população híbrida ou por já ter transcorrido muito tempo após a hibridação.

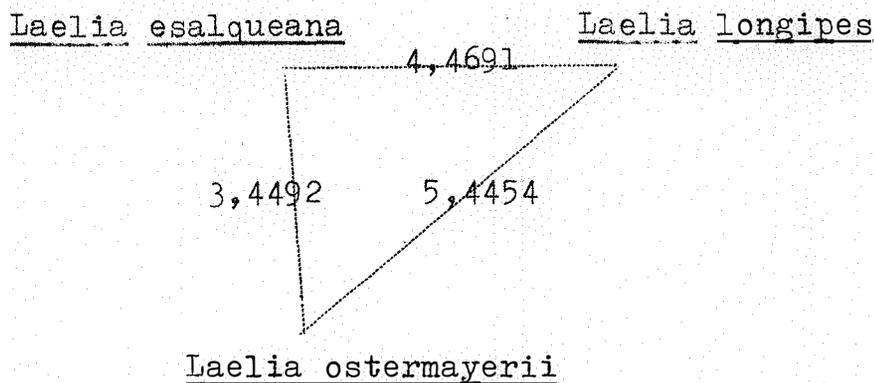
É também possível que o valor D entre Laelia ostermayerii e Laelia longipes tenha sido influenciado pela mistura de plantas diplóides, triplóides e tetraplóides na amostra de Laelia longipes utilizada na análise. As plantas triplóides e tetraplóides, apresentando médias maiores para seus caracteres, teriam influido no sentido de aumentar o valor real da distância morfológica entre os grupos Laelia longipes ($2N = 40$) e Laelia ostermayerii. Essa influência da poliploidia no aumento das médias dos caracteres, pode ser observada pelos seguintes dados referentes aos 18 caracteres, enumerados tal como na folha 13:

Caracteres	Médias de	
	4 plantas triplóides	34 plantas restantes
1	25,00	21,29
2	10,25	7,79
3	22,25	18,65
4	10,00	8,09
5	22,25	19,76
6	10,25	7,79
7	13,00	11,26
8	6,75	6,26
9	9,00	7,32
10	7,50	5,82
11	7,75	7,15
12	16,75	14,18
13	39,50	34,09
14	9,00	8,32
15	51,00	37,70
16	12,25	10,97
17	65,00	45,85
18	18,50	12,56

Evidentemente, a amostra de plantas triplóides é muito pequena para se tirar uma conclusão definitiva, mas é bem significativo o fato de todas as 18 médias das plantas com 60 cromossomas somáticos serem sempre maiores que as médias correspondentes das demais plantas.

Blumenschein (1960-b) preferiu considerar Laelia ostermayerii como um híbrido entre Laelia esalqueana e Laelia longipes.

A disposição espacial que obtivemos para essas três espécies foi a seguinte:



O índice referente a esta origem de Laelia ostermayerii foi igual a 1,99. Este valor, bem maior do que o limite inferior 1, não confirma a possibilidade para essa origem da espécie mas, também, não indica a impossibilidade da mesma. Cabem aqui as mesmas considerações lembradas para o caso anterior.

oooooo

Por todos esses motivos aqui apresentados, podemos adiantar que, as conclusões mais pormenorizadas a serem tiradas do exame dos agrupamentos de espécies indicados pelo método de Mahalanobis, tais como aquelas referentes às hibridações, devem se prender não às distâncias D obtidas pelo método estatístico e sim à outras indicações biológicas, quais sejam: possibilidade ou não de hibridação entre os supostos pais, indicação de origem híbrida e consideração de caracteres qualitativos, não utilizados na análise multidimensional. A possibilidade de hibridação deverá ser verificada pela coincidência das épocas de florescimento e das áreas de distribuição geográfica e pelo exame das guarnições cromossômicas. A indicação de origem híbrida deverá ser obtida pela constatação de anormalidades cromossômi-

cas na meiose e de números aneuplóides e poliplóides. Finalmente, para as orquídeas, o exame dos caracteres qualitativos tais como a cor da flor, também deverão contribuir para o levantamento das hipóteses referentes às hibridações. Após todas essas considerações, a determinação do índice de distâncias morfológicas também ajudará a avaliar a possibilidade ou não da hibridação em aprêço. Evidentemente, sem se levar em conta aqueles exames preliminares, apenas a determinação desse índice, não servirá para permitir nenhuma suposição de hibridação.

De todos os fatores indicativos de hibridação, o que apresenta maior valor é, certamente, aquele conseqüente do estudo citológico. Em relação a isso, Blumenschein (1957 e 1960-b) apresentou um estudo bem detalhado, de onde se conclui a possibilidade de origem híbrida para 8 espécies do subgênero, as quais relacionaremos, a seguir, acompanhadas dos respectivos motivos para tal suposição:

Laelia crispilabia: por se apresentar na forma tetraplóide ($2N = 80$).

Laelia rupestris: por se apresentar na forma tetraplóide ($2N = 80$).

Laelia caulescens: por se apresentar na forma tetraplóide ($2N = 80$).

Laelia longipes: por se apresentar nas formas diplóide ($2N = 40$), triplóide ($2N = 60$) e tetraplóide ($2N = 80$).

Laelia briegeri: por se apresentar na forma tetraplóide ($2N = 80$) e em formas aneuplóides ($2N = 42, 44$ e 48).

Laelia flava: por apresentar irregularidades cromossômicas na meiose.

Laelia mixta: por apresentar irregularidades cromossômicas na meiose.

Laelia cinnabarina: por apresentar irregularidades cromossômicas na meiose.

Associando-se essas indicações às aquelas apresentadas por Blumenschein (1960-b) referentes às distribuições geográficas e às épocas de florescimento, é possível se supor umas tantas hipóteses relativas às hibridações, com grande probabilidade de certeza.

CONCLUSÕES

Da consideração conjunta do presente estudo e dos trabalhos já elaborados por outros autores à respeito da evolução do subgênero Cyrtolaelia, nos foi possível chegar a algumas conclusões que passaremos a expor como se segue:

As distâncias morfológicas D obtidas pelo emprêgo do método de Mahalanobis, permitem a obtenção de agrupamentos das espécies dentro do subgênero, em uma perfeita correspondência -- àqueles obtidos pelos especialistas no grupo com a utilização -- exclusiva de informações biológicas, quais sejam: resultados -- dos estudos morfológicos das espécies e das pesquisas citológicas e verificação das respectivas distribuições geográficas e -- épocas de florescimento. Assim sendo, o método de Mahalanobis fornece uma confirmação objetiva dos agrupamentos subjetivos -- organizados sem o seu concurso.

Uma distância morfológica D entre duas espécies, avalia tão somente o grau de afinidade morfológica entre ambas. A aparência morfológica de um dado grupo de indivíduos não é, essencialmente, o reflexo de sua constituição genotípica. Em vista disso, os agrupamentos obtidos para as espécies podem não -- representar os graus de afinidades filogenéticas entre elas. Entretanto, a utilização de um número elevado de caracteres para a determinação das distâncias morfológicas, permite neutralizar, pelo menos em parte, essa deficiência do método no tocante a se avaliar distâncias filogenéticas pelas distâncias morfológicas. Com isso, há um certo fundamento em se considerar os agrupamentos organizados pela determinação das distâncias morfológicas -- como agrupamentos naturais.

Os valores D obtidos pelo método de Mahalanobis, também podem ser utilizados, embora um tanto precariamente, para -- se tirar conclusões relacionadas com os aspectos mais particulares do problema de evolução dos grupos, quais sejam, com o reconhecimento do grau de participação de algumas espécies na evolução de outras. Essa participação pode se estabelecer de duas maneiras diferentes: diferenciação e hibridação. Em ambos os -- casos, a apreciação dos valores D deverá ser feita somente após a consideração da possibilidade e da indicação de tais origens,

com base em estudos preliminares de morfologia, citologia, distribuição geográfica e épocas de florescimento. Uma vez que haja indicação da origem de certas espécies por hibridação entre outras duas ou por simples diferenciação de uma apenas, pode-se empregar os valores D para se apreciar as hipóteses formuladas.

Uma hipótese de origem de uma dada espécie por simples diferenciação de outra, poderá ser confirmada por um valor baixo da distância morfológica entre elas. Entretanto, um valor elevado para tal distância não contesta tal hipótese, mas mostra apenas que pode ter ocorrido uma diferenciação mais intensa durante o processo evolutivo da espécie mais recente.

Uma hipótese de origem de uma dada espécie por hibridação entre outras duas, deverá ser apreciada de forma diferente. Isso porque os valores D entre a espécie tida como híbrida e as espécies consideradas paternas, se constituem em funções de duas variáveis principais: o grau de afinidade entre os supostos pais e o grau de afinidade entre a espécie considerada híbrida e cada um daqueles. Evidentemente, outras variáveis tomam parte nessa função tais como: ação do meio, ação gênica não aditiva entre os alelos de um mesmo locus e epístase. Considerando-se, porém, tais efeitos de menor importância em face do número elevado dos caracteres considerados na aplicação do método de Mahalanobis, pode-se apreciar uma hipótese de hibridação, calculando-se um índice de distâncias morfológicas, o qual se expressa pelo seguinte:

$$IDM = \frac{D1 + D2}{D3}$$

sendo D1 e D2, as distâncias morfológicas entre a espécie tida como híbrida e os supostos pais e, D3, a distância morfológica entre estas espécies paternas. Os valores do índice indicativos de hibridação variam de 1 para cima, apontando-se maior aceitação da hipótese, para os valores mais próximos de 1. Os valores muito afastados do limite inferior 1, não contraindicam a hipótese, mas apenas não a confirmam. A sua ocorrência poderia ser explicada pela maior influência do meio, pela ação mais intensa da dominância ou da sobredominância ou pela ocorrência de epístase na espécie tida como híbrida. Não se poderá apon--

tar um valor muito afastado de 1 para êsse índice como uma confirmação da hipótese mas, tão pouco, tal valor poderá ser lembrado para contestá-la.

Seria interessante testar-se, experimentalmente, a eficiência dêsse índice na avaliação das hipóteses sôbre hibridações. Se tal eficiência fôsse confirmada, o valor de índice poderia servir, não sômente para se confirmar certas hipóteses, como também, para refutar-se outras.

RESUMO

O presente trabalho se constitui na utilização do método de Mahalanobis com o fim de se verificar a sua eficiência no tocante ao estudo da evolução das espécies do subgênero Cyrto-laelia (Orchidaceae). Foram utilizadas 12 espécies e mais um grupo ainda não descrito, tendo sido empregados na análise, 14 caracteres florais e 4 vegetativos.

Preliminarmente, foi feita uma observação morfológica das amostras de todas as espécies, com o fim de reunir-se as mesmas em grupos, embora de um modo inteiramente subjetivo.

Para permitir as decisões a respeito da indicação do emprego dos 18 caracteres tomados, na análise multidimensional, foi feita uma análise da variância de acordo com o modelo dos experimentos inteiramente casualizados e aplicado o teste F.

Para facilitar as interpretações dos resultados da análise multidimensional, foi aplicado o teste de Tukey para os contrastes que mais indicavam conclusão pela não significância.

De acordo com os valores D obtidos pelo método de Mahalanobis, as espécies foram distribuídas nos seguintes grupos:

- 1º grupo: Laelia cinnabarina
- 2º " : Laelia harpophylla
- 3º " : Laelia mixta
- 4º " : Laelia sp. (Vieira Machado)
- 5º " : Laelia milleri e Laelia flava
- 6º " : Laelia caulescens e Laelia crispilabia
- 7º " : Laelia ostermayerii e Laelia esalqueana
- 8º " : Laelia briegeri, Laelia longipes e Laelia rupestris.

Desses agrupamentos, foi concluído que os resultados obtidos por esse método estatístico, correspondem, em linhas gerais, aos resultados obtidos pelo método subjetivo utilizado por outros autores no estudo do grupo.

Para a apreciação das hipóteses referentes às hibridações, foi ideada uma estimativa chamada índice de distâncias morfológicas, que corresponde ao quociente entre a soma das distâncias morfológicas D1 e D2, entre a espécie considerada híbri

da e seus supostos pais e a distância morfológica D_3 entre ês-
ses pais. Foi estabelecido que um valor próximo de 1 para êsse
índice, confirma a hipótese e que um valor muito superior a 1 -
para êsse índice, não confirma nem contesta a hipótese. Con-
cluiu-se ser igual a 1 o valor do limite inferior para êsse ín-
dice mas não se pôde determinar o seu limite superior ainda in-
dicativo de possibilidade de hibridação.

Ficou também estabelecido que a forma do triângulo --
constituído pelas distâncias morfológicas entre três espécies
implicadas num processo de hibridação, indica a ocorrência ou
não de retrocruzamentos durante o processo evolutivo da espécie
híbrida. Quando essa forma se aproxima da do triângulo isósce-
les, deve-se concluir pela não ocorrência de retrocruzamentos.
Quando essa forma se aproxima da do triângulo escaleno, deve-se
concluir pela ocorrência de retrocruzamentos com a espécie rela-
cionada com o lado menor do triângulo.

Finalmente, foi indicado testar-se, experimentalmente,
a eficiência dêsse índice para se verificar se, em certos casos,
poderia ser empregado para contestar hipóteses de hibridações.

: : : : : : : :

BIBLIOGRAFIA

- 1 - BLUMENSCHNEIN, A.- 1957 - Estudos citológicos na família Orchidaceae. Tese de doutoramento (mimeografada).
- 2 - BLUMENSCHNEIN, A.- 1960-a - Três novas espécies de Laelia Lindl. Publicação Científica. Instituto de Genética, (1): 33-44.
- 3 - BLUMENSCHNEIN, A.- 1960-b - Estudo sobre a evolução no subgênero Cyrtolaelia (Orchidaceae). Tese de livre - docência (mimeografada).
- 4 - BLUMENSCHNEIN, A. e R. VENCOSKY - 1961 - Emprêgo de métodos estatísticos no estudo da taxonomia de algumas Cyrtolaelia. Trabalho apresentado na XII Reunião Anual da Sociedade Botânica do Brasil (mimeografado).
- 5 - BRIEGER, F.G., R.VENCOSKY e I.U.PAKER - 1963 - Distâncias filogenéticas no gênero Cattleya. Ciência e Cultura, 15 (3): 187-188.
- 6 - HOEHNE, F.C. - 1938 - Cincoenta e uma novas espécies da flora do Brasil e outras descrições e ilustrações. Arq. Bot. do Estado de São Paulo, I (1): 19-20.
- 7 - HOEHNE, F.C. - 1952 - Algo concernente ao gênero Laelia -- Lindl. das orchidáceas e uma nova espécie para êle do Estado de Minas Gerais. Arq. Bot. do Estado de São Paulo, II (6): 157-167.
- 8 - MAHALANOBIS, P.C., D.N. MAJUMDAR e C.R. RAO - 1949 - Anthropometric survey of the United Provinces, 1941: A statistical study. Sankhyā, 9:90.
- 9 - PISANI, J.F., R.A. CUNHA, A.T. VIANNA, B.L. CARVALHO, A.C. GARRIELI e V.P. SILVA - 1963 - Sobre o comportamento de exemplares das raças Charolêsa, Zebú e descendentes dos seus híbridos. An.Acad.Bras. Cien., 35 (2): 215-239.

- 10- RADHAKRISHNA RAO, C.- 1952 - Advanced statistical methods - in biometric research. N.Y., John Wiley & Sons, Inc. London. 390 pp..
- 11- VENCovsky, R.- 1960 - Aplicação de alguns métodos estatísticos à Sistemática. Tese de doutoramento (mimeografada).
- 12- WITHNER, C.L. e H.H. ADAMS - 1960 - Generic relationships - and evolution among the Cattleyas and their relatives. Proceedings of the third world Orchid -- conference London. The Royal Horticultural Society: 136-153.

::::::::::

AGRADECIMENTOS

Queremos encerrar o presente trabalho com os nossos mais sinceros agradecimentos a todos aquêles que nos orientaram, nos ensinaram ou nos auxiliaram de uma ou outra forma, especialmente às seguintes pessoas:

Dr. A.Blumenschein, nosso Conselheiro Principal, pela valiosa e segura orientação que nos proporcionou durante tôdas as etapas do desenvolvimento do presente estudo e sem a qual -- não teria sido possível a elaboração de tudo aquilo que aqui foi escrito.

Prof. F.G.Brieger, Diretor do Instituto de Genética, pelo oferecimento de todo o material utilizado neste trabalho, tanto para estudo como para as análises estatísticas, bem como pelos ensinamentos, sugestões e críticas.

Prof. J.F. Pisani e Drs. E.Paterniani e R.Vencovsky, pelos ensinamentos, sugestões e críticas.

Sr. Cássio R.de Melo Godoi, pelas análises estatísticas aqui utilizadas, cujos cálculos só poderiam ser feitos em computador eletrônico.

Srta. Ivany Maluf, pelo trabalho de datilografia e Srs. Alaor de Oliveira e José Broglio, pelo trabalho de fotografia e Olavo de Mello Coelho, pelo trabalho de impressão.

QUADRO 1.

Distâncias morfológicas D e D² entre cada uma das 13 espécies e as 12 espécies restantes, dispostas em ordem crescente.

	1 L.cinn.		2 L.mixta		3 L.esal.		4 L.brie.		5 L.harp.
5	8,4861 72,0147	10	4,1526 17,2442	10	3,4492 11,8974	6	2,1146 4,4717	1	8,4861 72,0147
12	9,2051 84,7346	12	4,3147 18,6169	6	4,4691 19,9733	7	4,2067 17,6971	11	10,8789 118,3514
2	9,4953 90,1610	13	4,6477 21,6014	2	5,1054 26,0660	11	5,3805 28,9498	7	11,1070 123,3668
13	9,8984 97,9786	9	4,6865 21,9636	4	5,4654 29,8707	3	5,4654 29,8707	2	11,1404 124,1087
9	10,1925 103,8873	3	5,1054 26,0660	9	5,8240 33,9199	2	5,8647 34,3948	4	11,2463 126,4804
11	10,3300 106,7098	11	5,1715 26,7447	11	6,1977 38,4120	12	6,0623 36,7517	12	11,3233 128,2186
8	10,6310 113,0190	8	5,2186 27,2345	12	6,2295 38,8073	10	6,1251 37,5171	6	11,6272 135,1927
10	10,8347 117,3913	4	5,8647 34,3948	7	7,3166 53,5332	9	6,2453 39,0040	13	11,8088 139,4481
7	10,9298 119,4610	6	6,0219 36,2643	13	7,4546 55,5718	13	6,6269 43,9161	9	12,2155 149,2196
4	12,1103 146,6612	7	6,0778 36,9396	8	7,8679 61,9052	8	7,1788 51,5355	10	12,3349 152,1507
6	12,2730 150,6267	1	9,4953 90,1610	1	12,3400 152,2757	5	11,2463 126,4804	8	12,6657 160,4219
3	12,3400 152,2757	5	11,1404 124,1087	5	12,7409 162,3313	1	12,1103 146,6612	3	12,7409 162,3313

continua na fôlha seguinte

continuação da fôlha anterior.

	6 L.long.		7 L.rupes.		8 L.sp(VM)		9 L.caul.
4	2,1146 4,4717	4	4,2067 17,6971	13	4,8762 23,7781	11	2,9960 8,9766
3	4,4691 19,9733	6	5,1292 26,3093	11	4,9868 24,8686	13	4,6162 21,3099
7	5,1292 26,3093	11	5,7091 32,5939	9	5,0117 25,1172	12	4,6268 21,4080
11	5,3307 28,4165	9	5,8872 34,6594	2	5,2186 27,2345	2	4,6865 21,9636
10	5,4454 29,6526	12	5,9006 34,8174	12	5,3339 28,4514	10	4,8435 23,4599
12	5,6618 32,0570	2	6,0778 36,9396	7	6,4900 42,1205	8	5,0117 25,1172
2	6,0219 36,2643	13	6,3367 40,1549	10	6,7854 46,0427	3	5,8240 33,9199
9	6,0953 37,1536	8	6,4900 42,1205	4	7,1788 51,5355	7	5,8872 34,6594
13	6,8335 46,6975	10	6,9282 48,0001	6	7,6160 58,0047	6	6,0953 37,1536
8	7,6160 58,0047	3	7,3166 53,5332	3	7,8679 61,9052	4	6,2453 39,0040
5	11,6272 135,1927	1	10,9298 119,4610	1	10,6310 113,0190	1	10,1925 103,8873
1	12,2730 150,6267	5	11,1070 123,3668	5	12,6657 160,4219	5	12,2155 149,2196

continua na fôlha seguinte

continuação da fôlha anterior.

	10 L.oster.		11 L.crisp.		12 L.mill.		13 L.flava
3	3,4492 11,8974	9	2,9960 8,9766	13	3,1135 9,6939	12	3,1135 9,6939
2	4,1526 17,2442	12	4,0782 16,6320	11	4,0782 16,6320	11	4,2072 17,7012
9	4,8435 23,4599	13	4,2072 17,7012	2	4,3147 18,6169	9	4,6162 21,3099
6	5,4454 29,6526	8	4,9868 24,8686	9	4,6268 21,4080	2	4,6477 21,6014
12	5,5511 30,8155	2	5,1715 26,7447	8	5,3339 28,4514	8	4,8762 23,7781
11	5,7367 32,9104	6	5,3307 28,4165	10	5,5511 30,8155	7	6,3367 40,1549
4	6,1251 37,5171	4	5,3805 28,9498	6	5,6618 32,0570	4	6,6269 43,9161
8	6,7854 46,0427	7	5,7091 32,5939	7	5,9006 34,8174	6	6,8335 46,6975
13	6,8714 47,2166	10	5,7367 32,9104	4	6,0623 36,7517	10	6,8714 47,2166
7	6,9282 48,0001	3	6,1977 38,4120	3	6,2295 38,8073	3	7,4546 55,5718
1	10,8347 117,3913	1	10,3300 106,7098	1	9,2051 84,7346	1	9,8984 97,9786
5	12,3349 152,1507	5	10,8789 118,3514	5	11,3233 128,2186	5	11,8088 139,4481

