

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA

SISTEMÁTICA FILOGENÉTICA E DELIMITAÇÃO DOS GÊNEROS DA SUBTRIBO
ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE) ENDÊMICOS DO BRASIL: *Baptistonia*, *Gomesa*,
Ornithophora, *Rodrigueziella*, *Rodrigueziopsis* e *Oncidium pro parte*.

APARECIDA DONISETE DE FARIA

ORIENTADORA: MARIA DO CARMO ESTANISLAU DO AMARAL

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia para a obtenção do título de
Doutor em Biologia Vegetal

Campinas

Janeiro/2004

AGRADECIMENTOS

Às preciosas dicas de V. Bittrich, R.B. Singer, A. Toscano de Brito, C.E. de Brito, E.R. Pansarin, S. Koehler e E.L. Borba, durante o desenvolvimento do presente trabalho. A S. Koehler, J.E.L.S. Ribeiro, L.Y.S. Aona, A. Spina, V.F. Mansano e F. Feres, pela ajuda na obtenção dos dados moleculares; a J.E.L.S. Ribeiro, E.R. Pansarin, C.E. de Brito e L.C. Tarley, pela ajuda na obtenção das espécies do Clado “**Gomesa**”. A R.B. Singer pelos excelentes desenhos das flores e das estruturas florais das espécies do Clado “**Gomesa**”. Aos técnicos Juverlande e Marcos do Laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Biologia da Unicamp, Sebastião, do laboratório de Anatomia Vegetal e João Carlos do laboratório de Taxonomia do Depto. de Botânica da Unicamp, por todo auxílio. Aos amigos do Depto. de Botânica da Unicamp, pela convivência agradável. Ao curso de Pós-Graduação e a todos os docentes do Depto. de Botânica da Unicamp. Aos curadores dos herbários: ALCB, BAH, BHCB, BHMH, BLA, BOTU, CEN, CEPEC, CESJ, CPAP, CVRD, EAC, EAN, EFC, EM, ESA, ESAL, FCAB, FLOR, FUEL, GUA, HAMAB, HAS, HBR, HEPH, HF, HB, HRB, HRCB, HUEFS, HUFU, HURG, IAC, IAN, IBGE, IBP, ICN, IPA, IPB, IPRN, JPB, MBM, MBML, MPUC, OUPR, PACA, PAMG, PEL, PEUFR, PKDC, R, RB, RBR, RFA, SMDB, SP, SPF, SPSF, TEPB, UB, UEC, UFG, UFMT, UFP, UPCB e VIC, pelo empréstimo de exsicatas, e aos funcionários do Herbário UEC, Dona Zulmira e Bill, por toda a atenção. À Dra. A.P. de Souza por permitir que parte do trabalho fosse realizada no laboratório de biologia molecular sob sua responsabilidade e por disponibilizar sua equipe técnica para auxiliar na resolução dos eventuais problemas, e à M.G. dos Reis e A.J. Marsaioli, do Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da UNICAMP, pelas análises químicas dos óleos florais.

À Maria do Carmo e ao Volker Bittrich, por tudo!

O presente trabalho teve o apoio financeiro da FAPESP (Processo 98/07781-6).

ÍNDICE GERAL

Resumo	1
Abstract	2
Apresentação	3
Capítulo 1 - Sistemática filogenética e delimitação dos gêneros da subtribo Oncidiinae (Orchidaceae) endêmicos do Brasil	12
Capítulo 2 - Elaióforos em espécies do Clado “ Gomesa ” (Oncidiinae): estrutura anatômica, histoquímica, determinação da composição química das substâncias secretadas e utilidade para a taxonomia	94

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Fig. 1 - Detalhes da flor de <i>Oncidium longipes</i>	10
Fig. 2 - Árvore filogenética de Oncidiinae (Chase et al. 1998)	19
Fig. 3 - Hábitos e hábitat de espécies do Clado “ Gomesa ”	36
Fig. 4 - Diferentes estados de caracteres anatômicos apresentados pelas espécies do Clado “ Gomesa ”	38
Fig. 5 - Diferentes estados de caracteres morfológicos florais apresentados pelas espécies do Clado “ Gomesa ”	40
Fig. 6 - Árvore filogenética de consenso estrito do Clado “ Gomesa ” gerada a partir de dados morfo-anatômicos e químicos	42
Fig. 7 - Árvore filogenética de consenso estrito do Clado “ Gomesa ” gerada a partir de dados macromoleculares	44
Fig. 8 - Árvore filogenética de consenso estrito do Clado “ Gomesa ” gerada a partir de dados morfo-anatômicos, químicos e macromoleculares	46
Fig. 9 - Táxons do Clado “ Gomesa ” onde as diferentes espécies de <i>Oncidium</i> aparecem com as respectivas seções segundo a classificação de Garay & Stacy (1974)	48
Fig. 10 - Espécies do Clado “ Rodrigueziella ”	55
Fig. 11 - Espécies do Clado “ Baptistonia ” I	57
Fig. 12 - Espécies do Clado “ Baptistonia ” II	59
Fig. 13 - Espécies do Clado “ Rhinocerotes ”	61
Fig. 14 - Espécies do Clado “ Barbata ”	63
Fig. 15 - Espécies do Clado “ Concoloria ”	65
Fig. 16 - Espécies do Clado “ Synsepala ”	67
Fig. 17 - Evolução de caracteres vegetativos no Clado “ Gomesa ”	73
Fig. 18 - Evolução de caracteres florais no Clado “ Gomesa ”	75/77
Fig. 19 - Evolução de caracteres químicos no Clado “ Gomesa ”	79

CAPÍTULO 2

Fig. 1 - Detalhes anatômicos do elaióforo epidermal de <i>Oncidium pubes</i>	102
Fig. 2 - Detalhes anatômicos do elaióforo tricomáceo de <i>Oncidium flexuosum</i>	104
Fig. 3 – Calos do labelo de espécies do Clado “ Gomesa ”	106
Fig. 4 - Árvore filogenética de consenso estrito do Clado “ Gomesa ”	109
Fig. 5 - Evolução dos caracteres “presença de elaióforo epidermal”, “presença de elaióforos tricomáceos”, “presença de tábula infraestigmática” e “ausência de tábula infraestigmática” em espécies do Clado “ Gomesa ”	111
Fig. 6 – Evolução de caracteres químicos nos óleos florais de espécies do Clado “ Gomesa ”	113

ÍNDICE DE ANEXOS E TABELA

CAPÍTULO 1

Anexo. 1 – Espécies examinadas	84
Anexo 2 – Lista de caracteres e seus estados	91
Anexo 3 – Matriz com dados morfo-anatômicos e químicos, polarizados	92
Anexo 4 – Comparação entre diferentes classificações dos táxons infragenéricos de <i>Oncidium</i> ...	93

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Táxons de Orchidaceae em que foram registradas a ocorrência de elaióforos	95
Anexo 1 – Espécimes do Clado “ Gomesa ” examinados para aquisição de dados químicos e anatômicos dos elaióforos	115

RESUMO

Um estudo filogenético da subtribo **Oncidiinae** (**Orchidaceae**), realizado com dados obtidos a partir da análise de fragmentos de restrição do DNA de cloroplastos, demonstrou que diversas espécies do gênero **Oncidium**, endêmicas do Brasil, são mais proximamente relacionadas a espécies de outros gêneros endêmicos da mesma região, do que a outras espécies incluídas no seu próprio gênero. Este grupo, denominado Clado “**Gomesa**”, é monofilético e compreende os gêneros **Baptistonia**, **Gomesa**, **Ornithophora**, **Rodrigueziella**, **Rodrigueziopsis** e **Oncidium pro parte** (seções: **Barbata**, **Concoloria**, **Crispa**, **Paucituberculata**, **Rhinocerotes**, **Synsepala** e **Waluewa**), todos tradicionalmente descritos com base, apenas, em caracteres morfológicos. O objetivo do presente trabalho foi estudar a filogenia desse grupo a partir de dados morfo-anatômicos, químicos e macromoleculares, obtidos de plantas herborizadas e frescas de 42 espécies e, de acordo com os resultados obtidos, reavaliar a delimitação de seus táxons. Baseando-se na topologia da árvore filogenética de consenso estrito obtida com dados combinados (moleculares+morfo-anatômicos+químicos), uma nova classificação dos diferentes táxons estudados é proposta e sugere-se que sua formalização seja efetuada somente após uma nova avaliação da estabilidade dos clados aqui obtidos com utilização de mais dados macromoleculares. Além do estudo filogenético, também foi realizado um amplo estudo das estruturas secretoras presentes nos calos dos labelos de espécies do Clado “**Gomesa**”. Foram analisados os caracteres morfológicos e anatômicos e a composição química da secreção dessas glândulas. Os dados obtidos foram utilizados na análise filogenética do grupo. Para identificação dos novos táxons foram elaboradas chaves de identificação, ilustrações e fotos.

ABSTRACT

A phylogenetic study of the subtribe **Oncidiinae** (**Orchidaceae**) using data from chloroplast DNA has shown that some species of the genus *Oncidium*, which are endemic to mainly southeastern Brazil, are more closely related to species of other genera, which are endemic in the same area, than to other species that are currently included in the genus *Oncidium*. This group called "*Gomesa clade*" is monophyletic and includes the following genera, all of them originally described based only on morphological characters: *Baptistonia*, *Gomesa*, *Ornithophora*, *Rodrigueziella*, *Rodrigueziopsis* and *Oncidium pro parte* (sections: *Barbata*, *Concoloria pro parte*, *Crispa*, *Paucituberculata pro parte*, *Rhinocerotes*, *Synsepala* and *Waluewa*). The goal of the present study was to make a phylogenetic analysis of the *Gomesa clade* using morpho-anatomical, chemical and DNA sequence data which were obtained from both herborized and fresh plants, as well as to reevaluate the delimitation of the táxons of this clade. Based on the topology of the phylogenetic tree obtained using the combined data set, a new classification of the different taxa under studies is proposed. However, a reevaluation of the support of the internal clades by using additional macromolecular data is necessary before proceeding to formal taxonomic changes. Morphological and anatomical characters of the secretory structures and the chemical composition of the oils of the species of the *Gomesa clade* were studied as well. Identification keys, illustrations and photos were prepared in order to permit the identification of the new taxa.

APRESENTAÇÃO

Orchidaceae é uma das maiores famílias de angiospermas, compreendendo cerca de 20.000 espécies distribuídas em aproximadamente 850 gêneros, 70 subtribos, 22 tribos e cinco subfamílias (Cameron et al. 1998). A família apresenta ampla distribuição, mas tem sua maior diversidade nos trópicos, especialmente, em regiões montanhosas.

A grande maioria das espécies de orquídeas é epífita, sendo que menos de 30% delas podem ser encontradas crescendo sobre outros substratos, como solos de matas ou campos, rochas e até mesmo brejos e pântanos (Dressler 1993). Suas flores apresentam, tipicamente, simetria bilateral e grande diversidade em tamanho e detalhes, mas são uniformes quanto ao número e arranjo de suas peças florais. A flor possui uma ou, mais raramente, duas ou três anteras que produzem grande quantidade de grãos de pólen, geralmente, aglomerados em massas mais ou menos compactas, chamadas polínias. O conjunto dessas polínias associado a um viscido, região adesiva responsável pela fixação do polinário ao polinizador, ou a um viscido e um estipe, haste de tecido estéril derivado do rostelo, tecido que separa a antera da região fértil do estigma, é chamado polinário (**Fig. 1**). O androceu e o gineceu estão fundidos em uma estrutura única, denominada coluna ou ginostêmio, e os lobos estigmáticos normalmente encontram-se

fundidos em amplas superfícies receptoras de formato variado (**Fig. 1**).

De acordo com Dressler (1993) **Orchidaceae** está dividida em cinco subfamílias: **Apostasioideae** e **Cypripedioideae**, com duas ou três anteras, divididas apenas em gêneros, e **Epidendroideae**, **Spiranθοideae** e **Orchidoideae**, com apenas uma antera, divididas em tribos, subtribos e gêneros. Cameron et al. (1998) realizaram uma análise filogenética de **Orchidaceae** com utilização de dados moleculares e obtiveram um cladograma com topologia quase idêntica à classificação de Dressler (1993) com algumas exceções: a remoção das orquídeas vanilóides da subfamília **Epidendroideae** e seu posicionamento como clado irmão das orquídeas monândricas e a união de **Spiranθοideae** com **Orchidoideae**.

Atualmente, com base nos recentes estudos filogenéticos realizados com utilização de dados moleculares, são aceitas as subfamílias **Apostasioideae**, **Cypripedioideae**, **Vanilloideae**, **Orchidoideae** e **Epidendroideae** (Pridgeon et al. 1999).

Epidendroideae é a maior subfamília de **Orchidaceae**, compreendendo mais gêneros

e espécies que todas as demais subfamílias juntas. Caracteriza-se, principalmente, por possuir uma antera incumbente ou secundariamente ereta, ao contrário das outras subfamílias que possuem, em geral, anteras eretas. Outra característica de grande importância taxonômica é a constituição do polinário que, nesse grupo, consta de um número variável de polínias de consistência cerosa ou cartilaginosa (Dressler 1993).

Cameron et al. (1998), por conveniência e devido ao grande número de táxons deste grupo, subdividiram **Epidendroideae** em “epidendróides basais” e “epidendróides superiores”. No entanto, de acordo com os autores, em nenhuma das árvores obtidas as epidendróides basais apresentaram-se como um grupo monofilético. Já de acordo com a classificação de Dressler (1993), **Epidendroideae** está dividida em três grandes grupos, sendo que dois desses, “**Cimbidioide**” e “**Epidendroide**”, são considerados monofiléticos e um terceiro, sem denominação, é formado por gêneros que possuem características mais primitivas e que, provavelmente, não constituem um grupo monofilético.

Segundo Dressler (1993), o grupo monofilético “**Cimbidioide**” é formado por quatro tribos: **Malaxideae**, **Calypsoeae**, **Cymbidieae** e **Maxillarieae**. A tribo **Maxillarieae** compreende a maioria das espécies de **Orchidaceae** cujo polinário apresenta viscidio e estipe, presentes nas regiões tropicais da América. Essas espécies foram

agrupadas nas subtribos **Cryptarrheninae**, **Zygopetalinae**, **Lycastinae**, **Maxillariinae**, **Stanhopeinae**, **Telipogoninae**, **Ornithocephalinae** e **Oncidiinae**. Com base em resultados de estudos filogenéticos realizados com utilização de dados moleculares, recentemente, foram sugeridas as fusões das subtribos **Lycastinae** com **Maxillariinae** (Whitten et al. 2000), de **Ornithocephalinae** e **Telipogoninae** com **Oncidiinae** e a de **Cryptarrheninae** com **Zygopetaliinae** (Williams et al. 2001).

De acordo com Cameron et al. (1998), as tribos **Vandae** e **Maxillarieae** são grupos monofiléticos e encontram-se bem sustentados, por um valor de *bootstrap*, como grupo irmão da tribo **Cymbidieae**. A tribo **Maxillarieae** apresenta como autapomorfia sementes do "tipo-*Maxillaria*", que apresentam entre 300 a 500 micrômetros de comprimento e 90 a 125 micrômetros de largura, são fusiformes e o poro da chalaza é, freqüentemente, reduzido em diâmetro. As células da testa são, geralmente, retangulares e alongadas ou ovais com paredes anticlinais espessas (Chase & Pippen 1988). Esse não é exatamente o mesmo tipo encontrado em *Maxillaria* Ruíz & Pavon, mas o termo é aceito para o grupo (Dressler 1993).

Oncidiinae é uma das maiores e floristicamente mais importantes subtribos de

Maxillarieae, compreendendo mais de 1.000 espécies distribuídas em ca. de 70 gêneros. Essa subtribo é comparável à subtribo **Vandaeae**, principalmente dos trópicos do Velho Mundo, em estrutura da semente e complexidade floral e apresenta grande diversidade em características vegetativas e número de cromossomos (Dressler 1993, Chase & Palmer 1988). As espécies da subtribo ocorrem na América, principalmente, nas regiões tropicais e são epífitas ou terrestres possuindo, geralmente, pseudobulbos com um único internó. As folhas são dísticas, conduplicadas e/ou equitantes, articuladas ou não, podendo ser cilíndricas ou lateralmente achatadas. A inflorescência é lateral, simples ou ramificada e com uma a muitas flores dispostas de maneira dística ou espiralada. As flores podem ser estreitas até muito largas, ressupinadas, ou seja, com o labelo voltado para baixo devido a uma torção do pedicelo, do ovário ou de ambos durante seu desenvolvimento, ou não ressupinadas. O labelo pode apresentar um esporão ou, freqüentemente, possuir uma grande protuberância endurecida, denominada calo (**Fig. 1A**). A coluna pode ou não apresentar apêndices laterais denominados asas (**Fig. 1B**). O estigma é côncavo, inteiro ou, raramente, bilobado (**Fig. 1B**). A antera é terminal e operculada, incumbente ou secundariamente ereta, como nas **Epidendroideae** em geral, e o polinário é constituído por duas polínias (quatro

nas antigas **Ornithocephalinae**), estipe e viscidio (**Fig. 1C**).

A identificação de uma orquídea como um membro de **Oncidiinae** é fácil, pois o grupo encontra-se bem delimitado por caracteres morfológicos, mas a filogenia da subtribo não está resolvida. Grupos genéricos da família foram, tipicamente, definidos por uma ou poucas características morfológicas, como o tamanho e a forma do labelo e o ângulo de adesão da coluna ao labelo, sem levar em consideração o relacionamento filogenético entre eles (Chase 1986). O próprio gênero **Oncidium**, um dos maiores da subtribo é, claramente, polifilético (Chase 1986, Williams et al. 2001) (**Fig. 2**), definido a partir de características florais que evoluíram independentemente em linhagens distintas, provavelmente em adaptação a um mesmo tipo de polinizador (Chase & Palmer 1988, Williams et al. 2001). Na **Figura 2**, pode ser observada a distribuição de espécies do gênero **Oncidium** em diferentes cladogramas da subtribo, na árvore filogenética de consenso de *bootstrap* obtida por Chase et al. (com. pess., 1998).

Além do problema causado pela utilização de poucas características para delimitar os gêneros, um outro problema sério em **Oncidiinae** tem sido a perda geral de consistência taxonômica entre as características florais, vegetativas e de número

de cromossomos. Isso significa que gêneros tradicionalmente reconhecidos, baseados em características florais, são polimórficos em relação a características vegetativas e ao número de cromossomos. Em alguns casos, espécies que diferem em relação ao número de cromossomos têm características florais que, tradicionalmente, as colocam no mesmo gênero, enquanto outras espécies com número de cromossomos similares possuem flores com caracteres morfológicos muito distintos, mas morfologia vegetativa semelhante. Inconsistências similares ocorrem com respeito a cada combinação de morfologia floral, vegetativa e de número de cromossomos (Chase 1986). Além disso, muitos pesquisadores têm reconhecido gêneros muito pequenos em **Oncidiinae**, baseados apenas na morfologia floral, como *Baptistonia*, *Ornithophora*, *Rodrigueziella* e *Rodrigueziopsis*. Esses gêneros podem até apresentar autapomorfias e serem monofiléticos, mas é preciso que os grupos dos quais esses gêneros foram segregados também apresentem sinapomorfias e sejam monofiléticos. Caso contrário, com a exclusão dos pequenos gêneros monofiléticos, esses grupos podem se tornar parafiléticos, ou seja, grupos “resto”. Só assim, através da análise da filogenia, será possível o delineamento de gêneros naturais e a inferência do relacionamento entre eles (Chase & Palmer 1988). Para isso, é necessária a utilização de um grande número de caracteres obtidos tanto de órgãos

vegetativos quanto reprodutivos e da maior fonte possível, de dados morfo-anatômicos, químicos e macromoleculares.

O DNA vem sendo bastante utilizado em estudos de filogenia, tanto de **Orchidaceae** quanto de outros grupos vegetais. Apesar do elevado custo para sua obtenção, caracteres moleculares podem ser de grande valor em estudos nessa área, sendo especialmente úteis em casos onde existem muitas homoplasias (paralelismos ou reversões) e quando os dados de análise de estruturas morfo-anatômicas são inadequados ou conflitantes. Segundo Dressler (1993), dados moleculares podem melhorar nossas hipóteses a respeito da filogenia ou podem ser úteis na tomada de decisão entre idéias conflitantes, podendo ser utilizados em conjunto com dados obtidos de outros caracteres. Além disso, a quantidade de caracteres que se pode obter de um fragmento de DNA é muito maior, e o processo de extração e análise pode ser mais rápido, quando se compara com a utilização de caracteres morfológicos.

Seqüências de DNA podem ser obtidas a partir do DNA presente no núcleo (nDNA), cloroplastos (cpDNA), ribossomos (rDNA) ou mitocôndrias (mDNA). As variações que ocorrem no DNA são os estados de caráter procurados, e esses incluem mutações pontuais e rearranjos, incluindo inversões,

deleções e inserções de material genético. As mutações podem ser comparadas entre diferentes táxons e são analisadas através de métodos cladísticos, geralmente, com utilização do princípio de parcimônia.

Todos os organismos possuem uma seqüência de DNA que codifica RNAs ribossômicos (rRNA), componentes essenciais para a síntese de proteína nas células (Hamby & Zimmer 1992). De acordo com esses autores, nas plantas, o rDNA é encontrado no genoma do núcleo, mitocôndrias e cloroplastos, apresentando a mesma seqüência nas diferentes organelas, devido à evolução combinada (*concerted evolution*). Essa seqüência é constituída de três *exons* (trechos de DNA que codificam o rDNA final) e dois *introns* (segmentos de DNA cujo RNA por eles codificado é recortado e não faz parte do rRNA final). A região codificadora é bastante conservada em todos os organismos, mas os *introns*, conhecidos como *Internal Transcribed Spacer* (ITS, 1 e 2), com ca. de 300 pares de base cada um, são diferencialmente conservados, proporcionando sinais filogenéticos para diferentes níveis hierárquicos. Essas regiões podem evoluir rapidamente, exibindo um grande polimorfismo (Baldwin et al. 1995). Acredita-se que esses espaçadores atuem, pelo menos em parte, na maturação dos rRNAs. As regiões ITS1 e 2 são recortadas no final do processo de transcrição e não são incorporadas ao RNA como as regiões 18S, 5.8S e 26S, entre as quais eles se encontram

(Baldwin et al. 1995), sendo eliminadas no final do processo de transcrição. Isso explica a alta taxa de mutações que ocorre nesses espaçadores. Os segmentos ITS1 e 2 são os marcadores moleculares mais explorados em sistemática de táxons de angiospermas em níveis inferiores ao de famílias. O uso desses marcadores vem possibilitando esclarecimentos tanto nos relacionamentos intergenéricos quanto interespecíficos. Além disso, essas regiões de DNA são altamente expressas, ocorrendo em grande quantidade de eucariotos (Baldwin et al. 1995). Esses fatos, associados à relativa facilidade com que essas seqüências podem ser amplificadas por PCR e, posteriormente, determinadas com utilização de iniciadores universais (Baldwin et al. 1995), explicam a popularidade de sua utilização nos últimos anos.

LITERATURA CITADA

- BALDWIN, B.G.; SANDERSON, M.J.; PORTER, J.M.; WOJCIECHOWSKI; CAMPBELL, C.S. & DONOGHUE, M.J. 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: A valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 82(2): 247-277.
- CAMERON, K.M.; CHASE, M.W.; WHITTEN, W.M.; KORES, J.K.;

- JARRELL, D.C.; ALBERT, V.A.; YUKAWA, T.; HILLS, H.G.; GOLDMAN, D.H. 1998. A phylogenetic analysis of the **Orchidaceae**: Evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *Amer. J. Bot.* 86(2): 208-224.
- CHASE, M.W. 1986. A reappraisal of the oncioid orchids. *Syst. Bot.* 11(3): 477-491.
- CHASE, M.W.; PALMER, J.D. 1988. Chloroplast DNA variation, geographical distribution, and morphological parallelism in subtribe **Oncidiinae** (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 75: 163-164.
- CHASE, M.W.; PIPPEN, J.S. 1988. Seed morphology in the **Oncidiinae** and related subtribes (**Orchidaceae**). *Syst. Bot.* 13(3): 313-323.
- CHASE, M.W.; PALMER, J.D. 1992. Floral morphology and chromosome number in subtribe **Oncidiinae** (**Orchidaceae**): Evolutionary insights from a phylogenetic analysis of chloroplast DNA restriction site variation. *In*: Soltis, P.S., Soltis, D.E. & Doyle, J.J. (eds.) *Molecular systematics of plants*. London; Chapman and Hall, pp. 324-339.
- DRESSLER, R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge, University Press.
- HAMBY, R.K. & ZIMMER, E.A. 1992. Ribosomal RNA as a phylogenetic tool in plant systematic. *In*: Soltis, P.S., Soltis, D.E. & Doyle, J.J. (eds.) *Molecular systematics of plants*. London; Chapman and Hall.
- PRIDGEON, A.M.; CRIBB, P.J.; CHASE, M.W.; RASMUNSEN, F.N. 1999. *Genera Orchidacearum*. V. 1. Oxford University Press: 197 p.
- WILLIAMS, N.H.; CHASE, M.W.; FULCHER, T.; WHITTEN, M. 2001. Molecular systematics of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtocbilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, and *Trichocentrum* and a new genus (Orchidaceae). *Lindleyana* 16(2): 113-139.
- WHITTEN, W.M.; WILLIAMS, N.H.; CHASE, M.W. 2000. Subtribal and generic relationships of Maxillarieae (Orchidaceae) with emphasis on Stanhopeinae: combined molecular evidence. *Am. J. Bot.* 87: 1842-1856.

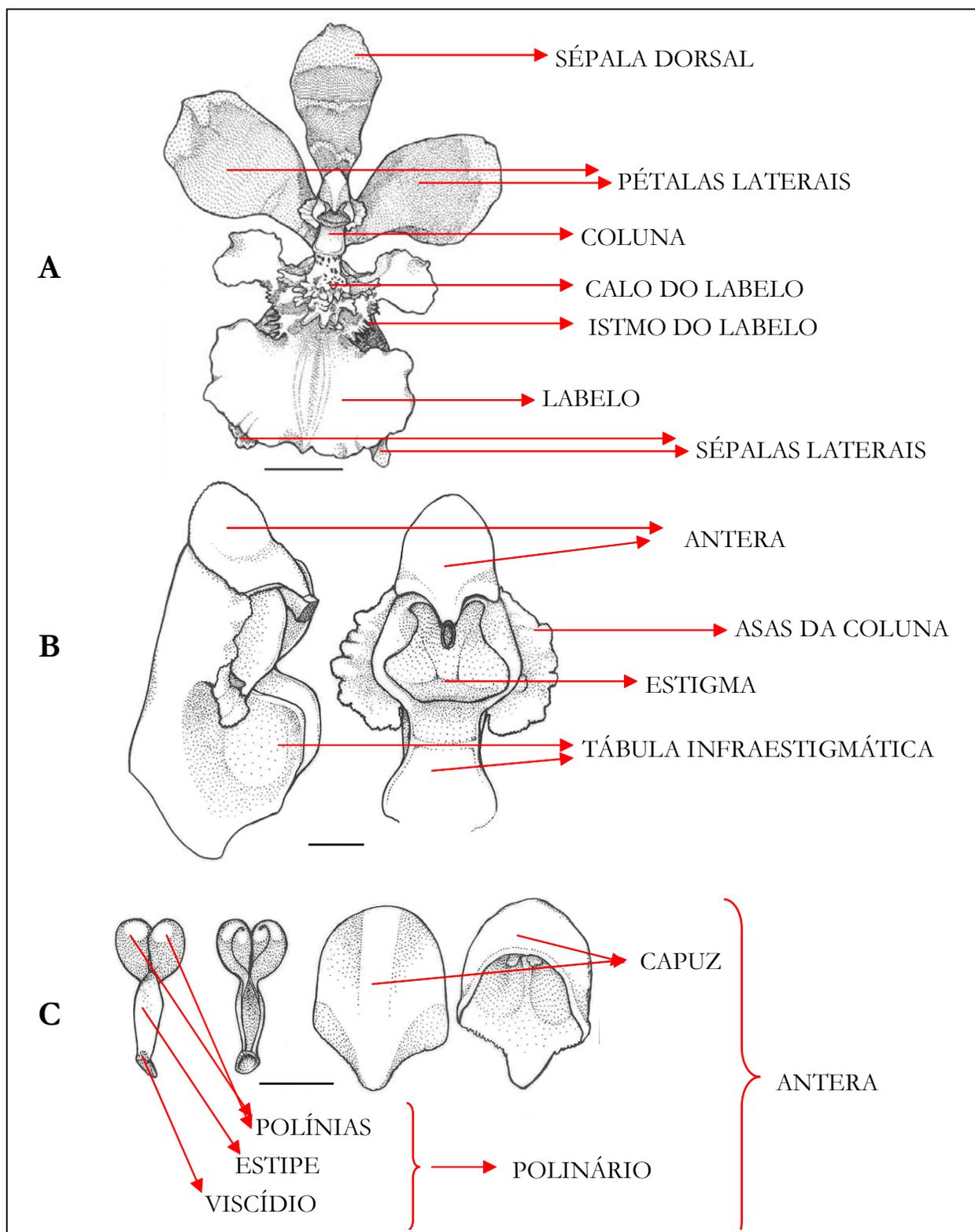


Fig. 1 – Detalhes da flor de *Oncidium longipes*. **A)** Flor inteira - escala = 5mm; **B)** Coluna – escala = 1mm; **C)** Antera - escala = 1mm.

1.

*Sistemática filogenética e delimitação dos gêneros da subtribo **Oncidiinae** (Orchidaceae) endêmicos do Brasil: **Baptistonia**, **Gomesa**, **Ornithophora**, **Rodrigueziella**, **Rodrigueziopsis** e **Oncidium** pro parte (seções: **Barbata**, **Concoloria**, **Crispa**, **Paucituberculata**, **Rhinocerotes**, **Synsepsala** e **Waluwewa**) baseados em caracteres morfo-anatômicos, químicos e em seqüências do espaçador interno transcrito (ITS) do rDNA nuclear.*

INTRODUÇÃO

Apesar da suposta adaptação das pequenas sementes das orquídeas para a dispersão à longa distância, Chase & Palmer (1992) verificaram que a evolução em áreas regionais mais restritas é um forte componente de um grupo de orquídeas neotropicais e tem produzido notável similaridade em relação à morfologia floral. Os resultados de uma análise de sítios de restrição (*restriction fragment length polymorphism* - RFLP) do DNA de cloroplastos (cpDNA) de espécies da subtribo **Oncidiinae** Benth. (Orchidaceae), realizada por esses pesquisadores, comprovaram que, segundo o conceito tradicional, tanto **Oncidium** como outros gêneros da subtribo, como **Miltonia** e **Odontoglossum**, são artificiais. Os autores reconheceram grupos monofiléticos distintos na subtribo, sendo um deles formado por táxons endêmicos do Brasil. Seus resultados mostraram que espécies representativas de sete seções de **Oncidium** são mais estreitamente relacionadas a outros gêneros endêmicos do Brasil, como **Gomesa**, do que com as demais seções de **Oncidium**.

Os resultados de uma análise filogenética, obtidos com utilização de seqüências do fragmento ITS do DNA nuclear de espécies representativas da mesma subtribo (Williams et al. 2001), comprovaram que os gêneros endêmicos do Brasil: **Baptistonia** Barb. Rodr., **Gomesa** R. Br., **Ornithophora** Barb. Rodr., **Rodrigueziella** O. Ktze. e **Rodrigueziopsis** Schltr., juntamente com as seções de **Oncidium** Sw., de acordo com Garay & Stacy (1974): **Barbata** Lindl. ex Pfitz., **Concoloria** Krzl. pro parte, **Crispa** Rchb.f. ex Pfitz., **Paucituberculata** Lindl. pro parte, **Rhinocerotes** Garay & Stacy, **Synsepsala** Pfitz. e **Waluwewa** (Regel) Schltr., formam um grupo monofilético e o denominaram de “Clado **Gomesa**”. Esses pesquisadores obtiveram árvores filogenéticas que mostram que o grupo formado pelas espécies endêmicas do Brasil apresenta alta sustentação (*bootstrap* de 100%) sugerindo tratar-se de um grupo monofilético (Fig. 2). As espécies do Clado “**Gomesa**” ocorrem, principalmente, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, em vegetações como cerrado e mata

atlântica dois ambientes de grande diversidade de espécies. Algumas delas, como por exemplo o *Oncidium flexuosum* Sims, ocorrem também na Região Nordeste e outras, como o *O. macropetalum* Lindl., ocorrem também no Centro-Oeste do Brasil. Para a Região Norte não foram registrados em herbário, até o presente, espécimes do Clado “Gomesa”.

O gênero *Oncidium* foi estabelecido em 1800 por Swartz. Atualmente, compreende ca. de 300 espécies, epífitas, em sua maioria, mas também algumas facultativa ou exclusivamente terrestres (Senghas 1998). As espécies do gênero apresentam pseudobulbos com uma, duas ou três folhas, com um único internó e, geralmente, envolvidos por bainhas foliares. As inflorescências são racemos ou panículas com uma a mais de 200 flores. Estas, em geral, apresentam três sépalas semelhantes em tamanho, forma e cor, mas podem variar. O labelo apresenta um calo e é preso à base da coluna através de sua região basal, estreitada e chamada de istmo (**Fig. 1A**). A coluna é muito curta e, em algumas espécies, apresenta projeções laterais denominadas “asas”, uma a cada lado do estigma. Abaixo do estigma encontra-se, em algumas espécies, a tábula infraestigmática (**Fig. 1B**), estrutura derivada da fusão de uma porção do labelo com uma porção da coluna

(Dressler 1981). Há um único par de polínias, amarelas, endurecidas, quase elípticas, unidas a um estipe e conectadas por um viscídio (**Fig. 1C**). A cor básica das flores de muitas espécies do gênero é a amarela, frequentemente com marcas castanho-olivas até castanho-avermelhadas. Entretanto, também ocorrem flores alvas, púrpuras, rosas e lilases.

Cogniaux (1904) cita para o Brasil 127 espécies do gênero *Oncidium* distribuídas em 15 seções. A classificação taxonômica utilizada por esse pesquisador para o tratamento das **Orchidaceae** na Flora Brasiliensis é o de Pfitzer (1889). Em sua classificação, Pfitzer (1889) propõe agrupamentos (**Apêndice 4**) definidos com base em caracteres altamente variáveis como, por exemplo, o grau de fusão das sépalas laterais e o número de protuberâncias encontradas nos calos do labelo das espécies. Isso tornou bastante difícil o processo de identificação das espécies e levou à formação de grupos muito heterogêneos.

Kräenzlin (1922) escreveu uma extensa monografia sobre *Oncidium*. Essa obra foi, posteriormente, muito criticada por diversos taxonomistas, como Garay (1970) e Chase (com. pess., 1998). De acordo com esses pesquisadores, entre os diversos problemas do trabalho de Kräenzlin, muitas de suas

ilustrações não concordam com suas descrições que são, em parte, “completamente fictícias”. Esses fatos vêm ocasionando erros em muitas identificações de espécies do gênero, desde a publicação do trabalho, em 1922. Apesar desses problemas, deve-se ressaltar que Kräenzlin foi o primeiro taxonomista que se dedicou ao estudo e organização do conjunto de espécies desse grande gênero e, portanto, sua obra tem se mantido como um trabalho clássico a ser consultado e utilizado como base para estudos com o grupo. Baseado no trabalho de Kräenzlin (1922), Garay & Stacy (1974) fizeram uma revisão sinóptica de *Oncidium* e propuseram uma nova classificação para o gênero. Nesse trabalho, os autores sugerem uma subdivisão de *Oncidium* em 26 seções delimitadas com base em caracteres florais. Dessas seções, sete estão incluídas no Clado “Gomesa”, duas delas, *Paucituberculata* e *Concoloria*, apenas parcialmente.

Senghas (1998) apresentou uma revisão da subtribo *Oncidiinae* onde concorda, quase totalmente, com a classificação subgenérica sugerida por Garay & Stacy (1974) para *Oncidium*. A maioria das divergências entre as duas propostas estão relacionadas ao número de espécies compreendidas por cada seção, em geral, devido a sinonimizações.

A seção *Barbata* compreende 11 espécies (Senghas 1998) com sépalas laterais variavelmente conatas, maiores que o labelo e esse apresenta um istmo, caracteristicamente, denticulado ou fimbriado (**Figs. 14A-H**).

A Seção *Concoloria* compreende ca. de dez espécies (Senghas 1998, Garay & Stacy 1974) que apresentam inflorescências pouco ou não ramificadas, paucifloras, e flores, em geral, amarelas sem manchas. No Brasil ocorrem apenas quatro espécies: *O. concolor* Hook. (**Figs. 15A-B**), *O. ottonis* Schltr., *O. gracile* Lindl. (**Figs. 15D-E**) e *O. dasytile* Reichb.f. (**Fig. 15C**), sendo essa a espécie mais facilmente identificável do grupo, devido ao calo escuro, quase negro que apresenta no labelo. De acordo com Senghas (1998), as outras espécies são andinas, mexicanas e costarriquenhas. Trata-se de grupo artificial e apenas as suas espécies brasileiras pertencem ao Clado “Gomesa” (Williams et al. 2001).

A Seção *Crispa* compreende 13 espécies (Senghas 1998; Garay & Stacy 1974) com flores grandes (ca. de 5-7cm de diâmetro) e, geralmente, de coloração castanha com manchas amareladas (**Figs. 15F-M**). Tratam-se das maiores flores do gênero, caracterizadas por apresentarem pétalas, freqüentemente, mais conspícuas que as sépalas e, estas variavelmente conatas, de mesmo comprimento ou menores que o labelo.

A Seção *Paucituberculata* é outro grupo artificial e compreende sete espécies de acordo com Senghas (1998) e oito, de acordo com Garay & Stacy (1974). Essas espécies apresentam sépalas e pétalas com comprimento inferior a 5mm e podem ser separadas em dois grupos: um que compreende as espécies *O. aberrans* Schltr., *O. edwallii* Cogn., *O. hians* Lindl. e *O. kraenzlinianum* Cogn., caracterizadas pela presença de pseudobulbos bastante achatados, folhas com lâminas verde-acinzentadas, carnosas e rijas e inflorescências paucifloras e não ramificadas, e outro que compreende as espécies *O. hookeri* (Figs. 13E-F), *O. loefgreni* (Fig. 13G), *O. paranaense* Kraenzl. e *O. raniferum* Lindl., que apresentam pseudobulbos cônicos com duas ou três folhas membranáceas de coloração verde-brilhante. Nesse grupo, as inflorescências são multifloras e bastante ramificadas. Segundo Chase (1998, com. pess.) apenas as espécies do grupo de *O. raniferum* pertencem ao Clado “Gomesa”.

A Seção *Rhinocerotes* compreende ca. de três espécies (Senghas 1998, Garay & Stacy 1974) que apresentam, caracteristicamente, um calo principal bem desenvolvido cuja forma lembra a de um chifre de rinoceronte (Figs. 13A-B). As plantas desta seção apresentam inflorescências ramificadas, multifloras,

compostas por flores bem pequenas com sépalas e pétalas laterais inconspícuas, amarelo-esverdeadas com traços marrons ou totalmente marrons; as sépalas laterais são soldadas na base, o labelo trilobado com os lobos laterais bem menores que o frontal, amarelos, às vezes, com manchas avermelhadas em seu disco. A coluna é glabra, arqueada e sem asas.

A Seção *Synsepala* inclui 25 espécies segundo Garay & Stacy (1974) e oito de acordo com Senghas (1998). De acordo com esses autores, a principal característica das espécies desse grupo é a presença de sépalas variavelmente conatas. As espécies apresentam inflorescência paniculada multiflora, ereta em espécies terrestres ou arqueada, nas epífitas. A coluna é glabra. (Figs. 16A-O).

A Seção *Waluwewa* inclui 13 espécies, a maioria delas ocorrendo no sudeste do Brasil (Senghas 1998) (Figs. 11D-I; L-P; 12A-O). Apresentam colunas mais ou menos pubescentes com asas arqueadas e projetadas para cima, tábula infraestigmática ausente e, caracteristicamente, pseudobulbos roliços comumente chamados de “charutininhos”, portando duas ou três folhas cartilaginosas.

As espécies dessas seções de *Oncidium* ocorrem em matas ou campos de altitude, geralmente, com muita umidade e,

preferencialmente, com temperaturas mais amenas (**Fig. 3D**).

O gênero *Baptistonia* compreende apenas uma espécie, *B. echinata* Barb. Rodr. (**Figs. 11A-C**). Inicialmente descrita por Cogniaux em 1877 como *Oncidium echinatum*, *Baptistonia echinata* foi separada do gênero *Oncidium* por Barbosa Rodrigues em 1882. Os que defendem esta separação, como Teuscher (1975), apontam determinadas características da única espécie, como a disposição das pétalas e sépalas voltadas para frente formando um tubo ao redor do labelo (**Fig. 11A**) e coluna curvada, que é reta em *Oncidium*, como as características que definem o gênero. As plantas formam touceiras de pseudobulbos alongados, em forma de charutinho. A inflorescência, que se desenvolve na base do pseudobulbo, é um racemo, pêndulo, com muitas flores, cada uma subentendida por uma pequena bráctea folhosa. As flores possuem coloração amarelo-limão com o labelo purpúreo e polinários com duas polínias, como em *Oncidium*. Ocorre como epífita em matas semidecíduas de altitude nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (**Fig. 3D**).

O gênero *Gomesa*, nome dado em homenagem ao médico Bernardinus Antonius Gomes, foi estabelecido em 1815 por Robert Brown. Compreende 33 espécies descritas,

mas, destas, cerca de 20 devem ser sinônimos. As espécies são muito similares na aparência geral das flores (**Figs. 10E-O**), embora ocorram diferenças bastante evidentes em estruturas vegetativas como no comprimento do rizoma entre os pseudobulbos, por exemplo. Os pseudobulbos são lateralmente compressos portando 1-2 folhas. As flores são creme-amareladas dispostas em racemos arqueados ou pendentes. As sépalas laterais podem ser livres ou conatas e seu comprimento é muito variável; o labelo pode ser oval ou elíptico, oblongo ou panduriforme e seu ápice agudo ou obtuso. O calo (**Fig. 10 I**) do labelo pode ser tão longo quanto a coluna ou distintamente menor, com bordas inteiras ou serradas. O centro de distribuição das espécies é a região sudeste do Brasil.

O gênero *Ornithophora* foi descrito por Barbosa Rodrigues em 1881 quando, no Brasil, ainda não era conhecido o gênero *Sigmatostalix* Rchb.f., descrito em 1852, e incluindo espécies bastante parecidas com *O. radicans* (**Figs. 13C-D**), a única espécie de *Ornithophora*. Após serem descritas espécies brasileiras de *Sigmatostalix*, vários pesquisadores passaram a considerar *Ornithophora* como um sinônimo desse gênero, sem que a sinonimização tenha sido formalizada. Mas devido à forma de

crescimento diferenciada, à distribuição geográfica distinta e à presença de pseudobulbos bifoliados em *Ornithophora* e unifoliados em *Sigmatostalix*, os dois gêneros têm sido considerados distintos (Garay & Pabst 1951, Senghas 1998).

Rodrigueziella compreende sete espécies de pequenas epífitas muito parecidas com as espécies de *Gomesa* no hábito e na morfologia floral (Figs. 10P). As espécies possuem pseudobulbos pequenos, delgados e lisos, envolvidos por brácteas e portando um par de folhas membranáceas. As inflorescências são racemosas, recurvadas até ereto-patentes, mais curtas ou de mesmo comprimento que as folhas e possuem até dez flores de coloração amarelo-esverdeadas sem manchas, pintadas de vermelho ou ainda, totalmente vermelhas, muito atrativas e perfumadas. As flores apresentam sépalas e pétalas muito similares em tamanho, forma e cor, com a sépala dorsal aparentemente mais larga e as sépalas laterais livres ou conatas na base, ou até o ápice e, nesse caso, acanoadas sob o labelo. Os segmentos florais são, geralmente, voltados para frente. O labelo é inteiro e possui quilhas cobertas com tricomas. A coluna é carnosa, longa e estreita, com espessura mais ou menos uniforme ou levemente atenuada em direção à base. O ovário é levemente sulcado ou anguloso. O

gênero foi inicialmente proposto em 1877 por Barbosa Rodrigues sob o nome de *Theodorea*. Ele descreveu a espécie *T. gomezoides* em homenagem a seu amigo Theodoro Machado Freire Pereira da Silva. O epíteto específico foi devido à semelhança da espécie com plantas do gênero *Gomesa*. Cogniaux (1904), na Flora Brasiliensis de Martius, transferiu a espécie para *Gomesa*, sem ao menos dedicar a ela uma seção distinta. Entretanto, Hoehne (1942), reestabeleu o gênero criado por Barbosa Rodrigues, levando em consideração algumas características das flores de *Theodorea*, como a presença de tricomas na região basal do labelo e o comprimento do estipe, maior em *Theodorea* do que em *Gomesa*. Porém, quase 50 anos depois de descrito o gênero *Theodorea*, Kuntze notou que esse nome havia sido anteriormente empregado para um gênero de *Asteraceae*, assim, renomeou o gênero de *Orchidaceae* como *Rodrigueziella* em homenagem a Barbosa Rodrigues.

As espécies de *Rodrigueziella* ocorrem em matas de altitude de regiões onde a temperatura é mais amena.

Rodrigueziopsis é um gênero formado por duas espécies epífitas, restritas às matas de altitude da região leste do Brasil: *R. eleutherosepala* (Figs. 10A-B) e *R.*

microphyta (Figs. 10C-D). O gênero caracteriza-se pela presença de estolões arredondados e rígidos e de pseudobulbos espaçados e achatados com duas folhas apicais e três brácteas, basais, que secam após o segundo ano, permanecendo apenas a bainha que envolve o pseudobulbo. As flores são amarelo-pálidas medindo ca. de 1,5cm de comprimento. O labelo possui um calo coberto com tricomas de coloração purpurácea. (Fig. 10D). Além das duas espécies citadas, existe uma terceira, *R. antillensis* encontrada uma única vez no Caribe. Essa espécie apresenta flor idêntica à das outras espécies do gênero, mas hábito equitante, completamente diferente.

Todos esses táxons foram, tradicionalmente, estabelecidos com base em caracteres morfológicos, principalmente, de estruturas florais. Entretanto, a morfologia floral de diversas espécies de **Orchidaceae**, deve-se, possivelmente, à evolução convergente proporcionada pela pressão de seleção exercida pelos polinizadores, o que leva a formação de grupos altamente artificiais como o próprio gênero *Oncidium*, por exemplo. Testar a possível ocorrência desse fato nos táxons do Clado “**Gomesa**”, a partir de uma análise filogenética com utilização de dados morfo-anatômicos, químicos e moleculares e, dependendo dos resultados

obtidos, reorganizá-los taxonomicamente, foi o principal objetivo do presente trabalho.

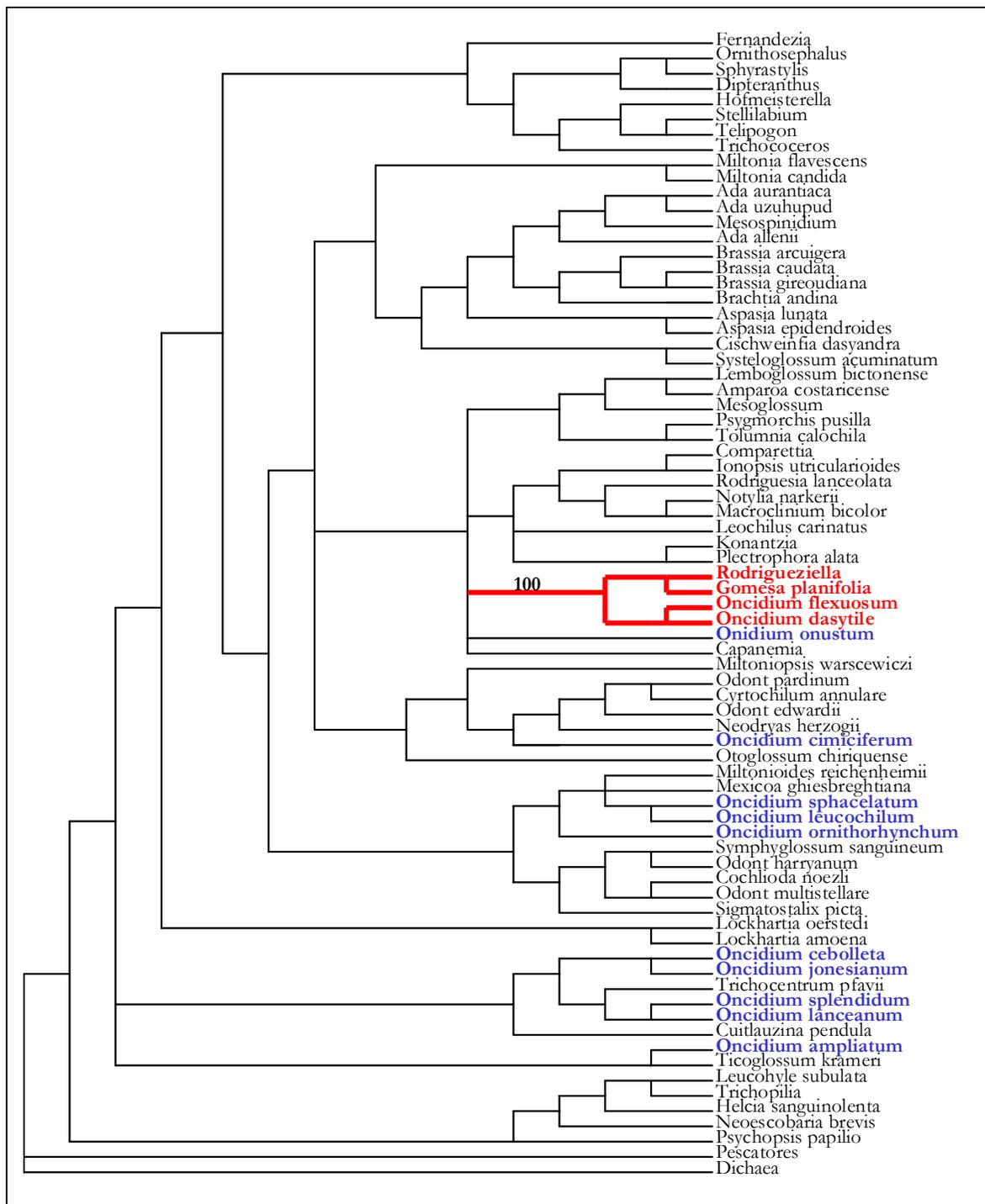


Fig. 2. Árvore filogenética de *bootstrap* obtida a partir de dados do fragmento ITS de espécies da subtribo **Oncidiinae**. O Clado “**Gomesa**” está evidenciado na cor vermelha e as outras espécies do gênero **Oncidium**, em azul. O valor indicado no Clado “**Gomesa**” é o do *bootstrap* do ramo. Os valores de *bootstrap* dos outros ramos foram omitidos. Fonte: Chase, com. Pers. (1998), Williams et al. (2001).

MATERIAL E MÉTODOS

Para observação, registro fotográfico e obtenção de espécimes do Clado “**Gomesa**” foram realizadas excursões para cerrados, campos rupestres, florestas de mata atlântica e matas de altitude. Os espécimes coletados (**Apêndice 1**) foram mantidos em cultivo na casa de vegetação do Depto. de Botânica da UNICAMP.

Foram investigadas 38 espécies para representar a variabilidade morfológica existente no Clado “**Gomesa**” e quatro foram incluídas como grupos externos. Foram selecionadas espécies com diferentes hábitos, e provenientes de diferentes regiões e habitats. Foram também selecionadas espécies que apresentam estruturas, vegetativas ou reprodutivas, semelhantes ou muito diferenciadas das outras proximamente classificadas pela taxonomia tradicional. As espécies do grupo externo foram escolhidas com base nos resultados de Williams et al. (2001).

Para a identificação das espécies, foram utilizadas as obras de Cogniaux (1904), Pabst & Dungs (1977) e Sprunger et al. (1996).

Para levantamento dos caracteres morfológicos a serem incluídos nas análises cladísticas, foram considerados, inicialmente, todos os caracteres morfológicos das estruturas vegetativas, florais e de frutos.

Posteriormente, foram desconsiderados todos aqueles que apresentaram sobreposição de estados, não se mostraram informativos ou deixaram dúvidas quanto a seus estados. O mesmo procedimento foi realizado com os dados anatômicos das lâminas foliares e frutos.

Foram selecionados 41 caracteres não macromoleculares para a matriz de dados. Destes, dois são dados ecológicos, 25 são relativos à morfologia de estruturas vegetativas ou reprodutivas, seis, da estrutura anatômica da lâmina foliar e, oito, relacionados à composição química das substâncias secretadas pelas glândulas presentes nos labelos (**Apêndice 2**).

Oncidium onustum, grupo irmão do Clado “**Gomesa**” (Williams et al. 2001), foi utilizado para a polarização dos caracteres (**Apêndice 3**), efetuada de acordo com o método de comparação com o grupo externo (Nixon & Carpenter 1993). Para testar o monofiletismo do Clado “**Gomesa**” foram ainda incluídas as espécies *Oncidium altissimum*, espécie tipo do gênero (Williams & Dressler 1973), *O. baueri* Lindl. e *O. orthostates* Ridl.

Dados Morfológicos

Além dos espécimes em cultivo, também foram analisadas exsiccatas, recebidas para

estudo de herbários brasileiros (**Apêndice 1**). Este material foi, inicialmente, analisado para identificação sendo, posteriormente, verificados os estados dos caracteres de cada espécime para as diferentes espécies disponíveis.

Dados Anatômicos

Foi estudada a anatomia da lâmina foliar de espécies representativas do Clado “**Gomesa**” (**Apêndice 1**), em corte transversal e paradérmico.

Para análise dos caracteres, evidenciados através do corte transversal, foram utilizadas amostras da região da nervura central e da margem da porção mediana de folhas maduras e em bom estado, previamente, fixadas em FAA 50%. A metodologia utilizada foi a de inclusão em parafina (Johansen 1940). Os cortes foram realizados em micrótomo rotativo. Para os cortes paradérmicos também foram utilizadas porções da região mediana das lâminas foliares previamente fixadas em FAA. Os cortes foram feitos à mão livre com lâminas de aço e reidratados através de série alcoólica até chegar a H₂O destilada. Foram então corados com safranina aquosa 1% e, em seguida, montados em lâminas com glicerina 60%, analisados e desenhados com um aumento de 40x. Os desenhos foram reduzidos e digitalizados. Foram realizadas

repetições de, no mínimo duas e, no máximo, quatro vezes, sempre que possível, com espécimes provenientes de localidades distintas, para avaliar a plasticidade dos caracteres investigados.

Dados Químicos

Foram analisadas as substâncias secretadas pelas glândulas do labelo de espécies representativas do Clado “**Gomesa**” (**Apêndice 1**). Essas análises foram realizadas pela doutoranda Marisa Gomes dos Reis, sob orientação da Profa. Dra. Anita J. Marsaioli, do Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da UNICAMP.

A coleta das secreções foi realizada com utilização de pequenos tubos capilares introduzidos no calo dos labelos, região de ocorrência das glândulas, com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Em alguns casos, também foram utilizadas tiras de papel de filtro, previamente tratadas, para a coleta das secreções. O método utilizado para a identificação dos constituintes foi a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas e experimentos de RMN de ¹H e de ¹³C.

Dados Moleculares

Foram obtidas seqüências do fragmento "espaçador interno transcrito" (ITS 1 e 2) do

DNA ribossômico nuclear de 42 espécies do Clado “**Gomesa**”. Extração, amplificação e seqüenciamento de 19 espécies foram realizadas por Williams e Whitten, do Florida Museum of Natural History, na University of Florida (Williams et al. 2000, com. pess.). A extração e amplificação de outras 21 espécies (**Apêndice 1**) foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

O DNA dessas espécies foi extraído de material fresco com utilização do Kit Nucleon PhytoPure (RPN 8511, Amersham Life Science). A região ITS do rDNA nuclear foi amplificada em termociclador, de acordo com o seguinte programa: temperatura inicial de desnaturação de 94°C por dois minutos, seguida de 34 ciclos com desnaturação a 94°C durante 1 minuto e anelamento a 49°C por dois minutos. Após esses 34 ciclos, foi feita a extensão final à 72°C por mais dois minutos e incubação a 15°C ao término do programa. O volume final das reações foi de 20µl, contendo MgCl₂, tampão Promega (Promega Corporation) e *Taq* polimerase. O resultado das reações de amplificação foi avaliado em gel de agarose. Como marcador de peso molecular, foi utilizado o DNA do fago φx 174, digerido com *Hae* III, misturado ao DNA do fago λ digerido com o marcador *Hind* III, empregado para quantificar fragmentos de

DNA com peso molecular entre 0,118 a 23,130 kb. Os produtos das amplificações foram purificados com utilização de colunas para purificação de DNA “QIAquick PCR cleaning column and filtration Kit” (Qiagen Ltda, Dorking, Surrey, UK). O PCR para seqüenciamento foi realizado com utilização do Kit de reagentes para seqüenciamento “ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Reaction Kit” (Perkin-Elmer Applied Biosystems, Foster, California, USA). Os produtos do PCR purificados foram analisados em seqüenciador automático ABI 377, da Applied Biosystems, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, em Campinas, SP. Seqüências de duas espécies, *Oncidium altissimum* e *O. baueri*, utilizadas como grupo externo, foram obtidas do *GenBank* (**Apêndice 1**). As reações para seqüenciamento foram efetuadas conforme protocolo do fabricante. A edição das seqüências foi realizada com os programas “Sequence Navigator™” e “Autoassembler™”. O alinhamento das seqüências foi feito manualmente. “Gaps” foram codificados como valores ausentes.

Todas as análises filogenéticas foram realizadas com o programa PAUP versão 4.0 β10 (Swofford 2002), com utilização do critério de parcimônia de Fitch (todos os caracteres com mesmo peso e não ordenados,

Fitch 1971) e otimização ACCTRAN, com ramos de comprimento igual a zero, colapsados. A estratégia de busca utilizada para as análises cladísticas foi de 1000 replicações para cada inclusão aleatória de cada táxon, opção MULTREES (salvando múltiplas árvores), e algoritmo TREE-BISSECTION-RECOGNITION (TBR), com obtenção de dez árvores por replicação e salvamento de todas as mais curtas.

Para verificação da sustentação dos ramos obtidos nas árvores, foi realizada uma análise de *Bootstrap* com 1000 replicações, com dez replicações para adição aleatória de cada táxon, com obtenção de uma árvore para cada replicação.

A evolução dos caracteres foi investigada com o auxílio do programa MacClade versão 4.0 (Maddison & Maddison 2000).

Foram considerados bem sustentados os cladogramas que apresentaram valores de *bootstrap* acima de 80%, moderadamente sustentados os cladogramas que apresentaram entre 70 e 80% e, com baixa sustentação, os que apresentaram valores inferiores a 70% de *bootstrap*.

Para a análise filogenética realizada com dados não moleculares, foram realizadas buscas heurísticas em 41 caracteres de 42 táxons; para a análise com dados moleculares, em 1.356 caracteres do fragmento ITS 1 e 2 de 42 táxons e, para a análise com utilização de

dados combinados (morfo-anatômicos, químicos e moleculares), em 1.397 caracteres de 42 táxons.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CARACTERES UTILIZADOS NA ANÁLISE FILOGENÉTICA

CARACTERES ANATÔMICOS

A estrutura anatômica das lâminas foliares das diferentes espécies do Clado “**Gomesa**” mostrou-se bem conservativa, apresentando pouca variação. Do corte paradérmico foi possível obter alguns caracteres, a maioria deles relacionada aos estômatos. Caracteres como a presença de estômatos em apenas uma, ou em ambas as faces da lâmina, e a forma das células-guardas dos estômatos mostraram-se filogeneticamente informativos. Os outros caracteres foram obtidos das células epidérmicas e estão relacionados à presença ou ausência de papilas em sua superfície.

Williams (1974) estudou a morfologia e a anatomia de folhas de 80 espécies de 22 gêneros de **Oncidiinae**, quatro delas pertencentes ao Clado “**Gomesa**”. Segundo este autor, em geral, as folhas das espécies de **Oncidiinae** oferecem poucos caracteres macromorfológicos: são abertas, planas ou conduplicadas, e algumas espécies podem apresentar folhas cilíndricas ou semicilíndricas.

Na anatomia, porém, pode ser obtida uma maior diversidade de caracteres. O autor afirma que esses caracteres são úteis na delimitação de gêneros e subgrupos de gêneros e que, em **Orchidaceae**, é necessário utilizar e considerar os caracteres vegetativos, por serem mais conservativos, para definição de relacionamento intergenérico, principalmente, em grupos onde a morfologia floral pode estar bastante reduzida ou então, adaptada ao processo de polinização.

Localização dos estômatos

De acordo com Withner *et al.* (1974), em **Orchidaceae**, estômatos estão, geralmente, restritos à face abaxial da lâmina foliar. Segundo Williams (1974), apenas 16, dentre 80 espécies de **Oncidiinae** examinadas por ele, apresentaram estômatos em ambas as faces. Estas espécies pertencem ao gênero ***Trichocentrum*** e ao grupo de oncidiuns popularmente conhecido como “oncidiuns orelhas de burro”, espécies com folhas suculentas, rígidas e grandes, cujo formato lembra o das orelhas desses animais. Pertencem a esse grupo espécies como ***Oncidium pulvinatum*** da **Seção Pulvinata**, *sensu* Garay & Stacy (1974). Estômatos em ambas as faces também ocorrem nas espécies com folhas cilíndricas e nas espécies do

complexo ***Oncidium variegatum*** (*Oncidiuns eqüitantes*).

Em todas as espécies examinadas do Clado “**Gomesa**” foi observada a presença de estômatos apenas na face abaxial. Foi verificada a presença de estômatos em ambas as faces das lâminas foliares de ***O. onustum***, táxon irmão do Clado “**Gomesa**”.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: presença de estômatos em ambas as faces ou apenas na face abaxial.

Comprimento das células epidérmicas das lâminas foliares

O táxon irmão, ***O. onustum*** apresenta células epidérmicas com mais de 0,8µm de comprimento. Todas as espécies do Clado “**Gomesa**” apresentaram estas células com comprimento das paredes periclinais externas com até 0,5µm.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: parede periclinal externa das células epidérmicas da lâmina foliar com comprimento maior que 0,8µm ou até 0,5µm.

Forma das células-guardas dos estômatos da epiderme das lâminas foliares

Em **Oncidiinae**, o complexo estomatal típico é formado por duas células-guardas, cada uma com uma célula subsidiária (Williams 1979). Este foi o padrão encontrado em todas as espécies examinadas do Clado “**Gomesa**”. A forma das células-guarda dos estômatos das lâminas foliares, entretanto, apresentou variações: em algumas espécies elas são circulares e, em outras, elípticas. No presente trabalho estes foram os estados utilizados para este caráter. ***Oncidium onustum*** apresenta células-guarda em forma circular, estado que também foi observado nas espécies da Seção ***Waluewa sensu*** Garay & Stacy (1974) (**Fig. 4A**) e em ***Baptistonia echinata***. Já espécies como ***O. longipes***, ***O. warmingii*** e ***O. macropetalum*** e ***Gomesa recurva***, entre outras, apresentam estômatos claramente elípticos (**Fig. 4B**).

Papilas nas células epidérmicas das lâminas foliares.

Estas estruturas ocorrem em diversas espécies de **Oncidiinae**, onde podem ocorrer em quantidades variadas, como verificado por Williams (1979). Em ***O. onustum*** foi verificada uma papila em cada célula epidérmica da lâmina foliar (**Figs 4C-D**). Em

nenhuma das espécies analisadas do Clado “**Gomesa**” elas foram observadas.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: presença ou ausência..

Presença de células alongadas entre os estômatos da lâmina foliar.

A maioria das espécies do Clado “**Gomesa**” não apresenta células alongadas entre os estômatos da epiderme da lâmina foliar. Elas foram observadas apenas em ***Ornithophora radicans***.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os estados presença ou ausência.

Estrutura do mesofilo da lâmina foliar

O mesofilo das **Orchidaceae** apresenta muitas variações estruturais (Solereder & Meyer 1930) mas, de acordo com Williams (1974), em **Oncidiinae** não foi verificado nenhuma espécie que apresentasse mesofilo com diferenciação entre células paliçádicas e esponjosas. Entretanto, foi observado no presente trabalho que algumas espécies do Clado “**Gomesa**” apresentam o mesofilo diferenciado em tecido esponjoso e tecido paliçádico e, outras, um mesofilo homogêneo.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: homogêneo ou heterogêneo.

Tipos de elaióforos

Glândulas florais, estruturas relacionadas à polinização, são especialmente interessantes porque, tanto sua caracterização anatômica quanto a avaliação da composição química de sua secreção, contribuem com dados que podem ser utilizados em estudos de taxonomia e filogenia.

Nas espécies do Clado “**Gomesa**”, ocorrem glândulas produtoras de óleos chamadas elaióforos, um caráter raro, mas presente em algumas outras famílias de angiospermas como **Malpighiaceae** e **Scrophulariaceae**, por exemplo (Endress 1994; Dressler 1993). Estas glândulas produzem óleo como recompensa aos polinizadores (Vogel 1969, 1974; Singer & Cocucci 1999) e, em orquídeas da subtribo **Oncidiinae**, estão localizadas na região do calo do labelo. São classificadas como estruturas secretoras externas e encontradas sob duas formas definidas: epidermais (**Fig. 4E**) e tricomáceos (**Fig. 4F**), de acordo com a definição de Vogel (1969, 1974). Nos elaióforos epidermais, células epidérmicas em paliçada são secretoras. O tipo tricomáceo consiste de áreas com inúmeros tricomas

glandulares podendo ser unicelulares e multicelulares (Buchmann 1987; Endress 1994).

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes caracteres: presença de elaióforo epidermal ou presença de elaióforo tricomáceo.

Permeabilidade da cutícula que reveste o elaióforo

Os óleos produzidos nos elaióforos presentes nas flores das espécies do Clado “**Gomesa**” podem permanecer estocados, ou no interior das próprias células onde são produzidos, ou sob a camada de cutícula que reveste a glândula. Em algumas espécies, esse óleo é liberado para o exterior, como ocorre na maioria das espécies da Seção **Waluwewa**, *sensu* Garay & Stacy (1974) permanecendo sobre a glândula à disposição dos insetos polinizadores que visitam a flor para coletá-los.

Foi verificado no presente trabalho que a maioria das espécies que possuem elaióforo epidermal apresentam a cutícula permeável aos óleos florais. Porém, essa relação nem sempre acontece. Singer & Cocucci (1999) observaram que em ***O. paranaense*** Krzl. o elaióforo epidermal apresenta cutícula não permeável e que o inseto polinizador deve raspar a

superfície da glândula para conseguir coletar o óleo.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: cutícula permeável ao óleo ou cutícula impermeável ao óleo.

CARACTERES MORFOLÓGICOS

Caracteres morfológicos de órgãos vegetativos e reprodutivos de espécies de **Oncidiinae** encontram-se, relativamente, bem detalhados em Wirth (1964). Já os caracteres florais encontram-se discutidos em Chase (1986).

Chase (1986) afirma que caracteres como ângulo de adesão do labelo à coluna, fusão de sépalas laterais, forma geral de sépalas e pétalas e do labelo, tamanho das flores e proporção entre o tamanho de uma estrutura em relação a outra, presença e posição de asas na coluna e características específicas do calo do labelo, como o número e a localização de projeções, apresentam certo grau de paralelismo e não devem ser utilizados em estudos de filogenia. Ele afirma que esses caracteres são ótimos para identificação das espécies em que ocorrem mas, se utilizados acima deste nível, produzem táxons polifiléticos. Ainda de acordo com Chase (1986), para estudos de filogenia é melhor que sejam utilizados caracteres como presença e

ausência de tábula infraestigmática; presença de determinados tipos de glândulas florais e forma geral de partes do polinário. O autor afirma que nenhum destes caracteres devem ser utilizados sozinhos para definir um táxon e que, mesmo dentre eles encontrou evidências de paralelismo.

Os resultados obtidos no presente trabalho, entretanto, discordam, parcialmente, dessas observações. Alguns dos caracteres apontados por Chase (1986) como inadequados para estudos de filogenia de táxons acima do nível de espécie, como o comprimento do labelo e presença de asas na coluna, foram bastante informativos para a delimitação de grupos do Clado “**Gomesa**”.

Tipo de hábito

De acordo com Chase (1986), em **Oncidiinae**, o hábito epifítico é um caráter primitivo. Segundo este autor, algumas espécies tornam-se secundariamente terrestres mas continuam a exibir características típicas das epífitas, como a presença de pseudobulbos e de velame nas raízes.

A maioria das espécies do Clado “**Gomesa**” apresenta hábito epifítico (**Figs. 3A-C, E-F, K-L**). Poucas espécies são rupícolas (**Fig. 3H**) ou terrícolas (**Figs. 3G, J**) e essas ocorrem em campos de altitude ou campos rupestres. As espécies de campo de

altitude encontram-se enraizadas no solo e as de campo rupestre, nas frestas de rochas ou nos sedimentos que são encontrados nestes locais. Alguns espécimes, como os do gênero *Gomesa*, ao cair das árvores, continuam a se desenvolver enraizados na serrapilheira ou em pedaços de cascas de árvores dispostos no chão. Essas plantas, no entanto, não podem ser consideradas verdadeiramente terrestres, pois continuam a utilizar fragmentos de outras plantas como suporte para viver.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: hábito epifítico/rupícola ou hábito terrícola.

Brácteas articuladas envolvendo os pseudobulbos

Estrutura presente em diferentes táxons em *Orchidaceae*, no Clado “*Gomesa*” pode ser encontrada em algumas espécies sendo ausentes em outras. Trata-se de uma bráctea foliar com uma articulação presente entre a lâmina e a parte que envolve o pseudobulbo (**Fig. 3K**). Em geral, ocorre apenas uma bráctea envolvendo um pseudobulbo mas, em algumas espécies, esse número pode dobrar, como nas espécies de *Gomesa*, ou triplicar, como em algumas espécies terrestres da Seção *Synsepala sensu* Garay & Stacy (1974).

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: presença

de brácteas articuladas envolvendo o pseudobulbo ou ausência de brácteas articuladas envolvendo o pseudobulbo.

Formato dos pseudobulbos

Em *Orchidaceae*, quando presentes, os pseudobulbos podem apresentar grande diversidade. Em *Oncidiinae*, porém, todo pseudobulbo apresenta um único internó e a variação ocorre, principalmente, em relação ao seu tamanho que pode ser muito reduzido ou muito proeminente (Wirth 1964).

Os pseudobulbos das espécies do Clado “*Gomesa*” variam de muito pequenos, como os de *Rodrigueziopsis* com ca. de 1cm de comprimento, até relativamente grandes, como os de algumas espécies terrestres de *Oncidium* que alcançam ca. de 10cm de comprimento. Podem apresentar diferentes formas que variam de oval a elíptico (**Fig. 3K**), passando por algumas angulosas, como as presentes em algumas espécies da Seção *Barbata*. De todos os tipos apresentados pelas espécies do Clado “*Gomesa*”, entretanto, um destaca-se pelo formato: trata-se de pseudobulbos finos e compridos (**Fig. 3L**), cuja forma lembra a de um charuto, o que levou a denominação do grupo em que ocorrem de “grupo dos charutinhos”. Pseudobulbos com essa forma estão presentes

em todas as espécies da Seção *Waleuwa*, em *O. sarcodes* e em *Baptistonia echinata*.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: pseudobulbos fusiformes ou pseudobulbos não fusiformes.

Disposição dos pseudobulbos

Os pseudobulbos podem apresentar-se bem afastados uns dos outros, como em *Oncidium warmingii* e *O. flexuosum* (Fig. 3K), ou serem agregados, como ocorre na maioria das espécies do grupo (Fig. 3C).

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: pseudobulbos agregados ou pseudobulbos espaçados.

Consistência das lâminas foliares

As lâminas foliares das espécies do Clado “Gomesa” não apresentaram variação na forma. Foi observada, entretanto, uma distinção entre a consistência das lâminas das espécies do grupo. Algumas são mais rígidas, porém flexíveis e outras muito mais macias e bastante flácidas.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: lâminas coriáceas/cartilaginosas/flexíveis ou macias/flácidas.

Forma do istmo do labelo

A região basal do labelo apresenta um estreitamento e esse pode ser completamente liso (Fig. 5C) ou fimbriado (Figs. 5A-B). A presença destas fímbrias é um caráter, relativamente, fácil de ser observado e que, no Clado “Gomesa”, tem ocorrência restrita às espécies da Seção *Barbata*.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: presença de fímbrias no istmo do labelo ou ausência de fímbrias no istmo do labelo.

Estrutura do labelo

A maioria das espécies do Clado “Gomesa” apresenta labelo reto (Figs. 5A-C, F) mas, nas espécies de *Rodrigueziella*, *Gomesa* e *Rodrigueziopsis*, essa estrutura é dobrada e voltada para baixo (Figs. 5D-E).

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: labelo plano/reto ou labelo dobrado para baixo.

Forma do labelo

A maioria das espécies do Clado “Gomesa” apresenta labelo lobado (Figs. 16G, H). Diferentemente destas, espécies dos gêneros *Gomesa* e *Rodrigueziella* apresentam os labelos inteiros (Fig. 10 I).

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: labelo inteiro ou labelo lobado.

Articulação entre labelo e coluna

A presença de articulação entre o labelo e a coluna permite flexibilidade ao labelo. No Clado “**Gomesa**”, a presença de articulação nessa região está restrita às espécies de ***Gomesa*** e de ***Rodrigueziella***.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: labelo articulado ou labelo não articulado.

Comprimento do labelo

O comprimento de seus labelos varia entre ca. de 5mm, como em ***O. hookeri*** e espécies estreitamente relacionadas, até ca. de 5cm, como em ***O. crispum*** e as outras espécies do mesmo grupo.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: labelo com mais que 10mm de comprimento ou labelo com até 8mm de comprimento.

Comprimento do calo do labelo em relação ao comprimento do labelo

O comprimento do calo do labelo varia em relação ao comprimento do próprio labelo. A maioria das espécies da Seção **Waluewa** e

Baptistonia echinata apresentam o calo do labelo com comprimento superior à metade do comprimento do labelo. As espécies dos outros táxons do Clado “**Gomesa**” apresentam comprimentos que variam de menos que a metade até a metade do comprimento do labelo.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: calo menor que a metade do comprimento do labelo, calo com ca. da metade do comprimento do labelo ou calo maior que a metade do comprimento do labelo.

Relação comprimento/largura da coluna

As colunas das flores das espécies do Clado “**Gomesa**” podem apresentar comprimento ca. de duas vezes maior que sua largura, três a quatro vezes maior que sua largura (**Fig. 5G, H, I, J**), ou mais que cinco vezes maior que sua largura (**Fig. 5K**).

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: coluna com comprimento aproximadamente duas vezes maior que a largura, coluna com comprimento 3-4 vezes maior que a largura, ou coluna delgada, com comprimento mais que cinco vezes maior que a largura.

Forma do estigma

O estigma das espécies do Clado “**Gomesa**” pode apresentar um formato onde a largura é maior que o comprimento (**Fig. 5G**), como ocorre nas espécies das seções *Synsepala* e *Barbata*, apresentar formato isodiamétrico como ocorre em *Rodrigueziella*, ou comprimento maior que a largura (**Fig. 5H, I**), como ocorre nas demais espécies do Clado “**Gomesa**”.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: estigma com comprimento maior que a largura, estigma isodiamétrico ou estigma com largura maior que o comprimento.

Tricomas nas margens do estigma

Em poucos táxons de **Oncidiinae**, pode ser verificada a presença de tricomas nas margens do estigma (Wirth 1964). Trata-se de um caráter típico para as espécies da Seção *Waluewa sensu* Garay & Stacy (1974), sendo verificada também sua ocorrência em *Baptistonia echinata* e em *Oncidium sarcodes*.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: presença ou ausência.

Tábula infraestigmática

A maioria das espécies de *Oncidium* apresenta uma tábula infraestigmática. Trata-se de uma estrutura presente na junção entre a base do labelo e a base da coluna e que pode ter origem em quaisquer desses dois órgãos (Wirth 1964) (**Figs. 1B, 5G-H, J**). Nas espécies do Clado “**Gomesa**”, esta estrutura pode estar ausente (**Fig. 5K**) o que ocorre nas espécies de *Rodrigueziella*, *Baptistonia* e nas espécies das seções *Rhinocerotes* e *Concoloria sensu* Garay & Stacy (1974), ou presente como pode ser observado nas espécies das seções *Synsepala* e *Crispa sensu* Garay & Stacy (1974).

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: presença ou ausência.

Borda do clinândrio

Clinândrio é a cavidade que contém as anteras e encontra-se localizado na parte superior da coluna das orquídeas. Suas margens podem ser planas (**Fig. 5J**), como ocorre na maioria das espécies do Clado “**Gomesa**”, ou elevadas, formando uma capa (**Fig. 5I**), como ocorre em *Baptistonia*, *Gomesa* e *Rodrigueziella*.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: plana ou elevada.

Asas da coluna

Asas da coluna são estruturas que se originam na região lateral desta estrutura, na altura do estigma. Essas estruturas podem apresentar-se extremamente reduzidas (**Fig. 5E, K**), como ocorre com as espécies de *Gomesa* e *Rodrigueziella*, ausentes como ocorre nas espécies das seções *Rhinocerotes* e *Paucituberculata* ou serem muito proeminentes, como nas demais espécies do Clado “*Gomesa*” (**Figs. 5A, 5G-J**). Além disso as asas apresentam-se em posições distintas nas diferentes espécies. Elas podem estar voltadas para cima, para os lados ou para frente.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: asas proeminentes, pequenas/rudimentares ou ausentes. Também foram utilizados os estados: asas voltadas para frente, pra os lados ou para cima.

Forma do ápice da antera

O ápice da antera pode apresentar-se inteiro (**Fig. 5L**), bipartido (**5M**) e ainda reto (**5L**), recurvo ou incurvo (**Fig. 5M**). Ápice bipartido ocorre apenas em espécies da Seção

Waluewa sensu Garay & Stacy (1974) e em *Baptistonia echinata*.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: agudo/subagudo, truncado, arredondado ou emarginado. Além destes caracteres também foram utilizados os estados: ápice inteiro ou bifido e ápice involuto, revoluto ou reto.

Comprimento do polinário

O comprimento dos polinários apresentados pelas espécies do Clado “*Gomesa*” varia entre menos que 2,5mm e mais que 3mm. Este comprimento nem sempre está diretamente relacionado com o tamanho da flor, já que uma espécie com flores de tamanho reduzido, como *Rodrigueziopsis elethereusepala*, apresenta polinários com comprimento superior a 3mm. No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: polinário com comprimento superior a 3mm ou com comprimento de até 2,5mm.

Forma do estipe

O estipe é uma haste de tecido estéril derivada do rostelo, tecido que separa a antera da região fértil do estigma. Nas espécies do Clado “*Gomesa*” o estipe pode apresentar-se estreitamente oblongo, lanceolado ou oboval.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: estipe estreitamente obongo, lanceolado ou oboval.

Forma do ápice do estipe

O ápice do estipe pode apresentar-se agudo a subagudo, emarginado até truncado ou arredondado nas diferentes espécies do Clado “**Gomesa**”.

No presente trabalho este caráter foi utilizado com os seguintes estados: ápice do estipe agudo a subagudo ou ápice arredondado/truncado/emarginado.

CARACTERES QUÍMICOS

Caracteres provenientes de alguns compostos químicos produzidos por plantas também podem fornecer evidências a respeito de seu relacionamento mas, em **Orchidaceae**, as diferentes classes destes compostos não têm sido bem amostradas. A maioria dos compostos conhecidos na família é proveniente de estruturas vegetativas. De acordo com Dressler (1993), os alcalóides são, provavelmente, os compostos mais conhecidos em orquídeas, devendo ser utilizados como caracteres úteis para estudo do relacionamento dentro de tribos e subtribos, mas não entre grupos maiores.

Outras classes de compostos químicos incluem os constituintes aromáticos e terpenóides de fragrâncias de flores das orquídeas, especialmente aquelas que são polinizadas por machos de abelhas *Euglossini*.

Nos óleos florais das espécies do Clado “**Gomesa**” foram identificados alguns constituintes que puderam ser utilizados na análise filogenética. Alguns deles são apresentados abaixo:

Os ésteres de glicerila, presentes nos óleos florais, principalmente, como diacilgliceróis assimetricamente substituídos, são mensageiros secundários que ativam a proteína quinase C (PKC) e, com isso, regulam o crescimento e diferenciação celular e desregulam a atividade mitogênica.

Os esteróides identificados nos óleos florais pertencem a uma classe amplamente distribuída entre as plantas e vitais para o organismo dos insetos. Os fitoesteróides são adquiridos pelos insetos através da alimentação. Da mesma forma, também os tocoferóis são essenciais para a alimentação de insetos, que precisam obtê-los das plantas (Downer 1978).

Além destes compostos, também foram utilizadas como caracteres a presença de monoterpenos, compostos derivados do ácido mevalônico e constituídos de duas unidades de isopreno, e dos sesquiterpenos que contém

uma unidade a mais de isopreno que os monoterpênóides e apresentam-se sob aproximadamente 200 tipos diferentes de esqueletos.

A presença de um composto com fragmentos de m/z 126 (10%), 111 (18%), 82 (100%) e 54 (20%), cuja a estrutura ainda não foi determinada, também foi utilizada como caráter para a análise filogenética, tendo sido encontrados nas espécies examinadas da Seção *Barbata* *sensu* Garay & Stacy (1974). No presente trabalho este composto será tratado como "Composto X". A presença de Compostos nitrogenados indólicos também foi utilizada tendo sido observada apenas em *O. onustum*, grupo irmão do Clado "Gomesa".

No presente trabalho foram utilizados como estados para os caracteres químicos: a presença ou ausência de acilgliceróis, presença ou ausência de sesquiterpenos, presença ou ausência de esteróides, presença ou ausência de tocoferóis, presença ou ausência de "compostos X", presença ou ausência de monoterpénos, presença ou ausência de compostos nitrogenados indólicos e presença ou ausência de ésteres derivados de ácidos graxos.

Foram excluídos do presente estudo: a morfologia e anatomia dos frutos, os

caracteres morfológicos das folhas e alguns caracteres das estruturas florais como a forma e disposição de pétalas e sépalas e a forma externa dos calos dos labelos. Após análises destas estruturas em espécies representativas do Clado "Gomesa", foi verificado que seus estados ou são uniformes para o grupo ou apresentam grande variabilidade intraespecífica.



Fig. 3 – Hábito e Hábitat de espécies do Clado “Gomesa”: A-F e K-L) Epífitas; G-J) terrícolas ou rupícolas – A. *Oncidium praetextum*, Macaé de Cima, RJ; B. *O. forbesii*, Macaé de Cima; C. *Gomesa crispa*, Macaé de Cima; D. Serra da Mantiqueira, Alagoa, MG.; E. *Rodrigueziella gomesoides*, Macaé de Cima; F. *G. glaziovii*, Macaé de Cima; G. *Oncidium* sp., Macaé de Cima; H-I *O. spilopterum*, Serra do Cipó, MG.; J. *O. montanum*, Serra do Cipó; K. seta 1 = pseudobulbo elíptico, seta 2 = brácteas articuladas - *O. flexuosum*, Registro, SP; L. seta = pseudobulbos fusiformes - *O. pubes*, Atibaia, SP.

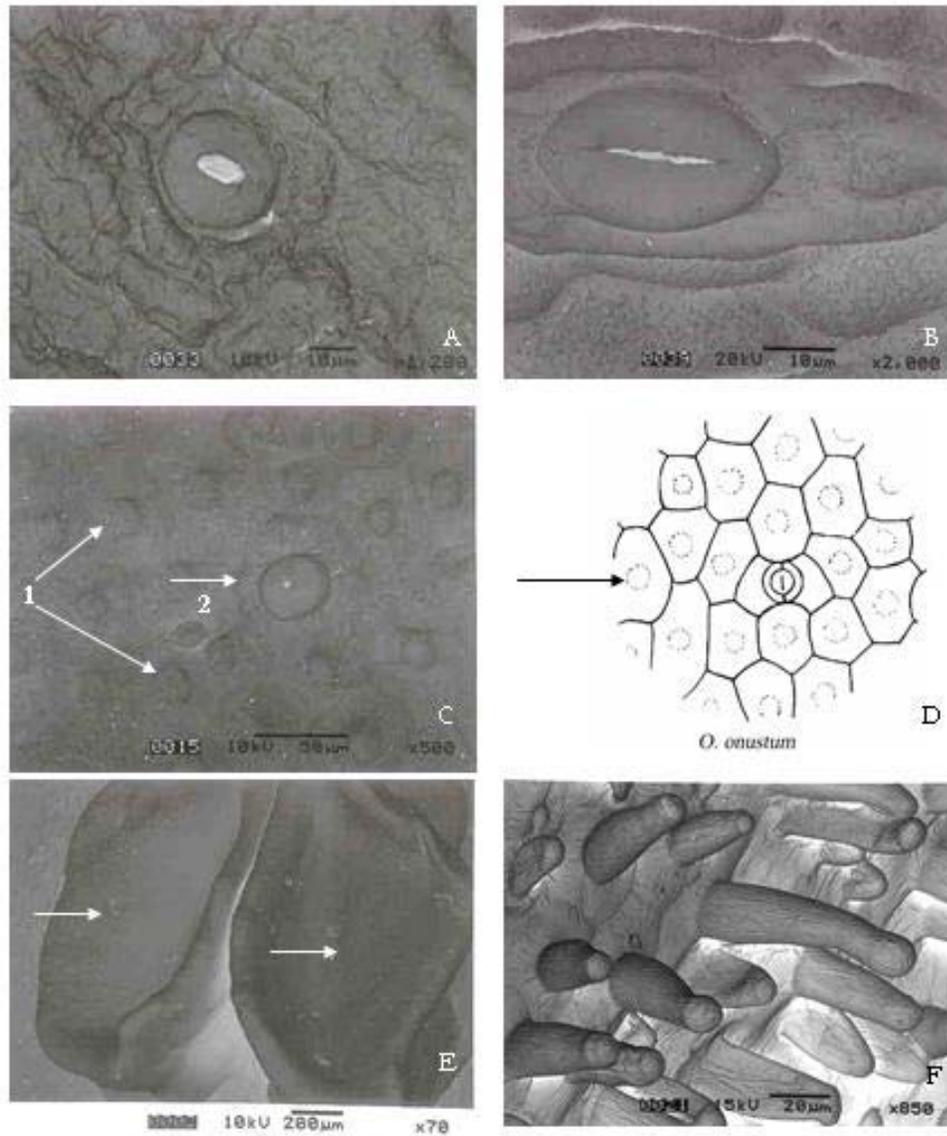


Fig. 4 - Diferentes estados de caracteres anatômicos apresentados pelas espécies do Clado “Gomesa”. **A)** células-guardas dos estômatos em formato circular - *Oncidium widgrenii*; **B)** células-guardas dos estômatos em formato elíptico - *Gomesa recurva*; **C-D)** papilas presentes na epiderme das lâminas foliares - *O. onustum*, **C.** seta 1 = papilas, seta 2 = estômatos, **D.** desenho esquemático da epiderme - seta = papilas; **E)** região do calo do labelo onde está inserido o elaióforo epidermal - *O. pubes*; **F)** região do calo do labelo onde está inserido o elaióforo tricomáceo - *O. sarcodes*. **Obs.:** **Figs. A, B e C** = Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície da lâmina foliar; **E-F** = MEV do calo do labelo.

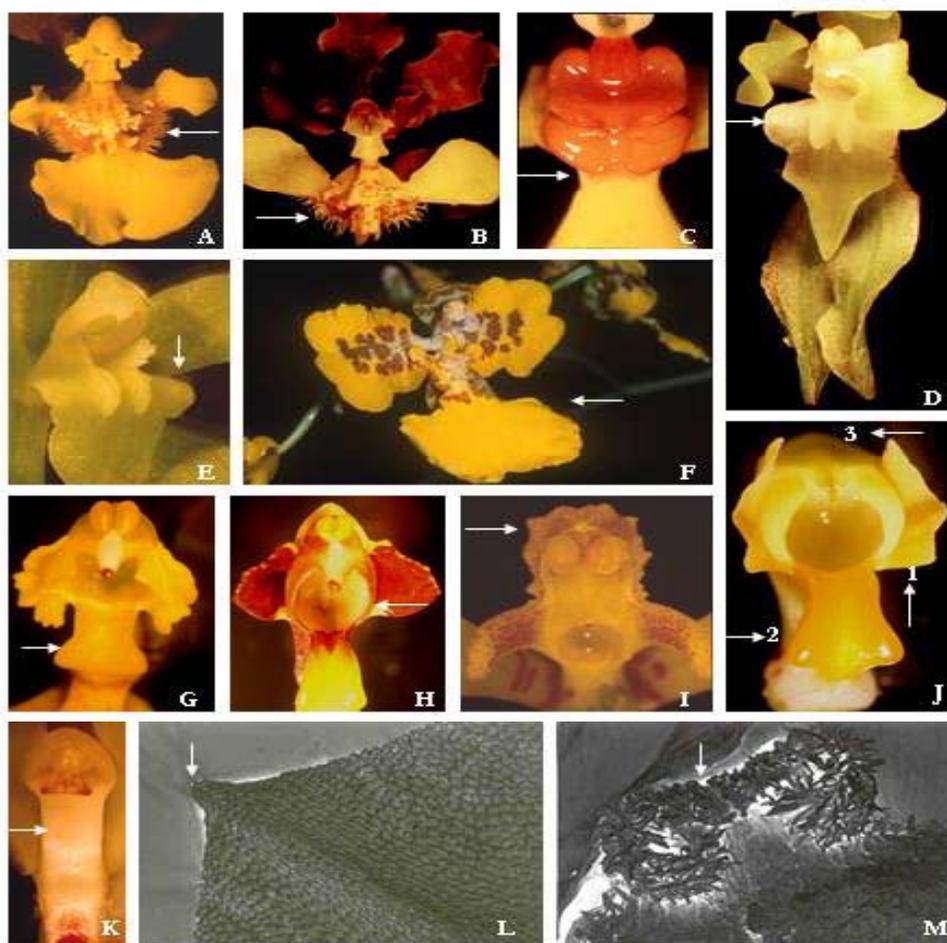


Fig. 5 – Diferentes estados de caracteres morfológicos florais apresentados pelas espécies do Clado “Gomesa”: **A)** seta = istmo fimbriado - *Oncidium longipes*; **B)** seta = istmo fimbriado - *O. suscepalum*; **C)** seta = istmo liso - *O. hookeri*; **D)** seta = labelo dobrado - *Gomesa sessilis*; **E)** seta = labelo dobrado - *G. recurva*; **F)** seta = labelo reto - *O. marshallianum*; **G)** seta = coluna - *O. longipes*; **H)** seta = estigma - *O. praetextum*; **I)** seta = clinândrio - *O. pubes*; **J)** seta 1, asas da coluna, seta 2 = tábula infraestigmática, seta 3 = clinândrio liso - *O. varicosum*; **K)** seta = coluna - *O. walteri*; **L)** seta = ápice da antera - microscopia eletrônica de varredura da antera (MEV) *O. forbesii*; **M)** seta = ápice da antera - MEV da antera - *O. cruciatum*. Obs.: Nas figuras G até K parte das peças florais foram retiradas para melhor visualização do caráter.

ANÁLISE FILOGENÉTICA

A análise filogenética realizada com dados morfológicos, anatômicos e químicos gerou 2.680 árvores com 104 passos, Índice de Consistência (IC) = 0,48 e Índice de Retenção (IR) = 0,77. A árvore de consenso estrito não mostra qualquer indício de relacionamento entre as espécies (**Fig. 6**). Dos 41 caracteres utilizados, seis são variáveis mas não informativos e 35 são filogeneticamente informativos.

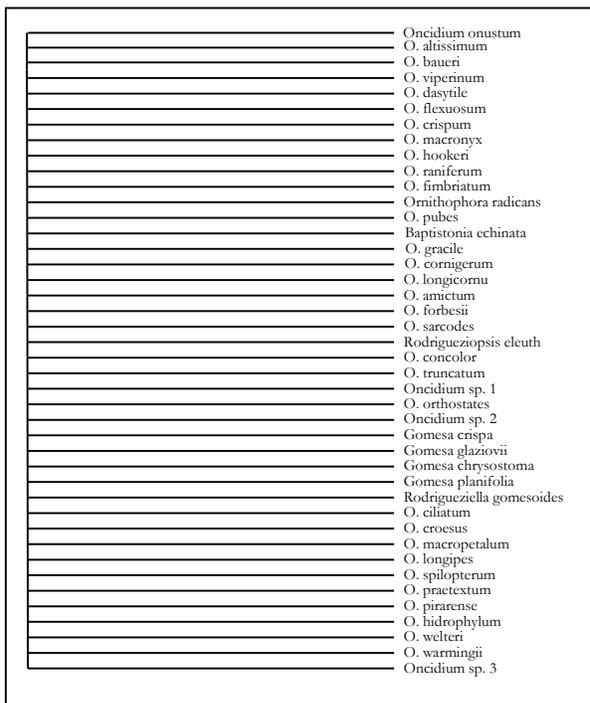


Fig. 6 - Árvore filogenética de consenso estrito gerada a partir de dados morfo-anatômicos e químicos.

Dos 1.356 caracteres moleculares utilizados na análise molecular, 842 apresentaram-se constantes, 313 variáveis mas não informativos

e 201 filogeneticamente informativos. Foram geradas 4.285 árvores com 1.356 passos, IC= 0,681 e IR= 0,635.

A árvore filogenética de consenso estrito mostra que o Clado “**Gomesa**” é monofilético e apresenta 91% de *bootstrap* sustentando este grupo o que corrobora os dados anteriormente obtidos por Chase & Palmer (1988) e Williams et al. (2001). Apresenta também alguns ramos terminais moderadamente ou bem sustentados, mas as relações entre os ramos mais basais permanecem não resolvidas (**Fig. 7**). Os resultados indicam ainda que existe uma relação fortemente sustentada (95% de *bootstrap* só com dados moleculares, clado **A**), entre as espécies da Seção **Crispa** (*O. crispum*, *O. forbesii* e *O. praetextum*) e as espécies brasileiras da Seção **Concoloria** (*O. concolor* e *O. dasyle*). A relação de *O. gracile*, também da Seção **Concoloria**, com as demais espécies desse clado não é fortemente sustentada pelo valor de *bootstrap*.

As espécies de **Gomesa**, **Rodrigueziella**, **Rodrigueziopsis** e **Ornithophora** também se encontram em posição incerta nessa árvore. *Oncidium altissimum*, a espécie tipo do gênero, e *O. baueri* encontram-se num ramo com *bootstrap* de 100%. Consideradas por Garay & Stacy (1974) como pertencentes às seções **Plurituberculata** e **Planifolia**, respectivamente, são tratadas por

Senghas (1998) como sinônimos.

Dos 1.397 caracteres combinados utilizados para a análise filogenética, 842 mostraram-se constantes, 319 variáveis não informativos e 236 filogeneticamente informativos. Foram geradas nove árvores igualmente mais parcimoniosas com 958 passos, IC= 0,69 e IR= 0,65.

Ao contrário da árvore de consenso estrito, gerada com utilização apenas de caracteres macromoleculares, a árvore de consenso estrito gerada com dados combinados (**Fig. 8**) mostra uma hipótese de relação filogenética entre os ramos mais basais, apesar de que dois deles (**B** e **C**) encontram-se fracamente sustentados por um valor de *bootstrap* inferior a 70%. Três grandes clados (**A**, **B** e **C**) podem ser observados. Um dos clados basais (**A**) é formado pelos gêneros *Rodrigueziella*, *Gomesa* e *Rodrigueziopsis*. Em outra linhagem evolutiva, podem ser observados outros dois clados (**B** e **C**). O clado **B** é formado pelas espécies da Seção *Walueva* + *Baptistonia* (**G**), fortemente sustentado por um valor de *bootstrap* de 94%, e as espécies das Seções *Paucituberculata* + *Rhynocerotes* + *Ornithophora* (**F**) com 75% de *bootstrap*. O terceiro clado (**C**) é formado pelas espécies das Seções *Synsepala* (**H**) + *Barbata* (**K**) + *Concoloria* + *Crispa* (**E**) que apresentam *bootstrap* inferior a 70%.

Enquanto que, na árvore gerada com caracteres moleculares, diversos táxons ficaram com localização incerta, a árvore baseada em dados combinados encontra-se muito melhor resolvida. *Rodrigueziopsis* encontra-se como táxon irmão do clado formado pelas espécies de *Gomesa* e *Rodrigueziella* (**A**); *Ornithophora* aparece como grupo irmão do clado formado pelas espécies das seções *Paucituberculata* e *Rhynocerotes* (**F**) e o clado formado pelas espécies epífitas, *O. viperinum* e *O. flexuosum* (**I**) aparece como irmão do clado formado pelas espécies terrestres da mesma seção, *Synsepala*. *Oncidium welteri*, tradicionalmente, classificado como pertencente à Seção *Synsepala*, aparece na árvore de consenso estrito como um dos táxons do Clado *Rhynocerotes*, tanto na árvore com dados apenas moleculares (98% de *bootstrap*) quanto na árvore combinada (98% de *bootstrap*). Como as outras espécies desse clado, *O. welteri* apresenta elaióforo epidermal, cutícula permeável ao óleo que fica exposto sobre o labelo, presença de acilgliceróis entre os componentes do óleo floral e ausência de tábula infraestigmática, caracteres que não ocorrem nas outras espécies analisadas do Clado *Synsepala* (**H**).

Na **Fig. 9** pode ser observada a distribuição dos táxons do Clado “*Gomesa*”

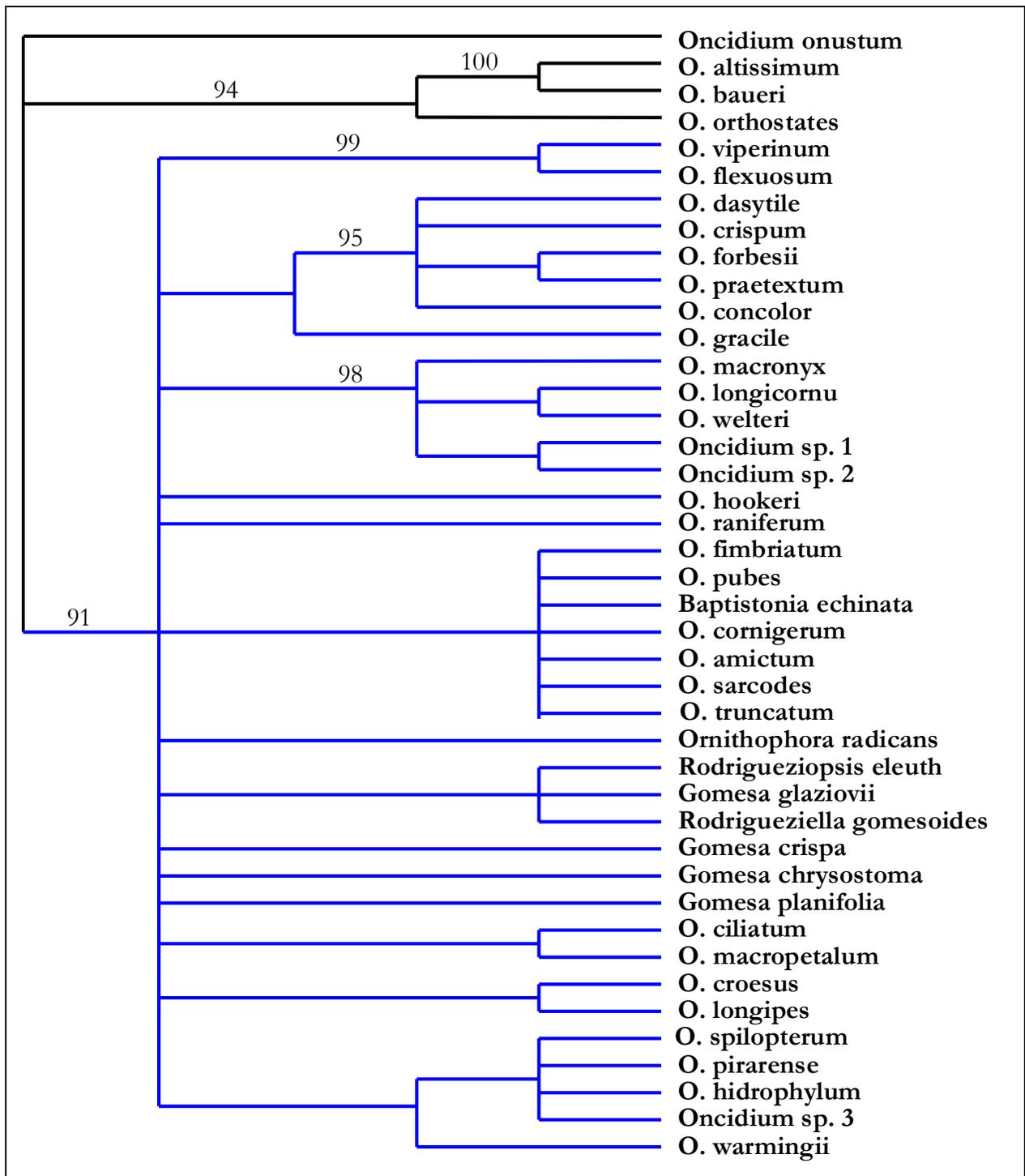
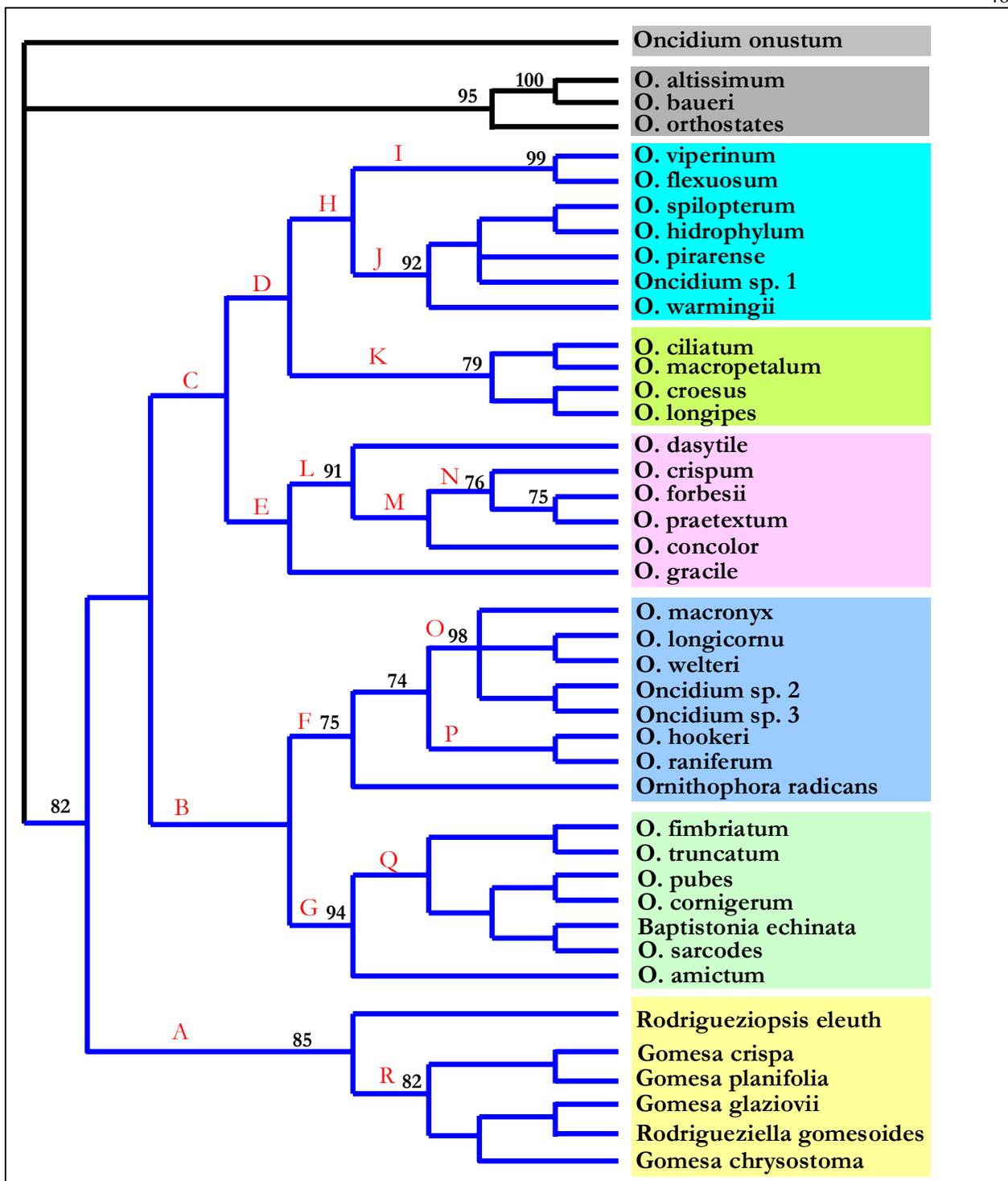


Fig. 7 – Árvore filogenética de consenso estrito gerada a partir de dados macromoleculares. Os números indicam o valor do *bootstrap*. Valores abaixo de 70% foram excluídos da árvore. Em azul, o Clado “**Gomesa**”.



ig. 8 - Árvore filogenética de consenso estrito gerada a partir de dados morfo-anatômicos, químicos e macromoleculares. Os números indicam a porcentagem do *bootstrap* e, as diferentes caixas de cores, os novos grupos propostos. Valores abaixo de 70% foram excluídos da árvore. Ramos azuis indicam o Clado "Gomesa".

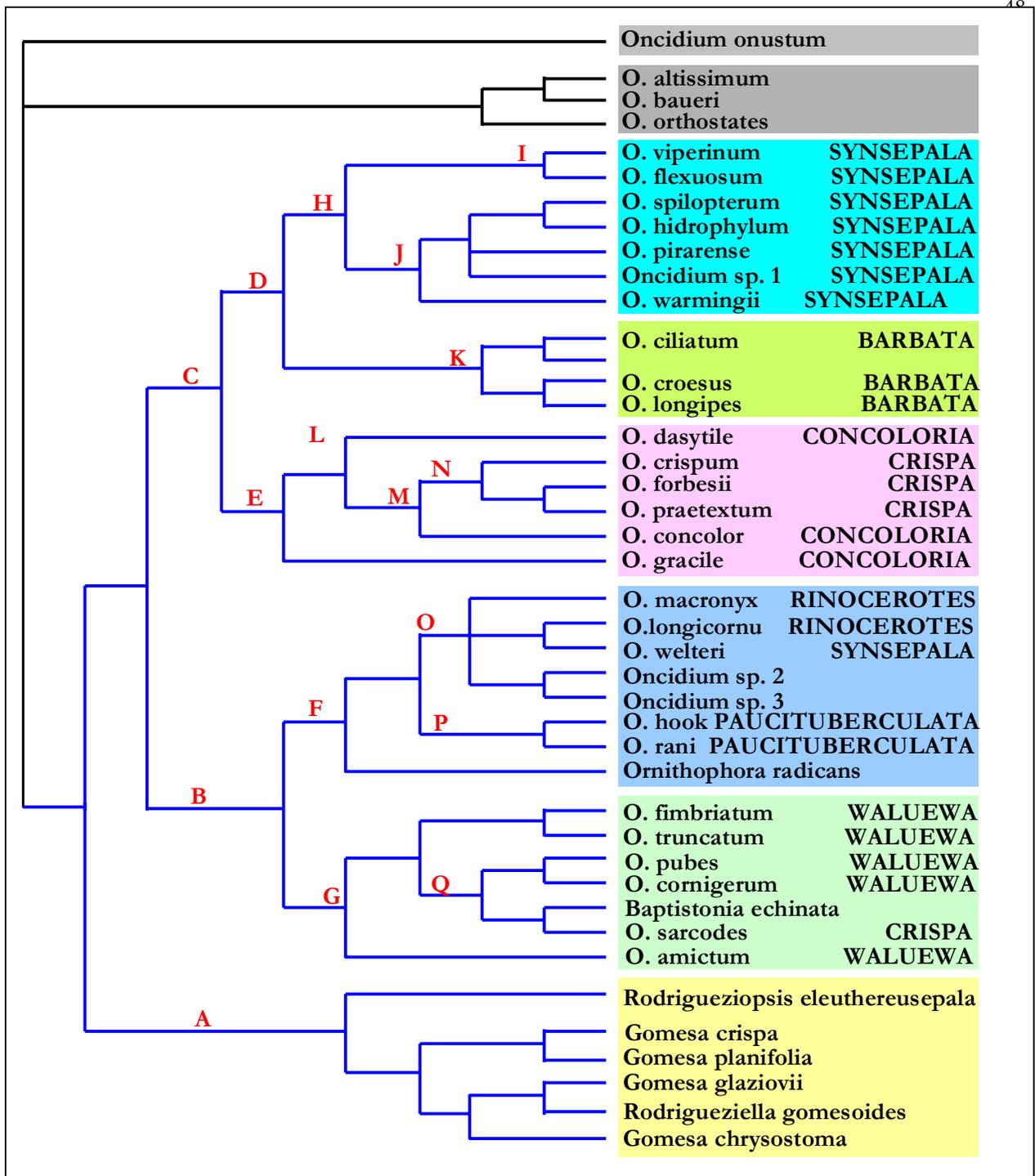


Fig. 9 – Táxons do Clado “Gomesa” onde as diferentes espécies de *Oncidium* aparecem com as respectivas seções segundo a classificação Garay & Stacy (1974).

de acordo com os resultados da análise filogenética, obtidos com o presente trabalho. Na frente das espécies utilizadas encontra-se a seção em que a respectiva espécie está inserida, de acordo com a classificação de Garay & Stacy (1974), correntemente utilizada. Nesta figura observamos que muitas das seções do Clado “**Gomesa**”, como propostas por Garay & Stacy (1974), não são grupos monofiléticos.

A Seção **Barbata** (*O. longipes*, *O. ciliatum*, *O. macropetalum*, *O. croesus*) apresenta-se como um grupo monofilético com 79% de *bootstrap*, assim como o grupo formado pelas espécies da Seção **Crispa**: (*O. crispum*, *O. forbesii* e *O. praetextum*) com 76% de *bootstrap*. Entretanto, o reconhecimento das espécies da Seção **Crispa** como um grupo separado das espécies da Seção **Concoloria** (*O. concolor*, *O. dasytile* e *O. gracile*), estreitamente relacionadas a ela, torna este grupo de espécies um táxon parafilético, ou seja, um “grupo resto”. O grupo formado por *O. hookeri* e *O. raniferum*, espécies da Seção **Paucituberculata**, também é monofilético, embora, fracamente, sustentado por um valor de *bootstrap* inferior a 70%.

NOVA DELIMITAÇÃO PROPOSTA PARA OS TÁXONS DO CLADO “GOMESA”

Um dos principais objetivos do presente trabalho foi a apresentação de uma nova delimitação para os táxons do Clado “**Gomesa**”. Entretanto, embora a filogenia obtida reflita um arranjo taxonômico com táxons que podem ser caracterizados por dados morfo-anatômicos e/ou químicos, é necessário que todos eles se encontrem em ramos fortemente sustentados (valor de *bootstrap* $\geq 85\%$), para que uma nova classificação seja apresentada. Uma nova árvore filogenética com todos os ramos bem sustentados poderá ser obtida com utilização de mais caracteres provenientes de outros fragmentos de DNA, como o *trnL* e o *matK*, por exemplo.

Dessa forma, a contribuição do presente trabalho à taxonomia de **Oncidiinae** está na apresentação de seis clados que deverão ser testados quanto a sua estabilidade e, só então, formalizados.

No presente trabalho, pré-denominamos os novos grupos como: “**Synsepala**”, “**Barbata**”, “**Concoloria**” (incl. **Crispa**), “**Rhinocerotes**” (incl. **Ornithophora**, **Paucituberculata** e **Synsepala** parcialmente), “**Baptistonia**” (incl. **Waluwewa** e **Crispa** parcialmente) e “**Rodrigueziella**” (incl. **Gomesa** e **Rodrigueziopsis**). Na **Figura 8**, eles encontram-se evidenciados por quadros coloridos e estão indicados, respectivamente, pelas letras **H, K, E, F, G e A**.

Abaixo, é apresentada uma chave para a identificação desses clados com utilização de caracteres morfo-anatômicos .

- 1 Tábula infraestigmática ausente 2
1. Tabula infraestigmática presente 4
- 2 Brácteas foliares ausentes; labelo lobado; elaióforos epidermais; óleo floral exposto sobre o calo do labelo 3
2. Brácteas foliares presentes; labelo inteiro; elaióforos tricomáceos; óleo floral contido no interior dos tricomas
..... 1. Clado "**Rodrigueziella**"
- 3 Pseudobulbos fusiformes; borda do clinândrio elevada; labelo com comprimento superior a 10mm 2. Clado "**Baptistonia**"
3. Pseudobulbos elípticos ou angulares, não fusiformes; borda do clinândrio plana; labelo com comprimento inferior a 8mm
..... 3. Clado "**Rhinocerotes**"
- 4 Istmo do labelo fimbriado
..... 4. Clado "**Barbata**"
4. Istmo do labelo liso 5
- 5 Polinário com comprimento superior a 3mm 5. Clado "**Concoloria**"
5. Polinário com comprimento inferior a 2mm 6. Clado "**Synsepala**"

1. CLADO "**RODRIGUEZIELLA**"

O clado "**Rodrigueziella**" (A) compreende ca. de 23 espécies, correntemente, classificadas nos gêneros **Gomesa**, **Rodrigueziella** e **Rodrigueziopsis** (Fig. 10). As espécies deste grupo apresentam hábito epifítico, brácteas foliares articuladas envolvendo os pseudobulbos não fusiformes, labelo dobrado para baixo, calo do labelo com comprimento inferior à metade do comprimento do labelo, elaióforo tricomáceo com cutícula impermeável, tábula infraestigmática ausente, ausência de tricomas na margem do estigma, borda do clinândrio elevada e ápice da antera reto.

O Clado "**Rodrigueziella**" pode ser subdividido em dois grupos: um deles compreende o gênero **Rodrigueziopsis**, cujas espécies apresentam labelo com comprimento inferior a 8mm, lobado, não articulado com a coluna e com istmo liso, asas bem desenvolvidas presentes na coluna e polinário com comprimento superior a 3mm. O outro compreende as espécies de **Rodrigueziella** e **Gomesa** que apresentam labelo com comprimento superior a 10mm, inteiro e articulado com a coluna, presença de asas bem rudimentares na coluna e polinário com comprimento inferior a 2,5mm.

Espécies dos gêneros *Gomesa* e *Rodrigueziella* apresentam sesquiterpenos na composição de seus óleos florais. As substâncias presentes nos calos das flores das espécies de *Rodrigueziopsis* ainda não foram analisadas.

2. CLADO "BAPTISTONIA"

O Clado "Baptistonia" (G) compreende ca. de 15 espécies sendo uma proveniente do gênero *Baptistonia*, uma espécie (*O. sarcodes*) da Seção *Crispa sensu* Garay e Stacy (1974) e as espécies da Seção *Waluwewa sensu* Garay e Stacy (1974), ambas seções do gênero *Oncidium*. (Figs. 11 e 12). Estas espécies apresentam hábito epifítico, pseudobulbos fusiformes, (popularmente chamados de charutininhos) cujas brácteas foliares não são articuladas, labelo não articulado, com comprimento superior a 10mm, reto, lobado com istmo liso, calo com comprimento superior à metade do comprimento do labelo, elaióforos epidermais ou tricomáceos com cutícula permeável ou impermeável, tábula infraestigmática ausente, asas bem desenvolvidas na coluna, borda do clinândrio elevada, estigma com margem pilosa, polinário com comprimento inferior a 2,5mm, borda do clinândrio elevada. A maioria das espécies apresenta o ápice da antera involuto. Os óleos

florais das espécies com elaióforo epidermal apresentam acilgliceróis em sua composição.

3. CLADO "RHINOCEROTES"

O clado "Rhinocerotes" (F) compreende parte das espécies das seções *Rhinocerotes* e *Paucituberculata, sensu* Garay & Stacy (1974), e *Ornithophora radicans*, totalizando oito espécies (Fig. 13). Essas espécies apresentam hábito epifítico, flores muito pequenas (labelo com comprimento inferior a 8mm), labelo lobado com istmo liso, reto e não articulado com a coluna, calo do labelo com comprimento aproximadamente igual ao da metade do comprimento do labelo, elaióforo epidermal com cutícula permeável, sem tábula infraestigmática, borda do clinândrio plana, polinário com comprimento inferior a 2,5mm presença de acilgliceróis nos óleos florais. Apenas *Ornithophora radicans* apresenta pseudobulbos com brácteas articuladas e ápice da antera involuto, diferentemente das outras espécies que não apresentam as brácteas articuladas envolvendo os pseudobulbos e apresentam ápice da antera reto. A maioria das espécies não apresenta asas na coluna, caráter apresentado apenas pelas espécies *O. longicornu* e *O. welteri*.

4. CLADO "BARBATA"

As espécies do clado "**Barbata**" (**K**) compreendem as ca. de 11 espécies da Seção *Barbata sensu* Garay & Stacy (1974) (**Fig. 14**). Elas apresentam hábito epifítico, brácteas foliares articuladas envolvendo os pseudobulbos não fusiformes, labelo não articulado, com comprimento superior a 10mm, reto, lobado com istmo fimbriado, calo do labelo com comprimento inferior à metade do comprimento do labelo, elaióforo tricomáceo com cutícula impermeável, área estigmática com largura maior que o comprimento, tábula infraestigmática presente, asas bem desenvolvidas presentes na coluna, margem do estigma sem tricomas, borda do clinândrio plana, polinários com comprimento inferior a 3mm, ápice da antera reto, e compostos "X" presentes nos óleos florais.

5. CLADO "CONCOLORIA"

O Clado "**Concoloria**" (**E**) compreende as espécies brasileiras da Seção *Concoloria* e as espécies da Seção *Crispa, sensu* Garay & Stacy (1974) num total de aproximadamente 23 espécies (**Fig. 15**). Essas espécies apresentam hábito epifítico, brácteas foliares articuladas envolvendo os pseudobulbos não fusiformes, flores grandes com labelo de comprimento superior a 10mm (em algumas espécies alcançando 4mm), labelo reto, não articulado

com a coluna, lobado com istmo liso, calo do labelo com comprimento inferior à metade do comprimento do labelo, elaióforos epidermais com cutícula impermeável, tábula infraestigmática presente, asas bem desenvolvidas presentes na coluna, margem do estigma sem tricomas, borda do clinândrio plana, polinário com comprimento superior a 3mm de comprimento e ápice da antera reto. Até o presente, foi analisada a composição química dos óleos florais apenas das espécies da Seção *Crispa sensu* Garay & Stacy (1974), sendo dois de seus componentes os esteróides e tocoferóis. Como verificado nos óleos florais de espécies que apresentam elaióforos epidermais, o óleo floral dessa espécie também apresentou acilgliceróis em sua composição.

6. CLADO "SYNSEPALA"

O Clado "**Synsepala**" (**H**) compreende as espécies da Seção *Synsepala sensu* Garay & Stacy (1974), com exceção de *O. welteri* (**Fig. 16**). Considerando-se as possíveis sinonimizicações, esse clado deve compreender ca. de 15 espécies. Este táxon está subdividido em dois grupos: um compreende espécies terrestres encontradas em campos rupestres e cerrados (**J**) e, o outro, epífitas (**I**), principalmente, de matas pluviais de altitude. Essas espécies apresentam brácteas foliares articuladas envolvendo os pseudobulbos não

fusiformes, labelo não articulado com comprimento superior a 10mm, reto, lobado com istmo liso, calo com comprimento inferior à metade do comprimento do labelo, elaióforo tricomáceo com cutícula impermeável, tábula infraestigmática presente, asas bem desenvolvidas presentes na coluna, área estigmática com largura maior que o comprimento, margem do estigma sem tricomas, margem do clinândrio plana, polinário com comprimento inferior a 2,5mm, ápice da antera reto e presença de tocoferóis e esteróides nos óleos florais.

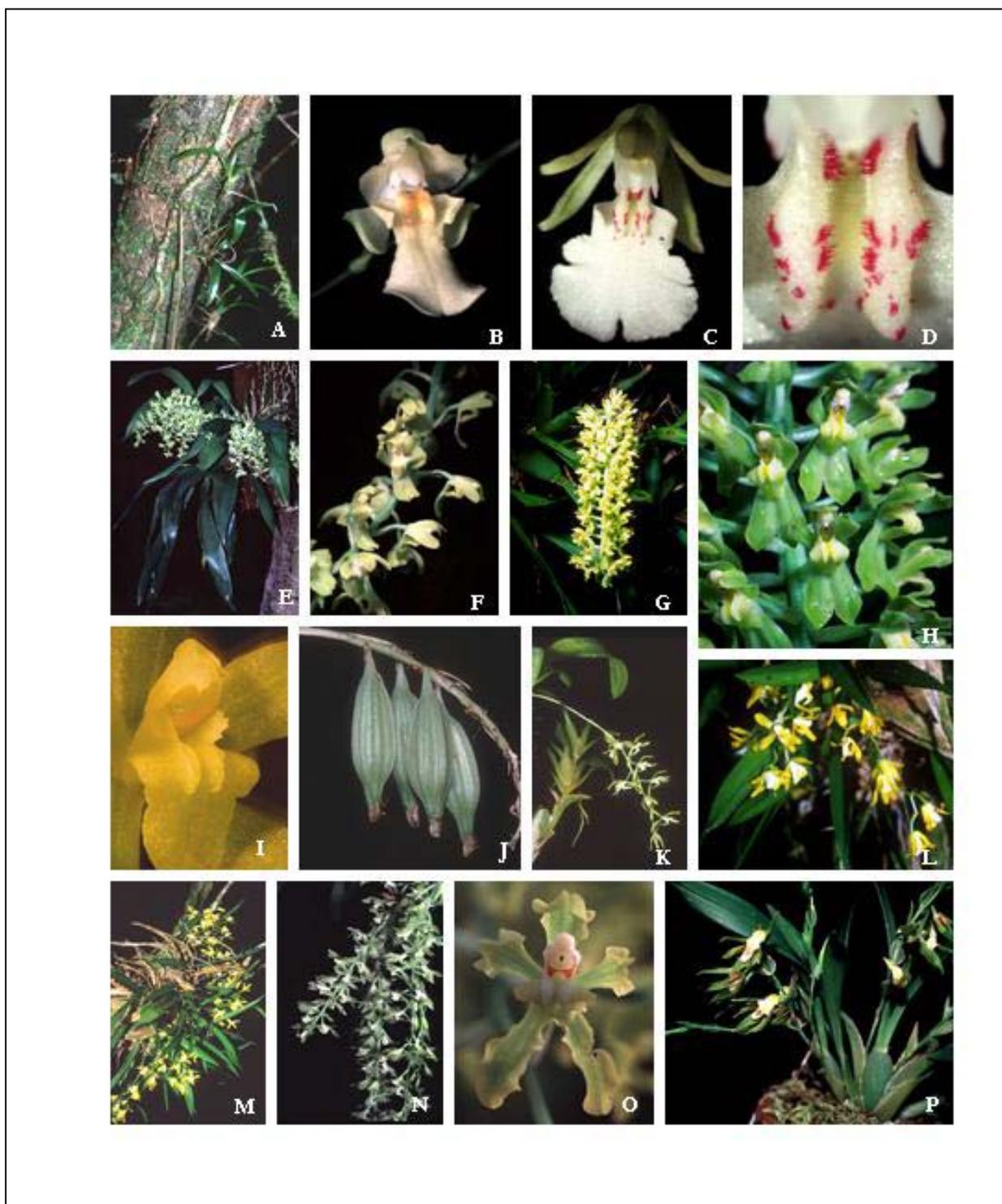


Fig. 10 – Espécies do Clado “Rodrigueziella” - A-B) *Rodrigueziopsis eleuthereusepala*; C-D) *Rodrigueziopsis microphyta*; E-F) *Gomesa laxiflora*; G- J) *G. recurva*; K) *G. glaziovii*; L-M) *G. chrysostoma*; N) *G. sessilis*; O) *G. crista*; P) *Rodrigueziella gomezoides*.

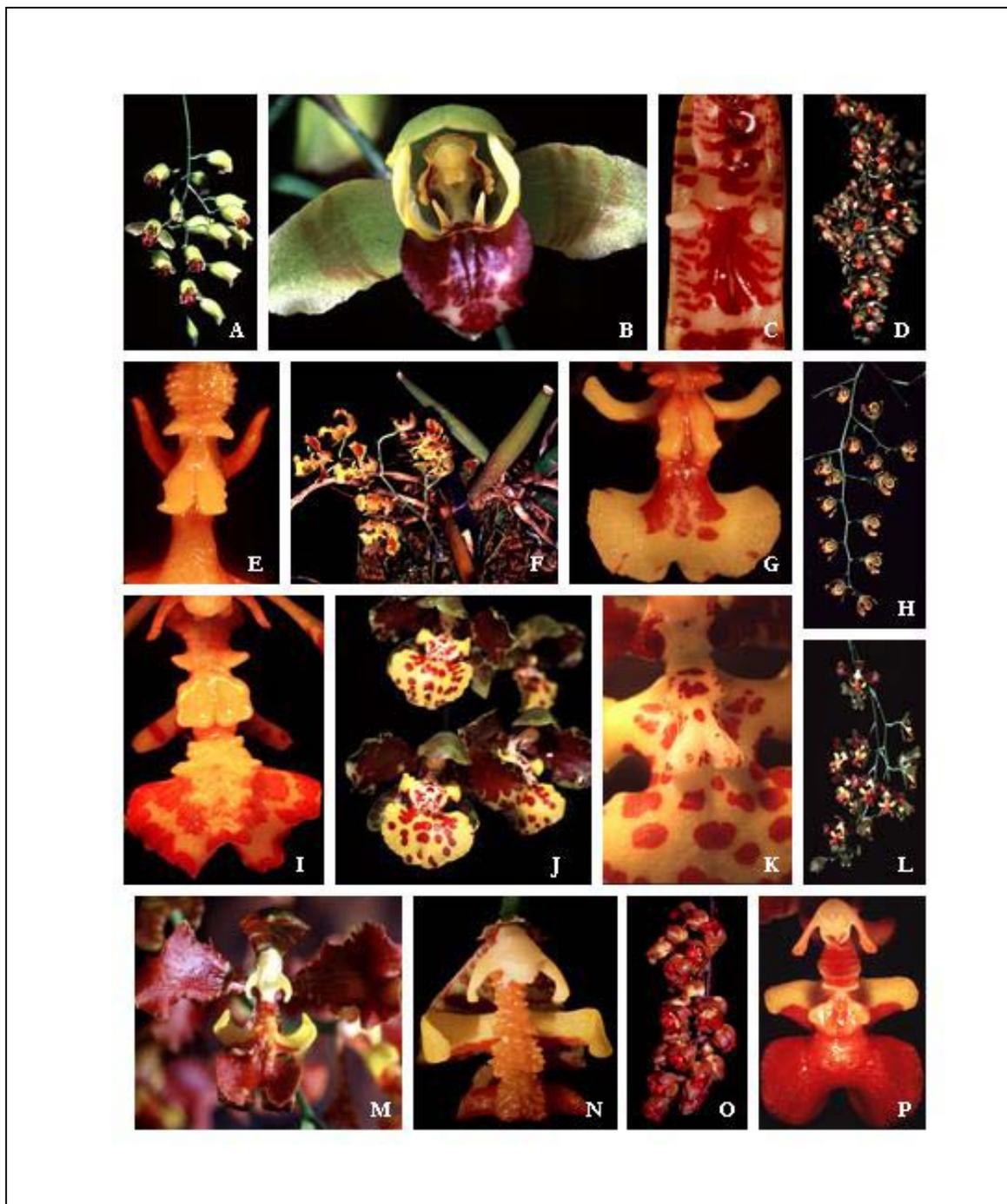


Fig. 11 – Espécies do Clado “Baptistonia” I – A-C) *Baptistonia echinata*; D-I) *Oncidium pubes*; J-K) *O. sarcodes*; L-N) *O. widgreni*; O-P) *O. silvanum*.

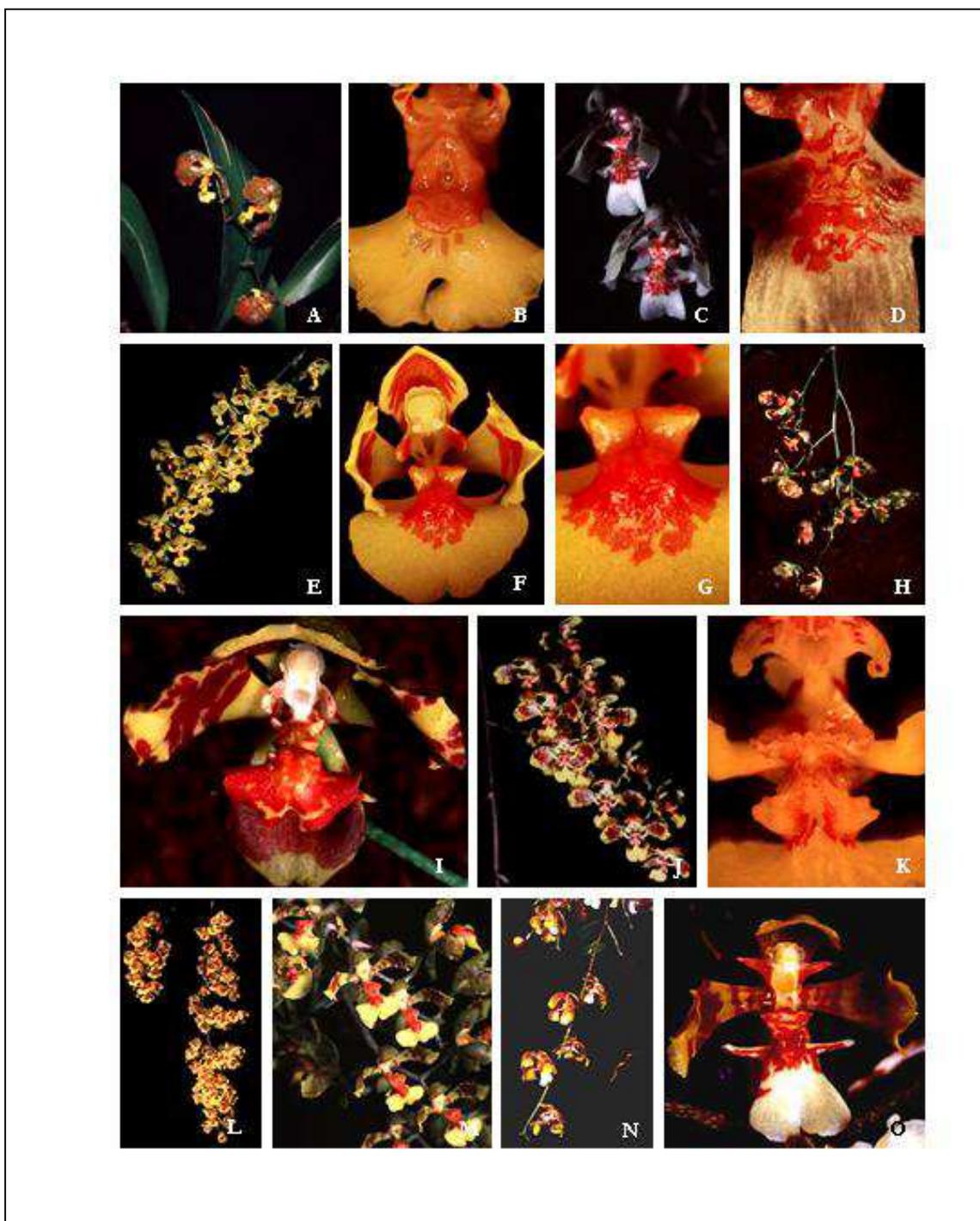


Fig. 12 – Espécies do Clado “Baptistonia” II – A-B) *Oncidium amictum*; C-D) *O. truncatum*; E-G) *O. cruciatum*; H-I) *Oncidium* sp.; J-K) *O. cornigerum*; L-M) *O. fimbriatum*; N-O) *O. kautskyi*.

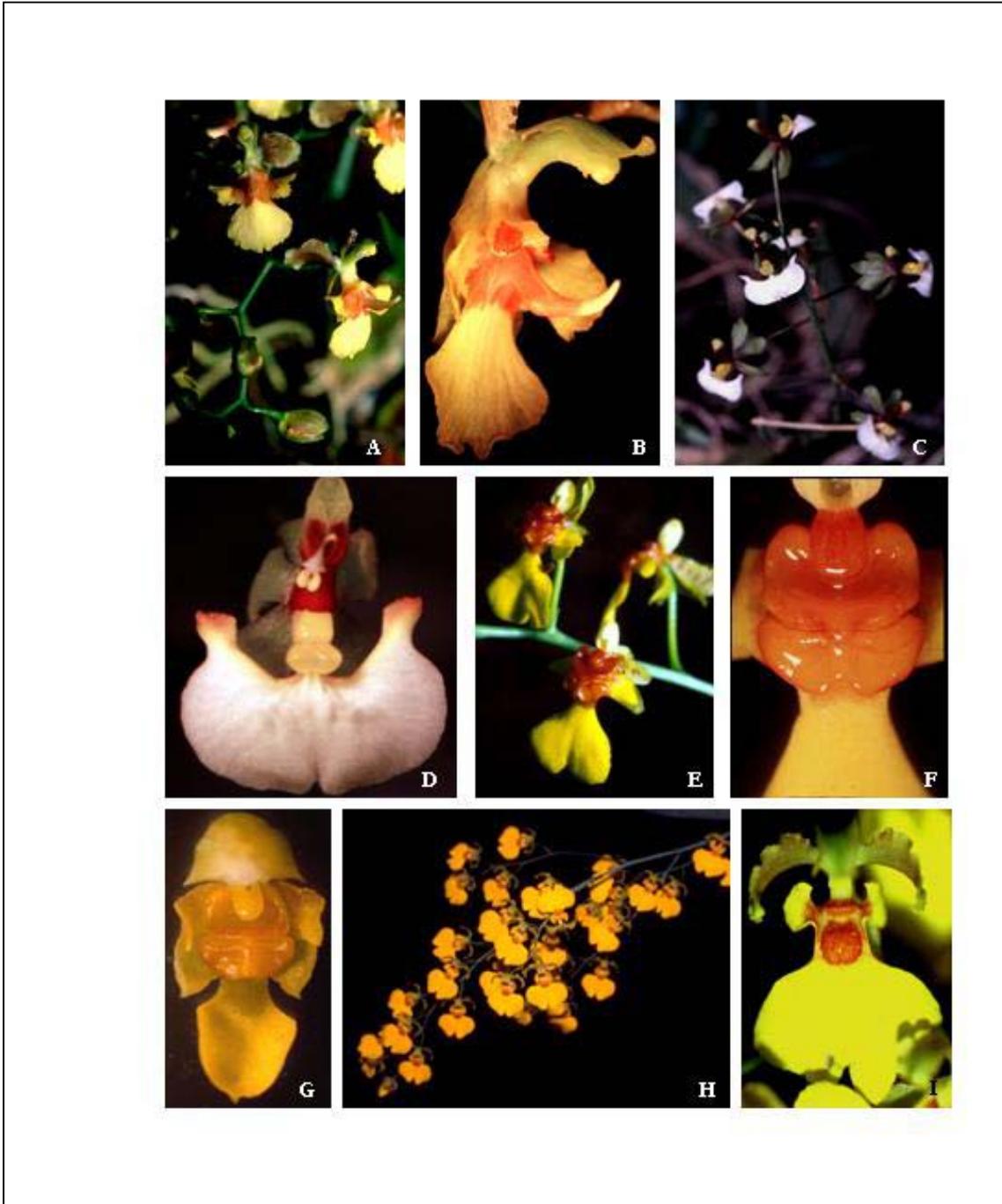


Fig. 13 – Espécies do “Clado Rhinocerotes” - A-B) *Oncidium longicornu*; C-D) *Ornithophora radicans*; E-F) *O. hookeri*; G) *O. loefgreni*; H-I) *O. welteri*.

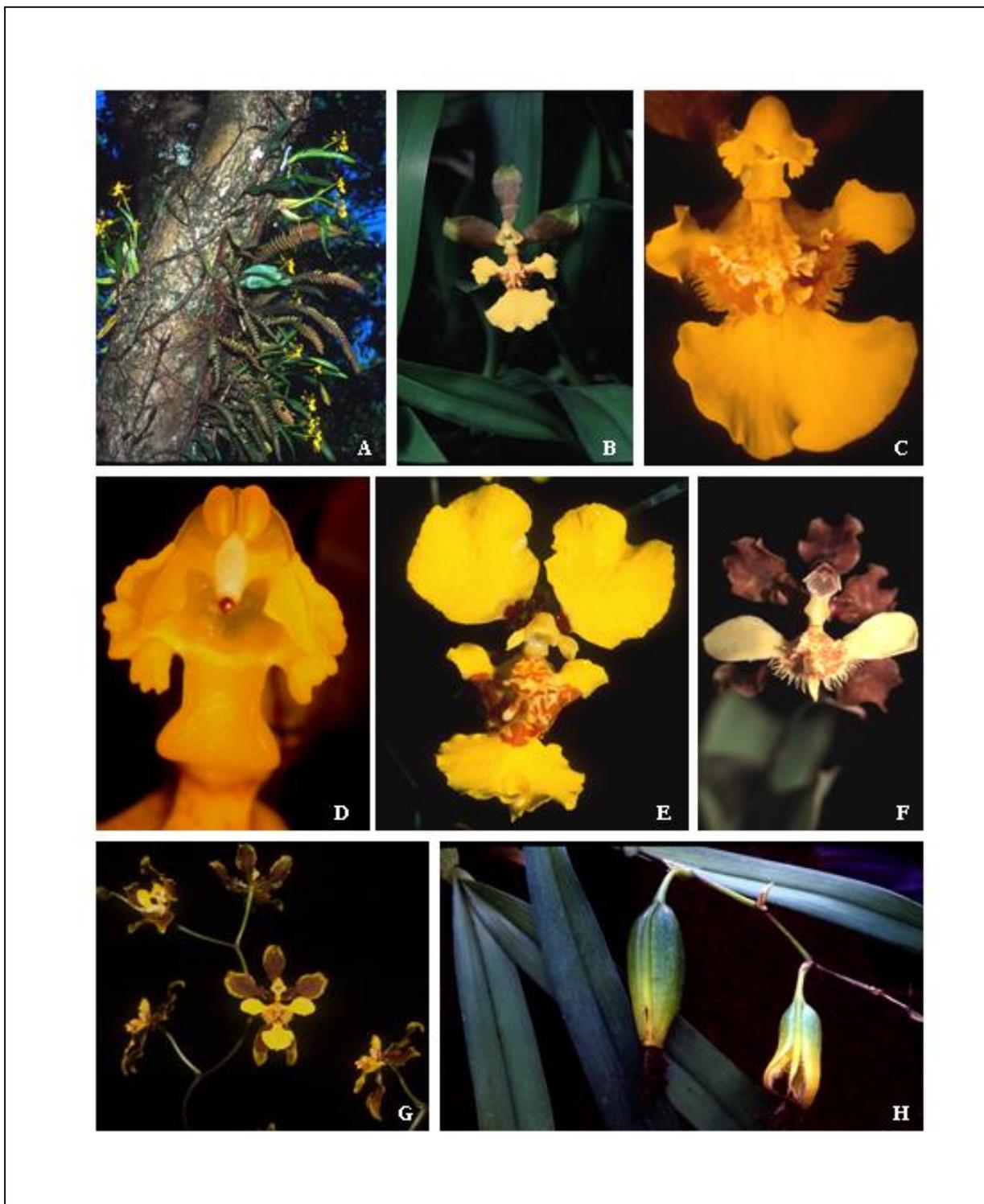


Fig. 14 – Espécies do Clado “Barbata”: A-D) *Oncidium longipes* – A. hábito, B-C. flor, D. coluna; E) *O. macropetalum*; F) *O. suscephalum*; G) *O. barbatum*; H) *O. longipes* – fruto.

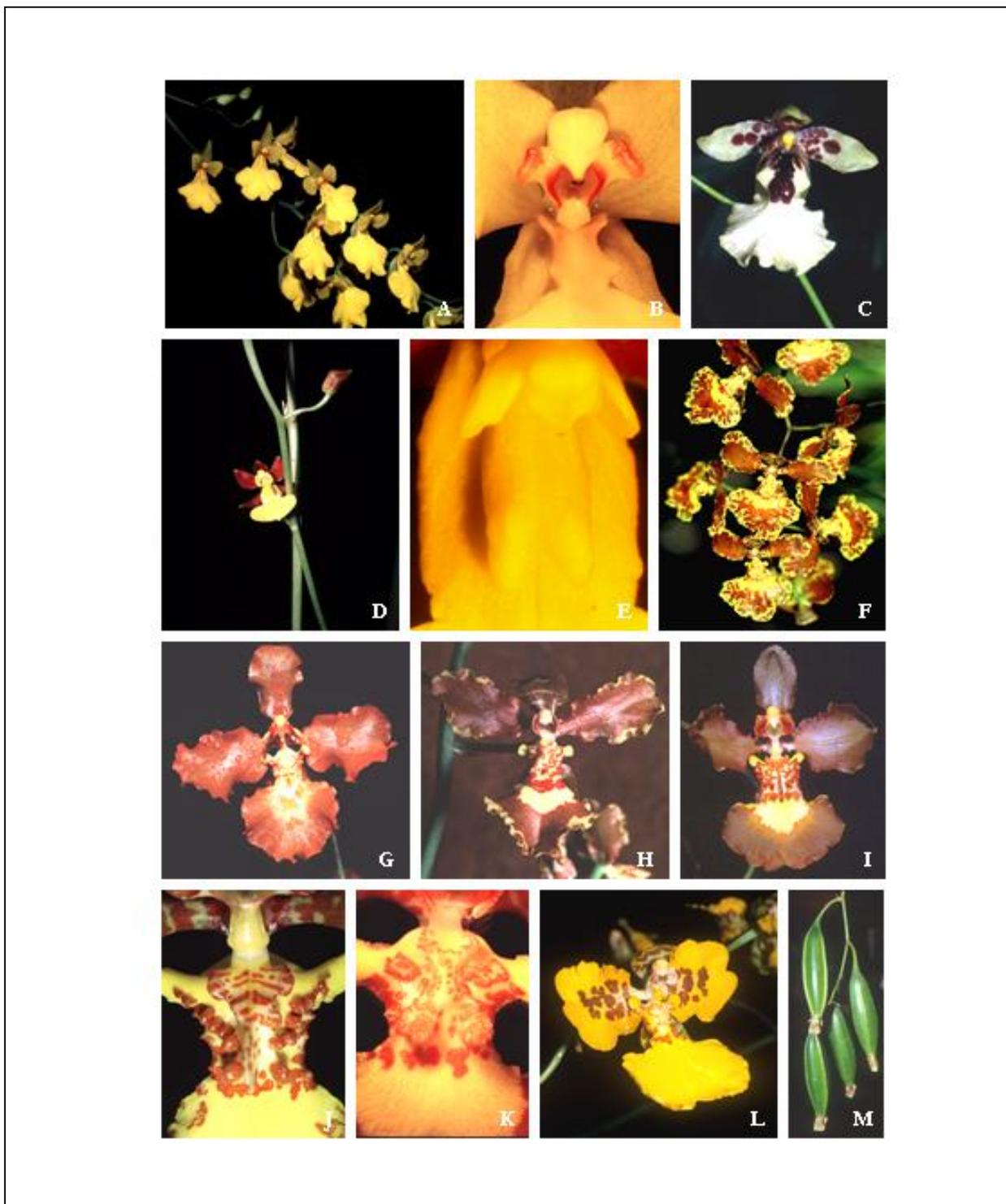


Fig. 15 – Espécies do Clado “Concoloria” - A-B) *Oncidium concolor* - A. Inflorescência, B. coluna.; C) *O. dasytile*; D-E) *O. gracile*; F) *O. forbesii*; G) *O. crispum*; H-J) *O. praetextum*; K) *O. forbesii*; L) *O. marshallianum*; M) *O. praetextum* – fruto.

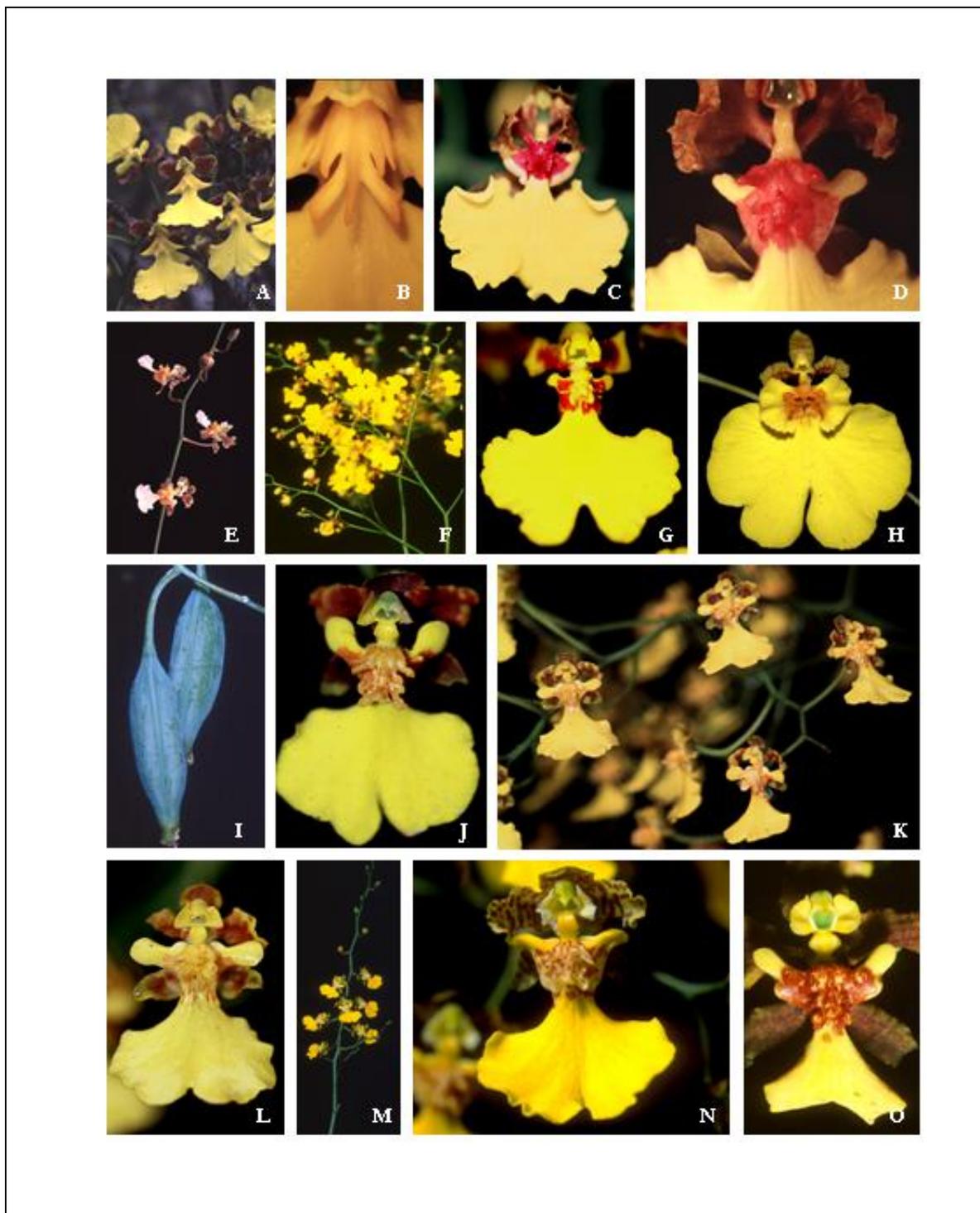


Fig. 16 – Espécies do Clado “Synsepala” – A-B) *Oncidium barbacenie*, C-D) *O. spilopterum*; E) *O. warmingii*; F-G) *O. flexuosum*; H-I) *O. varicosum*; J) *O. hydrophyllum*; K-N) *O. montanum*; O) *O. bifolium*.

Como já foi mencionado, os dados obtidos no presente trabalho revelaram que muitas das seções de Garay & Stacy (1974) não são grupos naturais.

A Seção *Synsepala* é polifilética. Como pode ser verificado na **Fig. 8**, ela compreende *O. welteri*, mas esta espécie apresenta em comum com os demais membros da seção caracteres altamente variáveis, como as sépalas parcial ou, totalmente, conatas. O mesmo ocorre com *O. sarcodes*, espécie pertencente à Seção *Crispa*. Esta espécie foi considerada como membro dessa seção por apresentar flores grandes e vistosas, como as demais espécies do grupo. Os resultados do presente trabalho indicam que *O. welteri* é estreitamente relacionado às espécies pertencentes às seções *Rhinocerotes* e *Paucituberculata sensu* Garay & Stacy (1974) e *O. sarcodes* estreitamente relacionado às espécies da Seção *Waluwewa sensu* Garay & Stacy (1974) e a *Baptistonia*.

Em relação à Seção *Concoloria*, os resultados da análise filogenética da subtribo *Oncidiinae* (Williams et al. 2001) já haviam demonstrado tratar-se de um grupo polifilético e que se encontra dividido em dois grupos: um compreendendo espécies brasileiras e que faz parte do Clado “Gomesa” e outro compreendendo as espécies centro-americanas, não incluídas no

Clado “Gomesa”. Essa seção foi proposta a partir da presença de caracteres bastante variáveis como inflorescências paucifloras pouco ou não ramificadas. Com a realização do presente trabalho, foi possível comprovar que o grupo, como proposto por Garay & Stacy (1974), é artificial. Como pode ser observado na **fig. 9**, ele torna-se monofilético apenas quando unido às espécies da Seção *Crispa* (91% de *bootstrap* com exclusão de *O. gracile* e abaixo de 70% com inclusão desta espécie).

As seções *Rhinocerotes* e *Paucituberculata*, como propostas por Garay & Stacy (1974), também são grupos artificiais. Os resultados de Williams et al. (2001) já haviam demonstrado que esses táxons são polifiléticos, indicando que parte de suas espécies é, estreitamente, relacionada com outras pertencentes ao Clado “Gomesa”.

Os resultados do presente trabalho revelaram que *Oncidium macronyx* e *O. longicornu* (Seção *Rhinocerotes sensu* Garay e Stacy 1974), quando unidas a *Oncidium hookeri* e *O. raniferum* (Seção *Paucituberculata sensu* Garay e Stacy 1974), a *Oncidium welteri* (Seção *Synsepala sensu* Garay e Stacy 1974) e a *Ornithophora radicans*, formam um grupo monofilético como pode ser verificado no clado **F** da **Fig. 8**.

O gênero *Baptistonia*, se reconhecido, torna a Seção *Waluewa* + *O. sarcodes*, um grupo parafilético. *Baptistonia* + *O. sarcodes* formam um grupo monofilético, mas deixa parafilético o grupo formado pelas espécies da Seção *Waluewa*.

O gênero *Gomesa* com exclusão de *Rodrigueziella* é parafilético. Unidos, formam um grupo monofilético sustentado por um valor de *bootstrap* de 82% (Fig. 8).

Os resultados do presente trabalho revelaram ainda que os pequenos gêneros *Ornithophora* e *Rodrigueziopsis*, compreendidos por uma e três espécies, respectivamente, são relacionados a membros de outros grupos do Clado “*Gomesa*”. *Ornithophora* seria o grupo irmão do clado formado pelas espécies *Oncidium macronyx*, *O. longicornu*, *O. welteri*, *O. hookeri*, *O. raniferum*, *Oncidium* sp. 1 e *Oncidium* sp. 2 (75% de *bootstrap*) e *Rodrigueziopsis*, do clado formado pelas espécies de *Gomesa* e *Rodrigueziella* (85% de *bootstrap*).

EVOLUÇÃO DE CARACTERES

Os caracteres: células epidérmicas com até 0,5µm de comprimento na face periclinal externa, ausência de papilas nas células epidérmicas das lâminas foliares, presença de estômatos apenas na face abaxial das lâminas

foliares, células-guardas dos estômatos das lâminas foliares em formato elíptico e presença de tábula infraestigmática são apomorfias para o Clado “*Gomesa*”. O táxon irmão, *O. onustum*, apresenta células epidérmicas com mais que 0,8µm de comprimento na face periclinal externa, papilas e estômatos nas células epidérmicas de ambas as faces das lâminas foliares e ausência de tábula infraestigmática (Fig. 17).

Os caracteres: hábito epifítico, brácteas articuladas envolvendo os pseudobulbos, pseudobulbos elípticos ou angulosos, labelo não articulado com a coluna, labelo com comprimento superior a 10mm, istmo do labelo liso, elaióforo epidermal, cutícula que reveste o elaióforo permeável ao óleo, margem do estigma lisa, asas presentes na coluna, polinário com comprimento inferior a 3mm, ápice da antera reto e borda do clinândrio plana são plesiomorfias para o Clado “*Gomesa*”. Todos estes caracteres estão presentes também no táxon irmão do Clado “*Gomesa*”, *Oncidium onustum* (Fig. 17).

O hábito terrestre surgiu duas vezes no Clado “*Gomesa*”; trata-se de um paralelismo entre as espécies do Clado “*Synsepala*” e uma das espécies do Clado “*Concoloria*”, *O. gracile*. Essa convergência está, provavelmente, relacionada ao tipo de ambiente de ocorrência dessas espécies:

campos rupestres e campos de altitude (**Fig. 17**).

O caráter presença de espaçamento entre os pseudobulbos é um paralelismo que surgiu quatro vezes no Clado “**Gomesa**”. Ocorre em espécies dos clados “**Synsepala**”, “**Rodrigueziella**” e “**Rhinocerotes**” (**Fig. 17**).

O caráter ausência de brácteas articuladas envolvendo os pseudobulbos é uma sinapomorfia para o Clado “**Baptistonia**” + “**Rhinocerotes**” (**B**). Os caracteres pseudobulbos do tipo fusiforme, células-guardas dos estômatos em formato circular, tricomas na margem do estigma e ápice da antera involuto são sinapomorfias para o Clado “**Baptistonia**” (**G**). Presente nesse mesmo clado, *O. truncatum* apresenta uma reversão no estado do caráter “forma das células-guardas dos estômatos das lâminas foliares”. Nessa espécie, as células-guarda dos estômatos são elípticas, condição primitiva do caráter para o Clado “**Gomesa**” (**Fig. 17**).

A presença de células alongadas entre os estômatos é uma sinapomorfia para *Ornithophora* assim como a presença de espaçamento entre os pseudobulbos. Nenhuma das outras espécies do Clado “**Gomesa**” apresentou células alongadas entre os estômatos da epiderme (**Fig. 17**).

A presença de fímbrias no istmo do labelo é uma sinapomorfia para o Clado “**Barbata**” (**K**); labelo dobrado para baixo uma sinapomorfia para o Clado “**Rodrigueziella**” (**A**) e labelo não lobado e articulado com a coluna, sinapomorfias para *Gomesa* + *Rodrigueziella* (**H**). Em *Rodrigueziopsis* essa articulação não existe e o labelo é lobado (**Fig. 18**).

Diferentemente do que foi observado por Chase (1986) para a subtribo **Oncidiinae**, para o Clado “**Gomesa**”, o comprimento do labelo não se apresentou homoplástico. As espécies de *Ornithophora* e das seções *Rhinocerotes* e *Paucituberculata*, *sensu* Garay & Stacy (1974), apresentam as menores flores de todo o Clado “**Gomesa**” e as das seções *Concoloria* e *Crispa*, as maiores.

Os caracteres labelo com comprimento inferior a 8mm e ausência de asas na coluna são sinapomorfias para o Clado “**Rhinocerotes**” (**F**). As espécies *Ornithophora radicans*, *Oncidium longicornu* e *O. welteri* apresentam asas na coluna, uma reversão à condição primitiva do caráter para o Clado “**Gomesa**”. As espécies *O. longicornu* e *O. welteri* apresentam ainda outra reversão: elas possuem labelo com comprimento superior a 10mm (**Fig. 18**).

Muitos outros caracteres surgiram paralelamente em diferentes linhagens do

Clado “**Gomesa**”: elaióforos do tipo tricomáceo, presentes nas espécies dos clados “**Rodrigueziella**” (A) e “**Synsepala**” + “**Barbata**” (C); ausência de tábula infraestigmática nas espécies dos clados “**Rodrigueziella**” (A) e “**Baptistonia**” + “**Rhinocerotes**” (B); cutícula impermeável ao óleo, presente nas espécies dos clados “**Rodrigueziella**” (A), “**Synsepala**” + “**Barbata**” + “**Concoloria**” (C), na espécie *O. sarcodes* do Clado “**Baptistonia**” (G) e nas espécies *O. crispum*, *O. praetextum* e *O. forbesii* do Clado “**Concoloria**”; polinário com comprimento superior a 3mm, presente em *Rodrigueziopsis* e nas espécies do Clado “**Concoloria**” (E) e borda do clinândrio elevada, caráter presente nas espécies do Clado “**Rodrigueziella**” (A) e nas espécies do Clado “**Baptistonia**” (G) (Fig. 18).

A maioria dos dados químicos, obtidos a partir da análise da composição dos óleos florais, é sinapomorfia para os clados em que ocorrem (Fig. 19).

As espécies do Clado “**Synsepala**” + “**Barbata**” (D) apresentam tocoferóis na composição do óleo floral; as do Clado “**Barbata**” (K), compostos nitrogenados e as espécies do Clado “**Rodrigueziella**”, sesquiterpenos, com uma reversão em *Rodrigueziella gomezoides*. Esta espécie apresenta como autapomorfias, além da

ausência de sesquiterpenos, também a presença de monoterpenos.

Já a presença de acilgliceróis encontrados nos óleos florais do Clado “**Baptistonia**” + “**Rhinocerotes**” (B) é um caráter homoplástico, um paralelismo encontrado também em *O. praetextum*, uma espécie do Clado “**Concoloria**” (E). *Oncidium sarcodes*, Clado “**Baptistonia**” (B), apresenta uma reversão, ausência de acilgliceróis e um paralelismo, presença de esteróides. Estes esteróides são encontrados nas espécies do Clado “**Synsepala**” + “**Barbata**” + “**Concoloria**” (C) e também nas espécies *O. sarcodes* do Clado “**Baptistonia**” (G) e *O. welteri* do Clado “**Rhinocerotes**” (F). Trata-se de outro caráter homoplástico que surgiu independentemente em três linhagens distintas do Clado “**Gomesa**”.

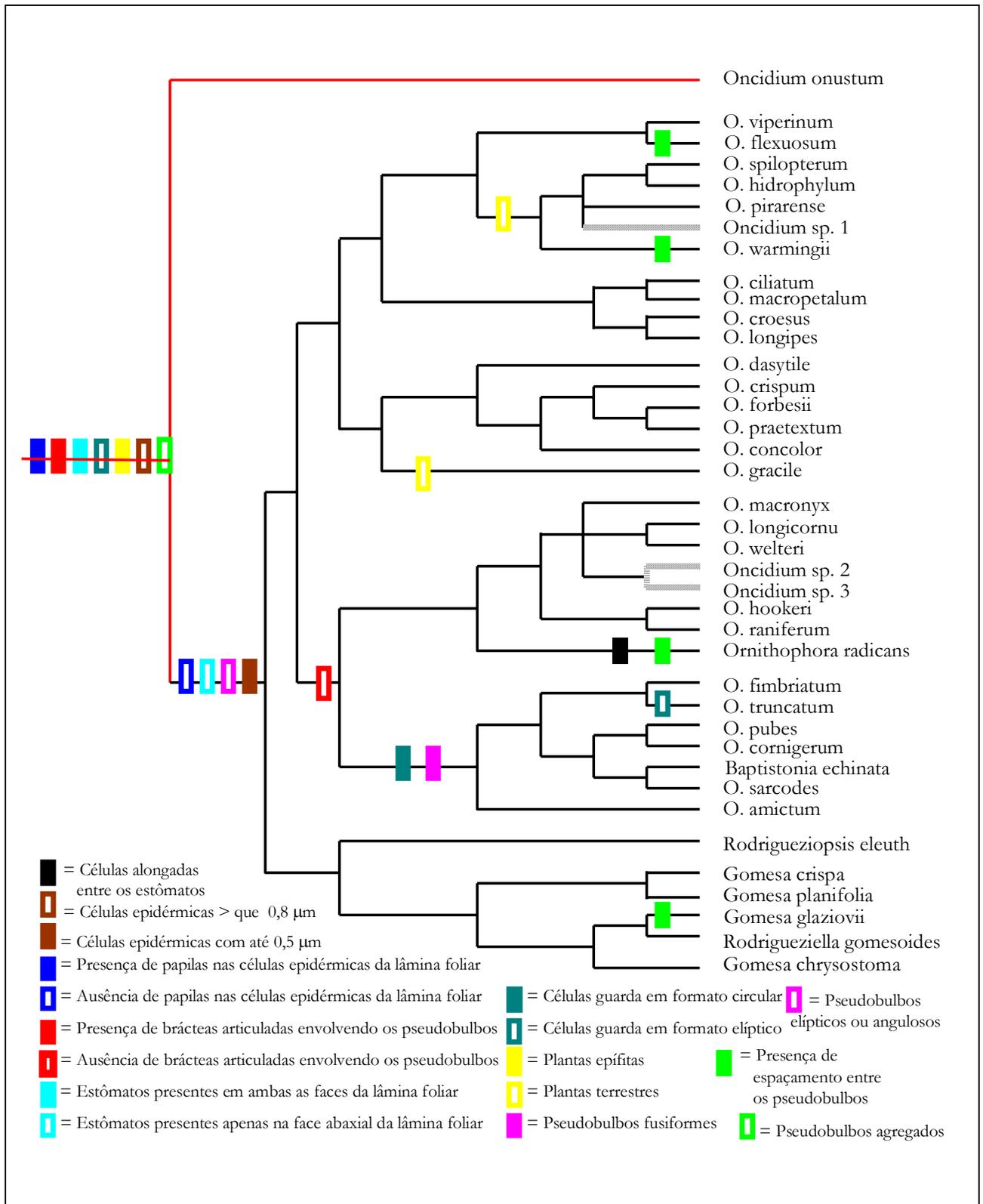


Fig. 17 - Evolução de caracteres vegetativos no Clado “**Gomesa**”. Ramos tracejados não foram considerados na análise – *Oncidium onustum* é o grupo irmão do Clado “**Gomesa**”.

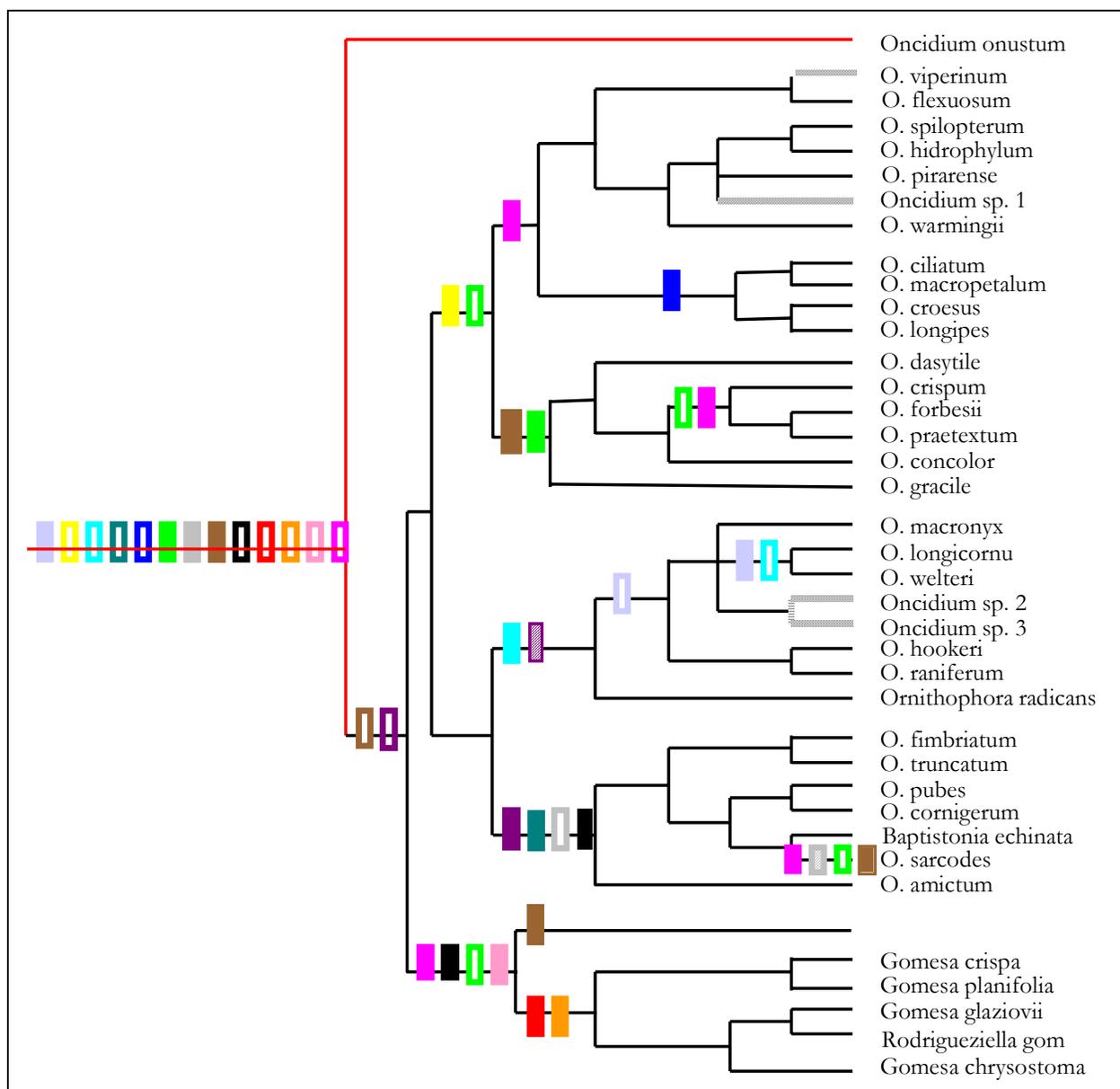


Fig. 18 – Evolução de caracteres florais no Clado "Gomesa". Linhas tracejadas indicam ausência de dados para a espécie. *Oncidium onustum* é o táxon irmão do Clado "Gomesa".

	= Elaióforo tricomáceo
	= Elaióforo epidermal
	= Istmo do labelo fimbriado
	= Istmo do labelo inteiro
	= Labelo articulado com a coluna
	= Labelo não articulado com a coluna
	= Labelo com compr. inferior a 8 mm
	= Labelo com compr. superior a 10 mm
	= Presença de tricomas na margem do estigma
	= Ausência de tricomas na margem do estigma
	= Tábula infraestigmática presente
	= Tábula infraestigmática ausente
	= Presença de asas na coluna
	= Ausência de asas na coluna
	= Borda do clinândrio elevada
	= Borda do clinândrio inconspícua
	= Cutícula que reveste o elaióforo permeável ao óleo
	= Cutícula que reveste o elaióforo impermeável ao óleo
	= Polinário com compr. superior a 3 mm
	= Polinário com compr. inferior a 2,5 mm
	= Ápice da antera reto
	= Ápice da antera involuto
	= Ápice da antera revoluto
	= Labelo dobrado
	= Labelo reto
	= Labelo inteiro
	= Labelo lobado
	= Comprimento do calo > que a metade do comprimento do labelo
	= Comprimento do calo aproximadamente igual ao da metade do comprimento do labelo
	= Comprimento do calo < que a metade do comprimento do labelo

Legenda da figura 18 – Evolução de caracteres florais no Clado “**Gomesa**”.

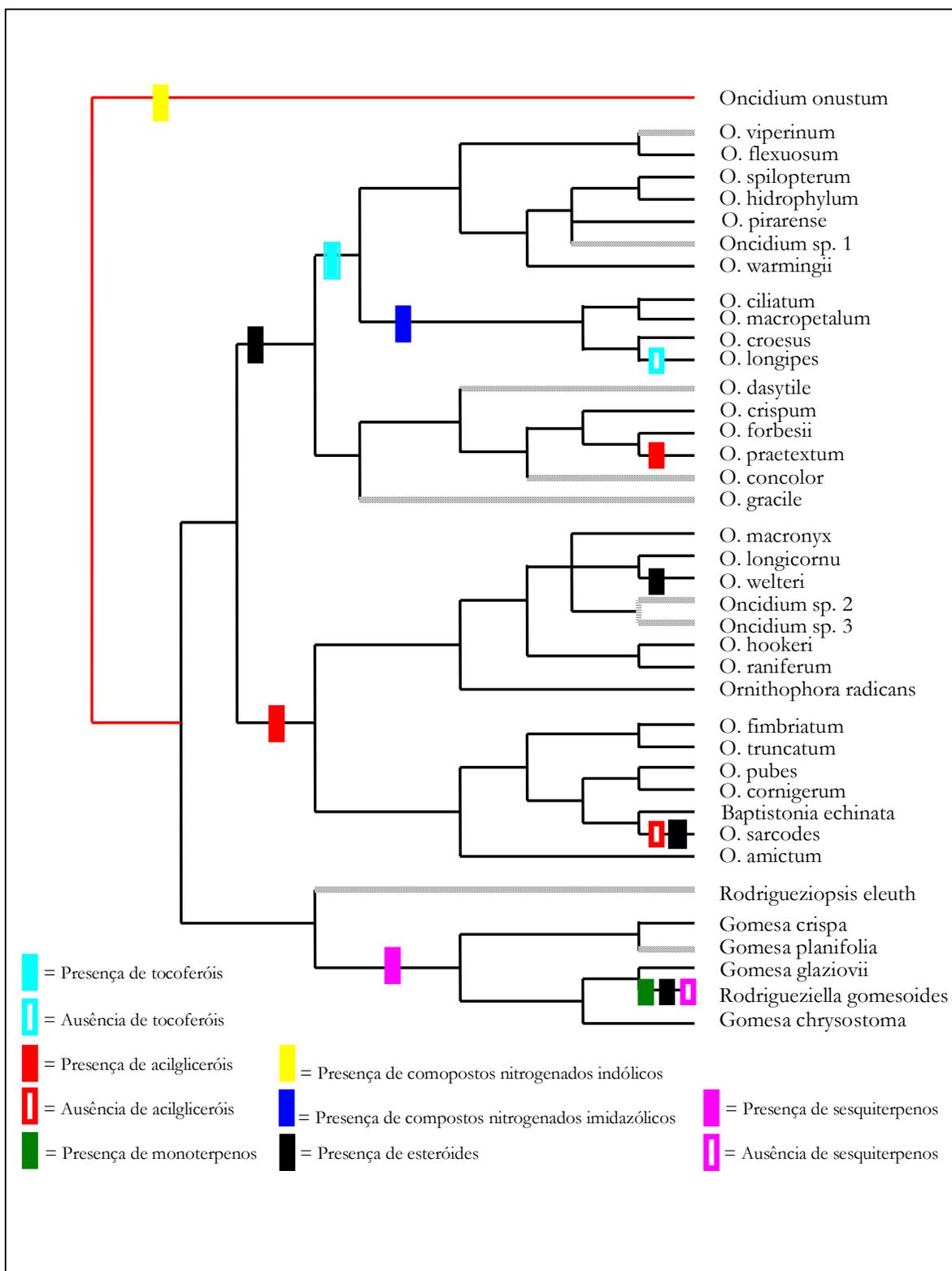


Fig. 19 – Evolução de caracteres químicos no Clado “**Gomesa**”. Os ramos tracejados não foram considerados na análise devido a ausência de dados. *Oncidium onustum* é o grupo irmão do Clado “**Gomesa**”.

Devido ao exaustivo estudo dos caracteres morfo-anatômicos e químicos das espécies do Clado “**Gomesa**”, ao cultivo e acompanhamento das espécies que o compreendem em casa de vegetação e à observação dessas espécies em seu ambiente natural, acreditamos que todos os clados no presente trabalho deverão apresentar boa estabilidade após a realização de novas análises quando então, serão taxonomicamente formalizados.

LITERATURA CITADA

- BUCHMANN, S.L. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 343-369.
- CHASE, M.W. 1986. A reappraisal of the oncioid orchids. *Syst. Bot.* 11(3): 477-491.
- CHASE, M.W.; PALMER, J.D. 1988. Chloroplast DNA variation, geographical distribution, and morphological parallelism in subtribe **Oncidiinae** (Orchidaceae). *Amer J. Bot.* 75: 163-164.
- CHASE, M.W.; PALMER, J.D. 1992. Floral morphology and chromosome number in subtribe **Oncidiinae** (Orchidaceae): Evolutionary insights from a phylogenetic analysis of chloroplast DNA restriction site variation. In: Soltis, P.S., Soltis, D.E. & Doyle, J.J. (eds.) *Molecular systematics of plants*. London; Chapman and Hall, pp. 324-339.
- COGNIAUX, A. 1904. **Orchidaceae** In: MARTIUS, C.F.P. & EICHLER, A.G. (eds.) *Flora brasiliensis*, V. 3 (4).
- DOWNER, R.G.H. 1978. Functional role of lipids in insects. In Rockstein, M. *Biochemistry of insects*. Academic Press.
- DRESSLER, R.L. 1981. *The orchids: Natural history and classification*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.
- DRESSLER, R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge, University Press.
- FITCH, W.M. 1971. Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Zoology* 20: 406-416.
- ENDRESS, P.K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge; University Press. pp. 385-386.
- GARAY, L.A. 1970. A reappraisal of the genus **Oncidium** Sw. *Taxon* 19: 443-467.
- GARAY, L.A.; PABST, G.F.J. 1951. Restabelecimento do gênero

- “Ornithophora” Barb. Rodr. *Orquídea* 49-53.
- GARAY, L.A.; STACY, J.E. 1974. Synopsis of the genus *Oncidium*. *Bradea* 1 (40): 393-427.
- HOEHNE, F.C. 1942. Estudo monográfico do gênero *Theodorea* Barb. Rodr. e sua relação com gêneros afins, do Brasil. *Arquivos de Botânica do Estado de S. Paulo* I (4): 83-88.
- VAN DER PIJL, L.; DODSON, C.H. 1969. *Orchid flowers - their pollination and evolution*. Miami, Fairchild tropical Garden & University of Miami Press.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- KRÄENZLIN, F. 1922. **Orchidaceae: Oncidiinae**. In Engler, A. (ed.). *Das Pflanzenreich* 80: 87-301.
- MADDISON, W.P.; MADDISON, D.R. 2000. *MacClade: analysis of phylogeny and character evolution*, Version 4.0. Sunderland, MA; Sinauer Associates.
- NIXON, K.C.; CARPENTER, J.M. 1993. On outgroups. *Cladistics* 9: 413-426.
- PABST, G.F.J.; DUNGS, F. 1977. *Orchidaceae brasilienses*. Hildesheim: Brücke-Verlag Kurt Schmiersow. V.2. 1977. 418p.
- PFITZER, E. 1889. **Orchidaceae**. In: ENGLER, A., PRANTH, K. (eds.) *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Verlag.
- SENGHAS, K. 1998. *Die Orchideen: Subtribus Oncidiinae*. Berlin: Parey.
- SINGER, R.B. & COCUCCHI, A.A. 1999. Pollination mechanisms in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* 14(1): 47-56.
- SOLEREDER, H.; MEYER, F.J. 1930. Systematische Anatomie der Monokotyledonen. VI. Microspermae. Verlag von Gebrüder Bornträger. Translations from German by Israel program for Scientific Translations by A. Herzberg. 1969. Systematic Anatomy of the Monocotyledons. VI. Microspermae. IPST Press, Jerusalem.
- SPRUNGER, S., CRIBB, P., BRITO, A.T. 1996. *Iconographie des Orchidés du Brésil*. Basle: Verlag.
- SWOFFORD, D.L. 2002. Paup: Phylogenetics analysis using parsimony (and others

- methods), version 4.0 b 10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- TEUSCHER, H. 1975. *Baptistonia echinata*. *Am. Orch. Soc.*: 588-590.
- VOGEL, S. 1969. *Flowers offering fatty oil instead of nectar*. Proc. XI Intl. Bot. Congress, Seattle, p. 229. Abstr.
- VOGEL, S. 1974. *Ölblumen und ölsammelnde Bienen*. Akad. Wiss. Math. Naturwiss. Kl. Trop. Pflanzenwelt: Franz Steiner. 547p.
- WILLIAMS, N.H. 1979. Subsidiary cells in the **Orchidaceae**: their general distribution with special reference to development in the *Oncidiaceae*. *Bot. J. Linn. Soc.* 78: 41-66.
- WILLIAMS, N.H. 1974. The value of plant anatomy in Orchid taxonomy. In M. Ospina (Ed.), *Proceedings of the Seventh World Orchid Conference*. 281-198. Medellin, Colombia.
- WILLIAMS, N.H., DRESSLER, R.L. 1973. *Oncidium* species described by Jacquin and the typification of *Oncidium*. *Taxon* 22(2/3): 221-227.
- WILLIAMS, N.H.; CHASE, M.W.; FULCHER, T.; WHITTEN, M. 2001. Molecular systematics of the **Oncidiinae** based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtochilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, and *Trichocentrum* and a new genus (**Orchidaceae**). *Lindleyana* 16(2): 113-139.
- WITHNER, C.L.; NELSON, P.K.; WEJKSNORA, P.J. 1974. The anatomy of orchids In Withner, C.L. (ed.) *The Orchids: scientific studies*. N.Y: Wiley-Interscience Publication.
- WIRTH, M. 1964. Supraespecific variation and classification in the **Oncidiinae** (**Orchidaceae**). Ph.D. dissertation, Washington University, St. Louis, Missouri.

ANEXO 1. Espécimes do Clado “**Gomesa**” examinados para aquisição dos dados morfológicos (**MOR**), anatômicos (**A**), químicos (**Q**) e macromoleculares (**MOL**).

GRUPO EXTERNO

Oncidium altissimum

Genbank – accession number 350802 (**MOL**).

O. baueri

Genbank – accession number 350803 (**MOL**).

O. orthostates

s.l., 1998, *Williams et al.* 8175 (UFLA) (**MOL**).

O. onustum

s.l., 1998, *Williams et al. s.n.* (UFLA) (**MOL**).

CLADO “GOMESA”

Baptistonia. echinata

São Paulo, Cotia, VI.2001, *Faria et al. s.n.* (UEC 99.183) (**MOR, MOL, Q, A**); Salesópolis, IX.1994, *Shirasuna et al.* 14 (SP 303.125) (**MOR**).

Gomesa crispa

Minas Gerais, Lima Duarte, V.1998, *Andrade* 1197 (BHCB 16.696) (**MOR**); **Paraná**, Morretes, VIII.1950, *Hatschbach s.n.* (SP 69.759) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Santa Maria, VI.1995, *Breier et al. s.n.* (SMDB 5.605) (**MOR**); VI.1995, *Breier s.n.* (SMDB 5.604) (**MOR**); Saporanga, V.1991, *Nunes et al.* 1270 (PACA 71.143) (**MOR**); São Leopoldo, VI.1949, *Rambo s.n.* (PACA 42.198) (**MOR**); Veranópolis, V.1980, *Klaus & Pereira s.n.* (PACA 66.992) (**MOR**); V.1980, *Matte & Haas s.n.* (PACA 66.991) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Guanabara, V.1973, *Sucre* 9964 (RB 166.751) (**MOR**); **São Paulo**, Amparo, VII.1944, *Kublmann* 1019 (SP 50.249) (**MOR**); Atibaia, 1999, *Faria & Pansarin* 1022 (UEC 99.191) (**MOR, MOL, A**); *s.d.*, *Bernacci et al.* 28.432 (UEC 63.169) (**MOR**); Biritiba Mirim, IV.1986, *Custódio Filho* 2596 (SPSF 10.342) (**MOR**);

Botucatu, XI.1979, *Amaral* 1251 (BOTU 9.247) (**MOR**); Campinas, *s.d.*, *Taroda et al.* 18566 (UEC 43.410) (**MOR**); Jundiá, VIII.1998, *Pansarin* 272 (UEC 98.007) (**MOR, A**); V.1998, *Pansarin* 198 (UEC 97.203) (**MOR, A**); Mogi das Cruzes, V.1980, *Celi et al.* 148 (SP 163.843) (**MOR**); Piassaguera, III.1923, *Gebrt s.n.*, (SP 8.231) (**MOR**); Piracicaba, VIII.1934, *Santos* 313 (ESA 743) (**MOR**); Pirajussara, VI.1922, *Gebrt s.n.* (SP 3.063) (**MOR**); Rio Preto, VII.1989, *Grandi & Braga* 323 (BHCB 18.671) (**MOR**); Santo Amaro, VII.1942, *Krieger* 128 (SP 47.098) (**MOR**); São José do Barreiro, IV.1926, *Gebrt s.n.* (SP 17.630); (**MOR**); VI.1999, *Freitas* 685 (UEC 108.015) (**MOR**); São Paulo, VI.1940, *Handro s.n.* (SP 24.136) (**MOR**); IV. 1922, *Gebrt s.n.* (SP 8.145) (**MOR**); X.1983, *Eiten & Eiten* 2448 (SP 320.506) (**MOR**); VIII.1917, *Hoebne s.n.* (SP 392) (**MOR**); Suzano, VI.1937, *Spaet* 168 (SP 38.384) (**MOR**).

G. chrysostoma

Minas Gerais, Itamonte, VII. 2000, *Faria et al.* 1034 (UEC 100.025) (**MOR, MOL, A, Q**); **São Paulo**, Itatiaia, *Toledo & Brade* 720 (RB 1.786) (**MOR**); III.1942, *Brade* 17215 (RB 46.546) (**MOR**).

G. glaziovii

Minas Gerais, Ibitipoca, VI.1993, *Forzza* 51 (CESJ 26.557) (**MOR**); X.1993, *Forzza* 65 (CESJ 26.929) (**MOR**); Lima Duarte, XI.1987, *Souza s.n.* (BHCB 14.765) (**MOR**); **Paraná**, Quatro Barras, XI.1994, *Ribas & Cordeiro* 720 (BHCB 27.286) (**MOR**); São José dos Pinhais, XII.1995, *Hatschbach* 1996 (BHCB 34.027) (**MOR**); XII.1995, *Silva & Cordeiro s.n.* (PEL 16.363) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Macaé de Cima, I.1999, *Faria et al. s.n.* (UEC 100.117) (**MOR, MOL, A, Q**); Itatiaia, XII.1927, *Porto* 1628 (RB 260.424) (**MOR**); **São Paulo**, Salesópolis, I.1949, *Kuehn & Kublmann* 1738 (SP 47.218) (**MOR**).

G. planifolia

s.l., 1998, *Williams et al.* c36 (UFLA) (**MOL**); **Minas Gerais**, Caetés, V.1987, *Paula et al. s.n.* (BHCB 9.028) (**MOR**); Viçosa, V.1962,

s.c., (VIC 4.322) (**MOR**); São Paulo, Cunha, XII.1996, *Bertoncini et al.* 723 (UEC 115.919) (**MOR**); XII.1996, *Bertoncini et al.* 714 (ESA 38.591) (**MOR**); São Paulo, II.1995, *Leitão Filho et al.* 32876 (UEC 86.513) (**MOR**); II.1995, *Leitão Filho et al.* 33500 (UEC 86.684) (**MOR**); Ubatuba, XI.1993, *Barros 29469* (UEC 68.242) (**MOR**); III.1989, *Furlan et al.* 750 (HRCB 10.059) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, São Leopoldo, IX.1954, *Orth s.n.* (PACA 598), (**MOR**); IX.1933, *Orth s.n.* (SP 50.511) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Itatiaia, V.1935, *Brade 14629* (RB 26.157) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, VIII.1989, *Giordano & Marques 776* (UEC 115.921) (**MOR**); **Santa Catarina**, Nova Teutônia, I.1944, *Glaumann 285* (RB 53.992); (**MOR**).

Oncidium amictum

Espírito Santo, Domingos Martins, VI.2000, *Faria et al.* 1017 (UEC 100.828) (**MOR, Q**); VI.2000, *Faria et al.* 1021 (UEC 100.411) (**MOR, Q, MOL**); VI.2000, *Faria et al.* 1024 (UEC 100.819) (**MOR, A, Q**); VI.2000, *Faria et al.* 1053 (UEC 100.305) (**MOR, A, Q**).

O. ciliatum

s.l., 1998, *Williams et al.* c137 (UFLA) (**MOL**); **Minas Gerais**, Manhuaçu, V.1981, *Heringer s.n.* (IBGE 18.188) (**MOR**); **Paraná**, Capão do Leão, XI.1986, *Jarenkow 525* (PEL 9.340) (**MOR**); **Pernambuco**, *s.l.*, 2000, *Semir s.n.* (UEC 98.276) (**MOR, A, Q**); **Rio Grande do Sul**, Morro Grande, II.1952, *Rambo s.n.* (PACA 51.792) (**MOR**); Sapucaia, XI.1948, (PACA 38.363) (**MOR**); Vila Manresa, IX.1932, *Orth s.n.* (PACA 563) (**MOR**); XII.1945, *Rambo s.n.* (PACA 32.800) (**MOR**);

O. concolor

s.l., 1998, *Williams et al.* n341 (UFLA) (**MOL**); **Paraná**, Tijucas do Sul, X.1976, *Kummow 1177* (UEC 17.337) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Cerro Grande do Sul, X.1996, *Jarenkow 3199* (PEL 16.778) (**MOR**); Montenegro, IX.1954, *Bruxel s.n.* (PACA 29706) (**MOR**); Porto Alegre, XI.1932, *Orth s.n.* (PACA 998) (**MOR**); São

Francisco de Paula, IX.1958, *Camargo 110* (PACA 66.525) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Itatiaia, X.1945, *Altamiro & Walter 74* (RB 54.707) (**MOR**); Nova Friburgo, XI.1942, *Pereira 158* (RB 7.311) (**MOR**).

O. cornigerum

Rio Grande do Sul, Santa Maria, III.1996, *Breier s.n.* (SMDB 5.873) (**MOR**); 1956, *Camargo s.n.* (PACA 60.497) (**MOR**); São Gerônimo, XII.1982, *Abruzzi 752* (UEC 55.256) (**MOR**); Sapiranga, I.1991, *Nunes et al.* 1233 (PACA 71.123) (**MOR**); Vila Manresa, XII.1945, *s.c.* (PACA 32.807) (**MOR**); IX.1931, *Orth s.n.* (PACA 363) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Petrópolis, 2000, *Faria et al.* 1055 (UEC 109.104) (**MOR, MOL, A**); **Rio de Janeiro**, X.1941, *s.c.* (RB 503) (**MOR**); X.1942, *Pereira 119* (RB 46.085) (**MOR**); **São Paulo**, Jundiá, I.2003, *Pansarin 968* (UEC 129.087) (**MOR, A, Q**);

O. crispum

s.l., 1998, *Williams et al.* c76 (UFLA) (**MOL**); **Minas Gerais**, Ouro Preto, IX.1957, *Guimarães s.n.* (SPSF 3.866) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Itatiaia, XI.1927, *Porto 1575* (RB 261.386) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Osório, IX.1954, *Orth s.n.* (PACA 1.716) (**MOR**); **Santa Catarina**, I.1967, *Klein 7094* (**MOR**); **São Paulo**, Pilar, IV.1945, *Krieg s.n.* (IAC 7.798) (**MOR**).

O. croesus

s.l., 1998, *Williams et al.* n262 (UFLA) (**MOL**).

O. dasytile

s.l., 1998, *Williams et al.* c210 (UFLA) (**MOL**).

O. fimbriatum

s.l., 1998, *Williams et al.* n342 (UFLA) (**MOL**).

O. flexuosum

s.l., 1998, *Williams et al.* c98 (UFLA) (**MOL**); **Bahia**, Canavieiras, X.1989, *Silva et al.* 2625 (MBML 5.521) (**MOR**); Eunápolis, IX.1966, *Belém & Pinheiro 2605* (UB 45.342) (**MOR**);

- Guaratinga, X.1966, *Belém & Pinheiro 2544* (UB 45.341) (**MOR**); Ilhéus, IX.1965, *Belém 1773* (UB 45.344) (**MOR**); Ipiaú, X.1981, *Pinto 249/81* (URB 4.690) (**MOR**); **Espírito Santo**, Santa Teresa, IX.1994, *Chamas & Santos 262* (MBML 8.201) (**MOR**); IX.1989, *Kollmann s.n.* (MBML 5.821) (**MOR**); X.1985, *Fernandes 1531* (MBML 526) (**MOR**); Valsugana Velha, IX.1985, *Fernandes 1492* (MBML 527) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, XII.1962, *Santos et al.* (PEL 4.554) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Gravataí, III.1950, *Pabst 660* (PACA 47.427) (**MOR**); Montenegro, XII.1952, *Rambo s.n.* (PACA 52.900) (**MOR**); XII.1952, *Rambo s.n.* (PACA 52.895) (**MOR**); Pelotas, XII.1960, *Santos 181* (PACA 68.981) (**MOR**); Sapiranga, XII.1990, *Nunes et al. 1221* (PACA 71.118) (**MOR**); Porto Alegre, XI.1931, *Orth s.n.* (PACA 378) (**MOR**); Rio Grande, XI.1986, s.c. (HURG 3.354) (**MOR**); São Leopoldo, 1944, *Blessann s.n.* (PACA 27.304) (**MOR**); **São Paulo**, Bom Sucesso de Itararé, VI.1994, *Souza et al. 6189* (ESA 5.383) (**MOR**); Iguape, VI.1986, *Catharino 833* (ESA 4.547) (**MOR**); Boracéia, XII.1940, *Silva s.n.* (IAC 5.996) (**MOR**); Caraguatatuba, III.1998, *Pansarin 193* (UEC 93.537) (**MOR, Q, A**); Eldorado, IX.1995, *Rodrigues et al. 135* (ESA 26.719) (**MOR**); Juquiá, VI.1981, *Vasconcellos et al.* (UEC 12.606) (**MOR**); Nazaré Paulista, IV.1999, *Faria et al. 1040* (UEC 94.620) (**MOR, Q, A**); Paranapiacaba, VII.1998, *Faria et al. 97/648* (UEC 93.547) (**MOR, A, Q**); XI.1967, *Lima s.n.* (IPA 16.311) (**MOR**); Pariquera Açú, IV.1997, *Torres et al.* (IAC 33.074) (**MOR**); III.1995, *Ivanaukas 92* (ESA 29.011) (**MOR**), IX.1994, *Miyagi et al. 222* (ESA 2.126) (**MOR**); Peruíbe, I.1986, *Catharino 589* (ESA 4.546) (**MOR**); VI.1947, *Dedecca et al. s.n.* (IAC 8.328) (**MOR**); Salesópolis, II.1988, *Franco & Custódio Filho 417* (SPSF 11.859) (**MOR**); São Paulo, SP, II.1995, *Leitão Filho et al. 33494* (UEC 86.689) (**MOR**); Tapirái, I.1995, *Bernacci et al. 947* (IAC 29.690) (**MOR**); Ubatuba, IV.1999, *Pansarin 455* (UEC 93.848) (**MOR, A, Q**); X.1989, *Ribeiro et al. 682* (**MOR**) (HRCB 11.034); IV.1988, *Franco & Custódio Filho 418* (HRCB 8.513) (**MOR**);
- O. forbesii***
Espírito Santo, Domingos Martins, I.1992, *Kollmann 108* (MBML 6.234) (**MOR**); **Minas Gerais**, Alagoa, II.2002, *Faria & Ribeiro 1039* (UEC 100..351) (**MOR, Q, A, MOL**); Poços de Caldas, IV.1981, *Semir et al. 965* (UEC 24.051) (**MOR**); s.l., VI.1941, *Oliveira 559* (RB 2.101) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Macaé de Cima, *Faria et al. 60* (UEC 100.016) (**MOR, A, Q**) s.l., V.1978, *Silva 532* (RB 194778) (**MOR**); **São Paulo**, Bocaina, V.1968, (UEC 115926) (**MOR**); Jundiá, VI.2001, *Pansarin 850* (UEC 122.221) (**MOR, Q, A**).
- O. gracile***
Minas Gerais, Alagoa, VI.2001. *Faria et al. 975* (**MOL**); Belo Horizonte, VII.1982, *Krieger 15151* (UFJF s.n.) (**MOR**); II.1968, *Irwin s.n.* (UB 45.350) (**MOR**); Juiz de Fora, VII.1982, *Krieger 9777* (CESJ s.n.) (**MOR**); Nova Lima, s.d, *Barreto 4848* (RB 2.096) (**MOR**); s.l., III.1966, *Duarte 9703* (B 132.192) (**MOR**).
- O. hydrophylum***
Bahia, Piatá, XI.1996, *Hind & Batista 4140* (37.872) (**MOR**); **Goiás**, Alto Paraíso IV.2001, *Moraes 650* (UEC 118.981) (**MOR**); I.2001, *Pansarin & Batista 747* (UEC 117.381) (**MOR**); III.1971, *Irwin et al. 32243* (UB 45.360) (**MOR**); II.1966, *Irwin et al. 12.964* (UB 45354) (**MOR**); **Minas Gerais**, Alagoa, I.2002, *Faria & Ribeiro 1045* (UEC 100.126) (**MOR**); Carrancas, *Singer et al. s.n.* (UEC 95.095) (**MOR, MOL, A**); Itabirito, I.1994, *Teixeira s.n.* (BHC B 16.105) (**MOR**); São Roque de Minas, XI.1995, *Nakajima et al. 1577* (UFFU s.n.) (**MOR**); **Paraná**, Guarapuava, I.1976, *Hatschbach 37934* (UEC 17.339) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, s.d., *Brade 10.336* (RB 88.708) (**MOR**); **São Paulo**, Campos do Jordão, II.1982, *Amaral et al. 24* (SPSF 15.776) (**MOR**); São José do Barreiro, III.1999, *Freitas 611* (UEC 107.111) (**MOR**).
- O. hookeri***

Bahia, Morro do Chapéu, X.1978, *Martinelli et al. 5216* (RB 189323) (**MOR**); **Espírito Santo**, Domingos Martins, VI.2000, *Faria et al. 1020* (UEC 94.340) (**MOR, MOL, A, Q**); VI.2000, *Faria et al. 1038* (UEC 95.262) (**MOR, A, Q**); VI.2000, *Faria et al. 1035* (UEC 100.560) (**MOR, A, Q**); Santa Maria de Jetibá, VI.1989, *Fernandes et al. 2785* (MBML 5.634) (**MOR**); Santa Teresa, VI.1987, *Fernandes 2097* (MBML 3.750) (**MOR**); V.1984, *Pizzolo 149* (MBML 344) (**MOR**); **Minas Gerais**, Alagoa, X.2001, *Faria & Ribeiro 1011* (UEC 100.116) (**MOR**); VI.2001, *Faria & Ribeiro 1012* (UEC 100.128) (**MOR**); Camanducaia, IV.2002, *Meireles et al. 1037* (UEC 124.629) (**MOR**); Martimiano, V.1993, *Forzza & Lisboa 39* (CESJ 26.515) (**MOR**); **Paraná**, Curitiba, I.1986, *Hatschbach 07/986* (PACA 68.705) (**MOR**); São José dos Pinhais, VII.2000, *Faria et al. 1044* (UEC 98.275) (**MOR**); IV.1983, *Hatschbach 46261* (PACA 67.906) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Caxias do Sul, XII.1991, *Jasper s.n.* (PACA 71.168) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Nova Friburgo, I.1999, *Faria et al. 19* (UEC 93.978) (**MOR**); **São Paulo**, Atibaia, III.2000, *Faria et al. 1029* (UEC 100.910) (**MOR, A, Q**); Itararé, IV.1983, *Barros 1984* (UEC 41.741) (**MOR**); Jundiaí, II.2000, *Pansarin & Mickeliunas 988* (UEC 129.659) (**MOR**); XI.1999, *Pansarin 568* (UEC 110.403) (**MOR**); Tapira, V.1994, *Mello-Silva et al. 884* (UEC 85.572) (**MOR**);

O. longicornu

São Paulo, Bocaina, XII.1968, *Sucre & Braga 4268* (RB 142928) (**MOR**); Campos do Jordão, X.1999, *Faria et al. 1016* (UEC 100.124) (**MOR, A, MOL, Q**); X.1999, *Faria et al. 1019* (UEC 100.765) (**MOR, Q**); I.1956, *Rick s.n.* (RB 146354) (**MOR**); São José do Barreiro, XII.1958, *Freitas & Gajardo 499* (UEC 131.487) (**MOR**); **Minas Gerais**, Carrancas, XII.1998, *Faria et al. s.n.* (UEC 93.995) (**MOR, Q**); Monte Verde, XII.2001, *Meireles & Belinello 754* (UEC 124.642) (**MOR**); Poços de Caldas, XI.1997, *Costa s.n.* (BHCB 40985) (**MOR**); XII.1981, *Pereira 1530* (UEC 26088) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Taimbesinho, *Rambo s.n.* (PACA 49444)

(**MOR**); Vacaria, I.1951, *Sebnem s.n.* (PACA 82080) (**MOR**); I.1947, *Rambo s.n.* (PACA 34836) (**MOR**).

O. longipes

Espírito Santo, Santa Leopoldina, IX.1988, *Krause s.n.* (UEC 131.492) (**MOR**); IX.1982, *Krause s.n.* (MBML 5.490) (**MOR**); Santa Teresa, II.1988, *Kollmann 45* (MBML 5.473) (**MOR**); V.1988, *Fernandes 2479* (MBML 4.580) (**MOR**); XI.1986, *Kollmann 431* (UEC 131.493) (**MOR**); II.1986, *Boone 1123* (MBML 431) (**MOR**); **Minas Gerais**, Carrancas, XII.1998, *Faria et al. s.n.* (UEC 93.093) (**MOR**); Juiz de Fora, XI.1986, *Souza s.n.* (BHCB 16.137) (**MOR**); **Paraná**, Itoara, s.d., *Breier s.n.* (SMDB 6.106) (**MOR**); **Santa Catarina**, Rio do Meio, III.1959, *Reitz & Klein 8689* (PACA 65.157) (**MOR**); **São Paulo**, Atibaia, s.d., *Bernacci et al. 28437* (UEC 63.172) (**MOR**); Bonsucesso de Itararé, X.1993, *Souza 4549* (ESA 12243, UEC 131.494) (**MOR**); Jundiaí, X.2000, *Pansarin 725* (UEC 116.192) (**MOR, A, MOL, Q**); Pilar, I.1946, *Handro s.n.* (IAC 7.964) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Esteio, XI.1948, *Rambo s.n.* (PACA 38.362) (**MOR**); Ipanema, X.1945, *Rambo & Pabst s.n.* (PACA 30.169) (**MOR**); Rio Grande, IX.1986, *Vinagre s.n.* (HURG 2.075) (**MOR**); Torres, X.1992, *Jarenkow 2175* (PEL 13.923) (**MOR**); Vila Manresa, 1946, *Rambo s.n.* (PACA 34458) (**MOR**); XII.1945, *Rambo s.n.* (PACA 33.143) (**MOR**); X.1944, *Rambo s.n.* (PACA 26.944) (**MOR**); IX.1931, *Orth s.n.* (PACA 212) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Nova Friburgo, III.1937, *Gomes s.n.* (RB 33.919) (**MOR**);

O. macronyx

s.l., 1998, *Williams et al. c37* (UFLA) (**MOL**); **São Paulo**, Campos do Jordão, XII.1979, *Lima 1129* (RB 193.770) (**MOR**);

O. macropetalum

Goiás, Niquelândia, VI.1996, *Fonseca et al. 1031* (IBGE 38.146) (**MOR**); VII.1971, *Gifford & Fonseca 213* (UB 4-99/28) (**MOR**); 1999, s.l., s.c., (UEC 98.005) (**MOR, A**,

MOL, Q) Mato Grosso do Sul, Selvíria, *Lombardi 143* (UEC 59.585) (**MOR**).

O. pirarense

Minas Gerais, Alagoa, I.2002, *Faria & Ribeiro 1046* (UEC 100.125) (**MOR**); Caeté, XII.1986, *Grandi s.n.* (BHCB 17.400) (**MOR**); Carrancas, 1998, *Singer et al. 98/128* (UEC 95.272) (**MOR**); Diamantina, I.1989, *Irwin et al. 22340* (UB 45361) (**MOR**); VI.1999, *Faria et al. s.n.* (UEC 100.123) (**MOR, MOL, A**); XI.1937, *Barreto 9400* (RB 2.098) (**MOR**); Moeda, V.1994, *Castro s.n.* (BHCB 27.225) (**MOR**); Santa Bárbara, XII.1978, *Leitão Filho et al. 9706* (UEC 17.346) (**MOR**); Santana do Riacho, XII.1998, *Faria et al. s.n.* (UEC 103.085) (**MOR, A**); XI.1978, *Cruz et al. 6481* (UEC 17.343) (**MOR**); Santo Antonio do Itambé, II.2001, *Pansarin & Simões 814* (UEC 118.806) (**MOR, A**); Vargem do Ouro Podre, VI.1945, *Williams & Assis 7245* (RB 95.498) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Cambará, II.1948, *Rambo s.n.* (PACA 36.569) (**MOR**); Santa Catarina, I.1951, *Sebnem 5455* (PACA 82.081) (**MOR**); **São Paulo**, Atibaia, V.1997, *Singer 27* (UEC 93.927) (**MOR, A**); Campos do Jordão, IX.1976, *Davis et al. 3081* (IBGE 17.430) (**MOR**); I.1944, *Friderichs s.n.* (PACA 27.853) (**MOR**); Itararé, XI.1994, *Souza et al. 7359* (ESA 25.408) (**MOR**); Jundiá, II.2003, *Pansarin & Mickeliunas 989* (UEC 129.662) (**MOR**); Santa Luzia, II.1938, *Barreto 8910* (RB 2.100) (**MOR**);

O. praetextum

Minas Gerais, Alagoa, II.2002, *Faria & Ribeiro 1036* (UEC 100.916) (**MOR, MOL, Q**); Carrancas, 1999, *Singer et al. 98/125 B*. (UEC 98.002) (**MOR, Q, A**); Itabirito, X.1995, *Teixeira 10/95* (BHCB 26.350) (**MOR**); **Paraná**, Curitiba, 1947. *Guimarães s.n.* (RB 67.710) (**MOR**); **Pernambuco**, s.l., V.1975, *Heringer 985* (IPA 19.872) (**MOR**); **São Paulo**, Atibaia, VI.1997, *Singer et al. s.n.* (UEC 95.060) (**MOR**); s.d., *Bernacci et al. 28.436* (UEC 63.173) (**MOR**); Cotia, VI.2000, *Belinello s.n.* (UEC 100.118) (**MOR**); São José do Barreiro, XII.1998, *Freitas & Gajardo 500* (UEC s.n.) (**MOR**); Ubatuba, I.2000, *Singer & Simões s.n.* (UEC 99.156)

(**MOR**); **Rio de Janeiro**, Teresópolis, XI.1999, *Pansarin et al. 503* (UEC 95.097) (**MOR**).

O. pubes

Espírito Santo, Santa Teresa, VIII.1990, (MBML 6.118) (**MOR**); **Minas Gerais**, Carrancas, VIII.1999, *Singer et al. s.n.* (UEC 95.102) (**MOR, A, Q**); **São Paulo**, Atibaia, *Faria et al. 1023* (UEC 100.966) (**MOR, MOL, Q, A**); Campinas, VI.2000, *Santos & Belinello s.n.* (UEC 109.103) (**MOR**); IX.1939, *Gebert s.n.* (IAC 3.107) (**MOR**); I.1940, *Blanco s.n.* (IAC 3.222) (**MOR**); Jundiá, IX.2003, *Pansarin & Mickeliunas 1078* (UEC) (**MOR**); XI.1999, *Pansarin 547* (UEC 110.433) (**MOR**); IX.1998, *Pansarin 314* (UEC 100.306) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Itatiaia, II.1948, *Brade 20158* (RB 71.462) (**MOR**).

O. raniferum

s.l., 1998, *Williams et al. c38* (UFLA) (**MOL**); **Bahia**, Rio do Meio, III.2000, *Koehler s.n.* (UEC 100.578) (**MOR, A**); **Paraná**, Palmeira, I.1966, *Hatschbach 13478* (UEC 17.341) (**MOR**); Piraquara, I.1947, *Hatschbach 576* (PACA 37.277) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Cambará do Sul, XI.1988, *Jarenkow & Bueno 1190* (PEL 11.257) (**MOR**); II.1948, *Rambo s.n.* (PACA 36.585) (**MOR**); Caracol, 1941, *Enrich s.n.*, (PACA 2.779) (**MOR**), São Francisco de Paula, I.1955, *Rambo s.n.* (PACA 56.406) (**MOR**); São Leopoldo, XI.1937, *Rambo s.n.* (PACA 679) (**MOR**); Taimbesinho, XII.1950, *Rambo s.n.* (PACA 45.558) (**MOR**); XII.1950, *Rambo s.n.* (PACA 49.427) (**MOR**); Vila Manresa, III.1944, *Orth s.n.*, PACA 1703) (**MOR**); Vila Oliva, I.1946, *Rambo s.n.* (PACA 30.982) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Petrópolis, 1947, *Góes 65* (RB 83.423) (**MOR**); **Santa Catarina**, Mafra, I.1953, s.c. (HBR 5.258) (**MOR**).

O. sarcodes

São Paulo, Botucatu, X.1972, *Amaral 1188* (BOTU 6655, UEC 131.919) (**MOR**); Jundiá, XI.1998, *Pansarin 315* (UEC 93.953) (**MOR, MOL, Q, A**); XI.1997, *Pansarin & Singer 77* (UEC 95.449) (**MOR**).

O. spilopterum

Minas Gerais, Caeté, I.1996, *Souza et al. 10049* (UEC 131.488) (**MOR**); Jaboticatubas, II.1972, *Sazima 13394* (UEC 34.813) (**MOR**); XII.1971, *Semir & Oliveira 13.423* (UEC 35.312) (**MOR**); XII.1971, *Sazima 13383* (UEC 35.080) (**MOR**); XI.1971, *Sazima 13362* (UEC 35.079) (**MOR**); Santana do Riacho, XII.1998, *Faria et al. 98/32* (UEC 93.992) (**MOR, MOL, A**); IV.1997, *Souza et al. 2194* (ESA 41.368) (**MOR**); I.1996, *Souza et al. 10275* (ESA 40.014) (**MOR**); V.1995, *Borba 155* (UEC 74.739) (**MOR**); I.1995, *Souza et al. 10270* (ESA 39.321) (**MOR**); IV.1978, *Lima 364* (RB 193.597) (**MOR**); IV.1950, *Duarte 2673* (UEC 115.923) (**MOR**); IV.1935, *Barreto 669* (RB 18.733) (**MOR**); Santo Antonio do Itambé, IV.1998, *Souza et al. 21088* (ESA 41.269) (**MOR**).

O. truncatum

Mato Grosso, *s.d., s.c.* (RB 8.7421-Tipo!) (**MOR**); **Minas Gerais**, Carrancas, XII.1997, *Faria et al. 1025* (UEC 109.102) (**MOR, MOL, A, Q**); *s.d., Singer et al. s.n.* (UEC 94.985); (**MOR, A**) **Rio de Janeiro**, Itatiaia, *s.d., Porto 1682* (RB 193.702) (**MOR**); Petrópolis, I.1973, *Martinelli 142* (RB 193.601) (**MOR**).

O. viperinum

s.l., 1998, *Williams et al. n441* (UFLA) (**MOL**).

O. warmingii

Bahia, Catolés, II.1994, *Atkins et al. s.n.* (ESA 22.857) (**MOR**); **Minas Gerais**, Alagoa, *Faria & Ribeiro 1041* (UEC 100.452) (**MOR, MOL, A**); I.2002, *Faria & Ribeiro 1047* (UEC 100.911) (**MOR, Q**); Carrancas, 1999, *Faria et al. s.n.* (UEC 98.004) (**MOR**); Conceição do Ibitipoca, III.1994, *Forzza 85* (CESJ 27.315) (**MOR**); Ouro Preto, X.1990, *Stbelmann et al. s.n.* (BHCB 27.769) (**MOR**); I.1942, *Magalhães 1117* (BHCB 39.310) (**MOR**); IV.1990, *Tombolato et al. 23.402* (UEC 62.585) (**MOR**); Santa Bárbara, I.1996, *Souza et al. 10003* (ESA 27.549)

(**MOR**); XII.1978, *Leitão Filho et al. 9603* (UEC 17.345) (**MOR**); III.1990, *Ferreira et al. 230* (UEC 54.875) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Petrópolis, XI.1977, *Martinelli 3572* (RB 193.255) (**MOR**); **São Paulo**, Silveiras, VIII.1980, *Shepherd et al. 12.839* (UEC 25.001) (**MOR**).

O. welteri

Minas Gerais, Camanducaia, XII.2001, *Meirelles & Belinello 833* (UEC 124.733) (**MOR**); Carrancas, 1999, *Faria et al. s.n.* (UEC 98.277) (**MOR, Q**); Poços de Caldas, IV.1981, *Semir et al. 965* (UEC 24.051) (**MOR**); **São Paulo**, Campos do Jordão, VII.1999, *Faria et al. 1015* (UEC 100.127) (**MOR, MOL, A, Q**); IX.1976, *Davis et al. 3081* (UEC 17.344) (**MOR**).

Ornithophora radicans

s.l., 1998, *Williams et al. n519* (UFLA *s.n.*) (**MOL**); **São Paulo**, São Paulo, II.1995, *Leitão Filho 33489* (UEC 86.682) (**MOR**); Ubatuba, VIII.2001, *Faria & Ribeiro 1037* (UEC 100.496) (**MOR, A, Q**); **Rio de Janeiro**, Petrópolis, *Faria et al. 1028* (UEC 100.863) (**MOR**);

Rodrigueziela gomesoides

s.l., 1998, *Williams et al. s.n.* (UFLA) (**MOL**); **Espírito Santo**, Domingos Martins, I.1992, *Kollmann & Loss s.n.* (MBML 6.239) (**MOR**); **Minas Gerais**, Alagoa, X.2001, *Faria & Ribeiro 1033* (UEC 94.554) (**MOR, Q**); **Rio de Janeiro**, Macaé, *s.d., Farny et al 252* (RB 214802); Petrópolis, 2000, *Faria et al. 1048* (UEC 100.574) (**MOR, A**); **Santa Catarina**, Araranguá, XII.1943, *Reitz 334* (RB 50.166) (**MOR**); **São Paulo**, Jundiaí, I.2001, *Pansarin 771* (UEC 122.208) (**MOR**); **Rio Grande do Sul**, Bom Jesus, I.1942, *Rambo s.n.* (PACA 49.426) (**MOR**).

Rodrigueziopsis eleuthereusepala

s.l., 1998, *Williams et al. s.n.* (UFLA *s.n.*) (**MOL**); **Paraná**, Guaricana, II.1976, *Hatschbach 38117* (UEC 17.302) (**MOR**); **Rio de Janeiro**, Macaé de Cima, 1999, *Faria et al. 53* (UEC 98.006) (**MOR, A**).

***Oncidium* sp. 1**

s.l., 1998, *Williams et al. c660* (UFLA) (**MOL**).

***Oncidium* sp. 2**

s.l., 1998, *Williams et al. o8171* (UFLA)
(**MOL**).

***Oncidium* sp. 3**

s.l., 1998, *Williams et al. n321* (UFLA)
(**MOL**).

ANEXO 2. Caracteres e seus estados dos espécimes do Clado “**Gomesa**” utilizados para as análises filogenéticas com dados não moleculares e com dados combinados.

HÁBITAT

1. Habitat: 0. (Floresta pluvial) 1. (Cerrado/Campo rupestre).

HÁBITO

2. Hábito: 0. (Epífita) 1. (Terrestre/Rupícola).
 3. Disposição dos pseudobulbos: 0. (Agregados) 1. (Espaçados).
 4. Pseudobulbos fusiformes: 0. (Não) 1. (Sim).
 5. Brácteas foliáceas articuladas envolvendo os pseudobulbos: 0. (Presentes) 1. (Ausentes).

FOLHAS

6. Consistência da folha: 0. (Coriácea/Cartilaginosa/Flexível) 1. (Macia-flácida).
 7. Comprimento das células da epiderme: 0. (> que 0,8µm) 1. (Até 0,5µm).
 8. Presença de estômatos: 0. (Ambas as faces) 1. (Apenas face abaxial).
 9. Forma das células-guarda dos estômatos: 0. (Arredondadas) 1. (Elípticas).
 10. Camadas de células alongadas entre os estômatos: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 11. Papilas nas células epidérmicas das lâminas foliares: 0. (Presentes) 1. (Ausentes).
 12. Mesofilo: 0. (Heterogêneo) 1. (Homogêneo).

FLORES

13. Labelo articulado: 0. (Não) 1. (Sim).
 14. Comprimento do labelo (mm): 0. (Mais que 10mm) 1. (Até 8mm).
 15. Labelo: 0. (Plano/Reto) 1. (Dobrado para baixo).
 16. Forma do labelo: 0. (Lobado) 1. (Inteiro).
 17. Fímbrias no istmo do labelo: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 18. Comprimento do calo em relação ao comprimento do labelo: 0. (< ½ do compr. labelo) 1. (ca. da ½ do compr. do labelo) 2. (> ½ do compr. do labelo).
 19. Tipo do elaióforo: 0. (Epidérmico) 1. (Tricomáceo).
 20. Cutícula que reveste o elaióforo: 0. (Permeável ao óleo) 1. (Impermeável ao óleo).
 21. Forma do ápice da antera: 0. (Agudo/Subagudo) 1. (Truncado) 2. (Arredondado) 3. (Emarginado).
 22. Ápice da antera: 0. (Inteiro) 1. (Bífido).
 23. Ápice da antera: 0. (Involuta) 1. (Revoluta) 2. (Reto).
 24. Comprimento do polinário (mm): 0. (Mais que 3mm) 1. (Até 2,5mm).
 25. Forma do estipe: 0. (Estreitamente oblongo) 1. (Lanceolado) 2. (Oboval).
 26. Ápice do estipe: 0. (Agudo a subagudo) 1. (Arredondado).
 27. Forma da coluna: 0. (Comprimento ca. de 2 X > que a largura) 1. (Comprimento 3-4 X > que a largura) 2. (Delgada, comprimento + que 5x > que a largura).
 28. Asas na coluna: 0. (Proeminentes) 1. (Pequenas ou rudimentares) 2. (Ausentes).
 29. Asas da coluna (qdo. presentes): 0. (Voltadas para cima) 1. (Voltadas para frente) 2. (Voltadas para os lados).
 30. Borda do clinândrio: 0. (Plana) 1. (Elevada).
 31. Estigma: 0. (Comprimento > que largura) 1. (Isodiamétrico) 2. (Largura > que comprimento).

32. Tricomas na margem do estigma: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 33. Tábula infraestigmática: 0. (Presente) 1. (Ausente).

CARACTERES QUÍMICOS DAS SECREÇÕES FLORAIS

34. Acilgliceróis: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 35. Sesquiterpenos: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 36. Esteróides: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 37. Tocoferóis: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 38. Composto X: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 39. Monoterpenos: 0. (Ausentes) 1. (Presentes).
 40. Compostos nitrogenados indólicos: 0. (Presentes) 1. (Ausentes).
 41. Ésteres derivados de ácidos graxos: 0. (Presentes) 1. (Ausentes).

ANEXO 4. COMPARAÇÃO ENTRE A CLASSIFICAÇÃO INFRAGENÉRICA DE *ONCIDIUM* DE GARAY & STACY (1974), CORRENTEMENTE UTILIZADA, E OS SISTEMAS: DE PFITZER (1889), SENGHAS (1998) E O PROPOSTO NO PRESENTE TRABALHO.

Pfitzer (1889)

Seção **Barbata** Lindl. ► 11 spp. (incluindo espécies das seções **Barbata** e **Synsepala** de Garay & Stacy).

Seção **Synsepala** Phitz ► 28 spp. (incluindo espécies das seções **Synsepala**, **Concoloria**, **Waluewa**, **Rhinocerotes**, **Paucituberculata** de Garay & Stacy e espécies do gênero *Odontoglossum*).

Seção **Crispa** Rchb.f. ► 19 spp. (incluindo *Baptistonia echinata* e espécies das seções **Waluewa**, **Crispa** e **Synsepala** de Garay & Stacy).

Seção **Macropetala** Lindl. ► 5 spp. (incluindo espécies das seções **Excavata**, **Crispa**, **Waluewa**, **Rostrata**, **Plurituberculata** de Garay & Stacy).

Seção **Integrilabia** Lindl. ► 9 spp. (incluindo espécies das seções **Synsepala**, **Plurituberculata**, **Concoloria**, **Planilabria**, **Cimicifera**, **Solenidium** e **Paucituberculata** de Garay & Stacy).

Seção **Basilata** Lindl. ► 6 spp. (incluindo espécies das seções **Paucituberculata**, **Rostrata**, **Heterantha** e **Planilabria** de Garay & Stacy).

Seção **Plurituberculata** Lindl. ► 20 spp. (incluindo espécies das seções **Heterantha**, **Rostrata**, **Planilabria**, **Planifolia**, **Plurituberculata**, **Oblongata**, **Synsepala**, **Barbata** de Garay & Stacy).

Senghas (1998)

Seção **Barbata** ► 11 spp. (= Garay & Stacy 1974).

Seção **Concoloria** ► 9 spp. (incluindo espécies da Seção **Onusta** Garay & Stacy 1974)

Seção **Crispa** ► 13 spp. (= Garay & Stacy 1974).

Seção **Paucituberculata** ► 7 spp. (= Garay & Stacy 1974).

Seção **Rhinocerotes** ► 3 spp. (= Garay & Stacy 1974).

Seção **Synsepala** ► 8 spp. (= Garay & Stacy 1974).

Seção **Waluewa** ► 13 spp. (= Garay & Stacy 1974).

Gênero *Baptistonia* ► 1 sp. (= Garay & Stacy 1974).

Faria (2003)

Clado “**Barbata**” ► = Garay & Stacy 1974.

Clado “**Concoloria**” ► = Garay & Stacy 1974, incluindo espécies da Seção **Crispa**.

Clado “**Synsepala**” ► = Garay & Stacy 1974, com exclusão do *Oncidium walteri*.

Clado “**Baptistonia**” ► incluindo espécies da seção **Waluewa** e *O. sarcodes*. da Seção **Crispa**.

Clado “**Rhinocerotes**” ► incluindo parte das espécies da Seção **Paucituberculata**, *Oncidium walteri*, da seção **Synsepala** e *Ornithophora radicans*.

2.

ELAIÓFOROS EM ESPÉCIES DO CLADO "GOMESA" (ONCIDIINAE): ESTRUTURA ANATÔMICA, HISTOQUÍMICA, DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS SECRETADAS E UTILIDADE PARA A TAXONOMIA

INTRODUÇÃO

São inúmeros os estudos realizados sobre a biologia floral e a biologia da polinização de diferentes espécies de angiospermas, muitos desses, com **Orchidaceae** (Van der Pijl & Dodson 1966, Dressler 1993, Endress 1994). Esses trabalhos mostram que diferentes polinizadores estão, geralmente, associados à diversidade e complexidade floral e aos diferentes tipos de recompensa "oferecidos" pelas flores. Dentre essas substâncias, néctar e pólen têm sido os mais investigados (Simpson & Neff 1981, Buchmann 1987), sendo bastante conhecida a importância desses recursos para a sobrevivência das abelhas e para a biologia reprodutiva de muitas plantas (Kevan & Baker 1983). Entretanto, algumas flores não produzem néctar, mas lipídios, uma das formas alternativas de recompensa aos polinizadores (Vogel 1969, 1974; Simpson & Neff 1981).

Óleos florais não voláteis são produzidos em estruturas glandulares denominadas elaióforos, classificadas como estruturas secretoras externas por revestir regiões diferenciadas do perianto/perigônio, sendo encontradas sob dois

tipos definidos: epidermal e tricomáceo (Vogel 1969, 1974).

Nos elaióforos epidermais, células epidérmicas em paliçada são secretoras. Esse é o tipo de elaióforo predominante em angiospermas, sendo encontrado em **Krameriaceae**, **Malpighiaceae** e algumas **Orchidaceae**. O tipo tricomáceo consiste de áreas com inúmeros tricomas glandulares, sendo encontrados na forma de tricomas unicelulares em **Iridaceae** e **Orchidaceae**, e de tricomas multicelulares em **Cucurbitaceae**, **Primulaceae**, **Scrophulariaceae**, **Solanaceae** e **Orchidaceae** (Buchmann 1987; Endress 1994).

Elaióforos surgiram de forma independente nessas famílias de Angiospermas e são encontrados mais comumente, mas não exclusivamente, em flores de espécies de savanas e de florestas tropicais (Buchmann 1987). Em **Orchidaceae**, elaióforos surgiram independentemente em alguns grupos das subfamílias **Orchidoideae** e

Epidendroideae Lindl. *sensu* Dressler (1993)
(Tab. 1).

ORCHIDOIDEAE

TRIBO DISEAE Dressler

SUBTRIBO CORYCIINAE Bentham

Anochilus Rolfe²

Ceratandra Lindl.²

Corycium Sw.²

Disperis Sw.²

Pterygodium Sw.²

SUBTRIBO HUTTONAEINAE

Huttonaea Harvey²

EPIDENDROIDEAE

TRIBO MAXILLARIEAE Pfitzer

SUBTRIBO ONCIDIINAE Benth.

Oncidium Sw.^{1,2,3,4,5,6}

Sigmatostalix Barb. Rodr.^{1,2,4,5,6}

Cyrtorchilum H.B.K.^{1,7}

Ornithocephalus Hooker²

Phymatidium Lindl.^{2,7}

Zigostates Lindl.^{1,2,5,7}

Tabela 1: Táxons de **Orchidaceae** em que foi verificada a presença de elaióforos. 1. Vogel 1974; 2. Buchmann 1987; 3. Chase 1986; 4. Dressler 1993; 5. Endress 1994; 6. Singer & Cocucci 1999; 7. Toscano de Brito 2001.

A morfologia das glândulas produtoras de óleo, presentes nas peças florais varia de acordo com o táxon podendo ser fonte de caracteres para estudos taxonômicos e filogenéticos (Endress 1994). Da mesma forma, a identidade de alguns compostos químicos produzidos por plantas também pode fornecer evidências a respeito de seu relacionamento filogenético. Além disso, o estudo da evolução de sua ocorrência, assim como o de sua composição, nas espécies de diferentes grupos taxonômicos é, sem dúvida, extremamente interessante.

Em relação ao gênero neotropical *Oncidium*, são raros os trabalhos que se referem à sua biologia

de polinização (Singer & Cocucci 1999), estrutura anatômica da região secretora do labelo (Vogel 1974, Singer & Cocucci 1999) e composição química da substância secretada pelos elaióforos presentes nos labelos das flores de suas espécies (Vogel 1974, Reis et al. 2000). O gênero *Oncidium* compreende cerca de 300 espécies (Senghas 1998) distribuídas, principalmente, pelas regiões tropicais das Américas, sendo que, dessas, ca. de 100 são nativas do Brasil. Em sua acepção tradicional, trata-se de um gênero, reconhecidamente, polifilético (Dressler 1993, Chase 1986), o que foi atribuído à possível convergência dos caracteres florais a um mesmo tipo de polinizador (Chase 1986). A maioria das espécies é epífita, mas algumas são facultativa ou exclusivamente terrestres. Suas flores são, geralmente, amarelas, muitas vezes com marcas castanho-oliváceas ou castanho-avermelhadas, ou castanhas com manchas amarelas e, mais raramente, rosas, púrpuras ou brancas. Independente da cor da flor, as espécies do gênero apresentam uma elevação bastante complexa na base do labelo, às vezes, podendo alcançar seu ápice, denominada calo (**Figs. 1B, 2B, 3A-B e D-H**). Essa estrutura apresenta grande variação na forma, coloração e tamanho, podendo caracterizar espécies, e é nela que se localizam os elaióforos.

Provavelmente devido aos relatos de Dodson & Frymire (1961) e Van der Pijl & Dodson (1966), a história das investigações sobre o sistema de polinização de espécies de *Oncidium* pode ser considerada como uma sucessão de enganos. Dodson & Frymire (1961) afirmaram terem observado a ocorrência de visita por engano e pseudoantagonismo, ação agressiva de insetos contra flores, em flores de espécies de *Oncidium*. Já van der Pijl & Dodson (1966) observaram abelhas machos do gênero *Centris* (Apidae) “atacando” flores de *O. hyphaematicum* Rchb.f. e *O. planilabre* Lindl. na zona costeira do Equador. Essas abelhas são territorialistas e atacam outros insetos que entram em sua área. Segundo os autores, como as inflorescências de *Oncidium* são arqueadas, as flores podem balançar facilmente ao vento. Quando isso ocorre dentro do território das abelhas, elas atacam essas flores com grande precisão. Segundo os autores, essa ação é extremamente precisa, levando à polinização. Afirmam ainda que, diferentemente dos machos, as abelhas fêmeas de *Centris* visitam flor por flor sem as atacar, dirigindo-se à sua região central e que é interessante e talvez significativo que essas abelhas são muito comumente encontradas visitando flores de **Malphiaceae**, uma família de dicotiledôneas que são marcadamente similares em cor e forma àquelas de muitas espécies de *Oncidium*.

Van der Pijl & Dodson (1966) também afirmaram não terem encontrado nenhuma evidência de que abelhas se alimentem de

substâncias contidas no calo do labelo de orquídeas durante o processo de polinização. Segundo esses autores, óleos e proteínas florais deveriam ser substâncias metabólicas utilizadas para produção de aromas, e todas as evidências por eles observadas indicaram que polinizadores, pelo menos nas Américas do Sul e Central, não estariam interessados em produtos do calo como alimento e que os numerosos relatos de abelhas raspando o calo de orquídeas, provavelmente, seriam errôneos.

Os primeiros registros sobre secreção produzida por peças florais de *Oncidium* datam do início do século XX. Fritz Müller (*apud* Porsch 1905), observou que flores de *O. flexuosum* Sims, presentes nas matas do sul do Brasil, possuem “mamilas nutritivas” no labelo e que essas eram raspadas por insetos, e Gellert (1923) e Kirchener (1925) verificaram que flores de *O. pubes* Lindl. e *O. longicornu* Mutel, respectivamente, produziam muito óleo e que esse ficava disponível sobre o labelo.

Apesar desses registros, apenas em 1974 foi relatado por Vogel que a substância produzida pelas glândulas florais de uma espécie de *Oncidium*, *O. ornithorrhyncum* Kunth, era de natureza lipídica. Esse autor apresentou a composição química dos óleos florais e a estrutura anatômica do elaióforo dessa espécie, além de comentários sobre a

estrutura anatômica dos elaióforos epidérmicos das espécies *O. insculptum* Rchb.f., *O. serratum* Lindl. e *O. viperinum* Lindl. Neste trabalho, Vogel considerou que, apesar do grande número de espécies que compreendem o gênero *Oncidium*, apenas um pequeno número delas apresentaria elaióforos. Chase (1986), da mesma forma, considerou que a maioria das espécies oncioides não ofereceria recompensa a seus polinizadores. Segundo esse autor, flores oleíferas ocorreriam apenas em algumas espécies de *Oncidium* das seções *Concoloria* e *Plurituberculata*, em todas as espécies do gênero das seções *Paucituberculata* e *Rhinocerotes* (*sensu* Garay & Stacy 1974) e nas espécies do gênero *Sigmatostalix*. O autor afirma que a produção de óleos florais seria uma condição derivada e que a ausência da tábula infraestigmática seria uma condição associada a ela.

Flores que oferecem óleo como recompensa são visitadas e polinizadas por abelhas altamente especializadas da família *Apidae* (Michener 2000). Essas espécies de abelhas ocorrem tanto no Novo como no Velho Mundo e apresentam maior diversidade nas regiões tropicais e subtropicais (Frankie 1976). Os gêneros de abelhas que compreendem os maiores números de espécies coletoras de óleo são *Centris*, *Ptilotopus* e *Epicharis*. Além disso, outros gêneros já foram confirmados: *Chalepogenus*, *Lanthanomelissa*, *Monoeca*, *Paratetrapedia*, *Tapinotaspis* e *Tetrapedia*. Quase todas as fêmeas destas abelhas possuem adaptações morfológicas na forma de

cerdas, em suas patas dianteiras e medianas, que servem para romper elaióforos ou para raspar o óleo livre depositado sobre a glândula (Buchmann 1987). Os óleos coletados por abelhas fêmeas são transportados para os ninhos em escopas presentes nas patas traseiras. Machos de *Paratetrapedia* e *Tetrapedia* também possuem adaptações morfológicas nas patas, estando aptos a efetuar coleta de óleos, como verificado por Cocucci (1991), Vogel & Machado (1991) e Singer & Cocucci (1999). Acredita-se que as abelhas utilizem esses óleos, altamente energéticos, para diferentes fins: algumas utilizam-nos em substituição ou adicionados ao néctar em suas provisões de pólen oferecidas às suas larvas; outras utilizam-nos não apenas para suprimento larval, mas também para impermeabilização de seu ninho e, provavelmente, até mesmo para sua própria alimentação (Buchmann, 1987; Frankie et al. 1990).

Mesmo com essas importantes contribuições, são raros os estudos efetuados com polinização de espécies de *Oncidium* em todo o mundo. Apenas recentemente, mais de 20 anos após a publicação de Vogel sobre elaióforos, foi verificada a coleta de óleos de flores de *Oncidium* por abelhas machos de *Tetrapedia diversipes* (Singer & Cocucci 1999).

Foram essas, até então, as contribuições para o conhecimento da estrutura anatômica dos elaióforos e da composição química de suas secreções, além de sua função ecológica, para espécies de *Oncidium*.

O presente trabalho propôs-se a investigar caracteres anatômicos dos elaióforos de *O. pubes* e *O. flexuosum*, que representam um padrão do que ocorre nas demais espécies do gênero. A escolha dessas espécies deu-se em razão das formas bastante distintas de seus calos e por disponibilizarem o óleo de diferentes formas: em *O. pubes* o óleo apresenta-se livre sobre o labelo e, em *O. flexuosum*, no interior de centenas de tricomas que precisam ser raspados para liberá-lo.

Oncidium pubes, uma das espécies da Seção *Waluewa sensu* Garay & Stacy (1974), apresenta inflorescência pêndula em forma de panícula com até 100 flores castanho-brilhantes. Cada flor tem cerca de dois centímetros de diâmetro (**Fig. 1A**). Nessa espécie, o calo consiste, em sua região basal, de uma área elevada e ondulada, seguida em direção ao seu ápice por duas grandes lamelas lisas e brilhantes, onde se acumula, visivelmente, uma considerável quantidade de óleo (**Fig. 1B**). Floresce de junho a outubro.

Oncidium flexuosum é uma das espécies da Seção *Synsejala sensu* Garay & Stacy (1974). Também apresenta inflorescência em forma de panícula, mas ereta ou recurvada, formada, freqüentemente, por mais de 100 flores de coloração amarelo-ouro com cerca de um centímetro de diâmetro cada (**Fig. 2A**). É possível

observar uma região repleta de pequenos tricomas logo abaixo da tábula infraestigmática, seguida por uma estrutura calosa sem forma definida (**Fig. 2B**). Floresce praticamente durante todo o ano. Ambas as espécies são muito comuns em matas semidecíduas da região sudeste do Brasil.

O presente trabalho teve como objetivos:

1. caracterizar a estrutura anatômica dos elaióforos de *O. flexuosum* e *O. pubes*;
2. determinar os tecidos envolvidos na secreção dos óleos não voláteis através da aplicação de testes histoquímicos;
3. analisar a composição química dos óleos florais de *O. flexuosum* e *O. pubes* e de outras espécies do Clado “Gomesa”;
4. comparar os dados obtidos com aqueles disponíveis na literatura;
5. comparar os tipos de elaióforos das duas espécies com os presentes em espécies proximamente relacionadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo anatômico, flores em antese foram selecionadas a partir de espécimes cultivados há mais de dois anos na casa de vegetação do Departamento de Botânica da Universidade Estadual de

Campinas. O material testemunho encontra-se depositado no Herbário UEC (**Anexo 1**).

Para a obtenção de cortes histológicos, foi isolada a região do calo do labelo de flores frescas e fixadas; os cortes provenientes das flores fixadas em FAA (Johansen 1940) e em formalina neutra tamponada (Clark 1973) foram obtidos em micrótomo rotativo após inclusão em parafina e aqueles provenientes das flores frescas foram obtidos à mão livre.

As peças fixadas foram desidratadas em série butílica, incluídas em parafina e seccionadas, tanto transversal quanto longitudinalmente. Os cortes provenientes das peças fixadas em FAA foram corados com Safranina e Azul de Astra (Gerlach 1969) e as lâminas montadas em resina sintética; aqueles provenientes das peças fixadas em formalina neutra tamponada foram corados com *Sudan Black B* para detecção de lipídios totais e as lâminas montadas em gelatina glicerinada (Pearse 1968).

Para localizar a área glandular dos elaióforos, alguns testes histoquímicos foram empregados. Os cortes transversais obtidos à mão livre foram corados com *Nile Blue* (Cain 1947) para detecção de lipídios ácidos e neutros (Jensen 1962) e corados com *Sudan Black B* e Vermelho Neutro sob luz ultravioleta (Clark 1981), para detecção de lipídios totais; controles padrões foram realizados para todas as análises.

As ilustrações foram obtidas em microscópio Olympus BX 50 e em microscópio de fluorescência Leitz Diaplan equipado com lâmpada

de mercúrio HBO 50W e filtro de bloqueio A₂ (filtro excitador BP 270-380, espelho divisor RKP 380, filtro ocluser BP 410-580). As escalas foram obtidas através da projeção de lâmina micrométrica nas mesmas condições ópticas utilizadas para as ilustrações.

As análises da composição química das substâncias secretadas pelas glândulas do labelo das espécies do Clado “**Gomesa**” foram realizadas no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da UNICAMP. A coleta das secreções foi realizada com a utilização de pequenos tubos capilares introduzidos no calo dos labelos, região de ocorrência das glândulas e com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Em alguns casos também foram utilizadas tiras de papel de filtro, previamente tratadas, para a coleta das secreções. O método utilizado para a identificação dos constituintes foi a Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em *O. pubes*, toda a extensão do calo do labelo (**Fig. 1B**) é recoberta por uma secreção incolor liberada sob a forma de gotas (**Figs. 1C e 1I**). O tecido envolvido na produção dessa secreção é uma epiderme em paliçada constituída por uma camada de células alongadas, dispostas

perpendicularmente à superfície do calo que apresentam citoplasma denso (**Figs. 1D-G**); algumas células do parênquima subepidérmico também podem estar envolvidas na secreção de material lipofílico (**Figs. 1J-1K**). A localização das células secretoras foi efetuada através de testes histoquímicos. A secreção observada no interior das células epidérmicas, no espaço subcuticular e sobre a cutícula que recobre o calo apresentou resultado positivo para lipídios, com coloração castanho-escuro pelo Sudan Black B (**Figs. 1E-1G**), com coloração púrpura quando tratada pelo Nile Blue (**Figs. 1H-1I**), e com fluorescência secundária amarela pelo Neutral Red (**Fig. 1K**); a autofluorescência também foi registrada (**Fig. 1J**). Esse tipo de elaióforo é semelhante ao relatado por Vogel (1974) para *O. ornithorhynchum*: epidermal e com cutícula permeável ao óleo. Segundo Vogel (1974), em *O. ornithorhynchum*, o óleo é secretado por células epidérmicas, unisseriadas. Ele atravessa uma cutícula delgada, aparentemente, sem causar nenhuma lesão, aos poucos, durante cerca de 14 dias. Em *O. pubes*, o tempo de secreção das glândulas também é de aproximadamente duas semanas.

Em *O. flexuosum*, nenhuma secreção recobre o calo do labelo (**Fig. 2B**); uma secreção amarela foi observada apenas no interior dos tricomas que recobrem o calo (**Fig. 2C**). O tecido envolvido na produção desta secreção também é a epiderme; nesse caso, ela é constituída por dois tipos de tricomas unicelulares: 1. Tricomas filamentosos longos, com a forma do ápice variando de globóide

a espatulada (**Figs. 2C-2G**); 2. Papilas com ápice agudo (**Fig. 2H**). A secreção apresentou coloração azul marinho quando tratada pelo Sudan Black B (**Figs. 2F, 2H**) e coloração rosa (lipídios neutros) pelo Nile Blue (**Figs. 2D, 2E**); nos cortes, previamente, tratados com mistura de metanol:clorofórmio (1:1), a secreção foi extraída do interior dos tricomas (**Fig. 2G**). Esse elaióforo é do tipo tricomáceo sendo, comumente, observado em espécies de “*Ornithocephalinae*” (Vogel 1974; Dressler 1993; Toscano de Brito 2001), grupo atualmente considerado como parte de *Oncidiinae* (Williams et al. 2001) e, pela primeira vez, é relatado para uma espécie de *Oncidium*. A secreção de óleos nos tricomas de *O. flexuosum* começa a ocorrer na antese, estendendo-se por cerca de 20 dias, tempo em que as flores permanecem vistosas.

As análises químicas revelaram que os óleos de *O. pubes* são constituídos, principalmente, por acilgliceróis e os de *O. flexuosum*, por ácidos graxos livres e isoprenóides não voláteis como um triterpeno (esqualeno) e esteróides (estignasterol e clionasterol).

Como foi mencionado, Vogel (1974) e Chase (1986) relataram que apenas um pequeno número de espécies de *Oncidium* “ofereceriam” recompensa a seus polinizadores. Ao contrário, verificamos que

todas as espécies brasileiras do gênero, analisadas até o presente, apresentam elaióforos tricomáceos (por ex.: **Figs. 3A-D**) ou epidermais (por ex.: **Figs. 3E-H**) e que esses se concentram na região do calo de seus labelos. De qualquer forma, a importância real dessas estruturas na polinização das flores merece ser melhor investigada.

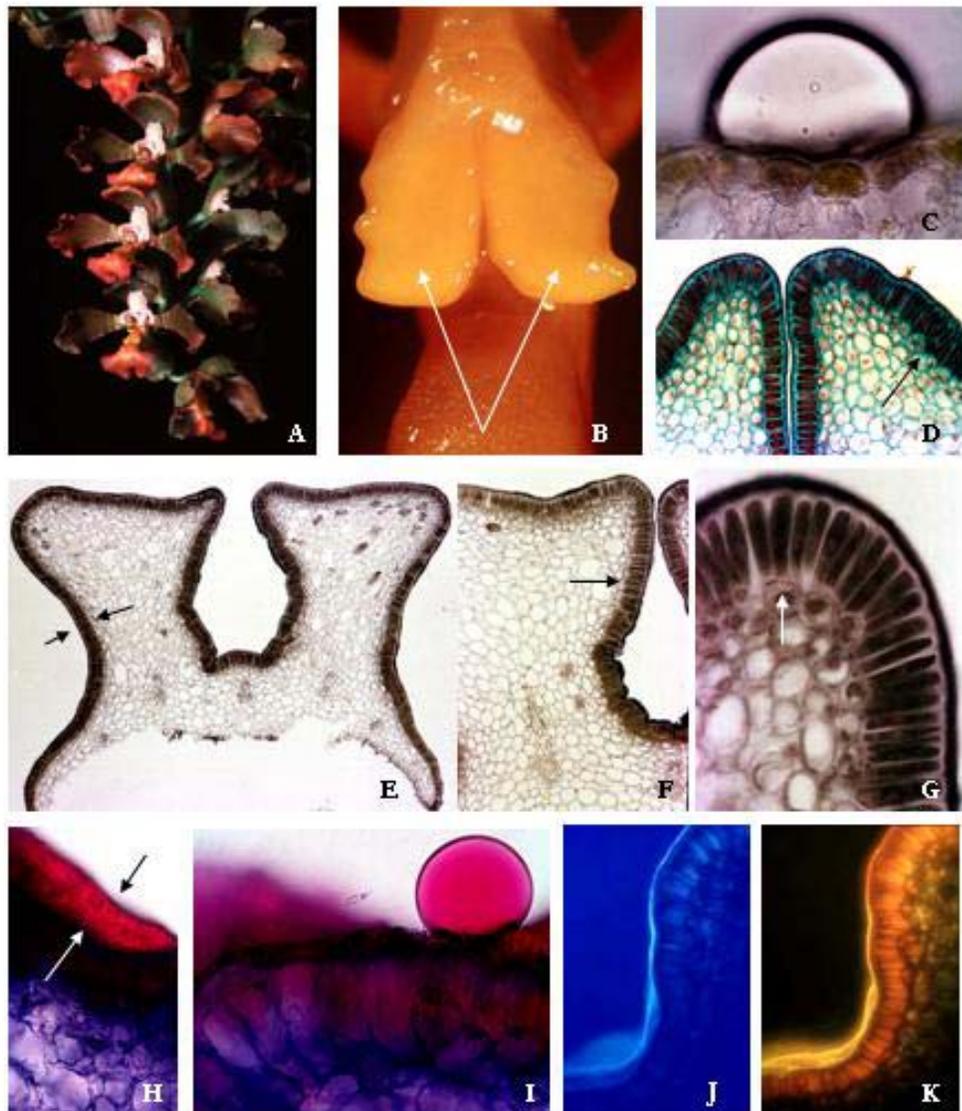


Fig. 1 – Detalhes anatômicos do elaióforo epidermal de *Oncidium pubes*. A) Inflorescência; B) setas indicam o calo na base do labelo, região onde estão localizados os elaióforos; C) gota de secreção sem tratamento; D) seta indica estrutura do elaióforo epidermal evidenciada por dupla coloração: Safranina/Azul de Astra; E-G) setas indicam elaióforo epidermal evidenciado por tratamento com Sudan Black B; H-I) setas indicam secreção após tratamento com Nile Blue; J-K) fluorescência da secreção: J) tecido sem tratamento - K) tecido tratado com vermelho neutro.



Fig. 2 - Detalhes anatômicos do elaióforo tricômáceo de *Oncidium flexuosum*: A) Inflorescência; B) setas indicam o calo do labelo, região onde estão localizados os elaióforos; C) tricomas com secreção sem tratamento; D-E) secreção evidenciada por Nile Blue; F) secreção evidenciada por Sudan Black B; G-H) tricomas tratados com Sudam Black B apresentam ausência de secreção, extraída com metanol/clorofórmio (1:1).

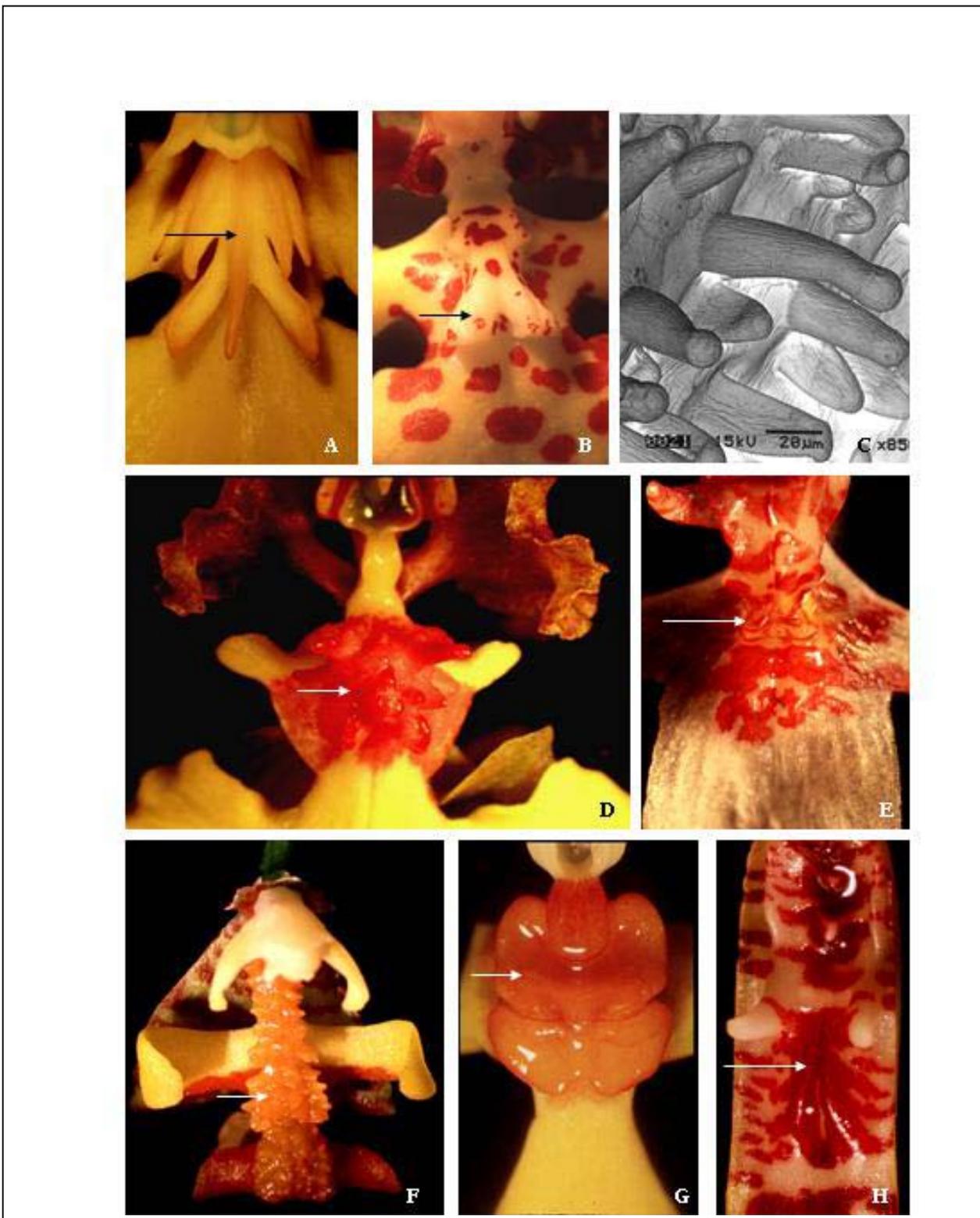


Fig. 3 – Calos do labelo de espécies do Clado “Gomesa”: A-D) calos com elaióforos tricômáceos – A. *Oncidium barbaceni*; B-C. *O. sarcodes*, C. microscopia eletrônica de varredura evidenciando os elaióforos tricômáceos presentes no calo; D. *O. spillopterum*; E-H) calos com elaióforos epidermais e cutículas permeáveis ao óleo: E. *O. truncatum* – labelo; F. *O. widgrenii*; G. *O. hookeri*; H. *Baptistonia echinata*. Parte das peças florais das figuras E, G e H foram extraídas para melhor visualização do calo. Setas indicam os calos.

As espécies brasileiras de *Oncidium*, tradicionalmente, classificadas como membros das seções (*sensu* Garay & Stacy 1974) *Barbata*, *Concoloria*, *Crispa*, *Waluewa* e *Synsejala*, juntamente com parte das espécies das seções *Paucituberculata* e *Rhinocerotes* e com espécies dos pequenos gêneros da subtribo *Oncidiinae*, *Baptistonia*, *Ornithophora*, *Rodrigueziella*, *Rodrigueziopsis* e *Gomesa*, compreendem um grupo monofilético denominado Clado “**Gomesa**”. Esse grupo foi investigado em uma análise filogenética (Faria et al., dados inéd.). A árvore de consenso estrito obtida como resultado dessa análise realizada com dados morfo-anatômicos e moleculares (**Fig. 4**), mostrou que as espécies que apresentam elaióforos epidérmis produtores de óleos compostos, principalmente, por acilgliceróis, formam um grupo monofilético (**Figs. 5 e 6**). Este grupo compreende espécies de *Oncidium*, tradicionalmente, classificadas nas seções *Synsejala* e *Paucituberculata*, parcialmente, espécies das seções *Crispa*, *Waluewa*, *Rhinocerotes* e *Baptistonia echinata* (**fig. 4**). *Oncidium sarcodes* é exceção, entre as espécies analisadas do grupo. Esta espécie apresenta elaióforos tricómáceos, além de ausência de acilgliceróis entre os componentes de seu óleo floral (**Figs. 5 e 6**).

Chase (1986) afirma existir uma correlação entre as espécies que oferecem óleo como recompensa e a ausência de tábula infraestigmática. De fato, todas as espécies

analisadas do Clado “**Gomesa**” que apresentam elaióforo epidérmis e algumas espécies cujos elaióforos são tricómáceos, como as espécies de *Gomesa*, não apresentam a tábula infraestigmática. Entretanto, foi observado com o presente trabalho que outras espécies oleíferas, como o *O. flexuosum*, cujo elaióforo é do tipo tricómáceo, apresentam uma evidente tábula infraestigmática.

Os elaióforos tricómáceos parecem ser a condição plesiomórfica para o Clado “**Gomesa**” (**Fig. 5**). Eles produzem diferentes compostos como componentes principais de seus óleos florais, entre os quais, sesquiterpenos, esteróides, tocoferóis, compostos “X” e ésteres derivados de ácidos graxos (**Fig. 6**).

Os trabalhos realizados sobre a interação entre insetos e plantas são fascinantes em diversos aspectos mas, para a maioria das espécies do Clado “**Gomesa**”, ainda faltam dados de campo a esse respeito. Com a realização do presente trabalho, espera-se que esses dados tornem-se mais freqüentes e que, em breve possamos considerar também sua evolução nas espécies do grupo.

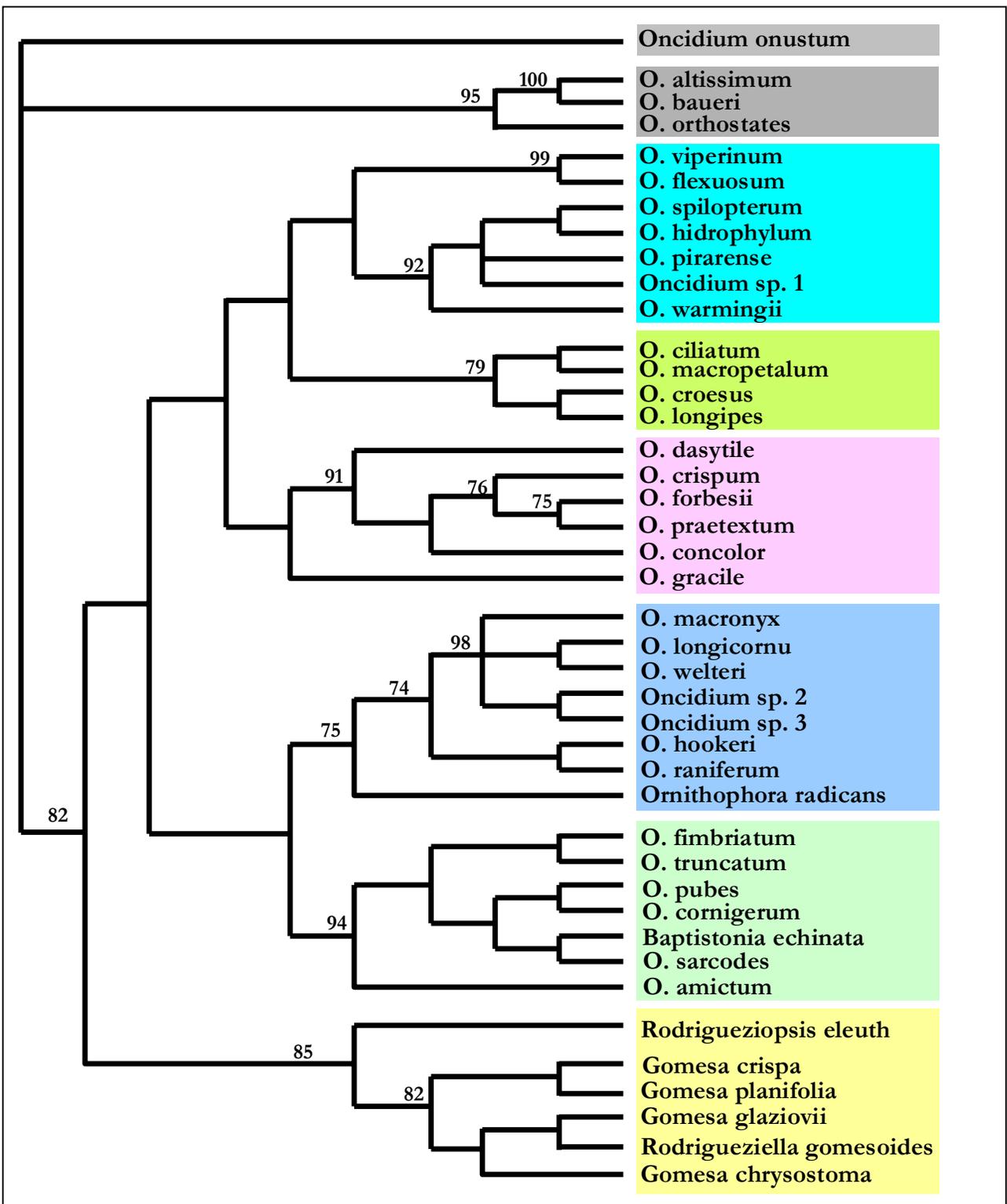


Fig. 4 - Árvore filogenética de consenso estrito do Clado "Gomesa" obtida com utilização de dados morfo-anatômicos, químicos e macromoleculares. Os números indicam o valor do *bootstrap* e, as diferentes caixas de cores, os novos grupos propostos. Valores de *bootstrap* abaixo de 70% foram excluídos da árvore.

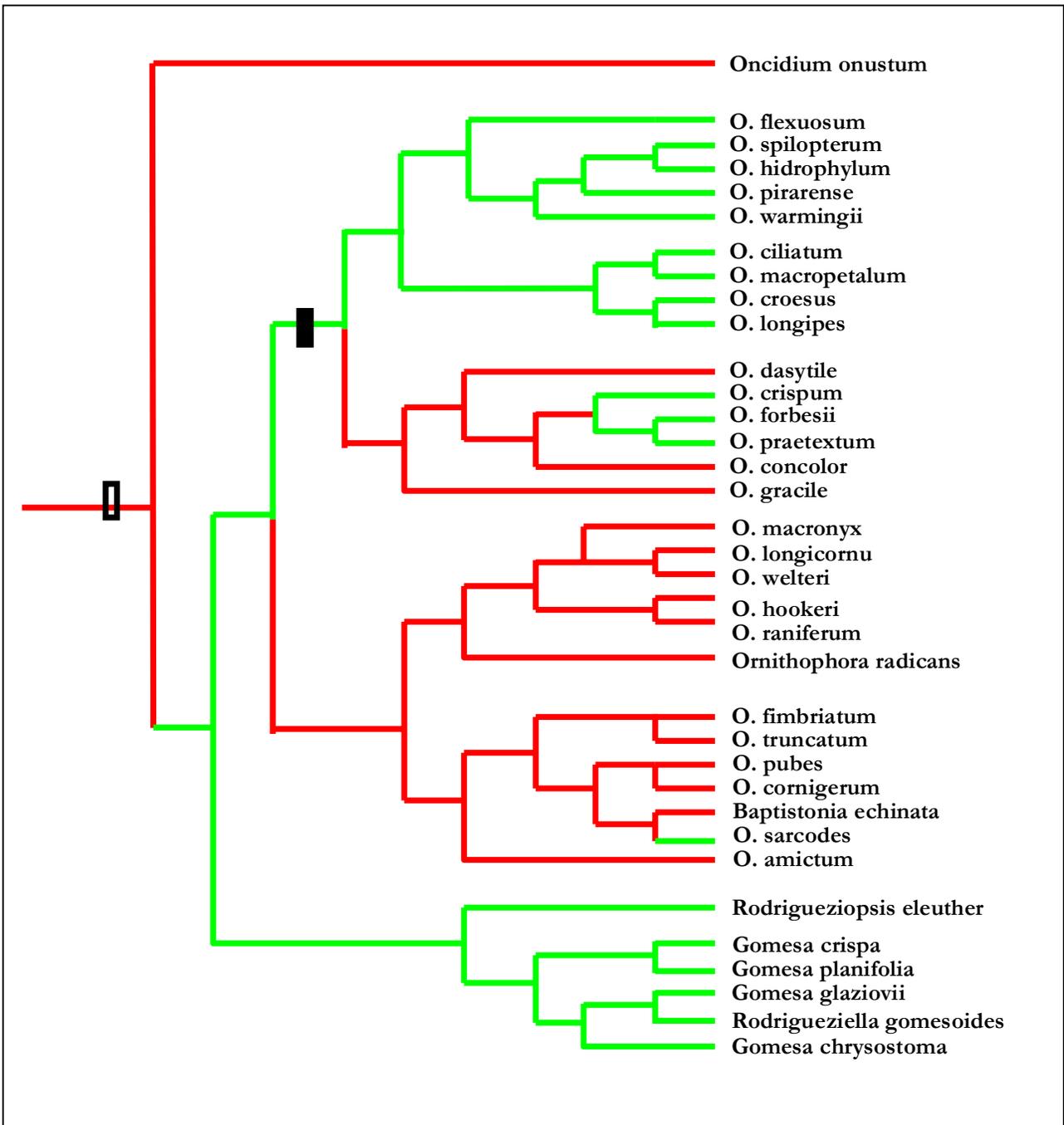


Fig. 5 – Evolução dos caracteres “presença de elaióforo epidermal” (ramos vermelhos), “presença de elaióforos tricomáceos” (ramos verdes), “presença de tábula infraestigmática” (barra preta cheia) e “ausência de tábula infraestigmática” (barra preta vazia) em espécies do Clado “Gomesa”. *Oncidium onustum* é o táxon irmão do Clado “Gomesa”.

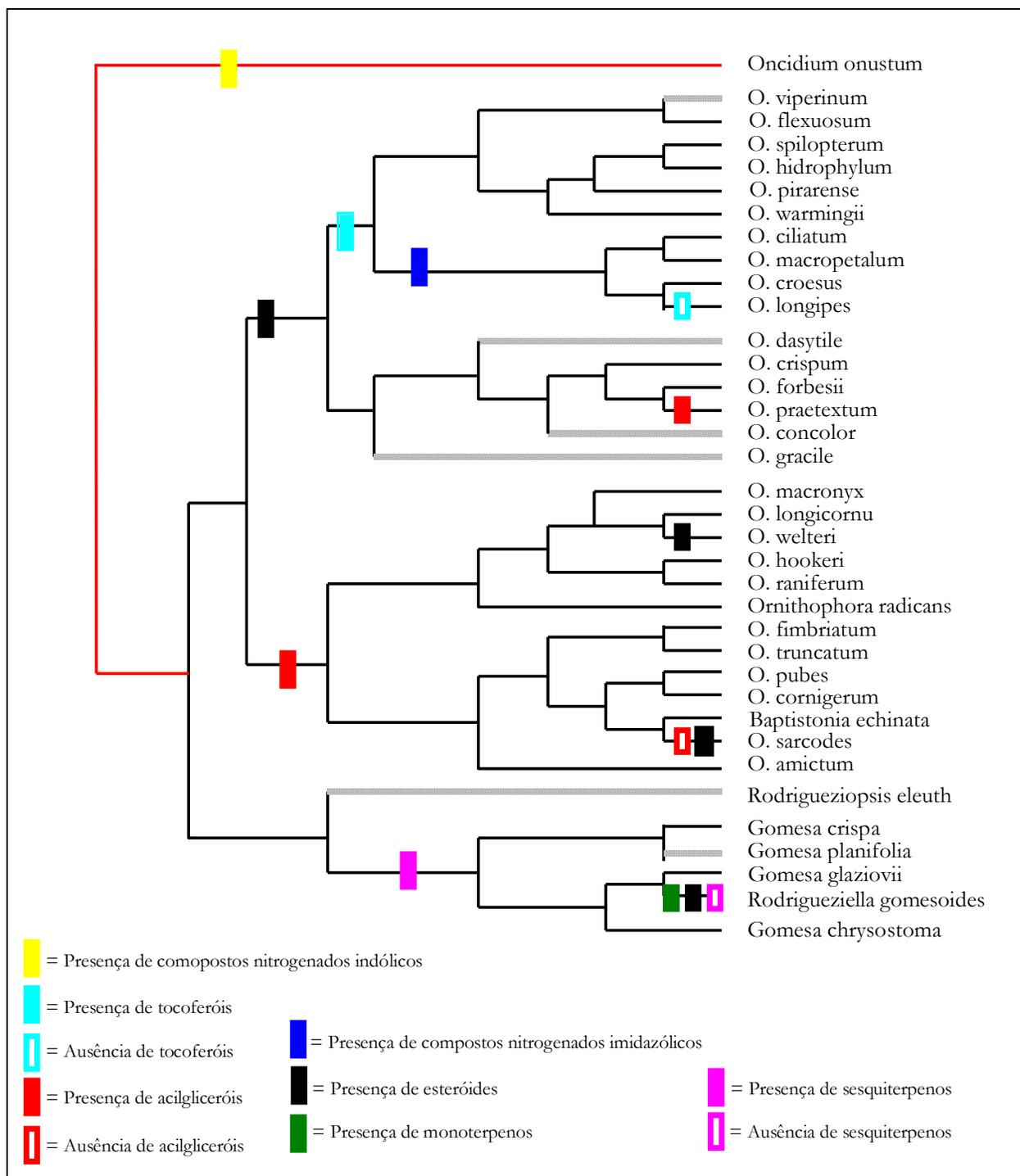


Fig. 6 - Evolução de compostos químicos nos óleos florais de espécies do Clado "Gomesa". Os ramos tracejados não foram considerados na análise devido a ausência de dados – *Oncidium onustum* é o táxon irmão do Clado "Gomesa".

ANEXO 1. Espécimes do Clado “**Gomesa**” examinados para aquisição de dados químicos e anatômicos dos elaióforos.

Baptistonia. echinata

São Paulo, Cotia, VI.2001, *Faria et al. s.n.* (UEC 99.183).

Gomesa chrysostoma

Minas Gerais, Itamonte, VII. 2000, *Faria et al. 1034* (UEC 100.025).

Gomesa glaziovii

Rio de Janeiro, Macaé de Cima, I.1999, *Faria et al. s.n.* (UEC 100.117).

Oncidium amictum

Minas Gerais, Domingos Martins, VI.2000, *Faria et al. 1017* (UEC 100.828); VI.2000, *Faria et al. 1053* (UEC 100.305).

O. ciliatum

Pernambuco, s.l., 2000, *Semir s.n.* (UEC 98.276).

O. cornigerum

São Paulo, Jundiaí, I.2003, *Pansarin 968* (UEC 129.087).

O. flexuosum

São Paulo, Caraguatatuba, III.1998, *Pansarin 193* (UEC 93.537); Nazaré Paulista, IV.1999, *Faria et al. 1040* (UEC 94.620); Paranapiacaba, VII.1998, *Faria et al. 97/648* (UEC 93.547); Ubatuba, IV.1999, *Pansarin 455* (UEC 93.848).

O. forbesii

Minas Gerais, Alagoa, II.2002, *Faria & Ribeiro 1039* (UEC 100.351); **Rio de Janeiro**, Macaé de Cima, *Faria et al. 60* (UEC 100.016); Jundiaí, VI.2001, *Pansarin 850* (UEC 122.221).

O. hookeri

Espírito Santo, Domingos Martins, VI.2000, *Faria et al. 1020* (UEC 94.340); VI.2000, *Faria et al. 1038* (UEC 95.262); VI.2000, *Faria et al. 1035* (UEC 100.560); **São Paulo**, Atibaia, III.2000, *Faria et al. 1029* (UEC 100.910);

O. longicornu

Campos do Jordão, X.1999, *Faria et al. 1016* (UEC 100.124); X.1999, *Faria et al. 1019* (UEC 100.765); **Minas Gerais**, Carrancas, XII.1998, *Faria et al. s.n.* (UEC 93.995).

O. longipes

Jundiaí, X.2000, *Pansarin 725* (UEC 116.192).

O. macropetalum

Goiás, 1999, s.l., s.c., (UEC 98.005).

O. pirarense

São Paulo, Atibaia, V.1997, *Singer 27* (UEC 93.927).

O. praetextum

Minas Gerais, Alagoa, II.2002, *Faria & Ribeiro 1036* (UEC 100.916); Carrancas, 1998, *Singer et al. 98/125 B.* (UEC 98.002).

O. pubes

Minas Gerais, Carrancas, VIII.1999, *Singer et al. s.n.* (UEC 95.102); **São Paulo**, Atibaia, *Faria et al. 1023* (UEC 100.966); Campinas, VI.2000, *Santos & Belinello s.n.* (UEC 109.103); Jundiaí, IX.2003, XI.1999, *Pansarin 547* (UEC 110.433); IX.1998, *Pansarin 314* (UEC 100.306).

O. sarcodes

São Paulo, Jundiaí, XI.1998, *Pansarin 315* (UEC 93.953); XI.1997, *Pansarin & Singer 77* (UEC 95.449).

O. truncatum

Minas Gerais, Carrancas, XII.1997, *Faria et al. 1025* (UEC 109.102).

O. warmingii

Minas Gerais, Alagoa, *Faria & Ribeiro 1041* (UEC 100.452); I.2002, *Faria & Ribeiro 1047* (UEC 100.911); Carrancas, 1999, *Faria et al. s.n.* (UEC 98.004).

O. welteri

Minas Gerais, Camanducaia, XII.2001, *Meirelles & Belinello 833* (UEC 124.733);

Carrancas, 1999, *Faria et al. s.n.* (UEC 98.277);
São Paulo, Campos do Jordão, VII.1999, *Faria et al. 1015* (UEC 100.127).

Ornithophora radicans

São Paulo, São Paulo, II.1995, *Leitão Filho 33489* (UEC 86.682); Ubatuba, VIII.2001, *Faria & Ribeiro 1037* (UEC 100.496).

Rodrigueziela gomesoides

Minas Gerais, Alagoa, X.2001, *Faria & Ribeiro 1033* (UEC 94.554) **Rio de Janeiro**, Petrópolis, 2000, *Faria et al. 1048* (UEC 100.574).

LITERATURA CITADA

- BUCHMANN, S.L. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 343-369.
- CAIN, A.J. 1947. Use of Nile Blue in the examination of lipoids. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 88: 383-392. In GAHAN, P.B. 1984. *Plant histochemistry and cytochemistry*. London: Academic Press.
- CHASE, M.W. 1986. A reappraisal of the oncidoid orchids. *Syst. Bot.* 11(3): 477-491.
- CLARK, G. 1973. *Staining procedures*. 3rd ed., Baltimore. The Williams & Wilkins Co.
- CLARK, G. 1981. *Staining Procedures*. Williams & Wilkins, Baltimore.
- COCUCCI, A.A. 1991. Pollination biology of *Nierembergia* (Solanaceae). *Pl. Syst. Evol.* 174: 17-35.
- DODSON, CH; FRYMIRE, GP. 1961. Natural pollination of orchids. *Missouri Botanical Garden Bulletin* 49: 133-139.
- DRESSLER, R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge, University Press.
- ENDRESS, P.K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge; University Press. pp. 385-386.
- FRANKIE, G.W. 1976. Pollination of widely dispersed trees by animals in Central America, with an emphasis on bee pollination systems. In *Variation, breeding and conservation of tropical forest trees*, ed. J. Burley, B.T. Styles, pp. 151-159. London: Academic Press.
- FRANKIE, G.W.; VINSON, S.B.; NEWSTROM, L.E.; BARTHELL, J.F.; HABER, W.A. & FRANKIE, J.K. 1990. Plant phenology, pollination ecology, pollinator behavior and conservation of pollinators in neotropical dry forest. In: *Reproductive ecology of tropical forest plants*. Bawa, K.S. & Hadley, M. (eds.), pp. 37-47. Paris: The Partenon Publishing Group.
- GARAY, L.A.; STACY, J.E. 1974. Synopsis of the genus *Oncidium*. *Bradea* 1 (40): 393-427.
- GELLERT, M. 1923. Anatomische Studien über den Bau der Orchideenblüte. *Feddes Repert.* 25. 85-93.

- GERLACH, G. 1969. *Botanische Mikrotechnik, eine Einführung*. Stuttgart, Georg Thieme.
- JENSEN, W.A. 1962. *Botanical histochemistry: principles and practice*. W.H. Freeman & Co., San Francisco.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- KEVAN, P.G.; BAKER, H.G. 1983. Insects as flower visitors and pollinators. *Ann. Ver. Entomol.* 28: 407-453.
- KIRKNER, O. 1925. Über die sogenannten Pollenblumen und die Ausbeutestoffe der Blüten. *Flora* 312-330.
- MICHENER, C.D. 2000. *The bees of the world*. The Johns Hopkins University Press., London.
- PEARSE, A.G.E. 1968. *Histochemistry: theoretical and applied*. 3rd ed., 2 v., Churchill Livingstone, London.
- PORSCH, O. 1905. Beiträge zur histologischen Blütenbiologie. I. Über zwei neue Insektenanlockungsmittel der Orchideenblüte. *Oesterr. Bot. Zeitschr.* 253-260.
- REIS, M.G.; FARIA, A.D.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E.; MARSAIOLI, A.J. 2000. The chemistry of flower rewards – *Oncidium* (**Orchidaceae**). *J. Braz. Chem. Soc.* 11 (6): 600-608.
- SENGHAS, K. 1998. *Die Orchideen: Subtribus Oncidiinae*. Berlin: Parey.
- SIMPSON, B.B.; NEFF, J.L. 1981. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68: 301-322.
- SINGER, R.B. & COCUCCI, A.A. 1999. Pollination mechanisms in four sympatric southern Brazilian **Epidendroideae** orchids. *Lindleyana* 14(1): 47-56.
- TOSCANO DE BRITO, A.L.V. 2001. Systematic review of the **Ornithocephalus** group (**Oncidiinae; Orchidaceae**) with comments on **Hofmeisterella**. *Lindleyana* 16(3): 157-217.
- WILLIAMS, N.H.; CHASE, M.W.; FULCHER, T.; WHITTEN, M. 2001. Molecular systematics of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of **Cyrtochilum**, **Erycina**, **Otoglossum**, and **Trichocentrum** and a new genus (Orchidaceae). *Lindleyana* 16(2): 113-139.

VAN DER PIJL; DODSON, C.H. 1966. *Orchid flowers: their pollination and evolution*. University of Miami Press, Florida.

VOGEL, S. 1969. *Flowers offering fatty oil instead of nectar*. Proc. XI Intl. Bot. Congress, Seattle, p. 229. Abstr.

VOGEL, S. 1974. *Ölblumen und ölsammelnde Bienen*. Akad. Wiss. Math. Naturwiss. Kl. Trop. Pflanzenwelt: Franz Steiner. 547p.

VOGEL, S.; MACHADO, I.C. 1991. Pollination of four sympatric species of *Angelonia* (Scrophulariaceae) by oil-collecting bees in NE. Brazil. *Pl. Syst. Evol.* 178: 153-178.