



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

“Estudi de la biologia reproductiva de l’orquídia gegant (*Barlia robertiana*) a l’illa de Mallorca”

Emilio José Sánchez Rosa

Grau de Biologia

Any acadèmic 2013-14

DNI de l’alumne: 41538725N

Treball tutelat per Juan Rita Larrucea
Departament de Biologia

L’autor autoritza l’accés públic a aquest Treball de Fi de Grau.

Paraules clau del treball:
Barlia robertiana, pol·linització creuada, orquídia no recompensa, biologia reproductiva, Mallorca

Resum

Les orquídies son plantes que han desenvolupat un gran vincle amb el medi que les envolta. Aquesta relació ha arribat a tal nivell de sofisticació que 1/3 del total de les espècies que requereixen d'un pol·linitzador per a formar llavors no els hi ofereixen cap tipus de recompensa, sinó que els enganen. *Barlia robertiana* es d'aquest tipus d'orquídia però a l'illa de Mallorca encara no s'ha vist la seva pol·linització de manera natural, i es vol comprovar si realment necessita d'un pol·linitzador. Com també es volen observar els fruits per veure si presenten llavors viables es realitzen pol·linitzacions manuals amb totes les possibilitats (autogàmia, geitonogàmia i al·logàmia) a més de controls. Els resultats mostren un elevat nombre de llavors amb embrió, sobretot les que provenen del tractament al·logàmia, corroborant així la teoria de la pol·linització creuada. L'escassa viabilitat de les llavors del tractament autogàmia passiva mostren clarament que aquesta planta necessita d'un pol·linitzador per a formar llavors. Com es tracta de l'orquídia gegant, ha estat relativament còmode replegar dades biomètriques. Aquestes dades mostren que les plantes més altes son les més exuberants, i aparentment les que major probabilitat de fecundació tenen. Apart, mostren un patró a la mida de les fulles i un resultat poc aclaridor sobre el nombre de flors a la inflorescència.

Abstract

Orchids are plants that have developed a great bond with the surrounding environment. This relationship has reached such a level of sophistication that 1/3 of all species that require a pollinator to form seeds are rewardless orchids, they deceive their pollinators. *Barlia robertiana* is this type of orchid but on the island of Mallorca has not yet seen its pollination naturally, and I want to check if *Barlia* really need a pollinator. I want to observe the fruits to see if they have viable seeds, so I do hand pollinations with all possibilities (autogamy, geitonogamy and alogamy) plus controls. The results show a high number of seeds with embryos, especially the seeds that come from alogamy treatment, corroborating the theory of cross-pollination. The low seed viability of passive autogamy treatment clearly shows that this plant requires a pollinator to form seeds. As is the giant orchid, has been relatively comfortable collect biometric data. These data show that taller plants are the lushest, and apparently they have a higher probability of fertilization. The data also show a pattern in leaf size and an inconclusive result on the number of flowers in the inflorescence.

Índex

| | |
|---|----|
| > Introducció..... | 5 |
| » El problema de l'orquídia no recompensa..... | 5 |
| » <i>Barlia</i> | 6 |
| » Objectius del treball..... | 6 |
| » Mapa zona d'estudi..... | 7 |
| > Material i mètodes..... | 8 |
| > Resultats..... | 13 |
| » Bloc I: - Fecunditat natural de les plantes a Mallorca..... | 13 |
| - Mecanismes de pol·linització..... | 14 |
| - Viabilitat de les llavors..... | 15 |
| » Bloc II: - Biometria..... | 15 |
| » Bloc III: - Les fulles, % i patró..... | 18 |
| - La inflorescència té un nombre limitat de flors?..... | 19 |
| > Discussió..... | 20 |
| > Agraïments..... | 21 |
| > Bibliografia..... | 22 |
| > Annexes | 24 |

Introducció

-El problema orquídia no recompensa

La família Orchidaceae, amb 19500 espècies aproximadament (Dressler, 1993), es una de les famílies més extenses al regne de les plantes. Però el fet rellevant es que al voltant d'un terç de totes les orquídiades es creu que no ofereixen recompensa alguna als pol·linitzadors (van der Pijl & Dodson, 1966; Dressler, 1981; Ackerman, 1986). "Sprengel, 1793" va descobrir que moltes de les flors que observava no tenien nèctar; llavors, va deduir que aquestes plantes havien d'enganyar als pol·linitzadors per a que les visitessin (idea no compartida per Darwin, 1877).

A l'actualitat, sabem que existeixen una sèrie de mecanismes pels quals les orquídiades enganyen als pol·linitzadors i aconsegueixen ésser pol·linitzades. Les flors poden ésser confoses amb llocs de refugi o de còpula, o bé per mor de la mímica amb altres plantes que sí ofereixen recompensa; però els més comuns són els enganyos d'aliment i sexuals. Segons "Ackerman, 1986; Proctor & Harder, 1996", la producció de nèctar és molt costosa i afecta al creixement i reproducció de la planta. Per això és més avantatjós imitar a espècies que sí ofereixen recompensa. Per altra banda, "Jersáková, *et al.*, 2005", exposen que la quantitat de nèctar que han de produir és tan petita que el seu efecte sobre la reproducció de la planta és insignificant. Com veim, tenim opinions oposades que ens plantegen el dubte de quines orquídiades varen sorgir primer, les que ofereixen recompensa o les que no. Aquest ha estat i és un tema de discussió que no pareix decantar-se cap a cap banda. Però segons "Neiland & Wilcock, 1998" pareix més probable que les primeres orquídiades fossin no nectaríferes, degut al baix percentatge de fructificació en comparació amb les nectaríferes. A més, la majoria de les orquídiades primitives existents no tenen nectaris (Dressler, 1993) i el grup més estretament relacionat amb aquestes són les Hypoxidaceae, que tampoc posseeixen nectaris (Chase *et al.*, 1994).

Sigui com sigui, el que realment interessa és conservar aquestes espècies vegetals que han aconseguit burlar als animals pol·linitzadors, degut a que per mor d'aquesta gran especialització floral es promou la pol·linització creuada. Les plantes que experimenten pol·linització creuada han demostrat produir major nombre de llavors viables que les plantes pol·linitzades pel seu propi pol·len (Aceto *et al.*, 1999; Ellis & Johnson, 1999; Borba *et al.*, 2001; Wallace, 2003).

“ la hipòtesi de la pol·linització creuada proposa que l’engany de les orquídiess que no ofereixen recompensa serveix per a reduir la transferència de pol·len per geitonogàmia, maximitzant així la pol·linització creuada (al·logàmia) tot i que, en general, la producció de fruits es pol·len depenent. Els pol·linitzadors que no troben recompensa no perden molt de temps cercant a flors de la mateixa inflorescència, promovent així la pol·linització entre plantes (Dafni & Ivri 1979, Dressler 1981, Jersáková *et al.*, 2006)”.

-Barlia

Barlia robertiana, coneguda popularment com l’orquídia gegant, es un clar exemple d’orquídia que no ofereix cap tipus de recompensa als pol·linitzadors (Van der Cingel, 1995). Fins al moment, només s’ha pogut observar a l’abel·lot *Bombus lucorum* actuant com a pol·linitzador (Smithson & Gigord, 2001); no obstant, a l’illa de Mallorca encara no s’ha pogut observar la seva pol·linització. De fet, encara no existeixen dades de l’existència de *B. lucorum* a l’illa de Mallorca (Rasmont, 2013), la qual cosa pot implicar un segon pol·linitzador per a la *B. robertiana*.

Esta comprovat que les orquídiess que no ofereixen recompensa tenen un fruit set més pobre que les que sí ofereixen (Zimmerman & Aide, 1989; Alexandersson & Agren, 1996). De fet, un elevat fruit set s’associa normalment amb la producció de nèctar. Però a la *B. robertiana* el fruit set volta quasi sempre el 70% (sempre que es trobi a la vista). Com s’ha comentat amb anterioritat, existeixen diversos mecanismes pels quals les orquídiess que no ofereixen recompensa enganen als pol·linitzadors. Es sap que la *B. robertiana* té esperó tot i no produir nèctar i que a més, emet gran quantitat de VOC (composts orgànics volàtils) (Gallego, *et al.*, 2012). Pot esser una bona motivació per atreure als pol·linitzadors (si es que n’hi ha més d’un), tot i que encara no se sap amb certesa com ho fan. Però existeix una tendència cap a la reducció en el nombre de pol·linitzadors per espècies d’orquídiess, per lo que aquestes estan estretament lligades a l’entorn (Tremblay, 1992).

-Objectius del treball

En aquest treball no es tracta de cercar si existeix un pol·linitzador exclusiu de la *B. robertiana*, ni quin tipus de mecanisme emprava per atreure’l. Es un estudi sobre la biologia reproductiva de l’espècie. Amb això s’intentarà aclarir o més ben dit, posar al dia, els següents punts:

- Comprovar que la planta necessita un pol·linitzador per a formar fruits i que per tant, no s'autofecunda o produeix fruits per apomixis. (manera de reproducció de la planta).
- Comprovar que els fruits madurs tenen llavors amb embrió, és a dir, viables.
- Observar si els fruits formats a partir dels diferents tipus de pol·linització presenten taxes iguals o diferents de llavors viables.
- Comparar amb resultats previs fora de Mallorca.

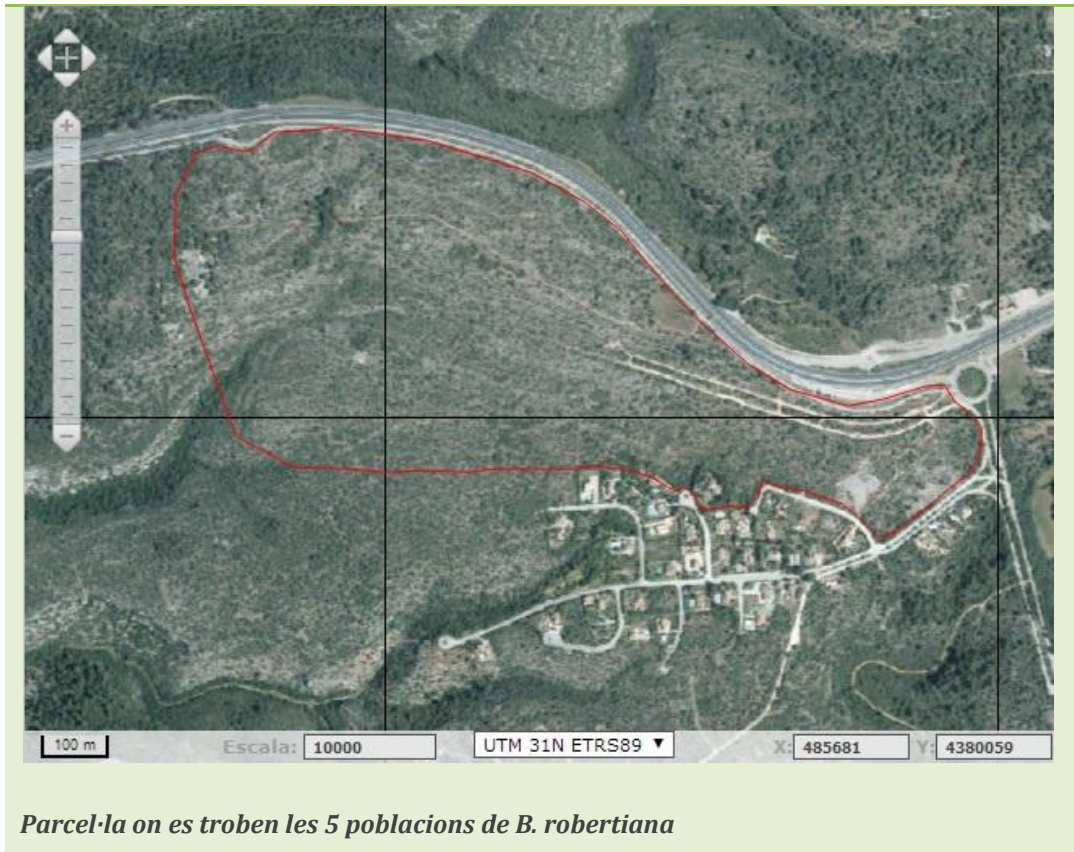
així podrem saber en quin estat es troba aquesta orquídia que no ofereix cap tipus de recompensa.

-mapa zona d'estudi



Illa de Mallorca, zona d'estudi

<http://ideib.caib.es/visualitzador/visor.jsp>



Material i mètodes

Barlia robertiana (Loisel) Greuter, es una orquídia mediterrània que es caracteritza fàcilment per la seva mida (fins a mig metre d'alçada). Creix a sols calcaris, als marges de camins o boscos aclarits. Les fulles, llargues i amples, es corresponen amb l'alçada de la planta, així com la tija de constitució robusta. La inflorescència es molt densa, amb les flors (també de gran mida) molt pròximes entre elles. L'època de floració s'estén del Febrer al Març, tot i que les flors poden aguantar fins Abril i mitjan Maig si encara no han estat pol·linitzades.

Durant el mes de Febrer del 2013 es va realitzar la recerca de les poblacions de l'orquídia. La zona d'estudi ja estava assignada, només era qüestió de trobar poblacions aptes per fer-hi feina (veure localització al mapa superior). El dia 8 de Març es va començar a fer feina amb les plantes de les diferents poblacions que es varen anomenar amb una lletra per ordre alfabètic (la població E queda exclosa per esclafament intencionat dels tres individus). Podem dividir la feina de camp en dos apartats: mesures biomètriques i tractaments (o embossaments).

El nombre d'individus de cada població aptes per procedir fou el següent: 16, 15, 11, 13 i 8, respectivament. El que fa un total de 63 individus. Com a simple vista es difícil recordar quina planta s'ha tractat, es va escriure a llapis un nombre a una cartolina i aquest s'aferrà amb cinta adhesiva a la tija de cada planta.

Mesures biomètriques:

Per a cada planta es mesurà (sempre que va ser possible) l'alçada total; la tija; l'inflorescència; llargada, amplada i nombre de fulles*; nombre de flors i posteriorment, nombre de fruits.

*es considera fulla aquella que no està associada a una flor, per tant, només considerem bràctea a les fulles associades directament a una flor.

Tractaments:

S'han realitzat quatre tractaments i un control (C). Aquests son: geitonogàmia (G), autogàmia manual (AM), autogàmia passiva (AP) i al·logàmia (A). Per a cada un dels tractaments i també per al control, es necessiten un mínim de 20 flors, les quals han de romandre tancades (per assegurar que encara no s'ha produït cap pol·linització).

*es recomana fer només dos embossaments per planta.

En total s'esperava obtenir un total de 80 embossaments (20 per a cada tractament) i 20 flors control; però amb la majoria de les plantes en estat avançat de floració el resultat va ser el següent: C (20); AM (20); AP (18); A (19); G (12). Cada tractament es diferencià pel color de fil que té a la tela.

El número de mostres es reduí de forma considerable quan arribà el temps de la recol·lecció. "Desafortunadament, el vent va fer volar unes quantes bosses i altres flors tractades quedaren inservibles per esclafament intencionat dels individus (eren els més propers a la carretera)" el resultat final fou: C (18); AM (11); AP (4); A (6); G (4).

Procediment:

Les mesures biomètriques s'agafaren amb un regla. Tant per la tija, com per la planta sencera, el punt de partida era el nivell del terra. Amb les fulles s'intentà precisar un poc més, agafant com a punt de partida la base d'aquestes. En el cas de la inflorescència, el punt de partida era la primera bràctea.

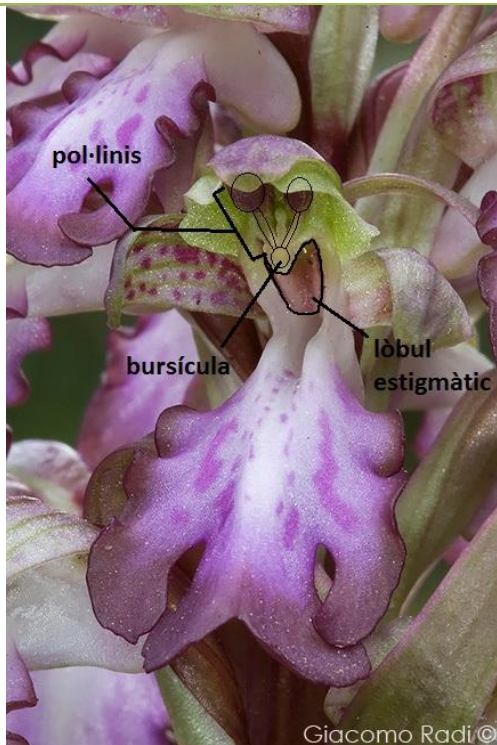
En quant als tractaments, aquest fou el procediment de cadascun d'ells:

Tractament AM: a la poncella escollida se la va emascular amb l'ajut d'unes pinces (fent pressió a la bursícula s'enganxa el retinacle únic que comparteixen els dos pol·linis), seguidament aquests es refregaren pel lòbul estigmàtic de la mateixa flor. (veure imatge 1)

Tractament A: s'emascula la flor d'una planta d'una població i aquests pol·linis es refregaren pel lòbul estigmàtic de la poncella d'una altra planta de la mateixa població. Seguidament s'emascula la poncella escollida i es prescindeix dels pol·linis (també poden ésser empleats per a geitonogàmia).

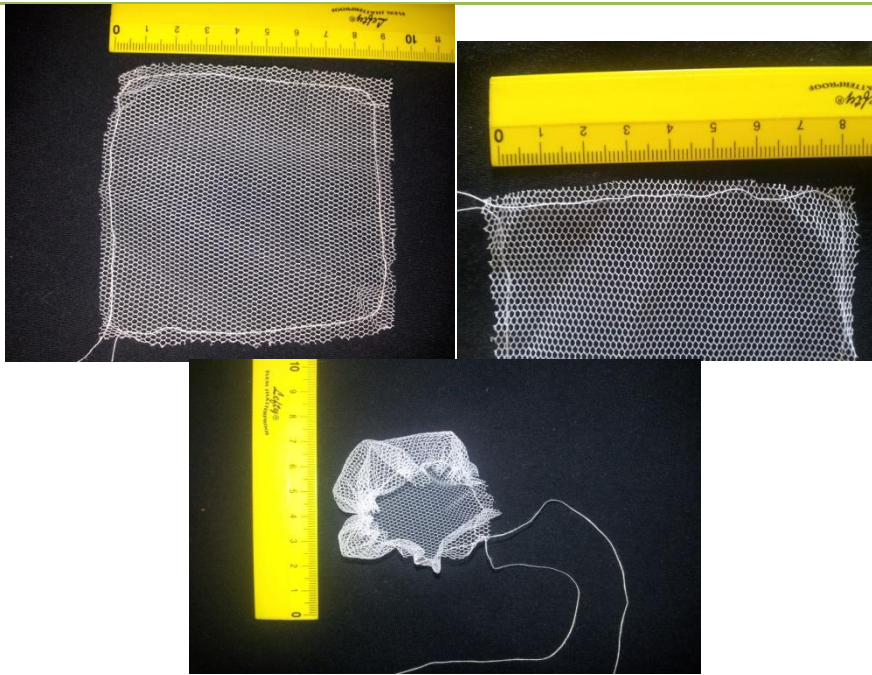
Tractament G: s'emascula la flor d'una planta d'una població i aquests pol·linis es refregaren pel lòbul estigmàtic d'una poncella de la mateixa planta. Seguidament s'emascula la poncella escollida i es prescindeix dels pol·linis (també poden ésser empleats per a al·logàmia).

Tractament AP: a la poncella escollida se li posà la bosseta de tela de tul.



Un cop es realitzaren els diferents tipus de pol·linització, es va procedir a l'embossament de les flors tractades (es recomana fer-ho tot seguit degut a que es molt fàcil confondre's de flor). Per a fer-ho es va utilitzar tela de tul, amb una porositat d'1.5 mm. El procediment emprat va ser molt simple; es retallà un rectangle de tela de 9 x 10 cm aproximadament; després es passà un fil (depenent del tractament serà d'un color o d'un altre) per tot el contorn. Seguidament es va estrènyer una mica el fil per a que la tela quedés feta una petita bossa i amb cura es va introduir la flor tractada. Per acabar se va fer un nuu a la bosseta per tal d'impedir (o almenys intentar-ho) que el vent se l'endugués (veure imatge 2, 2a).

Imatge 1. Detall dels òrgans vegetals necessaris per a la reproducció de la planta i la bursícula. Modificada per l'autor.

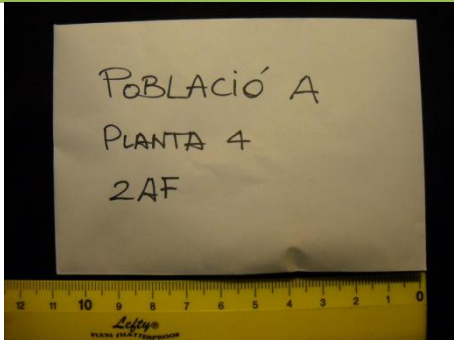


Imatge 2. Detall tela de tul empleada per als embossaments.



Imatge 2a. Embossaments a plantes de la població C (13/03/13).

A finals de Maig s'inicià la recol·lecta dels fruits de les flors tractades. A principis de Juny ja s'havien recol·lectat tots els fruits (2 mesos i mig de fructificació, aproximadament) i es posà en marxa l'observació de les llavors. La manera de recol·lectar els fruits va ser simplement arrabassar-los de la planta i introduir-los a un sobre perfectament tancat i identificat (veure imatge 3). Per observar les llavors es va utilitzar una lupa binocular típica de laboratori.



Imatge 3. Identificació i emmagatzemament dels fruits un cop recol·lectats

Cada fruit conté centenars de llavors diminutes que a simple vista pareixen polsina de color marró clar. Les llavors a la lupa s'assemblen a un envoltori de caramel. Si la llavor s'ha desenvolupat correctament, és a dir, té embrió, s'observa el caramel al centre de l'envoltori. Si pel contrari, la llavor no s'ha desenvolupat correctament, el que s'observa es simplement l'envoltori, sense res al seu interior (veure imatge 4). Com el seu recompte es impossible (s'estimen unes 25000 llavors aproximadament), s'agafaren 300 llavors de cada fruit i amb l'ajut d'un punxó i un comptador manual analògic es va comptar quantes tenien embrió (llavor viable) i quantes no (llavor no viable).



Imatge 4. Detall llavor amb embrió i llavors sense embrió.

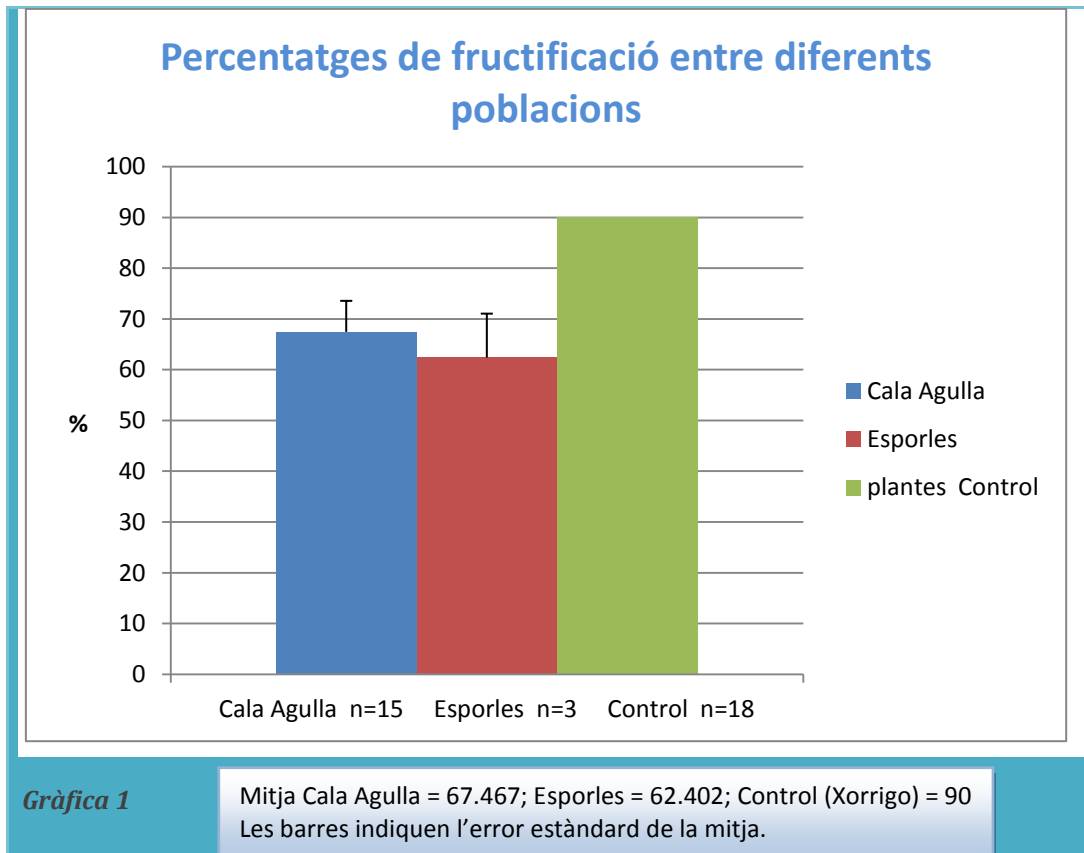
El següent punt va ser el tractament estadístic de totes les dades recopilades (el programa emprat fou microsoft excel). S'intentà comparar tots els paràmetres possibles i fer relacions entre les diferents poblacions per tal d'establir alguna conclusió.

Resultats

Els resultats s'han dividit en tres blocs. Un primer bloc que tracta sobre el percentatge de fructificació o fruit set i sobre la viabilitat de les llavors. Un segon bloc de biometria; i un tercer bloc on s'analitzen les fulles i les flors per separat.

BLOC I

-Fecunditat natural de les plantes a Mallorca

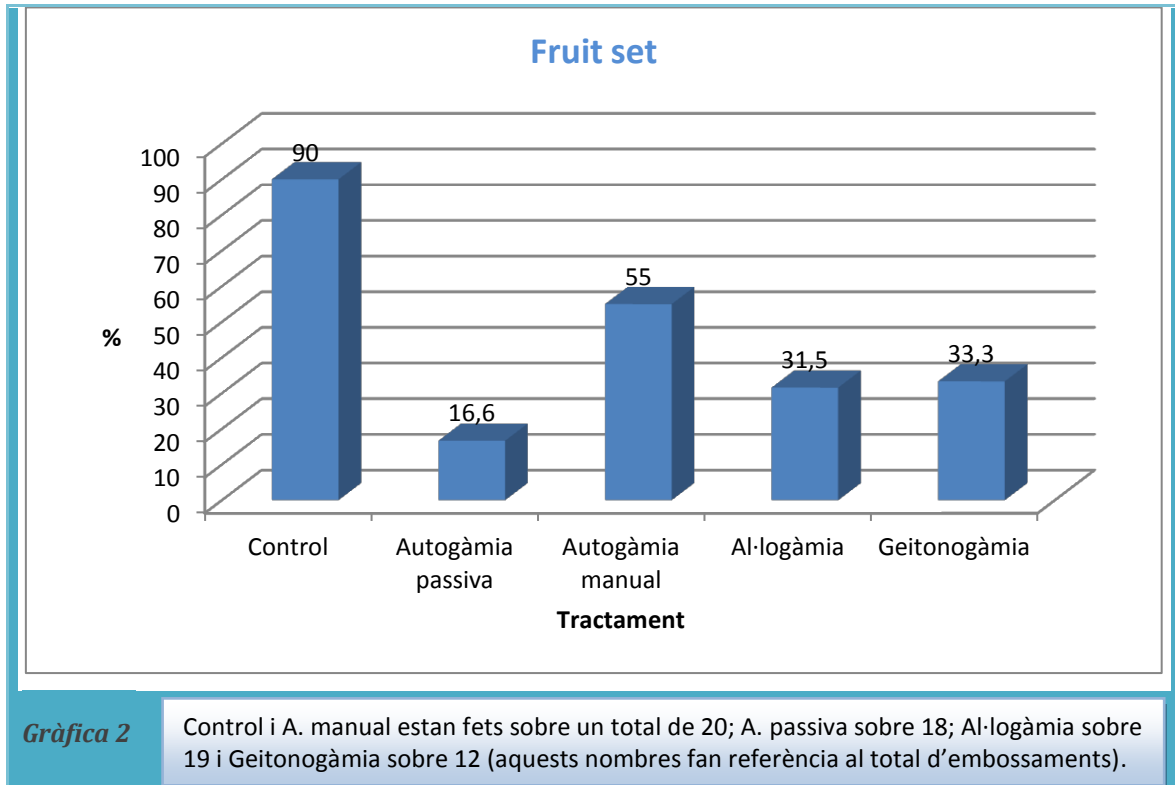


Amb aquesta gràfica es pot veure quin fruit set té cada població, tot i que la darrera columna no correspon al valor real de fructificació de la població de Xorrigo, sinó que es el percentatge de fructificació del tractament control. Això s'ha fet així perquè no es tenen les dades del nº de fruits de les plantes de les poblacions de Xorrigo, per tant, ja no se pot saber el % de fructificació. D'aquesta manera fem una estima del % de fructificació de les poblacions de Xorrigo i aquest valor hauria de concordar amb el % de fructificació de les altres poblacions aïllades.

Tot i que el nombre d'individus de la població d'Esporles es baix, s'observa com té concordança amb els valors de Cala Agulla; no obstant, les flors elegides per al tractament control a les plantes de les poblacions de Xorrigo han tingut molt d'èxit. Pràcticament totes

han estat pol·linitzades, cosa que no vol dir que aquella planta tingui un elevat percentatge de fructificació (de fet, no ho sabem), sinó que aquella flor si que ha estat visitada.

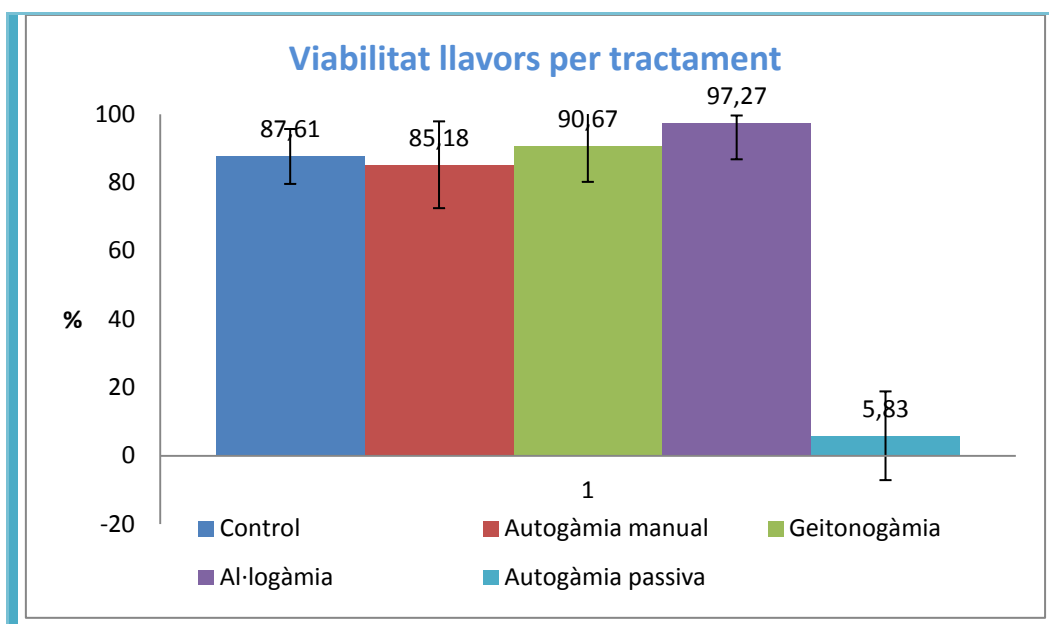
-Mecanismes de pol·linització



La gràfica següent correspon al percentatge de fructificació de totes les plantes tractades de les poblacions de Xorrigo. Com s'ha vist a la gràfica anterior, el fruit set de les flors control dona un valor molt elevat (90%), mentre que les flors tractades presenten percentatges més discrets en comparació amb aquest.

El que presenta major èxit es l'autogàmia manual, seguit de geitonogàmia i al·logàmia. Tot i que aquests dos darrers presenten valors molt iguals, el resultat engana degut a que el total d'individus varia molt d'un tractament a un altre (una diferència de 7 flors tractades). I finalment tenim l'autogàmia passiva amb un percentatge bastant baix en comparació amb la resta de tractaments.

-Viabilitat de les llavors



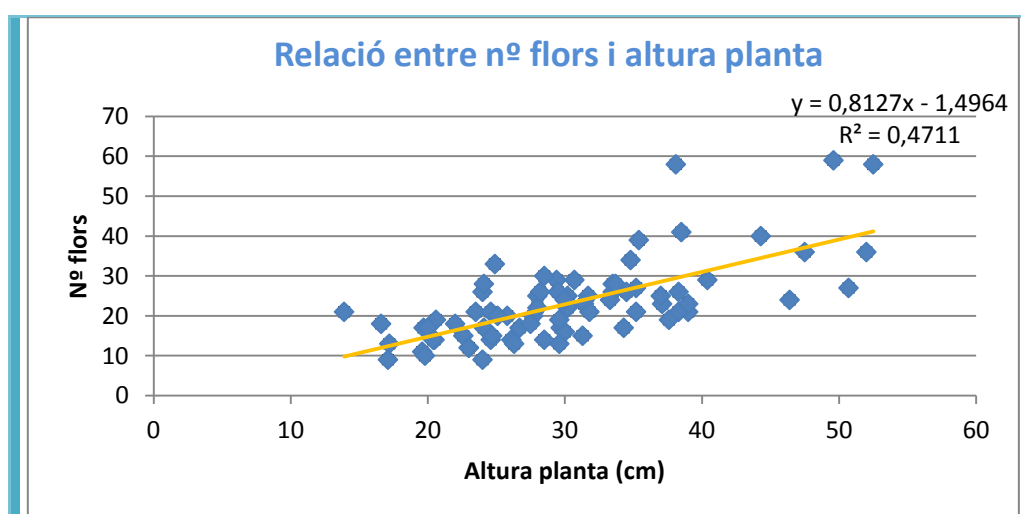
Gràfica 3

Total de **300 llavors** // N°fruits control = 18; autogàmia manual = 11; autogàmia passiva = 4; geitonogàmia = 4; al·logàmia = 6
Les barres indiquen l'error estàndard de la mitja.

En aquesta gràfica es pot veure el que s'anticipava a la gràfica anterior. La pol·linització creuada té més èxit per la gran qualitat de les llavors que es formen, mentre que l'autogàmia, quan es passiva, té una molt baixa viabilitat de les llavors.

BLOC II

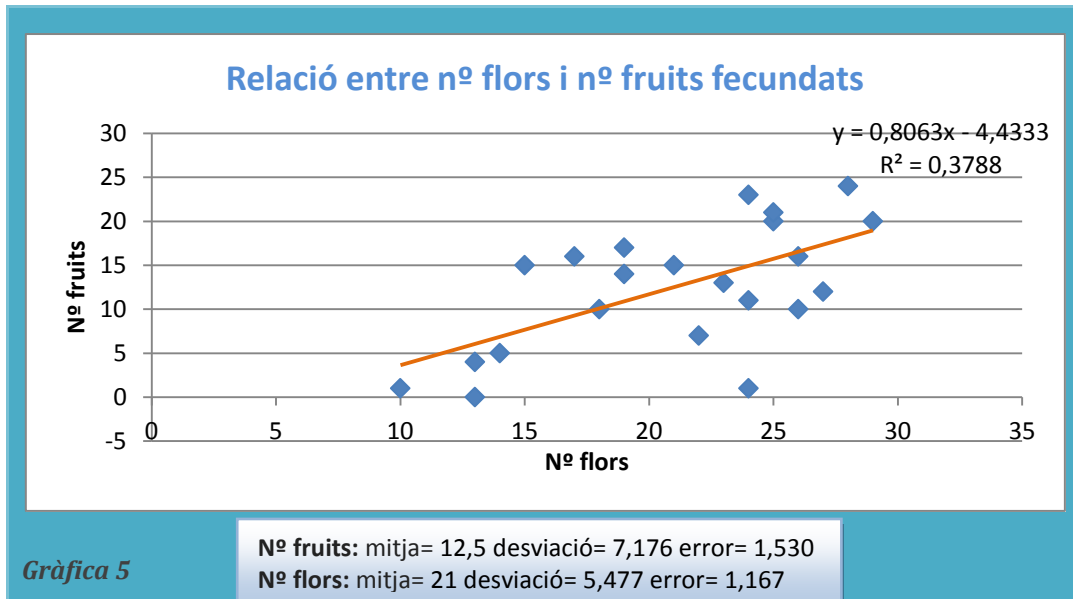
-Biometria



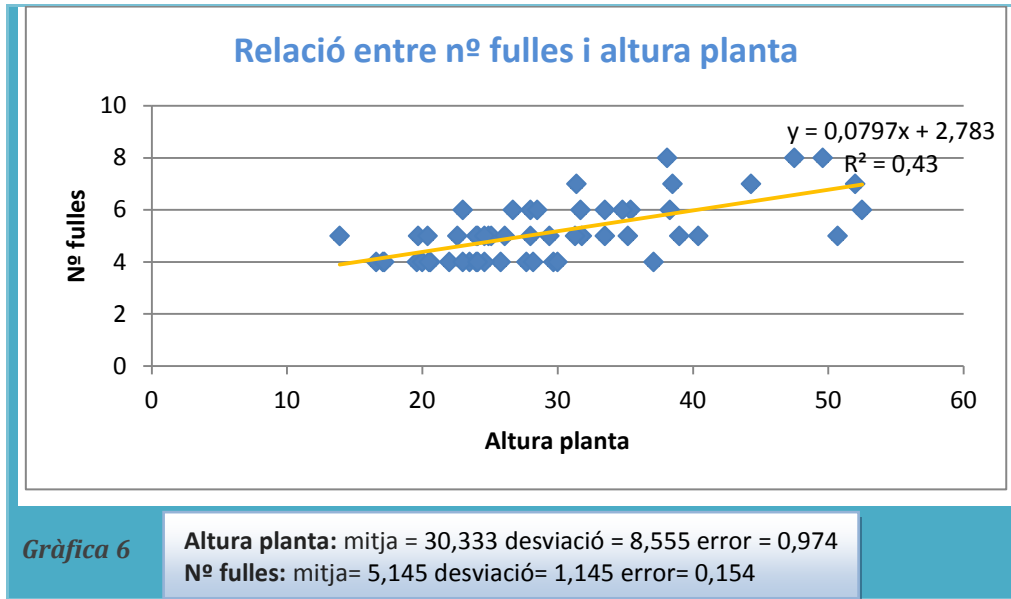
Gràfica 4

Altura planta: mitja = 30,333 desviació = 8,555 error = 0,974
Nº flors: mitja = 25,057 desviació = 11,405 error = 1,537

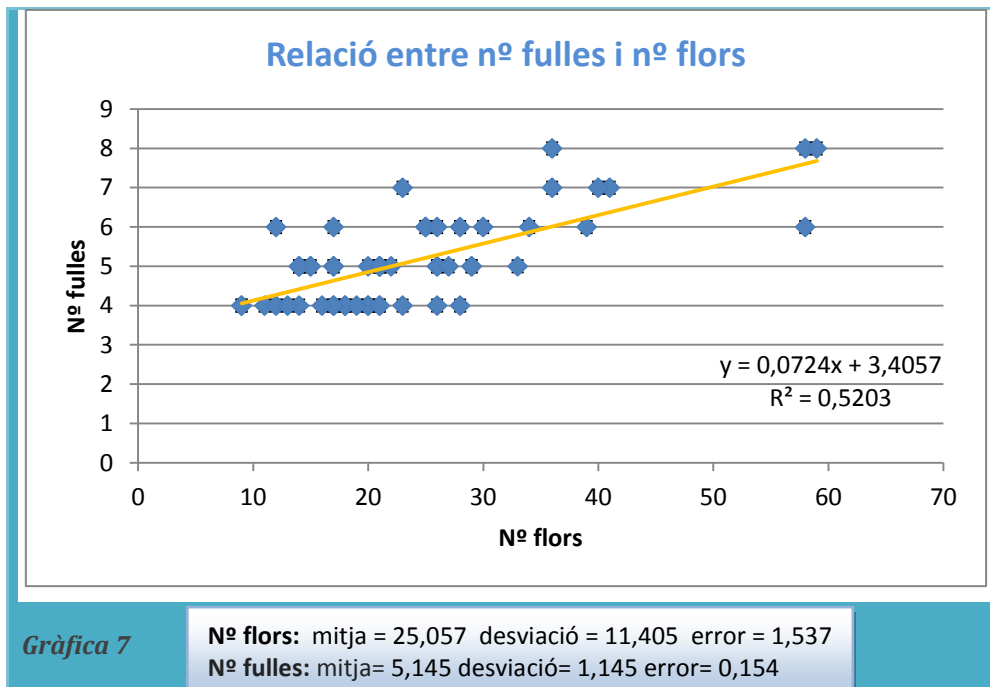
En aquesta gràfica es compara el nombre total de flors de la planta amb la seva alçada total. El nombre de flors mitjà per planta es de 23 i l'altura mitja de 30.3 cm. Aquesta seria la planta model de *B. robertiana* a l'illa de Mallorca. Com es pot observar, existeix una tendència en augmentar el nombre de flors així com la planta es va fent més gran. Tot i que els extrems no ho aconsegueixen. De tota manera, s'hauria d'haver mirat si la regressió es significativa per poder afirmar que la tendència que es segueix també ho és (passa el mateix amb totes les gràfiques del bloc II).



Aquí observem la relació entre el nombre de flors per inflorescència i el nombre de fruits fecundats. Com veim la R^2 es la més baixa de totes les gràfiques, però no deixa de ser un bon resultat. La tendència observada mostra que, de forma general, quantes més flors tingui la planta major serà el nombre de fruits. Per tant, es important tenir un elevat nombre de flors per així garantir qualcuna pol·linització. Això es dona per a les plantes de Cala Agulla, per a les de Xorrigo no sabem si es segueix el mateix patró perquè les plantes amb bossa no donen un resultat fiable (potser les bosses espantin als pol·linitzadors o afectin de qualque manera al seu comportament).



A la gràfica 6 es compara l'altura total de la planta amb el seu nombre de fulles. S'observa una tendència general a tenir més fulles quant major es l'alçada de la planta. Al igual que sembla succeir amb el nombre de flors a la inflorescència, les plantes de major alçada pareixen ser les més exuberants. També es pot veure com totes les plantes tenen com a mínim 4 fulles.



A la gràfica 7 es compara el nombre total de fulles amb el nombre total de flors per inflorescència. La tendència que s'observa es clara, a major nombre de fulles major nombre de

flors o viceversa. Tot i que s'hauria d'haver comprovat quant significant es aquesta regressió, aquesta gràfica concorda i no podia ser d'una altra manera, amb les gràfiques 4 i 6.

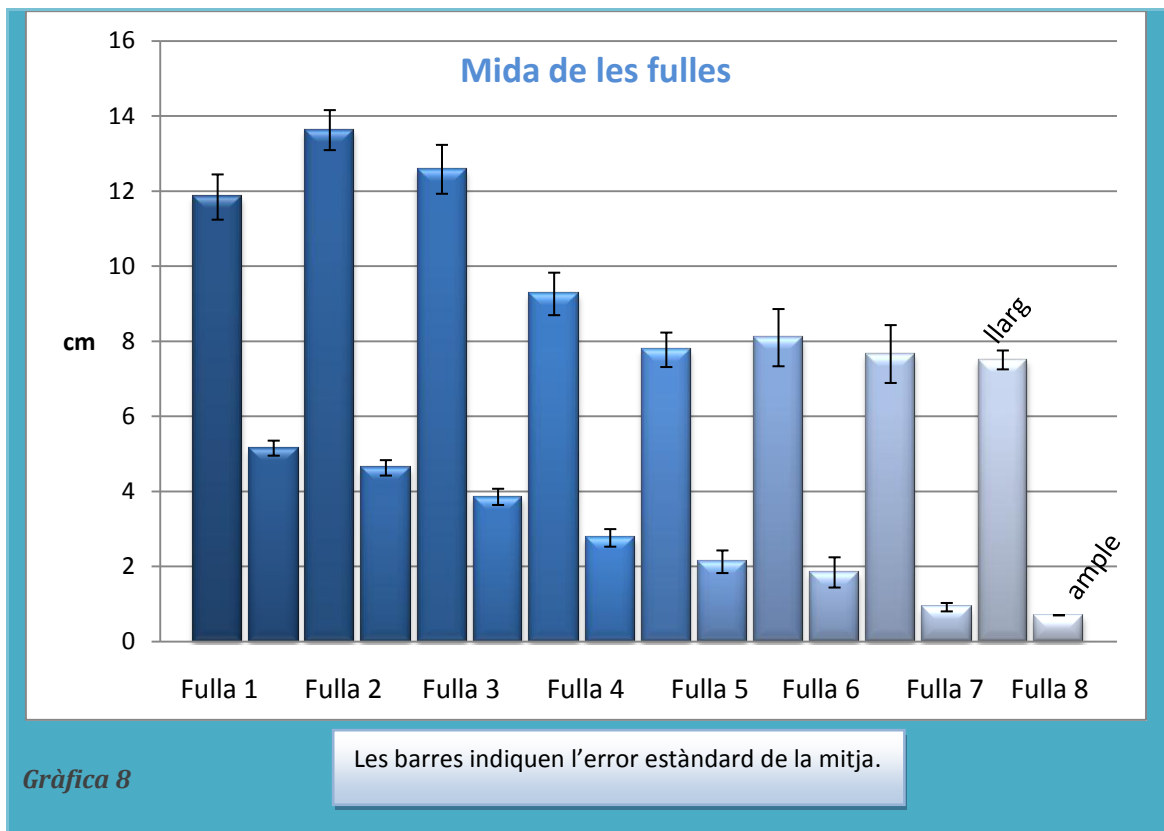
BLOC III

-Les fulles, % i patró

| Nº fulles | Nº plantes | % |
|-----------|------------|-------|
| 4 | 52 | 100 |
| 5 | 33 | 63.46 |
| 6 | 15 | 28.84 |
| 7 | 7 | 13.46 |
| 8 | 3 | 5.76 |

Com veim a la taula 1, absolutament totes les plantes tenen un mínim de 4 fulles, i més de la meitat arriben a tenir fins a 5 fulles. També hi ha un percentatge bastant representatiu amb plantes de 6 fulles, i més de 6 ja es molt poc comú. Si en fixem, el nombre de plantes que tenen 6 fulles es gairebé la meitat de les que tenen 5; i d'igual manera succeeix amb les de 7 sobre 6 i les de 8 sobre 7. Sembla que les 4 primeres fulles son de vital importància per a la planta, les següents no son imprescindibles.

Taula 1

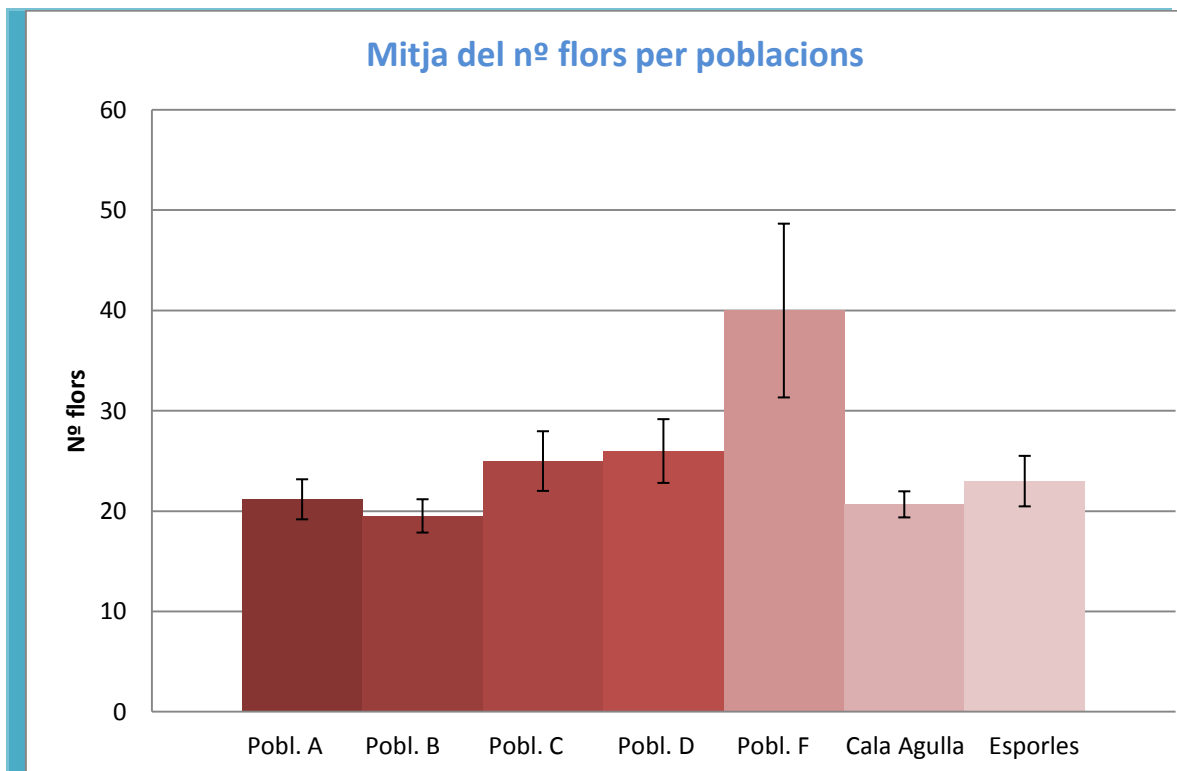


Gràfica 8

A la gràfica 8 es compara la llargada i l'amplada de totes les fulles de les plantes. La fulla 1 es la més exterior i la 8 es la que més aferrada a la tija es troba. Com se pot observar, l'amplada de les fulles 1 es la major de totes i a partir d'aquí va decreixent de forma paulatina

fins arribar a la darrera fulla, per tant, a mesura que ens atraquem a la tija les fulles es van fent més estretes. En canvi, la llargada no segueix aquest patró. Les fulles 1 mesuren una mitja de 12 cm, després les fulles 2 son una mica més llargues, i a les fulles 3 es torna a una llargària similar a la de les fulles 1. Les fulles 4 son les menys llargues, a no ser que la planta tingui la fulla número 5, en aquest cas la fulla 5 es la més petita. En cas de presentar més fulles, aquestes es mantenen gairebé com les fulles 5.

-La inflorescència té un nombre limitat de flors?



Gràfica 9

n població A =16; B = 15; C = 9; D = 7; F = 6; Esporles = 3; Cala Agulla = 19
 Mitja= 25,057 Mitja omitint població F = 22,567
 Les barres indiquen l'error estàndard de la mitja.

La gràfica 9 compara el nombre de flors per inflorescència que tenen les plantes de les diferents poblacions, incloent les poblacions de Cala Agulla i Esporles. Com es pot observar, pràcticament totes les poblacions estan sobre la mitja exceptuant la població F que s'escapa estrepitosament*.

*No s'han agafat tots els individus de la població F pel recompte, per tant, això pot esser una possible explicació de l'elevada mitja respecte a les demés poblacions.

Discussió

Segons un estudi basat en 15 orquídiess, entre les quals no es troba la *B. robertiana*; el percentatge de pol·linització de les que ofereixen recompensa es pràcticament del 100%, mentre que el percentatge de les que no ofereixen res es menor del 10% (Gill, 1989). La mitja de fructificació de la *B. robertiana* a poblacions control (Cala Agulla & Esporles) es del 67.24; fet que implica necessàriament que el percentatge de pol·linització superi el 10% establert.

Per altra banda, la mitja del tractament control a les poblacions de Xorrigo ha estat del 90%; els resultats no tenen perquè estar malament, simplement ha estat molta casualitat haver endevinat les flors; si haguéssim calculat el % real segurament hauria sortit més baix, com les altres poblacions. De fet, si comparem aquest estudi amb el de "Smithson, 2005" (veure annexes, imatge 1) es veu clarament com el percentatge mitjà de fructificació de les poblacions control (Cala Agulla & Esporles) es molt similar al de la mitja de les plantes control (barres negres). De tota manera, un percentatge tan elevat de fructificació per a una planta que no ofereix cap tipus de recompensa pareix indicar que es pot autofecundar o produir fruits per apomixis. No obstant, a la gràfica 2 es veu clarament que el percentatge de fructificació del tractament autogàmia passiva es molt baix. Aquest resultat per si sol no té significança degut a que cada fruit conté centenars de llavors; però si li afegim l'escassa viabilitat que presenten aquestes llavors, implica necessàriament que aquesta planta necessiti d'un pol·linitzador per a formar fruits. El que no sabem encara es quina espècie d'abel·lot s'encarrega de pol·linitzar-la a l'illa de Mallorca.

Tornant de nou a l'estudi de "Smithson, 2005", es pot observar com el tractaments d'autogàmia manual (barres blanques) i al·logàmia (barres grises) tenen una mitja de percentatge de fructificació d'un 90%, mentre que en aquest estudi l'autogàmia manual volta el 50 % i l'al·logàmia el 31 %. En realitat, els resultats esperats eren com els de l'estudi de "Smithson, 2005" degut a que les pol·linitzacions manuals son bastant fiables. Llavors, com es possible que s'hagin obtingut aquests resultats? La resposta es troba al mètode. Moltes de les flors seleccionades eren flors apicals (tenen tendència a no desenvolupar-se correctament) i com les pol·linitzacions s'havien de fer amb poncelles, alguns pol·linis encara no havien madurat, per lo que la pol·linització tampoc es desenvoluparia correctament. Tot i aquests resultats, alhora de comparar la viabilitat de les llavors segons el tipus de tractament, aquestes si que han donat el resultat que s'esperava (senyal de que les flors ben pol·linitzades s'han

desenvolupat amb normalitat). El fet de que la *B. robertiana* sigui una orquídia que no ofereix recompensa i que necessiti d'un pol·linitzador per a formar fruits desencadena en la promoció de la pol·linització creuada. Els pol·linitzadors no perden temps en visitar moltes flors de la mateixa planta, visitant així altres flors d'altres plantes en poc temps (Dafni & Ivri, 1979; Dressler, 1981; Jersáková *et al.*, 2006). Aquest fet contribueix a l'especialització floral de la *B. robertiana*, augmentant també la seva importància ecològica. Exceptuant l'autogàmia passiva, la resta de tractaments també han obtinguts molt bons percentatges de llavors viables, és a dir, amb embrió.

Quant més dens i gran sigui el fruit, major percentatge de llavors viables tindrà; en canvi, si el fruit s'esclafa amb facilitat i la seva mida es escassa, es molt probable que el seu desenvolupament no s'hagi produït correctament (sol passar amb les flors que ocupen els llocs superiors de la inflorescència).

B. robertiana no produeix nèctar, ha optat per l'especialització floral i l'engany per atreure als pol·linitzadors; per tant, la flor s'ha convertit en la seva eina principal. Vist d'aquesta manera no hi ha cap dubte de que un major nombre de flors a la inflorescència equival a un major nombre de fruits. Però al igual que passa amb altres orquídiades, el nombre de flors a la inflorescència i el fruit set no segueixen un patró comú (Montalvo & Ackerman, 1987). Per tant, es podria dir que tenir moltes flors augmenta la probabilitat de tenir molts de fruits, però només assegura aconseguir-ne qualcun. No obstant, un elevat nombre de flors a la inflorescència pot esser beneficiós sota condicions favorables, conegudes com "ecological windows" (Sutherland, 1986). El que es segur es que la flor es el factor atractiu per al insecte, tot i que la importància del nombre d'aquestes a la inflorescència encara no té resultats aclaridors (Kindlmann & Jersakova, 2005).

Agraïments

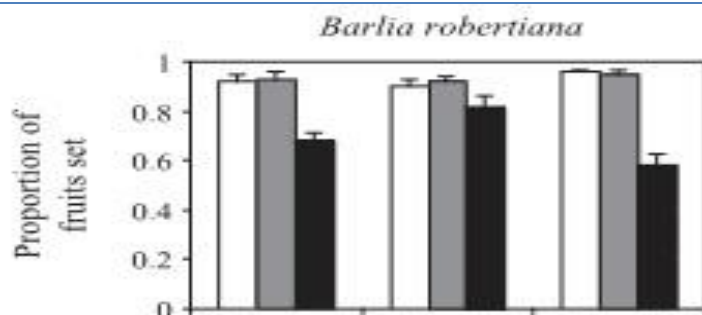
Voldria donar les gracies als meus amics Glòria Salort, Jose Manuel Corraliza, Jaume Vives, Luis Borrás i Magdalena Sastre per la seva ajuda tant en l'elaboració de les bossetes per als tractaments així com amb la recopilació de les dades biomètriques. També agrair al meu tutor del treball Dr. Juan Rita per la recerca de les poblacions de *Barlia robertiana* i pels seus comentaris i observacions. Per acabar, també donar les gracies als meus pares pel seu suport en tot moment.

Bibliografía

- Aceto, S., Caputo, P., Cozzolino, S., Gaudio, L. & Moretti, A. (1999). Phylogeny and evolution of *Orchis* and allied genera based on ITS DNA variation: morphological gaps and molecular continuity. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **13**, 67–76.
- Ackerman, J. D. (1986). Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination systems in orchids. *Lindleyana* **1**, 108–113.
- Alexandersson, R. & Agren, J. (1996). Population size, pollinator visitation and fruit production in the deceptive orchid *Calypso bulbosa*. *Oecologia* **107**, 533–540.
- Borba, E. L., Semir, J. O. & Shepherd, G. J. (2001). Self-incompatibility, inbreeding depression and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. *Annals of Botany* **88**, 89–99.
- Chase, M. W., Cameron, K. M., Hills, H. G. & Jarrell, D. (1994). DNA sequences and phylogenetics of the Orchidaceae and other lilioid monocots. In A. M. Pridgeon [ed.], *Proceedings of the 14th World Orchid Conference*, 61–73. HMSO, Edinburgh.
- Dafni, A. & Ivri, Y. (1979). Pollination ecology of, and hybridization between, *Orchis coriophora* L. and *O. collina* sol. Ex. Russ (Orchidaceae) in Israel. *New Phytologist* **83**, 181–187.
- Dressler, R. L. (1993). *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Dressler, R. (1981). *Orchids – natural history and classification*. 1st Edn. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- Darwin, C. H. (1877). *On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized by insects*. London: John Murray.
- Ellis, A. & Johnson, S. D. (1999). Do pollinators maintain the species integrity of sympatric *Satyrium* species (Orchidaceae)? *Plant Systematics and Evolution* **219**, 137–150.
- Gallego, E. *et. al.* (2012). Identification of volatile organic compounds (VOC) emitted from three European orchid species with different pollination strategies: two deceptive orchids (*Himantoglossum robertianum* and *Ophrys apifera*) and a rewarding (*Gymnadenia conopsea*). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* **2**, 18-29.
- Gill, D. E. (1989). Fruiting failure, pollinator inefficiency, and speciation in orchids. In D. Otte and J. A. Endler [eds.], *Speciation and its consequences*, 458–481. Sinauer, Sunderland, MA.
- Jersáková, J., Johnson, S. D. & Kindlmann, P. (2006). Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biol. Rev.* **81**, 219–235.
- Kindlmann, P. & Jersáková, J. (2005). Floral display, reproductive success and conservation of terrestrial orchids. *Selbyana* **26**, 136–144.

- Montalvo, A. M. & Ackerman, J. D. (1987). Limitations to fruit production in *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). *Biotropica* **19**, 24–31.
- Neiland, M. R. & Wilcock, C. (1998). Fruit set, nectar reward, and rarity in the orchidaceae. *American Journal of Botany* **85**, 1657–1671.
- Proctor, H.C. & Harder, L. D. (1996). Effect of pollination success on floral longevity in the orchid *Calypso bulbosa* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* **83**, 1355–1355.
- Rasmont P. & Iserbyt I. (2010-2013). *Atlas of the European Bees: genus Bombus*. 3d Edition. STEP project, Atlas Hymenoptera, Mons, Gembloux. Disponible a <http://www.zoologie.umh.ac.be//hymenoptera/page.asp?ID=169>
- Smithson, A. & Gigord, L. D. B. (2001). Are there fitness advantages in being a rewardless orchid? Reward supplementation experiments with *Barlia robertiana*. *The Royal Society*. **268**, 1435-1441.
- Smithson, A. (2005). Pollinator limitation and inbreeding depression in orchid species with and without nectar rewards. *New Phytologist*, **169**, 419–430.
- Sprengel, C. K. (1793). *Das entdeckte Geheimniss der Natur im Bau und in der Befruchtung der Blumen*. Vieweg, Berlin.
- Sutherland, S. (1986). Patterns of fruit-set: what controls fruit-flower ratios in plants? *Evolution* **40**, 117– 128.
- Tremblay, R. L. (1992). Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Canadian Journal of Botany* **70**, 642–650.
- Van der Cingel, N. A. (1995). *An atlas of orchid pollination*. A. A. Balkema, Rotterdam.
- Van der Pijl, L. & Dodson, C. H. (1966). *Orchid flowers: their pollination and evolution*. University of Miami Press, Coral Gables, FL.
- Wallace, L. E. (2003). The cost of inbreeding in *Platanthera leucophaea*. *American Journal of Botany* **90**, 233–240.
- Zimmerman, J. K. & Aide, T. M. (1989). Patterns of fruit production in a Neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *Am. J. Bot.* **76**, 67–73.

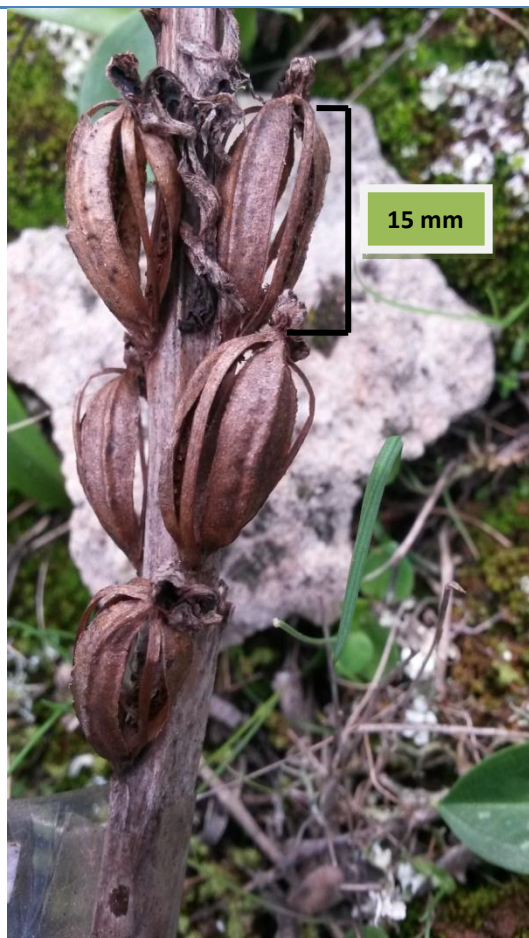
Annexes



Imatge 1. Proporció de fructificació amb autogàmia manual (barres blanques), al·logàmia (barres grises) i pol·linització control (barres negres) a tres poblacions diferents de B. robertiana al nord d'Espanya (Begur A, Begur B i Escala).



Detall fruit B. robertiana.



Detall de les fissures longitudinals de la càpsula de B. robertiana.



Detall inflorescència B. robertiana.



Tractaments població D.



Tractaments població A.



Realització embossaments, a.



Realització embossaments, b.