UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)

ESTUDOS FILOGENÉTICOS NO CLADO *ORNITHOCEPHALUS* (ONCIDIINAE: ORCHIDACEAE).

CARLA ADRIANE ROYER

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutora em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal).

Outubro - 2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)

ESTUDOS FILOGENÉTICOS NO CLADO *ORNITHOCEPHALUS* (ONCIDIINAE: ORCHIDACEAE).

CARLA ADRIANE ROYER

Orientador: Prof. Dr. Eric de Camargo Smidt

Coorientador: Dr. Antonio Luiz Vieira Toscano de Brito

Outubro - 2019

R891e

Royer, Carla Adriane
Estudos filogenéticos no clado Ornithocephalus (Oncidiinae: Orchidaceae)./ Carla Adriane Royer. -- Rio Claro, 2019
220 p. : il., tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientadora: Eric De Camargo Smidt
Coorientador: Antonio Luiz Vieira Toscano de Brito

1. Botânica. 2. Filogenia. 3. Ontogenia. 4. Micromorfologia. 5. Taxonomia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Rio Claro

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Estudos filogenéticos no clado Ornithocephalus (Oncidiinae: Orchidaceae)

AUTORA: CARLA ADRIANE ROYER
ORIENTADOR: ERIC DE CAMARGO SMIDT

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA VEGETAL), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. JULIO ANTONIO LOMBARDI
Departamento de Botânica (Docente indicado pelo conselho do programa para representar o orientador) / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

Profª. Drª. ALESSANDRA IKE COAN
Departamento de Botânica / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

Profa. Dra. SAMANTHA KOEHLER
Instituto de Biologia / Universidade Estadual de Campinas - SP

Prof. Dr. CASSIO VAN DEN BERG
Departamento de Ciências Biológicas / Universidade Estadual de Feira de Santana - Feira de Santana/BA

Pós-doutoranda THUANE BOCHORNY DE SOUZA BRAGA
Universidade Estadual de Campinas

Rio Claro, 08 de outubro de 2019

Dedico este trabalho a todos que foram fundamentais para que este se concretizasse.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não foi realizado sozinho, por isto quero agradecer a tantas pessoas que estiveram comigo de uma forma ou outra e ajudaram para que eu chegasse até aqui.

Primeiramente a minha família, meu porto seguro e minha base. Sem o apoio e suporte de vocês eu não teria chegado ao fim deste trabalho. Agradeço em especial, a Carmem, minha irmãzinha, que esteve do meu lado em toda minha trajetória acadêmica, pelo companheirismo, força e conforto quando por vezes eu não acreditava que fosse capaz.

Ao meu orientador, Dr. Eric Smidt, por confiar e acreditar que este trabalho fosse possível. Pelas inúmeras horas de orientação, bibliografias emprestadas, enfim, por todo o suporte.

Ao meu coorientador, Dr. Antonio Toscano de Brito, por me ensinar sobre estas pequeninas plantinhas e me confiar continuar seu trabalho de tantos anos. Por tantas vezes me acalmar quando eu chamava desesperada, achando que não daria conta de passar por tantos obstáculos. Pela sua paciência em ensinar e orientar. Pelas viagens, coletas, tubinhos, álcool, CTBA, vinho... Pela hospitalidade na estadia no “Selby”, por ser meu “pai científico. Ainda tenho muito a aprender com você!

Agradeço aos professores e a coordenação do programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal) da Unesp de Rio Claro, pela compreensão nas comunicações falhas de um trabalho à distância. A maravilhosa equipe da secretaria de pós-graduação pelo auxílio em tantas dúvidas. Aos muitos amigos que fiz no pouco tempo que ficava na cidade. As pessoas que me hospedaram por lá, Pablo, Lorena, Leticia, Thais. Aos colegas da disciplina de Taxonomia de campo, pela semana tão proveitosa. A equipe verde! Pelo companheirismo. E a linda Comissão organizadora do Simposio de Biologia Vegetal 2017.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da UFPR e ao setor de Botânica, por permitir que utilizasse as dependências do departamento para a realização do trabalho. A tantos colegas mestrandos que passaram por aqui e dividiram bons momentos. Ao Lucas Katsumi, Laura, Géssica, Raquel, Fernando, Edson, Duane e tantos outros, que me perdoem a falha de memoria.

Ao laboratório de Filogenia Molecular, pela ótima estrutura, equipamentos, reagentes e todos que passaram por ele e contribuíram para o grande acervo de material genético. Aos colegas do laboratório, Anna Vitoria, Michele, Ariane por toda ajuda na extração e amplificação do DNA das espécies estudadas.

As pessoas que me ajudaram nas coletas em lugares distantes, a Jaqueline Luber e o Weverson no Espírito Santo e ao professor Leonardo Félix e seus alunos em Areia (PB). Também a Maria Rita por cultivar e ajudar na pesquisa e pela ótima estadia em sua casa de campo no Rio de Janeiro, a Daniela Imig por sempre procurar “uns *Phymatidium* e *Zygostates*” em suas andanças e ao Marcos Klingelfuss por coletar, cultivar e fornecer material necessário para ampliar a pesquisa.

Agradeço imensamente a Dra. Elaine L. P. Nunes, pela indicação do estágio sanduiche na Alemanha, por me ensinar sobre o desenvolvimento floral e ficar comigo muitas horas no laboratório, desidratanto, dissecando e analisando as florzinhas bebês, também por tantas horas em frente ao computador editando pranchas e discutindo artigos, obrigada pela sua orientação num tema tão obscuro para mim. Muitas vezes não sabíamos mensurar o limite da amizade e da orientação, muito mais que “chefe” você foi a irmã-cientifica mais velha me ensinando o caminho das pedras. Obrigada por confiar e acreditar em mim, e principalmente pela sua empatia com as minhas dificuldades.

Agradeço a todos da Ruhr Universität de Bochum, especialmente ao Dr. Thomas Stützel por me acolher no seu laboratório, a Sabine Adler por toda a paciência em ensinar a operar todos os equipamentos e me perdoar quando fazia “cagada” e a Petra, por sempre se preocupar com os brasileiros perdidos na Alemanha.

Aos amigos que fiz por lá e que tornaram meus dias mais alegres: a Missi, o Helson, o Tiago e o Lucas, pelas tantas noites feliz que salvavam os dias cinzentos.

Ao Günter Gerlach pela hospitalidade em sua casa e principalmente pela preservação de uma valiosa coleção liquida de Ornithocephalinae.

A todos os curadores dos herbários estudados, pela disponibilidade do envio dos materiais e pela acolhida quando foram visitados.

Ao Wade e sua esposa Carol. Pela amizade, acolhida e cuidado na minha estadia na Flórida. Ao Wade que de auxiliar do Toscano, tornou-se um grande amigo e companheiro de aventura. Coletas, viagens, captura e edição de fotos e correções do inglês.

A toda equipe do Marie Selby Botanical Garden, em especial ao Bruce Holst, por me proporcionar este intercâmbio e pela experiência em trabalhar no herbário da instituição.

A minha psicóloga, Eliane, pelas tantas horas de conversas que me davam força para continuar e enfrentar os obstáculos diários.

Por último, e não menos importante, ao meu namorado, João. Pela paciência, carinho e por fazer meus dias tão sombrios de final de tese mais leves e mais coloridos. Eu amo você!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, do DAAD (Serviço de Intercâmbio Acadêmico Alemão) e do Marie Selby Botanical Garden (Flórida, EUA).

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação”

Simone de Beauvoir

RESUMO

O clado *Ornithocephalus* compreende 12 gêneros e 120 espécies e está distribuído do sul do México ao norte da Argentina, abrangendo regiões úmidas do oeste ao leste da América do sul. Embora o clado tenha sido recentemente foco de vários estudos filogenéticos, e seu monofiletismo não ser contestado, o arranjo de muitas espécies dentro do clado permanece desconhecido. Neste trabalho, investigamos o posicionamento das espécies de *Centroglossa* Barb.Rodr. *Dunstervillea* Garay e *Zygostates* Lindl. dentro do clado em foco, através de dados do DNA nuclear e plastidial, bem como dados morfológicos, por meio de análises de máxima verossimilhança, inferência bayesiana e máxima parcimônia. Encontramos uma relação filogenética estreita entre *Dunstervillea* e *Eloyella* P. Ortiz. sustentada por sinapomorfias morfológicas vegetativas e reprodutivas. *Centroglossa* e *Zygostates* aparecem intimamente relacionados em todas as análises, nas quais *Centroglossa* se mantem monofilético incluído em *Zygostates.* Através de análises em MEV de flores em desenvolvimento, identificamos a origem de apêndices florais, da tábula infraestigmática e do calo do labelo. Além disso, observamos em *Zygostates* e gêneros próximos, 26 características micromorfológicas e atividade secretora na flor em antese, que nos fornecem um maior número de caracteres e sustentam os clados gerados nas análises filogenéticas. No estado do Paraná, *Zygostates* possui 36 registros na Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista. Segundo dados da IUCN, *Zygostates alleniana* Kraenzl. é a espécie que possui o menor risco de extinção, enquanto *Z. bradei* (Schltr.) Garay*, Z. pellucida* Rchb.f. e *Z. multiflora* (Rolfe) Schltr. são as mais ameaçadas. Apesar de *Centroglossa tripollinica* Barb.Rodr. ter registro para o estado do Paraná, o material foi coletado há cerca de 100 anos e não indicava localização precisa. Confirmamos sua presença no estado através de nova coleta, lectotipificamos a espécie e detalhamos por meio de descrição e ilustração.

Palavras-chave: Filogenia, codificação de caracteres, ontogenia floral, MEV, histoquimica, Neotrópico, Mata Atlântica, IUCN.

ABSTRACT

The *Ornithocephalus* clade comprising 12 genera and 120 species and is distributed from southern Mexico to northern Argentina, covering wetlands from west to eastern South America. Although the clade has recently been the focus of several phylogenetic studies, and its monophyly is not disproved, the arrangement of many species within the clade remains unknown. In this work, we investigate the placement of *Centroglossa* Barb.Rodr., *Dunstervillea* Garay and *Zygostates* Lindl. species within the clade in focus, using nuclear and plastid DNA data, as well as morphological data, through maximum likelihood, Bayesian inference and maximum parsimony analyzes. We found a close phylogenetic relationship between *Dunstervillea* and *Eloyella* P. Ortiz. supported by vegetative and reproductive morphological synapomorphies. *Centroglossa* and *Zygostates* appear closely related in all analyses, where *Centroglossa* remains monophyletic included in *Zygostates*. Based in analysis of SEM of development flowers, we identified the origin of floral appendages, tabula infrastigmatica and the lip callus. Through the same analysis, we observed in *Zygostates* and close genera, 26 micromorphological characteristics and secretory activity in the flower anthesis, which provide us a larger number of characters and support the clades generated in phylogenetic analyzes. In the state of Paraná, *Zygostates* has 36 records in *Floresta Ombrófila Densa* and *Floresta Ombrófila Mista*. According to IUCN criteria, *Zygostates alleniana* Kraenzl. has low extinction risk, while *Z. bradei* (Schltr.) Garay*, Z. pellucida* Rchb.f. and *Z. multiflora* (Rolfe) Schltr. are the most threatened species. Although *Centroglossa tripollinica* Barb.Rodr. was recorded for the state of Paraná, the material had been collected about 100 years ago and did not indicate precise location. We confirm its presence in the state through a new collection, lectotypification the species and detail by description and illustration.

Key words: Phylogeny, character coding, floral ontogeny, SEM, histochemical, Neotropics, Atlantic Forest, IUCN.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....12

2. CAPÍTULO 1 — Filogenia de *Centroglossa* Barb.Rodr., *Dunstervillea* Garay e *Zygostates* Lindl. (clado *Ornithocephalus*: Oncidiinae: Orchidaceae), com base em dados moleculares e morfológicos.....26

Resumo.....27

Introdução.....28

Materiais e Métodos.....34

Resultados.....38

Discussão.....39

Literatura Citada.....41

3. CAPÍTULO 2 — Origem e homologia de estruturas florais do clado *Ornithocephalus* (Oncidiinae, Orchidaceae).....75

Resumo.....77

Introdução.....78

Materiais e Métodos.....82

Resultados.....83

Discussão.....87

Literatura Citada.....92

4. CAPÍTULO 3 — Micromorfologia floral de *Zygostates* e gêneros afins (Orchidaceae: Oncidiinae).....102

Resumo.....104

Introdução.....105

Materiais e Métodos.....108

Resultados.....110

Discussão.....118

Literatura Citada.....123

5. CAPÍTULO 4 — O gênero *Zygostates* Lindl. (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná, Brasil 139

Resumo 141

Introdução 143

Materiais e Métodos 143

Resultados e Discussão 144

Agradecimentos 162

Literatura Citada 163

6. CAPÍTULO 5 — *Centroglossa* Barb.Rodr. (Orchidaceae: Ondiciinae) in the state of Paraná: rediscovery and lectotypification of *Centroglossa tripollinica* 177

Abstract 179

Introduction 180

Material and Methods 180

Results and Discussion 181

Acknowledgements 183

Literature Cited 184

7. CAPÍTULO 6 — Field Guide: *Zygostates* Lindl. of the Brazilian Atlantic rainforest 191

8. CONCLUSÃO GERAL 195

9. APÊNDICE 197

1. INTRODUÇÃO GERAL

Orchidaceae é uma das maiores famílias das angiospermas, distribuída em quase todo o globo, com exceção das regiões polares e desérticas, apresentando-se em maior abundância e diversidade nas regiões tropicais e subtropicais. A família possui cerca de 27 800 espécies (THE PLANT LIST, 2019) distribuídas em 739 gêneros (POWO, 2019). No Brasil esse número aproxima-se de 2.500 espécies (FLORA DO BRASIL 2020, em construção).

O posicionamento das Orchidaceae nos diversos sistemas de classificação sofreu modificações ao longo do tempo (e.g. DAHLGREN et al., 1985; CRONQUIST, 1988, CHASE et al., 1993, 1995) e atualmente a família está posicionada como grupo irmão das demais Asparagales (APG 1998, 2003, 2009, 2016). Independente da ordem na qual a família foi posicionada no passado, seu reconhecimento como um grupo monofilético sempre pouco questionado. Com o avanço da sistemática filogenética, seu monofiletismo é sustentado por numerosos estudos, tanto baseados em dados morfológicos quanto em moleculares (DRESSLER 1981, 1993; JUDD et al., 1993; CAMERON et al., 1999; FREUDENSTEIN & RASMUSSEN, 1999; PRIDGEON et al., 1999; FREUDENSTEIN et al. 2000, 2004). Estudos fundamentados principalmente em dados moleculares (PRIDGEON et al. 1999, 2001, 2003, 2005, 2009), permitem o reconhecimento de cinco subfamílias: Apostasioideae Garay, Cypripedioideae Garay, Vanilloideae Szlach., Orchidoideae Lindl. e Epidendroideae Lindl.

A subfamília Epidendroideae consiste de ca. 21.100 espécies, com distribuição cosmopolita. É a maior das subfamílias, com número de gêneros e espécies muito superior ao das outras subfamílias juntas. Divide-se em 14 tribos e 26 subtribos, dentre as quais a tribo Cymbidieae, constituída de 11 subtribos (FREUDENSTEIN & CHASE 2015), destacando-se a subtribo Oncidiinae, umas das mais diversas, com cerca de 61 gêneros e aproximadamente 1600 espécies (NEUBIG et al., 2012).

O clado *Ornithocephalus*, objeto do presente estudo, pertence à subtribo Oncidiinae, anteriormente tratado em uma própria subtribo, as Ornithocephalinae. Estudos recentes demonstram que o clado melhor se posiciona como um grupo das Oncidiinae e relaciona-se a um outro clado formado pelos gêneros então pertencentes à subritbo Telipogoninae, esta última hoje também inserida nas

Oncidiinae (PRIDGEON et al., 1999, 2005; WILLIAMS et al., 2001; NEUBIG et al., 2012; SMIDT et al., 2018).

O clado *Ornithocephalus* consiste em 12 gêneros e aproximadamente 120 espécies de pequenas epífitas encontradas desde o sul do México ao norte da Argentina, com centro de diversidade nas matas úmidas do leste e oeste da América do Sul. A maioria dos gêneros do clado são compostos por menos de dez espécies, exceto *Phymatidium* Lindl. (11 spp.), *Zygostates* Lindl. (25 spp.) e *Ornithocephalus* Hook. (56 spp.), os três gêneros mais numerosos. (TOSCANO DE BRITO, 1994, 2001, 2007, 2008; 2012; CHASE & TOSCANO DE BRITO, 2009; SMIDT et al., 2018)

Segundo Smidt et al. (2018), o clado *Ornithocephalus* originou-se na Floresta Atlântica, no Mioceno, há a cerca de 10 Mya. *Phymatidium*, o gênero irmão de todos os outros gêneros do clado, foi o primeiro a se diversificar, seguido de *Zygostates,* este último já no Plioceno. A diversificação do gênero *Ornithocephalus* é uma das mais recentes dentro do clado, à cerca de 3,5 Mya (Figura 1 - SMIDT et al., 2018).

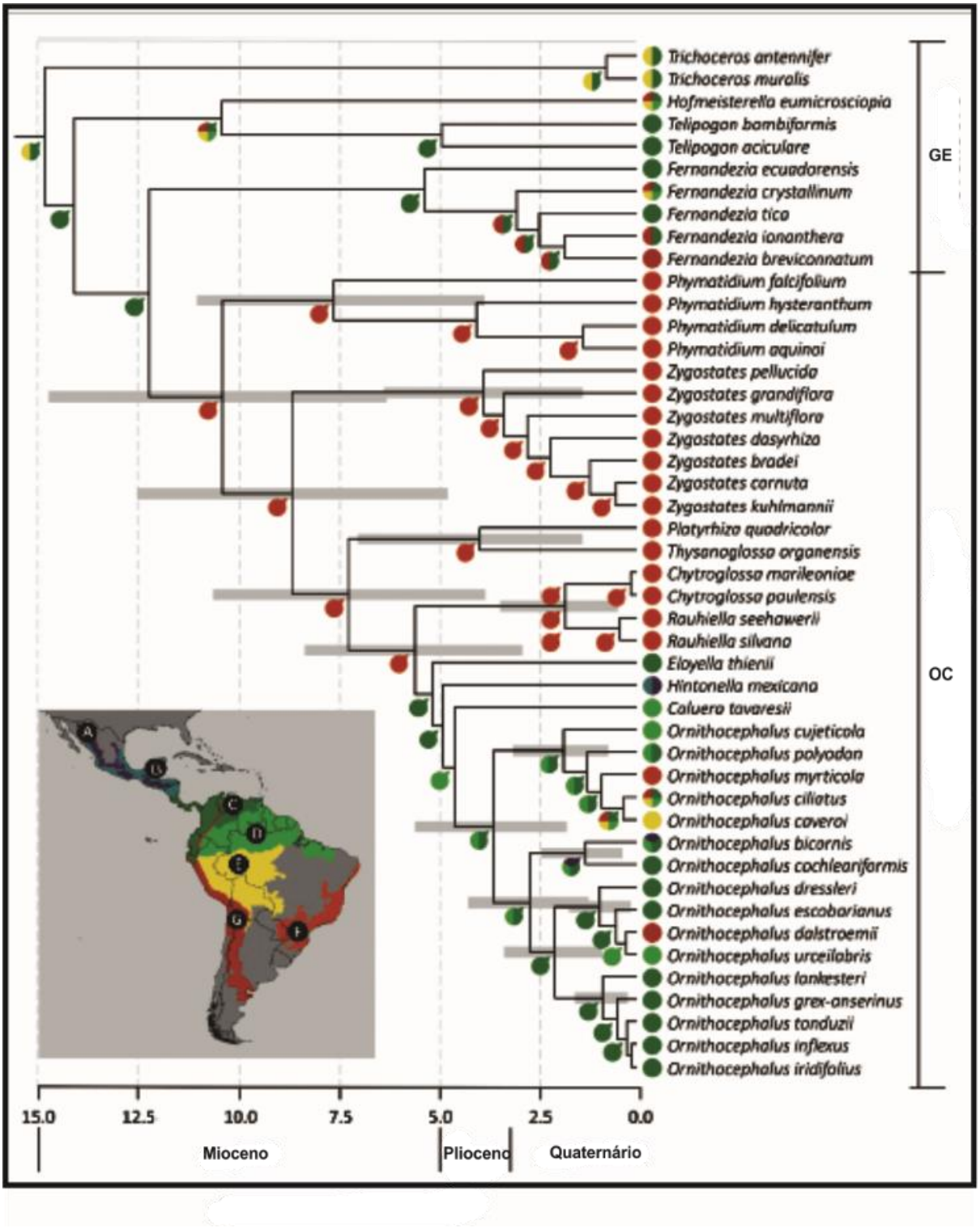


Figura 1- Hipótese filogenética e origem do clado *Ornithocephalus*. (Adaptado de SMIDT et al. 2018).

Zygostates foi estabelecido por John Lindley em 1837. Possui ca. 25 espécies (TOSCANO DE BRITO, 2017) distribuídas disjuntamente em duas grandes áreas de ocorrência: a Mata Atlântica brasileira (uma espécie alcança a Argentina e o Paraguai) e a região norte e noroeste da América do Sul, incluindo Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Peru, Suriname e Venezuela. Dentre as espécies conhecidas até o momento, 15 ocorrem no Brasil, todas endêmicas do bioma Mata Atlântica (ROYER et al., 2017; FLORA DO BRASIL 2020, em construção). Podem ser encontradas em matas úmidas e secas, e altitudes desde o nível do mar até cerca de 1800 m. O gênero é composto por ervas simpodiais pseudobulbosas, providas de raízes glabras ou pilosas, folhas bifaciais e articuladas. A inflorescência é pauciflora ou multiflora, com até 15 flores simétricas ou às vezes assimétricas, geralmente brancas com centro verde, às vezes laranjas ou amarelas. O labelo apresenta geralmente uma calosidade basal glabra ou pilosa. O ginostêmio é sigmoide e provido de apêndices laterais em várias espécies, antera é terminal, mais ou menos dorsal ou ventral, e o polinário provido de quatro polínias (TOSCANO DE BRITO, 1994, 2001; CHASE & TOSCANO DE BRITO, 2009; WCSP, 2019; FLORA DO BRASIL 2020, em construção).

O gênero *Centroglossa* foi descrito por Barbosa Rodrigues em 1877. É constituído de seis espécies endêmicas da Mata Atlântica do sudeste brasileiro. São pequenas ervas simpodiais, pseudobulbosas, com raízes glabras ou minimamente pilosas. As folhas são bifaciais, articuladas, e as inflorescências paucifloras, com até oito flores brancas, alaranjadas ou amareladas, geralmente com estrias e máculas esverdeadas. O labelo é distintamente calcarado, além de caloso na base. O ginostêmio é mais ou menos reto com apêndices laterais conspícuos, a antera é terminal, operculada, e o polinário provido de quatro polínias (CHASE & TOSCANO DE BRITO, 2009; CHIRON et al., 2011; FLORA DO BRASIL 2020, em construção).

Espécies de *Zygostates* e *Centroglossa* são praticamente indistinguíveis vegetativamente e apresentam morfologia floral muito semelhante, diferentes, principalmente, pelo labelo calcarado nesta última (Fig. 2 – CHASE & TOSCANO DE BRITO, 2009).

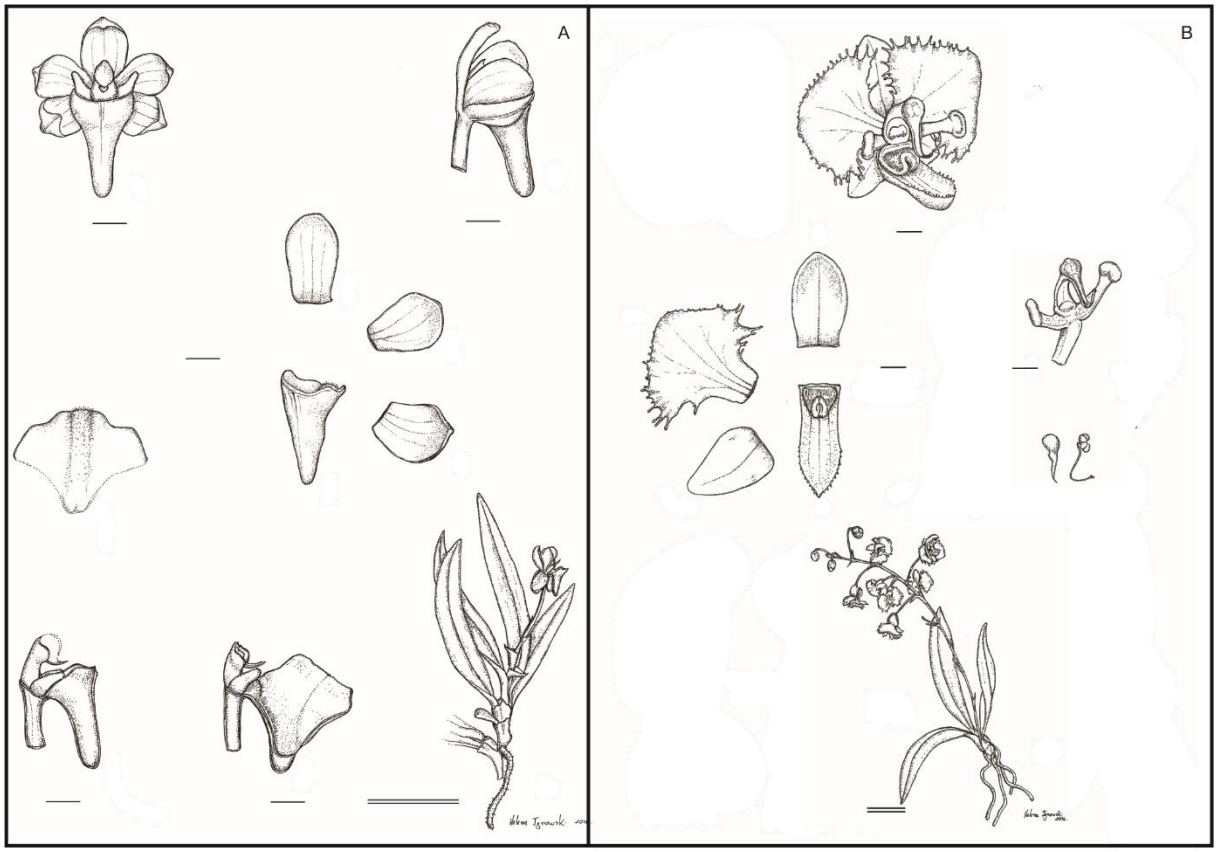


Figura 2- Aspectos morfológicos gerais das espécies-tipo de *Centroglossa* e *Zygostates.* A- *Centroglossa tripollinica* e B- *Zygostates cornuta* (Adaptado de ROYER et al. 2017a e ROYER et al 2017b). Escalas: Linha dupla = 1cm, Linha simples = 1mm.

Dunstervillea Garay se trata de gênero monotípico, descrito por L. A. Garay em 1972, caracterizado pelo hábito psigmoide, isto é, plantas monopodiais desprovidas de pseudobulbos e folhas unifaciais, e lateralmente achatadas. As raízes são pilosas, as folhas articuladas e a inflorescência pauciflora, com até quatro flores brancas ou cremes. O labelo é calcarado, internamente piloso e caloso; o ginostêmio ereto, e desprovido de quaisquer apêndices; a antera é terminal, mais ou menos ventral, e o polinário possui quatro polínias. O gênero assemelha-se em hábito a *Caluera* Dodson & Determann, *Eloyella* P. Ortiz e *Ornithocephalus*, membros do clado *Ornithocephalus* e igualmente caracterizados pelo hábito psigmóide. O labelo calcarado, contudo, mais se assemelha ao das espécies de *Centroglossa.* Distribuí-se na Venezuela, norte do Brasil, Equador e Guiana (Fig. 3 - TOSCANO DE BRITO, 2001; CHASE & TOSCANO DE BRITO, 2009).

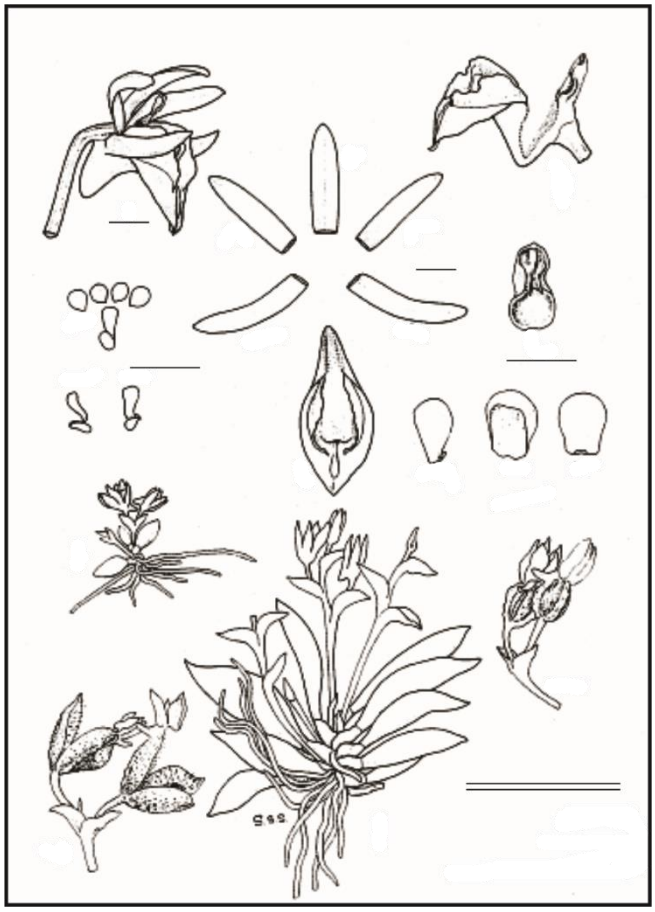


Figura 3- Aspectos morfológicos gerais de *Dunstervillea mirabilis* (Adaptado de TOSCANO DE BRITO 1994). Escalas: Linha dupla = 1 cm, Linha simples = 1 mm.

As espécies do clado *Ornithocephlaus* apresentam morfologia floral bastante confusa. Estruturas como o labelo e o ginostêmio, os órgãos mais informativos taxonomicamente, apresentam diferentes graus de fusão nas flores em antese, e a homologia de diferentes estruturas localizadas nesses órgãos ainda permanece obscura. O labelo, por exemplo, é usualmente provido na base de uma calosidade espessa, às vezes em forma de quilha, geralmente tricomatosa, (VOGEL, 1969; TOSCANO DE BRITO, 1994, 2001; ROYER et al, 2017a), ocasionalmente aparentando estar concrescida com a base do ginostêmio. Já esse último pode apresentar apêndices laterais de formas e tamanhos variados, geralmente basais, e rostelo de diferentes formas e comprimentos.

A homologia do labelo em Orchidaceae nunca foi unanimidade entre os especialistas (BROWN, 1810, 1833; AMES & CORRELL, 1952-1953; NELSON, 1965, 1967, RUDALL et al, 2013; DIRKS-MULDER et al, 2017). A hipótese mais aceita tradicionalmente é que essa estrutura seja homóloga à pétala mediana

presente nas demais angiospermas (BROWN, 1810; CRÜGER, 1865; SWAMY, 1948). Os apêndices encontrados no ginostêmio em várias espécies do clado foram em muitos trabalhos interpretados como vestígios dos estames perdidos ao longo da evolução das Orchidaceae (e.g. KURZWEIL, 1987; TOSCANO DE BRITO, 2001). Contudo, por envolverem uma ampla variedade de formas e funções, diversos estudos já apontaram que estruturas estéreis interpretadas anteriormente como estaminódios são desenvolvidos tardiamente e não correspondem a estames vestigiais (RONSE DE CRAENE & SMETS, 2001).

Embora o gênero *Zygostates* Lindl. tenha sido foco de estudos morfológicos, taxonômicos e filogenéticos (TOSCANO DE BRITO, 1994; 2001; CHASE & TOSCANO DE BRITO, 2009; SMIDT et al., 2018), e uma revisão taxonômica encontrar-se em preparação (TOSCANO DE BRITO com.pess.), até o presente apenas sete espécies foram amostradas em filogenias moleculares. Consequentemente, uma amostragem mais ampla se faz necessária para inferirmos e compreendermos com mais precisão como o gênero evoluiu ao longo de sua história. O gênero *Centroglossa* Barb. Rodr., por sua vez, também já investigado sob alguns aspectos morfológicos e taxonômicos (TOSCANO DE BRITO, 1994, 2001) e revisado taxonomicamente há mais de meio século (HOEHNE, 1953), até o momento não possui nenhuma de suas espécies amostrada em trabalhos moleculares. Como dito anteriormente, *Centroglossa* e *Zygostates* assemelham-se muito entre si, tanto em hábito quanto em sua morfologia floral, o que levou alguns autores (TOSCANO DE BRITO, 2001; CHASE & TOSCANO DE BRITO, 2009; NEUBIG et al., 2012) a hipotetizarem uma possível afinidade entre esses gêneros. O mesmo se aplica ao raro gênero *Dunstervillea*, que carece de amostragens mais amplas visando estudos morfológicos, taxonômicos e moleculares, e, consequentemente, o seu posicionamento no clado *Ornithocephalus* ainda é questionável.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo geral investigar as relações filogenéticas de *Centroglossa, Dunstervillea* e *Zygostates*, baseando-se em caracteres moleculares e morfológicos. Objetivou-se mais especificamente: testar o monofiletismo de *Zygostates* e *Centroglossa* através de análises morfológicas e moleculares de regiões do genoma nuclear e plastidial do maior número possível de espécies brasileiras e extrabrasileiras; investigar a relação filogenética de *Dunstervillea* e sua possível inclusão no clado *Ornithocephalus*; identificar a origem

de estruturas do ginostêmio e labelo de membros do clado em estudo, a fim de auxiliar na identificação de caracteres homólogos e contribuir para esclarecer as relações filogenéticas do grupo; identificar e descrever a micromorfologia de estruturas florais secretoras em *Zygostates* e *Centroglossa*, realizar a monografia de *Zygostates* e *Centroglossa* no estado do Paraná e, por fim, elaborar um *Rapid Color Guide* (www.fieldmuseum.org) das espécies de *Zygostates* presentes no bioma Mata Atlântica.

LITERATURA CITADA

AMES, O.; CORRELL, D.S. Orchids of Guatemala. **Fieldiana (Botany)**, v. 26, p. 1-727. 1952-1953.

APG. Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants. **Annals of Missouri Botanical Garden,** v. 85, p. 531-553, 1998.

APG. Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the order and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 141, p. 399-436, 2003.

APG. Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the order and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 161, p. 105-121, 2009.

APG. Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society** v. 181, p. 1-20, 2016.

BARBOSA RODRIGUES, J. **Genera et Species Orchidearum Novarum quas Collecit, Descripsit et Iconibus Illustravit**. 1 ed. Rio de Janeiro: Typographia Nacional, 1877.

BROWN, R. 1810. **Prodromus florae novae hollandiae et insula van-diemen***,* 1th edn. London: Johnson and Co, 1810.

BROWN, R. 1833. Observations on the organs and the mode of fecundation in Orchideae and Asclepiadeae. **Transactions of the Linnean. Society of London,** v. 16, p. 685-745. 1833.

CAMERON, K.M.; CHASE, M.W.; WHITTEN, W.M.; KORES, P.J.; JARELL, D.C.; ALBERT, V.A.; YUKAWA, T.; HILLS, H.G.; GOLDMAN, D.H. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from *rbcL* nucleotide sequences. **American Journal of Botany**, v. 86(2), p. 208-224, 1999.

CHASE, M.W.; SOLTIS, D.E.; OLMSTEAD, R.G.; MORGAN, D.; LES, D.H.; MISHLER, B.D.; DUVALL, M.R.; PRICE, R.A.; HILLS, H.G.; QIU, Y-L.; KRON, K.A.; RETTIG, J.H.; CONTI, E.; PALMER, J.D.; MANHART, J.R.; SYTSMA, K.J.; MICHAELS, H.J.; KRESS, W.J.; KAROL, K.G.; CLARK, W.D.; HÉDREN, M.; GAUT, B.S.; JANSEN, R.K.; KIM, K-J.; WIMPEE, C.F.; SMITH, J.F.; FURNIER, G.R.; STRAUSS, S.H.; XIANG, Q-Y.; PLUNKETT, G.M.; SOLTIS, P.S.; SWENSEN, S.M.; WILLIAMS, S.E.; GADEK, P.A.; QUIN, C.J.; EGUIART, L.E.; GOLENBERG, E.; JR LEARN, G.H.; GRAHAM, S.W.; BARRETT, S.C.H.; DAYANANDAN, S.; ALBERT, V.A. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 80, p. 528–580, 1993.

CHASE, M., DUVALL, M.; HILLS, H.; CONRAN, J.; COX, A.; EGUIARTE, L.; HARTWELL, J.; FAY, M.; CADDICK, L.; CAMERON, K.; HOOT, S. Molecular phylogenetics of Lilianae. *In* Rudall, P.; Cribb, P.; Cutler, D.; Humphries, C. (Eds.), **Monocotyledons: systematics and evolution**. Royal Botanic Gardens, Kew, p. 109–137, 1995.

CHASE, M.W.; CAMERON, K.M.; BARRETT, R.L.; FREUDENSTEIN, J.V. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. *In* DIXON, KW.; KELL, S.P.; BARRET, R.L.; CRIBB, P.J. (Eds), **Orchid conservation**, Borneo: Natural History Classification, Kota Kinabalu, Sabah, 2003.

CHASE, M.W; CAMERON, K.M.; FREUDENSTEIN, J.V.; PRIDGEON, A.M.; SALAZAR, G.; VAN DEN BERG, C.; SCHUITEMAN, A. An updated classification of Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 177, p. 151-174, 2015.

CHASE, M.W.; TOSCANO DE BRITO, A.L.V. *Zygostates*. *In:* PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J.; CHASE, M.W.; RASMUSSEN, F.N. (Org.). **Genera Orchidacearum:** Epidendroideae (Part 2), 1 ed. New York: Oxford University Press Inc., v. 5, p. 391-394, 2009.

CHIRON, G.R.; SANSON, N.; BOLSANELLO, R.X. Quatre nouvelles espèces d'Orchidaceae du Brésil. **Richardiana,** v. XI (3), p. 129-149, 2011.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**, 2nd ed. The New York: New York Botanical Garden, p. 555, 1988.

CRÜGER, H. A few notes on the fecundation of orchids and their morphology. **Botanical Journal of Linnean Society,** v. 8, p. 127-135. 1865.

DAHLGREN, R.M.T.; CLIFFORF, H.T.; YEO, P.F. **The families of the monocotyledons.** Berlin: Springer. 1985.

DIRKS-MULDER, A.; BUTÔT, R.; VAN SCHAIK, P.; WIJNANDS, J.W.P.M.; VAN DEN BERG, R.; KROL, L.; DOEBAR, S.; VAN KOOPEREN, K.; DE BOER, H.; KRAMER, E.M.; SMETS, E.F.; VOS, R.A.; VRIJDAGHS, A.; GRAVENDEEL, B**.** Exploring the evolutionary origin of floral organs of *Erycina pusilla*, an emerging orchid model system. **BMC Evolutionary Biology,** v. 17, p. 89. 2017.

DRESSLER, R.L. **The orchids: natural history and classification**. Cambridge: Harvard University Press. 1981

DRESSLER, R.L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Cambridge: Harvard University Press. 1993.

FLORA DO BRASIL 2020, em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < http://floradobrasil.jbrj.gov.br/ >. Acesso em: 17 Abr.2019.

FREUDENSTEIN, J.V.; RASMUSSEN, F.N. What does morphology tell us about orchid relationships? – a cladistic analysis. **American Journal of Botany,** v. 86, p. 225-248, 1999.

FREUDENSTEIN, J.V.; CHASE, M.W. Phylogenetic relationships in Epidendroideae (Orchidaceae), one of the great flowering plant radiations: progressive specialization and diversification. **Annals of Botany**, v. 115 (4), p. 665-681, 2015.

FREUDENSTEIN, J.V.; SENYO, D.M.; CHASE, M.W. Mitochondrial DNA and relationships in the Orchidaceae. *In*: WILSON, K.L.; MORRISON, D.A. **Monocots: Systematics and Evolution**. Melbourne: Csiro, p. 421-429. 2000.

FREUDENSTEIN, J.V.; van den BERG, C.; GOLDMAN, D.H.; KORES, P.J.; MOLVRAY, M.; CHASE, M.W. An expanded plastid DNA phylogeny of Orchidaceae and analysis of jacknife branch support strategy. **American Journal of Botany**, v. 91(1), p. 149-157, 2004

GARAY, L.A. On the systematics of the monopodial orchids I. **Botanical Museum Leaflets** v. 23, p. 152, 1972.

HOEHNE, F.C. *Centroglossa*. *In*: F.C. Hoehne (ed.). **Flora Brasílica, Orchidaceas.** v. 12, n. 7. Companhia Brasileira de Impressão e Propaganda, São Paulo, p. 375–381, 1953.

JUDD, W.S.; STERN, W.L.; CHEADLE, V.I. Phylogenetic position of *Apostasia* and *Neuwiedia* (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society,** v.113, p. 87-94, 1993.

KURZWEIL, H. Developmental studies in orchid flowers I: Epidendroid and vandoid species. **Nordic Journal of Botany** v.7, p. 427–442, 1987

LINDLEY, J. *Zygostates*. **Edwards's Botanical Register,** v. 23, sub.t. 1927, 1837.

NELSON E. Zur organographischen Natur des Orchideenlabellums. **Botanische Jahrbücher fur Systematik**, v. 84, p. 175-214. 1965.

NELSON E. Das Orchideenlabellum ein homologon des eifachen medianen petalums der Apostasiaceae oder ein zusammengesetztes organ? **Botanische Jahrbücher fur Systematik***,* v. 87, p. 22-35. 1967.

NEUBIG, K.M.; WHITTEN, W.M.; WILLIAMS, N.H.; BLANCO, M.A.; ENDARA, L.; BURLEIGH, J.G.; SILVERA, K.; CUSHMAN, J.C.; CHASE, M.W. Generic recircumscriptions of Oncidiinae (Orchidaceae: Cymbidieae) based on maximum likelihood analysis of combined DNA datasets. **Botanical Journal of the Linnean Society,** v. 168, p. 117-146, 2012.

POWO. **Plants of the World Online**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; http://www.plantsoftheworldonline.org/. Acesso em 22 ago. 2019.

PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J.; CHASE, M.W.; RASMUSSEN, F.N. **Genera Orchidacearum**. Vol. 1. Oxford: Oxford University Press. 1999.

PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J.; CHASE, M.W.; RASMUSSEN, F.N. **Genera Orchidacearum**. Vol. 2. Orchidoideae (Part One). Oxford: Oxford University Press. 2001.

PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J.; CHASE, M.W.; RASMUSSEN, F.N. **Genera Orchidacearum.** Vol. 3. Orchidoideae (Part Two), Vanilloideae. Oxford: Oxford University Press. 2003.

PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J.; CHASE, M.W.; RASMUSSEN, F.N. 2005. **Genera Orchidacearum.** Vol. 4. Epidendroideae (Part One). Oxford: Oxford University Press. 2005.

PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J.; CHASE, M.W.; RASMUSSEN, F.N**. Genera Orchidacearum** Vol. 5. Epidendroideae (Part Two). New York: New York University Press, 2009.

RONSE DE CRAENE, L.P.; SMETS, E.F. Staminodes: Their morphological and evolutionary significance. **The Botanical Review,** v. 67(3), 351-402, 2001.

RUDALL, P.J., PERL, C.D., BATEMAN, R.M. Organ homologies in orchid flowers re-interpreted using the Musk Orchid as a model. **PeerJ,** v.1, p. 1-26. 2013.

ROYER, C.A.; TOSCANO DE BRITO, A.L.V.; SMIDT, E.C. O gênero *Zygostates* (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v. 68(4), p. 1431-1446, 2017a.

ROYER, C.A.; TOSCANO DE BRITO, A.L.V.; SMIDT, E.C. *Centroglossa tripollinica* (Barb.Rodr.) Barb.Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotypification and rediscovery in the State of Paraná, Brazil. **Hoehnea**, v. 44(1), p. 139-144, 2017b.

SMIDT, E.C., TOSCANO DE BRITO, A.L.V.; MARTINS, A.C.; ROYER, C.A.; WHITTEN, W.M.; CHASE, M.W. Phylogenetics, biogeography and character evolution in the *Ornithocephalus* clade (Orchidaceae, Oncidiinae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 188, p. 339–354. 2018.

SWAMY, BGL. Vascular anatomy of orchid flowers. **Botanical Museum Leaflets,** v.13: p.61-95. 1948.

The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; http://www.theplantlist.org/. Acesso em 22 out. 2019.

TOSCANO DE BRITO, A.L.V. **Systematic studies in the subtribe Ornithocephalinae (Orchidaceae).** Tese de Doutorado. Universidade de Reading e Royal Botanic Gardens, Kew, p. 652, 1994.

TOSCANO DE BRITO, A.L.V. Systematic review of the *Ornithocephalus* group (Oncidiinae:Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella.* **Lindleyana**, v. 16, p.157-217, 2001.

TOSCANO DE BRITO, A.L.V. A taxonomic revision of the genus *Phymatidium* (Orchidaceae: Oncidiinae). **Kew Bulletin**, v. 62, p. 529-560, 2007.

TOSCANO DE BRITO, A.L.V.; FELIX L.P.; DORNELAS, G.V. *Zygostates aderaldoana*—A new species in the *Ornithocephalus* Group of subtribe Oncidiinae (Orchidaceae) from Paraíba, northeast Brazil. **Selbyana,** v. 29 (1), p. 125-127, 2008.

TOSCANO DE BRITO, A.L.V. A new species and a new combination in *Zygostates* (Orchidaceae: Oncidiinae) from Bolivia. **Kew Bulletin**, v. 67, p. 495-497, 2012.

TOSCANO DE BRITO, A. L. V. *Zygostates luerorum* — A new species from Bolivia in the *Ornithocephalus* clade of subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). **Harvard Papers in Botany** v. 22(2), p. 133-135, 2017.

WILLIAMS, N.H.; CHASE, M.W.; FULCHER, T.; WHITTEN, W.M. 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**, v. 16, p. 113-139, 2001.

WCSP. **World Checklist of Selected Plant Families**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; http://wcsp.science.kew.org/. Acesso em 22 Maio 2019.'

VOGEL, S. Uber synorganisierte Bliitenspome bei einigen Orchideen. **Oesterreichische botanische Zeitschrift** v. 116, p. 244-262, 1969.

2. CAPÍTULO 1 — Filogenia de *Centroglossa* Barb.Rodr., *Dunstervillea* Garay e *Zygostates* Lindl. (clado *Ornithocephalus*: Oncidiinae: Orchidaceae), com base em dados moleculares e morfológicos.

(Artigo segundo normas da revista *Systematic Botany – American Society of Plant Taxonomist* - http://www.sysbot.org/).

Filogenia de *Centroglossa* Barb.Rodr., *Dunstervillea* Garay e *Zygostates* Lindl (clado *Ornithocephalus:* Oncidiinae: Orchidaceae) com base em dados moleculares e morfológicos

Carla A. Royer,[1,5] A.L.V. Toscano de Brito,[2,3] e Eric C. Smidt[1,4]

[1] Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Instituto de Biocências Unesp- Rio Claro, BR; carladriane@gmail.com

[2]Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL 34236, USA

[3]Orchid Herbarium of Oakes Ames, Harvard University Herbaria, 22 Divinity Avenue Cambridge, MA 02138, USA

[4]Universidade Federal do Paraná, Departamento de Botânica, CX 19031, 81530–900, Curitiba, BR

[5]Autor para correspondência (carladriane@gmail.com)

Resumo — Mesmo que o monofiletismo do clado *Ornithocephalus* esteja atualmente bem definido, o posicionamento sistemático de *Centroglossa* Barb. Rodr., *Dunstervillea* Garay e *Zygostates* Lindl. permanece obscuro no clado, tanto pela baixa amostragem do gênero *Zygostates*, quanto pela ausência de *Centroglossa* e *Dunstervillea* em trabalhos anteriores. Em análises morfológicas gerais, os três gêneros apresentam morfologia distinta. Contudo, o compartilhamento de características diagnósticas entre espécies dos três gêneros tem gerado dúvidas sobre a circunscrição de cada gênero. *Centroglossa* e *Zygostates* possuem hábito muito semelhante e são indistinguíveis vegetativamente, já *Dunstervillea* possui como característica principal o labelo calcarado, também encontrado em *Centroglossa.* A partir de análises de máxima verossimilhança, inferência bayesiana e máxima parcimônia de dados do genoma nuclear, plastidial e morfológicos de 29 espécies pertencentes aos gêneros *Centroglossa, Dunstervillea* e *Zygostates,* esclarecemos seu posicionamento sistemático e filogenético no clado *Ornithocephalus*. Apesar do labelo ser morfologicamente semelhante a *Centroglossa* e o desenvolvimento do cálcar nestes gêneros nunca ter sido investigado, a origem desta estrutura é heterogênea. Nossos resultados indicam que *Dunstervillea* é próximo filogeneticamente a *Eloyella* P.Ortiz. Os dois gêneros apresentam hábito psigmoide, folhas unifaciais e achatadas lateralmente, peças florais com mesma coloração, pétalas com margens inteiras e rostelo curto. A possível relação entre *Centroglossa* e *Zygostates* se confirma em todas as análises realizadas. *Centroglossa* aparece como um subclado monofilético incluído em *Zygostates*. Além de diversas características homoplásicas, os gêneros têm como sinapomorfia a posição dorsal do viscídio.

Palavras-chave— Codificação de caracteres, morfologia, neotrópico, *matK,* nrITS, sinapomorfia.

Com cerca de 1600 especies e 61 gêneros, Oncidiinae é uma das sutribos mais diversas das Orchidaceae, e é a segunda maior subtribo na região neotropical (Chase 1988, Neubig et al. 2012). Seus membros apresentam uma grande variação no número de cromossomos, tamanho do genoma, morfologia floral e vegetativa, diferentes síndromes de polinização e grande diversidade de habitat (Chase e Palmer 1988, Chase 2009).

O clado *Ornithocephalus*, pertencente a Oncidiinae, consiste em 12 gêneros e aproximadamente 120 espécies distribuídas desde o sul do México ao norte da Argentina, com centro de diversidade nas matas úmidas do leste e oeste da América do Sul (Smidt et al. 2018). O clado era tratado como uma subtribo independente até recentemente, as Ornithocephalinae (Dressler 1993; Toscano de Brito 1994), tendo seu posicionamento modificado através de estudos filogenéticos (Williams et al. 2001, Neubig et al. 2012). Com exceção do clado *Ornithocephalus* e membros da antiga subtribo Telipogoninae (agora também incluída nas Oncidiinae), cujos polinários apresentam quatro polínias, todos os outros membros das Oncidiinae possuem um par de polínias.

Centroglossa Barb. Rodr., *Dunstervillea* Garay e *Zygostates* Lindl. pertencem ao clado *Ornithocephalus* (Fig.1). Embora apresentem morfologia vegetativa e floral que os distinguem dentro do clado, as delimitações desses gêneros nem sempre tiveram um consenso e suas circunscrições sofreram modificações ao longo do tempo. Um histórico detalhado da evolução desses conceitos genéricos foi fornecido por Toscano de Brito (1994).

Centroglossa, descrito por Barbosa Rodrigues em 1877, compreende seis espécies endêmicas da Mata Atlântica (Toscano de Brito 2001, Chase e Toscano de Brito 2009, Chiron et al. 2011). São plantas simpodiais, pseudobulbosas, providas de raízes glabras

ou levemente pilosas, folhas bifaciais e articuladas, inflorescência racemosa, pauciflora, com até c. 8 flores simétricas, brancas, alaranjadas ou amareladas, geralmente com estrias e máculas esverdeadas. O labelo é infundibiliforme, distintamente sacado e calcarado, além de caloso na base e geralmente tricomatoso. O ginostêmio é mais ou menos reto com apêndices laterais conspícuos na base; o rostelo é conspícuo, a antera é terminal, operculada, aguda e acuminada, o polinário possui quatro polínias, um longo estipe, e o viscídio é dorsal.

Zygostates, descrito por Lindley em 1837, apresenta ca. 25 espécies (Toscano de Brito 2017). Trata-se do segundo maior gênero do clado e apresenta o maior número de espécies endêmicas no Brasil (15), distribuído por toda a Mata Atlântica e de forma disjunta no norte da América do Sul (Toscano de Brito 2001, Chase e Toscano de Brito 2009, Smidt et al. 2018). São plantas simpodiais, pseudobulbosas, providas de raízes glabras ou pilosas, folhas bifaciais e articuladas, inflorescência racemosa, pauciflora ou multiflora, com até c. 15 flores simétricas ou às vezes distintamente assimétricas, geralmente brancas com centro verde, às vezes laranjas ou amarelas. O labelo é simétrico ou torcido e assimétrico em algumas espécies, variável na forma, inteiro ou trilobado, mas nunca sacado e calcarado, geralmente caloso e tricomatoso na base. O ginostêmio é sigmoide e provido de apêndices laterais em várias espécies; o rostelo é conspícuo, geralmente igualando ou ultrapassando o comprimento do resto do ginostêmio; a antera é terminal, operculada, às vezes mais ou menos dorsal ou ventral, aguda, apiculada ou acuminada, o polinário possui quatro polínias, o estipe é longo e o viscídio dorsal ou raramente apical.

O gênero *Dunstervillea*, descrito por Garay em 1972, apresenta apenas uma espécie, *Dunstervillea mirabilis* Garay, distribuída na Venezuela, norte do Brasil, Equador e Guiana (Toscano de Brito, 2001; Chase e Toscano de Brito 2009). São plantas

monopodiais, desprovidas de pseudobulbos, raízes pilosas, folhas unifaciais, articuladas e comprimidas lateralmente, e inflorescência racemosa, pauciflora, com até c. 5 flores branco-esverdeadas a amareladas. O labelo é simétrico, sacado, calcarado, internamente caloso e tricomatoso. O ginostêmio é mais ou menos reto, desprovido de apêndices basais e levemente aurículado na região apical; o rostelo é inconspícuo; a antera é mais ou menos ventral a operculada, truncada e revoluta no ápice, o polinário possui 4 polínias, longo estipe, e o viscídio é ventral.

Centroglossa e *Zygostates* muito se assemelham, sobretudo no hábito, morfologia floral, e, consequentemente, uma próxima afinidade entre esses gêneros tem sido hipotetizada por alguns autores (Toscano de Brito 2001; Chase e Toscano de Brito 2009; Neubig et al. 2012). Apêndices conspícuos, geralmente em forma de braços, são encontrados na base do ginostêmio de todas as espécies de *Centroglossa* e em 15 das 25 espécies conhecidas de *Zygostates*. Ambos os gêneros compartilham um viscídio dorsal, presente em todas as espécies de *Centroglossa* e na grande maioria dos *Zygostates*. Entretanto, o labelo sacado e calcarado das espécies de *Centroglossa* logo as distinguem das do gênero *Zygostates*, e mais lembra o labelo encontrado nas flores de *Dunstervillea.*

Estudos baseados em dados morfológicos (Toscano de Brito 1994, 2001) e moleculares (Williams et al. 2001; Neubig et al. 2012; Smidt et al. 2018) confirmam a inclusão de *Zygostates* no clado *Ornithocephalus*, assim como os seus sinônimos *Dactylostylis* Scheidw., baseado em *D. fimbriata* Scheidw. (= *Zygostates lunata* Lindl.) e *Dipteranthus* Barb. Rodr., baseado em *Ornithocephalus pseudobulbiferus* Barb. Rodr. (= *Zygostates pellucida* Rchb.f.). Vários estudos morfológicos encontram-se também disponíveis na literatura para o gênero *Centroglossa* (Toscano de Brito 1994, 2001), e com base nesses estudos, o gênero tem sido considerado como possívelmente aliado a *Zygostates* (Toscano de Brito 1994, 2001; Chase e Toscano de Brito 2009) ou mesmo

sinônimo (Neubig et al. 2012). Contudo, ao contrário de *Zygostates*, até o presente nenhuma espécie de *Centroglossa* foi investigada em nível molecular, impossibilitanto inferências mais plausíveis a cerca da evolução deste gênero no clado.

O gênero *Dunstervillea* também foi investigado morfologicamente por Toscano de Brito (1994, 2001) e, a exemplo de *Centroglossa*, até o presente nunca teve seu DNA amostrado. Como aqui mencionado, a estrutura do labelo de *Dunstervillea* assemelha-se ao de *Centroglossa*, mas, como indicado por Toscano de Brito (2001), tal similaridade deve-se provavelmente a uma convergência evolutiva. O gênero tem sido interpretado como pertencente ao clado *Ornithocephalus* (Dressler 1981, 1993; Toscano de Brito 1994, 2001; Chase e Toscano de Brito 2009) e provavelmente relacionado a gêneros de hábito psigmóide (e.g. *Caluera, Eloyella* e *Ornithocephlaus*). Entretanto, ao estabelecer o gênero Garay (1972) relaciona-o a *Omoea* Blume e *Papillilabium* Dockr., gêneros asiático e australiano, respectivamente, pertencentes a subtribo Aeridinae.

Abordagens filogenéticas baseadas em dados moleculares, não somente das Orchidaceae como um todo, mas também da subtribo Oncidiinae, têm sido publicados e serviram para demonstrar a artificialidade de algumas propostas taxonômicas e nomenclaturais anteriormente aceitas (Chase e Palmer 1988, Freudenstein e Chase 2015, Williams et al. 2001, Sosa et al. 2001, van den Berg et al. 2005, Neubig et al. 2012, Smidt et al. 2018). Por outro lado, estudos filogenéticos baseados em dados morfológicos são escassos (Gravendeel e Vogel 2002, Garcia-Cruz e Sosa 2005, Koehler et al. 2002, Chiron 2007, Sandoval-Zapotitla et al. 2010, Bateman et al. 2018). Embora o monofiletismo do clado *Ornithocephalus* tenha sido indicado em outros trabalhos (Neubig et al. 2012; Freudenstein e Chase 2015, Smidt et al. 2018), a pequena amostragem de espécies do gênero *Zygostates* e a completa ausência de amostragens de *Centroglossa* e *Dunstervillea* impedem uma inferência das relações evolutivas entre suas

espécies. A morfologia floral do clado em estudo é desafiadora devido, principalmente, à fusão entre porções do labelo e do ginostêmio, geralmente os órgãos mais informativos taxonomicamente (Toscano de Brito 2001). Apesar do grande número de caracteres que as flores em antese fornecem, a complexidade de várias estruturas florais impedem a sua utilização de forma precisa em filogenias morfológicas (Smidt et al. 2018). A compreensão da origem dessas estruturas, através de estudos ontogenéticos, é fundamental para que homologias entre os vários órgãos possam ser indicadas com precisão. Ainda que dados moleculares sejam a principal fonte para a reconstrução filogenética utilizada atualmente, somente os dados morfológicos fornecem sinapomorfias morfológicas, essenciais na interpretação de eventos evolutivos que não são atingíveis somente com dados moleculares (Moritz e Hillis 1996).

A inclusão de dados morfológicos, tanto nas análises, quanto na interpretação de árvores filogenéticas, é a única maneira de compreendermos a história evolutiva dos diversos caracteres florais e vegetativos entre táxons. A adição de dados morfológicos nas análises, permite amostrar táxons raros, neste trabalho especialmente o gênero *Dunstervillea,* espécie conhecida por poucas coletas e localizada em locais de difícil acesso. Além disso, o grupo carece de um protocolo para extração de seu material genético a partir dos espécimes preservados. Como sustentado por alguns autores (Koehler et al. 2002, Wortley e Scotland 2006), a adição desses dados nas análises filogenéticas incrementa o suporte dos clados, além de proporcionar oportunidades para se contrastar hipóteses alternativas (Lockhart e Cameron 2001).

Com o objetivo de elucidar a delimitação dos gêneros citados acima, acrescentar caracteres diagnósticos e oferecer uma hipótese filogenética mais completa para o clado *Ornithocephalus*, realizamos diferentes análises filogenéticas de uma ampla amostragem

de representantes do gênero *Zygostates*, *Centroglossa* e *Dunstervillea*. Para tal utilizamos dados moleculares dos genomas nuclear e plastidial, assim como dados morfológicos.

Material e Métodos

Amostras foliares frescas ou preservadas em gel CTAB foram obtidas a partir de coletas nas regiões de ocorrência das espécies e em coleções públicas e privadas. Infelizmente algumas espécies não foram encontradas (como *Dunstervillea mirabilis*) ou não houve sucesso na amplificação e sequenciamento das regiões estudada. Nestes casos, a espécie foi amostrada a partir de dados obtidos através de acesso ao NCBI GenBank (Apêndice 1), ou quando ausente na plataforma, levantados somente seus dados morfológicos.

***Amostra de dados moleculares*—**Para a região nuclear ITS amostramos 41 espécies (15 sequenciadas pela primeira vez), das quais 36 pertencem ao clado *Ornithocephalus*. *Fernandezia ecuadoriensis* (Dodson) M.W. Chase, *Fernandezia tica* Mora-Ret. & García-Castro, *Telipogon bombiformis* Dressler, *Hofmeisterella eumicroscopica* (Rchb.f.) Rchb.f. e *Trichoceros antennifer* (Bonpl.) Kunth , grupo externo relacionado filogeneticamente em trabalhos recentes (Chase e Toscano de Brito 2009, Neubig et al. 2012, Smidt et al. 2018), foram usadas para o enraizamento da árvore. Para a região plastidial *matK* incluímos 37 espécies (15 sequenciadas pela primeira vez), das quais 33 pertencem ao clado em estudo. *Fernandezia ecuadoriensis* (Dodson) M.W. Chase, *Fernandezia tica* Mora-Ret. & García-Castro, *Hofmeisterella eumicroscopica* (Rchb.f.) Rchb.f. e *Trichoceros antennifer* (Bonpl.) Kunth, relacionadas filogeneticamente em trabalhos recentes (Chase e Toscano de Brito 2009, Neubig et al. 2012, Smidt et al. 2018), foram usadas para o enraizamento da árvore.

Extraímos o DNA de 21 espécies através da maceração usando o protocolo 2% CTAB de Doyle e Doyle (1987) sem adição de RNAase A, distribuídos e armazenados em

tubos de 1,5ml. A amplificação por PCR foi realizada em tubos com 20µl com kit de PCR *Top Taq Master Mix* (Qiagen) e 20—50 ng de DNA genômico. A região nrITS foi amplificada e sequenciada com os iniciadores ITS92 (5' AAG GTT TCC GTA GGT GAA 3') e ITS75 (5' TAT GCT TAA ACT CAG CGG G 3') de Desfeux e Lejeune (1996) enquanto a região plastidial *matK* foi amplificada e sequenciada com os iniciadores *matK 3F-Kim-f* (5' CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG 3') e *matK 1R-Kim-r* (5' ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC 3'), *matK 2.1F* (5' CCTATCCATCTGGAAATCTTAG 3') e *matK 5R* (5' GTTCTAGCACAAGAAAGTCG 3') ou *matK 19F* (5' CGTTCTCATATTGCACTATG 3') e *matK 881R* (5' TMTTCATCAGAATAAGAGT 3'). O programa termociclador foi: pré-fusão a 94°C seguido de 40 ciclos de 30 s de desnaturação a 94°C, 40 s de alinhamento a 51°C para nrITS e 53°C para matK, e 40 s de extensão a 72°C, extensão final por 5 min a 72°C. O produto da PCR foi purificado com glicol polietileno (PEG 10%) e as reações de sequenciamento foram analisadas em um analisador genético ABI3739XL da Macrogen Inc. (Seoul, Coréia do Sul, http://dna.macrogen.com), ou pelo 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) da WEMseq (Curitiba, Brasil, https://www.wemseq.com).

Amostra de dados morfológicos—Para a análise morfológica incluímos 54 espécies. Dentre elas, todas as espécies aceitas por Toscano de Brito (2017) de *Zygostates* (23), *Centroglossa* (5) e *Dunstervillea mirabilis*. Excluimos dois táxons inéditos, mas não esclarecidos de *Zygostates,* e um táxon em processo de sinonimização de *Centroglossa.* Outros 20 táxons do clado *Ornithocephalus* e os cinco táxons de clados filogeneticamente próximos inseridos nas análises moleculares, foram utilizados como grupo externo para o enraizamento da árvore (Chase e Toscano de Brito 2009, Neubig et al. 2012, Smidt et al. 2018).

As análises morfológicas foram feitas a partir da consulta aos protólogos das espécies, exsicatas dos herbários: B, BR, BHCB, ESA, FUEL, FURB, GUA, HB, HEID, HUCP, HUEFS, HUPG, ICN, M, MBM, MBML, R, RB, SP, SPF, SPFS, UEC, UPCB, W (acrônimos segundo Thiers, continuamente atualizado), complementadas com dados de materiais coletados em campo (Apêndice 2) e com a revisões propostas por Toscano de Brito (1994, 2001, 2007) e Royer et al. (2017a,b). Foram utilizadas características encontradas nos órgãos vegetativos (rizoma, caule e folha) e reprodutivos (inflorescência, flores, sépalas, pétalas, labelo, coluna e polinário). A terminologia empregada na descrição dos caracteres e seus respectivos estados foram extraídos de Toscano de Brito (1994, 2001), Harris e Harris (1999) e Stearn (2004) (Tabela 2).

A matriz (Apêndice 3) foi construída com auxílio do programa Mesquite versão 3.31 (Maddison e Maddison 2017). Foram selecionados 72 caracteres qualitativos, 10 caracteres vegetativos (9 binários e 1 multi-estado) e 62 caracteres reprodutivos (38 binários e 24 multi-estado), de acordo com os seguintes critérios cumulativos: (1) seu potencial para distinguir táxons através dos gêneros estudados; (2) a estabilidade de seus estados entre indivíduos do mesmo taxon; (3) a viabilidade das observações associadas; e (4) independência um do outro (Emerson e Hastings 1998, Sereno 2007). Todos os caracteres foram tratados como tendo peso igual e estados não ordenados (parcimônia de Fitch; Fitch 1971).

Análise de dados—As sequências moleculares foram sobrepostas e editadas no software Geneious versão 9 (Kearse et al. 2012). O alinhamento de múltiplas sequências foi executado através do plugin MAFFT 7.017 (Katoh et al. 2002) dentro do mesmo software, com configurações padrão e visualmente inspecionadas. As análises filogenéticas foram conduzidas nas ferramentas disponíveis na plataforma CIPRES (Miller et al. 2010). Análises de máxima verossimilhança (ML) foram realizadas usando

RAxML-HPC2 (Stamatakis 2014) e suporte calculado através de *bootrstrap* com 1000 réplicas não paramétricas (Felsenstein, 1985). O modelo apropriado de substituição de nucleotídeos (GTR+I+G para ITS e TVM+G para matK) foi escolhido com base no critério de informação Bayesiano conduzido com jModelTest2 (Darriba et al. 2012). A Inferência Bayesiana (IB) foi realizada usando MrBayes 3.2.2 (Ronquist et al. 2012) iniciadas a partir de árvores aleatórias e empregadas corridas de Monte Carlo da cadeia de Markov (MCMC), sobre dez milhões de gerações, amostrando árvores a cada 1000 gerações. Foram descartadas 25% das gerações iniciais como *burn-in*, após inspeção visual da estabilização da log-verossimilhança das árvores, medida pelo desvio padrão (s) e PSRF (fator de redução de escala potencial) (Gelman e Rubin, 1992). As 7500 árvores restantes foram usadas para produzir uma árvore de consenso de regra majoritária de 50%, fornecendo as probabilidades posteriores dos clados, visualizadas com FigTree 1.4.4 (Raumbaut 2009).

As análises de máxima parcimônia (MP) foram realizadas com parcimônia de Fitch (1971) usando o software PAUP (Swofford 1991). As análises incluíram 1000 réplicas de adição de táxons aleatórios, contendo dez árvores por replicação, algoritmo de troca de TBR, seguido de uma segunda pesquisa para explorar todas as topologias da pesquisa anterior, limitada a 10.000 árvores. O suporte foi estimado por 1000 réplicas de *bootstrap* (Felsenstein, 1985), adição simples, algoritmo TBR e manutenção de 20 árvores por réplica.

Hipóteses filogenéticas foram geradas para cada análise e tipo de dado separadamente, combinando as duas regiões moleculares e combinando os dados moleculares com os dados morfológicos (Fig.2). A otimização do estado do caráter na topologia que combinou dados moleculares e morfológicos foi feita com alterações não ambíguas usando o programa Winclada (Fig.3, Nixon 2002).

Resultados

A árvore de evidência total, fruto da combinação dos dados moleculares e morfológicos, é representada pelo resultado da inferência bayesiana com os valores de probabilidade posterior (PP) e suporte *bootstrap* (PB) da análise de máxima parcimônia na figura 2.

A árvore resultante evidencia o monofiletismo do clado *Ornithocephalus* (PP= 0,99, 94% PB) com *Phymatidium* apresentando-se como o gênero irmão de todos os outros (PP= 0,99, 94% PB). O clado formado pelos demais gêneros é subdividido em dois subclados irmãos, sustentados presença de sépalas com ápice obtuso (caracteres 19 e 27, Fig. 3).

Centroglossa está incluído em *Zygostates* (PP=0,77, 65% PB), compartilhando a posição dorsal do viscídio como sinapomorfia morfológica (caráter 67). Mesmo assim, as espécies de *Centroglossa* apresentam estreita relação entre si (PP=0,83, 80% PB), sustentadas pela presença do labelo calcarado (caráter 38). *Zygostates* é um gênero parafilético com poucas espécies formando clados com alto suporte: *Z. ovatipetala* é espécie irmã de *Z. pellucida* (PP= 1, 97% PB), compartilhando a presença de papilas na superfície das pétalas (caráter 31) como sinapomorfia morfológica. *Zygostates cornuta* e *Z. lunata* são mais próximas filogeneticamente que em relação as demais espécies do gênero (PP=1, 100% PB), contudo não encontramos sinapomorfia morfológica. *Zygostates bradei* e *Z. cornigera* são espécies irmãs tendo como sinapomorfia um viscídio em forma de gancho, porém sem alto suporte (PP=0,6).

O restante do clado *Ornithocephalus (*PP=0,78, 60% PB) apresenta gêneros relacionados bem suportados, sustentados por diferentes sinapomorfias morfológicas.

Platyrhiza e *Thysanoglossa* são gêneros irmãos (PP=1, 99%PB), compartilhando a cor do labelo (caráter 35) como sinapomorfia. O clado formado por *Dunstervillea*, *Eloyella, Caluera* e *Ornithocephalus* (PP= 0,94, 75% PB), compartilham a presença de folhas unifaciais sem estômatos no sulco adaxial. *Ornithocephalus* e *Caluera* (PP= 0,97, 72% PB) têm como sinapomorfia a ausência de estaminódios em qualquer estágio do desenvolvimento, revertido em *Caluera tavaresii* (caráter 53), e o gênero *Ornithocephalus* (PP=1, 95% PB), tem a sépala dorsal com margens tricomatosas (caráter 18) como característica exclusiva. *Dunstervillea* aparece filogeneticamente mais próxima de *Eloyella* (PP=0,97) sem sinapomorfia morfológica.

Discussão

A hipótese filogenética obtida neste trabalho indica a necessidade de inserção do gênero *Centroglossa* ao gênero *Zygostates* e confirma *Dunstervillea* como membro do clado *Ornithocephalus.* Além disso, através dos caracteres morfológicos identificamos sinapomorfias diagnósticas adicionais que distinguem diferentes grupos dentro do clado *Ornithocephalus*.

A hipótese de que *Centroglossa* e *Zygostates* são relacionados (Toscano de Brito 2001, Chase e Toscano de Brito 2009, Neubig et al. 2012) se confirma em todas as análises realizadas. Já citado por Toscano de Brito (2001), a posição dorsal do viscidio é característica exclusiva destes gêneros no clado. A proximidade das espécies desses dois gêneros é prevista desde a descrição da primeira espécie de *Centroglossa* (*C. greeniana*) por Reichenbach em 1869, descrevendo primeiramente no gênero *Zygostates.*

Se por um lado, não há dúvidas sobre a inserção de *Centroglossa* dentro de *Zygostates,* as relações interespecíficas do gênero ainda não estão claras. A frequência de clados com baixo suporte e politomias presentes entre as espécies de *Zygostates*,

expressa as dificuldades encontradas para delimitá-las por alguns taxonomistas no passado (ex. Reichenbach 1863, Barbosa Rodrigues 1877,1882, Cogniaux 1904, 1905, Pabst e Dungs 1977). Estudos de desenvolvimento floral (ex. Pábon-Mora e González 2008, Royer et al. dados não publicados – Cap. 2) revelam uma alta labilidade dos órgãos no desenvolvimento tardio e estes podem refletir diferentes histórias evolutivas quando exploradas pelas diferentes fontes de dados (morfologica, DNA nuclear e DNA plastidial).

A inserção de *Dunstervillea* ao clado *Ornithocephalus,* também foi confirmada aqui. Apesar da semelhança na morfologia do labelo, o gênero não se apresenta relacionado a *Centroglossa*. O labelo calcarado, assim como vários outros caracteres sinapomórficos dentro do clado, surgiram independentemente mais de uma vez no grupo, revelando um paralelismo entre tais estruturas. Apesar do desenvolvimento do cálcar nesses gêneros nunca ter sido explorado, a origem desta estrutura parece ser distinta. De acordo com Dressler (1981, pp. 45), em *Centroglossa* o cálcar cresce livre do pedicelo e parece ser formado somente por tecidos do labelo, enquanto em *Dunstervillea*, o cálcar apresenta sua base fixada ao ovário, tendo sua provável origem através da junção de um prolongamento do ginostêmio e a base do labelo. Apesar disso, estudos anatômicos do labelo de *Dunstervillea* desenvolvidos por Toscano de Brito (1994, 2001) não revelaram qualquer evidência de algum prolongamento basal do ginostêmio. Toscano de Brito (1994, 2001) indica que a base das sépalas laterais se encontram unidas às porções laterais do calcar do labelo, sugerindo a presença de um prologamento do ginostêmio ou de uma zona de fusão entre o labelo e as sépalas. Como demonstrado por Royer et al. (dados não publicados – Cap. 2), para a formação do calo no labelo e o crescimento dos estaminódios, a presença de cálcar é uma característica formada no desenvolvimento tardio e passível de grande labilidade e homoplasia.

Nossos resultados apontam uma relação mais estreita entre *Dunstervillea* e *Eloyella*, o que corrobora com Toscano de Brito (2001), que já indicava um possível relacionamento próximo entre os dois gêneros. Em nossa análise, os dois gêneros formam um clado com alto suporte de probalibidade posterior (0,97) e compartilham sinapomorfias morfológicas, como a coloração das peças florais e margens inteiras das pétalas. Além disso, ambos apresentam hábito psigmóide, folhas unifaciais, achatadas lateralmente e rostelo curto (Chase e Toscano de Brito 2009).

Literatura Citada

Barbosa Rodrigues, J. 1877 *Genera et Species Orchidearum Novarum, 1.* Sebastianopolis: Typographia Nacional.

Barbosa Rodrigues, J. 1882. *Genera et Species Orchidearum Novarum, 2*. Sebastianopolis: Typographia Nacional.

Bateman, R. M., A. R. M. Murphy, P. M. Hollingsworth, M. L. Hart, I. Denholm, e P. J. Rudall. 2018. Molecular and morphological phylonetics of the digitate-tubered clade within subtribe Orchidinae s.s. (Orchidaceae: Orchideae). *Kew Bulletin* 73: 54.

Chase, M. W. 1988. Obligate twig epiphytes: a distinct subset of Neotropical orchidaceous epiphytes. *Selbyana* 10: 24–30.

Chase, M. W. 2009. Oncidiinae. Pp 212 in: *Genera Orchidacearum: Epidendroideae*, vol. 5, part 2, ed.1, ed. A. M. Pridgeon, P. J. Cribb; M. W. Chase, and F. Rasmussen. New York: Oxford University Press Inc.

Chase, M. W., e J. D. Palmer. 1988. Chlroplast DNA variation, geographical distribution and morphological parallelism in subtribe Oncidiinae (Orchidadeceae). *American Journal of Botany* 75:163-164.

372 Chase, M. W., e A. L. V. Toscano de Brito. 2009. *Zygostates*. Pp 391-394 in: *Genera*
373 *Orchidacearum: Epidendroideae*, vol. 5, part 2, ed.1, ed. A. M. Pridgeon, P. J. Cribb;
374 M. W. Chase, and F. Rasmussen. New York: Oxford University Press Inc.
375 Chiron, G. R. 2007. Phylogenetic analyses of the genus *Baptistonia* (Orchidaceae:
376 Onciidinae) sensu lato based on morphological characters. *Journal of the*
377 *Botanical Research Institute of Texas* 1: 913-931.
378 Chiron, G. R., N. Sanson e R. X. Bolsanello. 2011. Quatre nouvelles espèces d'Orchidaceae
379 du Brésil. *Richardiana* 11 (3):129-149.
380 Cogniaux, A. 1904-1906. Orchidaceae. Pp. 189-192, 213-238 in *Flora Brasiliensis*, vol. 3,
381 part 6, ed. C. F. P. Martius, A. G. Eichler, and I. Urban. Munich and Leipzig:
382 Publisher.
383 Darriba, D., G. L. Taboada, R. Doallo, e D. Pousada. 2012. jModel-Test 2: more models,
384 new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.
385 Desfeux C, e B. Lejeune. 1996. Systematics of Euromediterranean *Silene*
386 (Caryophyllaceae): evidence from a phylogenetic analysis using ITS sequences.
387 Comptes rendus de l'Academie des sciences. Serie III, Sciences de la vie 319: 351–
388 358.
389 Doyle J, e J. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of leaf
390 tissue. *Phytochemical Bulletin, Botanical Society of America* 19: 810–815.
391 Dressler, R. L. 1981. *The orchids: natural history and classification.* Cambridge: Harvard
392 University Press.
393 Dressler, R. L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Cambridge:
394 Harvard University Press.

395 Emerson, S. B., e P. A. Hastings. 1998. Morphological correlations in evolution:
396 consequences for phylogenetic analysis. *The Quarterly Review of Biology* 73: 141–
397 162.
398 Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap.
399 *Evolution* 39:783-791.
400 Fitch, W. M. 1971. Towards defining the course of evolution: minimum change for a
401 specific tree topology. *Systematic Zoology* 20: 406-416.
402 Freudenstein, J. V., e M. W. Chase 2015. Phylogenetic relationships in Epidendroideae
403 (Orchidaceae), one of the great flowering plant radiations: progressive
404 specialization and diversification. *Annals of Botany* 115:665-681.
405 Garay, L. A. 1972. On the systematics of the monopodial orchids I. *Botanical Museum*
406 *Leaflets* 23: 152.
407 Garcia-Cruz J., e V. Sosa. 2005. Phylogenetic relationships and character evolution in
408 *Govenia* (Orchidaceae). *Canadian Journal of Botany* 83: 1329-1339.
409 Gelman, A., e D. B. Rubin. 1992. Inference from iterative simulation using multiple
410 sequences. *Statistical Science* 7: 457-472.
411 Gravendeel, B., e E. F. De Vogel. 2002. Revision of *Coelogyne* section *Moniliformes*
412 (Orchidaceae) based on morphology, plastid and nrITS sequences. *Blumea*
413 47:409-462.
414 Harris, J. G., e M. W. Harris. 1999. *Plant identification terminology: an illustrated glossary*.
415 Spring Lake Publishing: Utah.
416 Katoh, K., K. Misawa, K. Kuma, e T. Miyata. 2002. MAFFT: a novel method for rapid
417 multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nuclei Acids*
418 *Research* 30: 3059-3066.

419 Kearse M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A.
420 Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Meintjes, e A. Drummond.
421 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform
422 for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647-1649.
423 Koehler, S., N. H. Williams, W. M. Whitten, e M. C. E. Amaral. 2002. Phylogeny of the
424 *Bifrenaria* (Orchidaceae) complex based on morphology and sequence data from
425 nuclear rDNA internal transcribed spacers (ITS) and chloroplast *trnL-trn-F*
426 region. *Internacional Journal of Plant Sciences* 163:1055-1066.
427 Lindley, J. 1837. *Zygostates*. Edwards's Botanical Register, vol. 23, 1927. London: James
428 Ridgway and Sons, Picadilly.
429 Lockhart, P. J., and S. A. Cameron. 2001. Trees for bees. *Trends in Ecology and Evolution*
430 16:84-88.
431 Maddison, W. P., e D. R. Maddison. 2017. Mesquite: a modular system for evolutionary
432 analysis. Version 3.31. Avaiable in http://mesquiteproject.org. Access in 05 july
433 2017.
434 Miller, M. A., W. Pfeiffer, e T. Schwartz. 2010. "Creating the CIPRES Science Gateway for
435 inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing
436 Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1 - 8.
437 Moritz C., e D. M. Hillis. 1996. Molecular systematics: Context and controversies. P.p. 1–
438 10 in *Molecular systematics*, ed. 2, ed. D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable.
439 Massachusetts: Sinauer Associates, Sunderland.
440 Neubig, K. M., W. M. Whitten, N. H. Williams, M. A. Blanco, L. Endara, J. G. Burleigh, K.
441 Silvera, J. C. Cushman, e M. W. Chase. 2012. Generic recircumscriptions of
442 Oncidiinae (Orchidaceae: Cymbidieae) based on maximum likelihood analysis of
443 combined DNA datasets. *Botanical Journal of the Linnean Society* 168: 117-146.

444 Nixon, K.C. 2002. Winclada, v. 1.00.08. Publicado pelo autor. Ithaca, New York.

445 Pábon-Mora, N. e F. González. 2008. Floral Ontogeny of *Telipogon* Spp. (Orchidaceae)
446 and insights on the perianth symmetry in the family. *International Journal of*
447 *Plant Sciences* 169 (9): 1159-1173.

448 Pabst, G. F. J. e F. Dungs. 1977. *Orchidaceae Brasilienses*, Vol. 2. Brucke-Verlag Kurt
449 Schmersow, Hildesheim. 418p.

450 Raumbaut, A. 2009. FigTree 1.4.4: tree figure drawing tool.
451 http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtre. (Acesso 13 Mar. 2019).

452 Reichenbach, H. G. 1861-1864. Orchideae. *Annales Botanices Systematicae* 6: 167-933.

453 Reichenbach, H. G. 1869. *Zygostates greeniana*. *Gardeners' chronicle* 38:988.

454 Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, B. Larget, L.
455 Liu, M. A. Suchard, e J. P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian
456 phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic*
457 *Biology* 61: 539-542.

458 Royer, C. A., A. L. V. Toscano De Brito e E. C. Smidt. 2017a. O gênero *Zygostates*
459 (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná, Brasil. *Rodriguésia* 68(4): 1431-
460 1446.

461 Royer, C. A., A. L. V. Toscano De Brito e E. C. Smidt. 2017b. *Centroglossa tripollinica*
462 (Barb.Rodr.) Barb.Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotypification and
463 rediscovery in the State of Paraná, Brazil. *Hoehnea* 44(1): 139-144.

464 Sandoval-Zapotitla, E., J. García-Cruz, T. Terrazas e J. L. Villaseñor. 2010. Relaciones
465 filogenéticas de la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae) inferidas a partir de
466 caracteres estructurales y secuencias de ADN (ITS y *mat*K): un enfoque
467 combinado**.** *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 263- 279.

468 Sereno, P. C. 2007. Logical basis for morphological characters in phylogenetics. *Cladistics*
469 23: 565-587.
470 Smidt, E. C., A. L. V. Toscano de Brito, A. C. Martins, C. A. Royer, W. M. Whitten, e M. W.
471 Chase. 2018. Phylogenetics, biogeography and character evolution in the
472 *Ornithocephalus* clade (Orchidaceae, Oncidiinae). *Botanical Journal of the Linnean*
473 *Society* 188: 339–354.
474 Sosa, V., M. W. Chase, G. Salazar, W. M. Whitten, e N. H. Williams. 2001. Phylogenetic
475 position of *Dignathe* (Orchidaceae: Oncidiinae): evidence from nuclear ITS
476 ribosomal DNA sequences. *Lindleyana* 16:94-101.
477 Stamatakis, A. 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-
478 Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.
479 Stearn, W. T. 2004. *Botanical Latin*. Timber press. Oregon.
480 Swofford, D. L. 1991. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony, Version 3.1
481 Computer program distributed by the Illinois Natural History Survey, Champaign,
482 Illinois.
483 Thiers B. 2019 [continuously updated]. Index Herbariorum: The Herbaria of the world.
484 New York Botanical Garden. Disponível em: <http://sweetgum.nybg.org/ih/>.
485 Acesso em 27 de março de 2019.
486 Toscano de Brito, A. L. V. 1994. *Systematic studies in the subtribe Ornithocephalinae*
487 *(Orchidaceae)*. London: Universidade de Reading and Royal Botanic Gardens,
488 Kew.
489 Toscano de Brito, A. L. V. 2001. Systematic review of the *Ornithocephalus* group
490 (Oncidiinae:Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella*. *Lindleyana* 16: 157-
491 217.

492 Toscano de Brito, A. L. V. 2007. A taxonomic revision of the genus *Phymatidium*
493 (Orchidaceae: Oncidiinae). *Kew Bulletin* 62: 529-560.
494 Toscano de Brito, A. L. V. 2017. *Zygostates luerorum* — A new species from Bolivia in the
495 *Ornithocephalus* clade of subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). *Harvard Papers in*
496 *Botany* 22(2): 133-135.
497 van den Berg, C., D. H. Goldman, J. V. Freudenstein, A. M. Pridgeon, K. M. Cameron, e M.
498 W. Chase. 2005. An overview of the phylogenetic relationships within
499 Epidendroideae inferred from multiple DNA regions and recircumscription of
500 Epidendreae and Arethuseae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 92: 613 –
501 624.
502 Williams, N. H., M. W. Chase, T. Fulcher, e W. M. Whitten. 2001. Molecular systematics of
503 the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded
504 circumscriptions of *Cyrtochilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, and *Trichocentrum* and a
505 new genus (Orchidaceae). *Lindleyana* 16: 113-139.
506 Wortley, A. H., e R. W. Scotland. 2006. The effect of combining molecular and
507 morphological data in published phylogenetic analyses. *Systematic Biology* 55:
508 677-685.

TABELA 1. Resultado da análise filogenética utilizando o critério de Máxima Parcimônia para cada um dos conjuntos de dados considerados.

	nrITS	**matK**	**ITS+matK**	**Morfológica**	**Análises combinadas**
N° táxons	41	37	41	54	54
N° caracteres	780	858	1638	72	1710
N° caracteres constantes	383 (49%)	649 (75%)	1032 (62%)	1 (1,3%)	1034 (60%)
N° caracteres não-informativos	100 (12%)	118 (13%)	218 (12%)	1 (1,3%)	218 (12%)
N° caracteres informativos	297 (38%)	91 (11%)	388 (24%)	70 (97%)	458 (26%)
N° de árvores retidas	80	100	100	54	72
Comprimento árvore	1069	307	1398	431	1861
Índice consistência (CI)	0.56	0.75	0.60	0.27	0.51
Índice de homoplasia (HI)	0.43	0.24	0.39	0.72	0.48
Índice de retenção (RI)	0.72	0.80	0.73	0.60	0.68

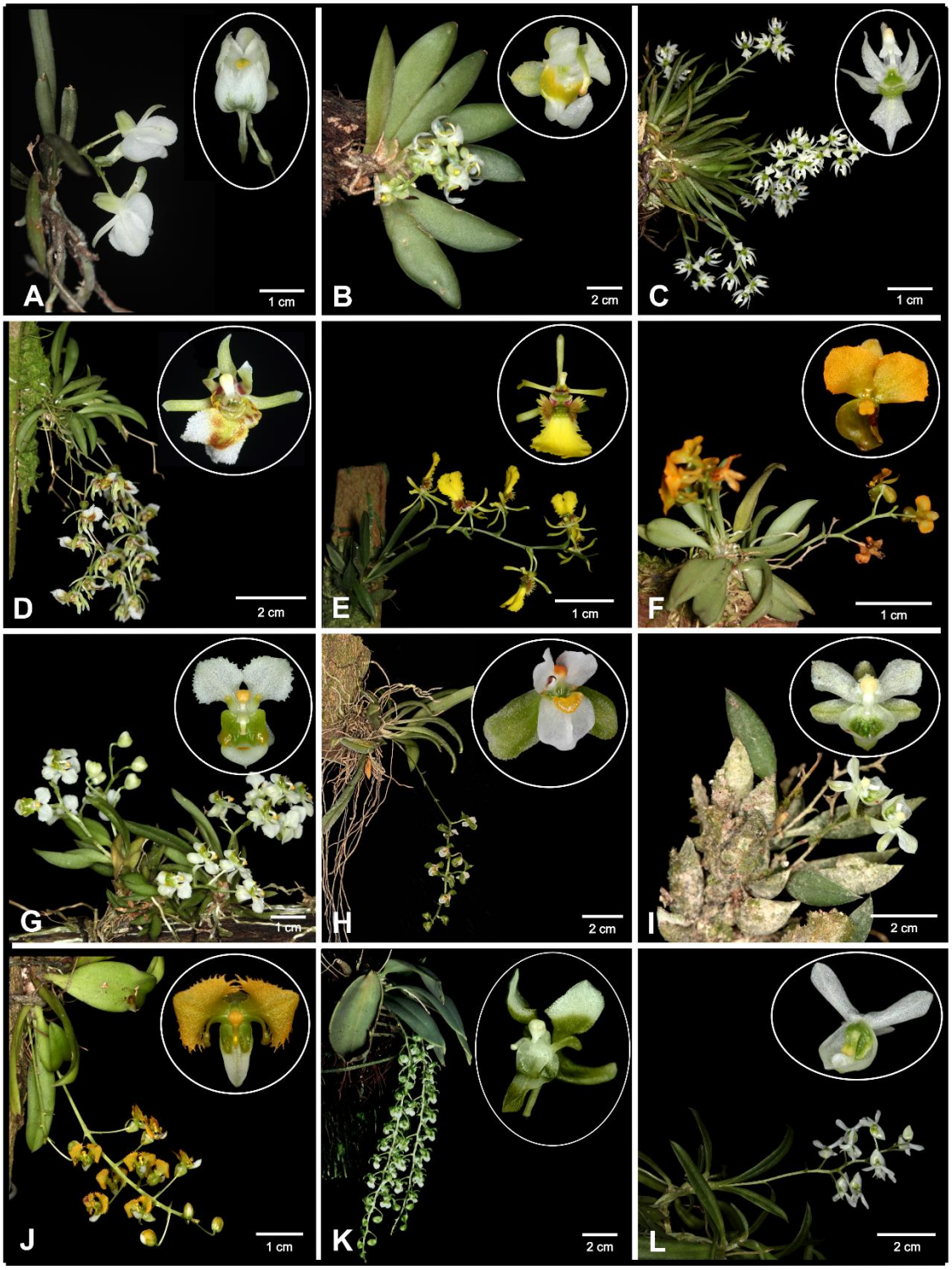


FIG. 1. Representantes do clado *Ornithocephalus*, com destaque para o gênero *Zygostates*, apresentando o hábito e o detalhe da flor. A, *Centroglossa greeniana.* B, *Ornithocephalus gladiatus*. C, *Phymatidium geiselii*. D, *Rauhiella seehawerii*. E, *Thysanoglossa jordanensis*. F, *Zygostates aderaldoana*. G, *Z. alleniana*. H, *Z. bradei*. I, *Z. dayrhiza*. J, *Z. lunata*. K, *Z. ovatipetala.* L, *Z. pustulata*.

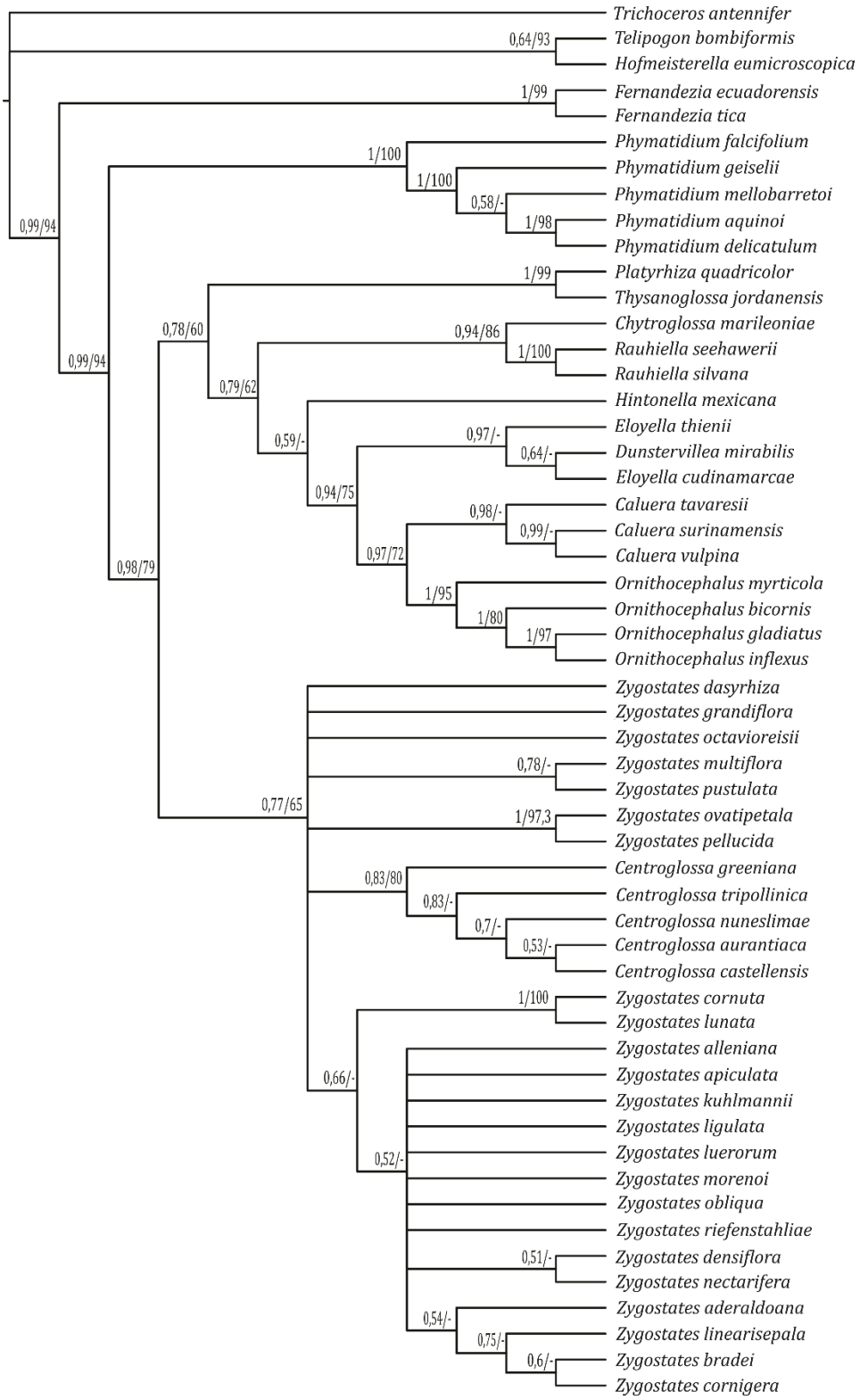


FIG. 2. Árvore da Inferência bayesiana resultado da combinação dos dados moleculares (matK+ITS) e morfológicos. Números nos nós representam probabilidade posterior da inferência bayesiana e porcentagens bootstrap da análise de máxima parcimônia (>50%).

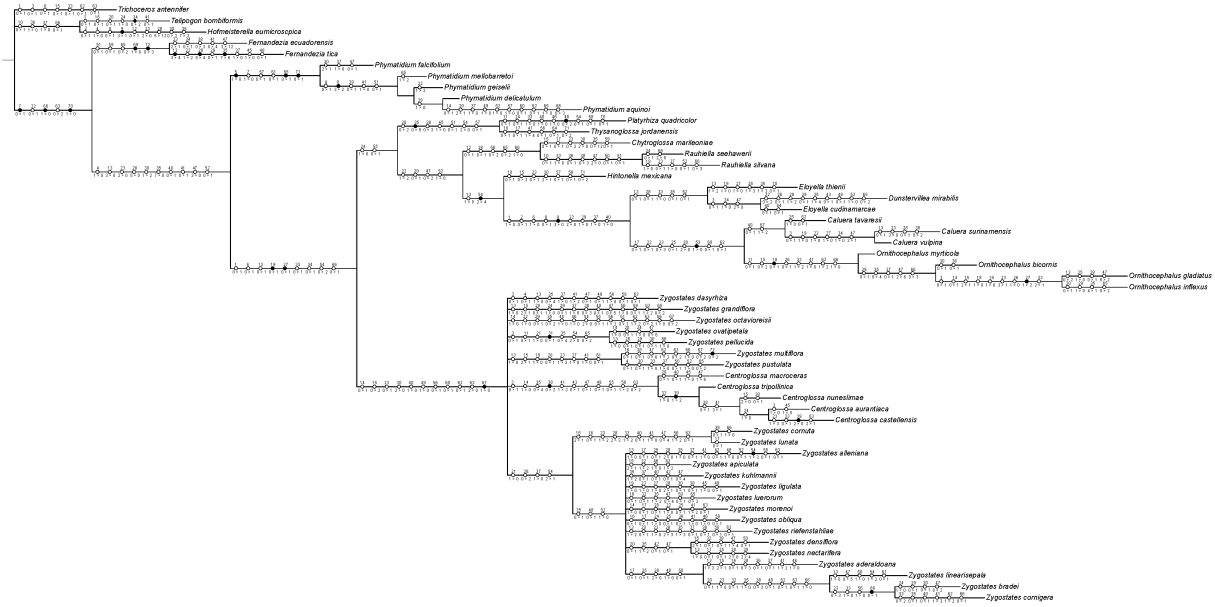


FIG. 3. Evolução dos 72 caracteres morfológicos na árvore de Inferência Bayesiana. Círculos pretos representam sinapomorfias não-homoplásticas e círculos brancos representam sinapomorfias homoplásticas. Números acima dos ramos correspondem aos caracteres e números abaixo dos ramos ao estado de caráter de acordo com o apêndice 3.

APÊNDICE 1. Lista das espécies, coletor e número, herbário, e número de acesso da sequência do GenBank para os genes ITS e matK dos espécimes usados neste estudo. *sequenciado no estudo. Travessão longo (—) informação não disponível.

Ingroup: ***Caluera tavaresii*** Campacci & J.B.F.Silva, *Toscano de Brito 3034,* (UPCB), KX687827, *. ***Centroglossa greeniana*** (Rchb.f.) Cogn., *C.A. Royer 69,* (UPCB), *, *. ***Centroglossa cf. nuneslimae*** Porto & Brade, *M. Klingelfuss 274,* (UPCB), *, —. ***Chytroglossa aurata*** Rchb.f., *Gerlach 07/0068,* (M), FJ565241, FJ564753. ***Chytroglossa marileoniae*** Rchb.f., *Smidt 1046,* (UPCB), KX687828, *. ***Eloyella thienii*** Dodson, *Whitten 1833,* (FLAS), DQ315820, DQ315888. ***Hintonella mexicana*** Ames, *Whitten 513,* (FLAS), FJ565447, FJ564940. ***Ornithocephalus bicornis*** Lindl., *Whitten 2375,* (FLAS), FJ565564, *Whitten 3264,* (FLAS), FJ565126. ***Ornithocephalus gladiatus*** Hook., *Toscano de Brito 3411,* (UPCB), *, *. ***Ornithocephalus inflexus*** Lindl., *Toscano de Brito 2775,* (UPCB), KX687833, *Blanco 2645,* (USJ), DQ315891. ***Ornithocephalus myrticola*** Lindl., *Smidt 1034,* (UPCB), KT709694, *C.A. Royer 114,* (UPCB), *. ***Phymatidium aquinoi*** Schltr., *Lima 343,* (UPCB), KT709687, KR709308. ***Phymatidium delicatulum*** Lindl., *Smidt 965,* (UPCB), KX687838, *C.A. Royer 17,* (UPCB), KR709309. ***Phymatidium falcifolium*** Lindl., *Mancinelli 1371,* (UPCB), KT709691, KR709310. ***Phymatidium geiselii*** Ruschi, *M. Bolson 505,* (UPCB), KT709684, KR709315. ***Phymatidium mellobarretoi*** L.O. Williams & Hoehne, *Smidt 1028,* (UPCB), KT709692, KR709311. ***Platyrhiza quadricolor*** Barb.Rodr., *Cabral 19* (UPCB), KX687840, *C.A. Royer 39,* (UPCB), *. ***Rauhiella seehawerii*** (I.Bock) Toscano & Christenson, *M. Klingelfuss 273,* (UPCB), *, *Smidt 1047,* (UPCB), *. ***Rauhiella silvana*** Toscano, *Smidt 674,* (HUEFS), KX687842, —. ***Thysanoglossa jordanensis*** Porto & Brade, *M. Klingelfuss 276,* (UPCB), *, Heidelberg BG 120057, (HEID), EF079224. ***Zygostates aderaldoana*** Toscano, Felix & Dornelas, *C.A. Royer 159,* (UPCB), *, *. ***Zygostates alleniana*** Kraenzl., *C.A. Royer 56,* (UPCB), *, *. ***Zygostates apiculata*** (Lindl.) Toscano, *Toscano de Brito 2773,* (UPCB), *, *Whitten 2929,* (FLAS), FJ565111. ***Zygostates bradei*** (Schltr.) Garay, *Toscano de Brito 2435,* (UPCB), KX687844, *C.A. Royer 171,*

(UPCB), *. ***Zygostates cornuta*** Lindl., *Smidt 1033,* (UPCB), KX687845, *Smidt 972,* (UPCB), KR709313. ***Zygostates dasyrhiza*** (Kraenzl.) Schltr., *Mancinelli 1066,* (UPCB), KX687846, *C.A. Royer 113,* (UPCB), *. ***Zygostates densiflora*** (Senghas) Baptista, *XI/1248,* (M), *, *. ***Zygostates grandiflora*** (Lindl.) Mansf., *Chase O-103,* (K), AF350508, AY368405. ***Zygostates kuhlmannii*** Brade, *Smidt 1049,* (UPCB), KX687847, *C.A. Royer 57,* (UPCB), *. ***Zygostates lunata*** Lindl., *Toscano de Brito 3336,* (UPCB), *, *Gerlach92/3883,* (M), FJ564835. ***Zygostates multiflora*** (Rolfe) Schltr., *F. de Jesus 09,* (UPCB), *, *. ***Zygostates nectarífera*** (Senghas) Toscano, *2009/1087* (M), **, *.* ***Zygostates obliqua*** (Schnee) Toscano, *Williams 437,* (FLAS), *, *Gerlach93/3251* (M), FJ564838. ***Zygostates ovatipetala*** (Brade) Toscano, *Toscano de Brito 3757,* (UPCB), *, —. ***Zygostates pellucida*** Rchb.f., *Toscano de Brito 2597,* (UPCB), KX687849, *Whitten 2792,* (FLAS), FJ565103. ***Zygostates pustulata*** (Kraenzl.) Schltr., *Mancinellii 1217A,* (JOI), *, *.

Outgroup: ***Fernandezia ecuadorensis*** (Dodson) M.W.Chase, *Whitten 3285,* (FLAS), FJ565635, FJ565127. ***Fernandezia tica*** Mora-Ret. & García Castro, *Dressler & Atwood s.n.*, (FLAS), FJ565453, *Maduro 240,* (MO), DQ315889. ***Hofmeisterella eumicroscopica*** (Rchb.f.) Rchb.f., *Whitten 2690,* (FLAS), DQ315823, FJ565091. ***Telipogon bombiformis*** Dressler, *Maduro 138,* (FLAS), DQ315854, —. ***Trichocerus antennifer*** (Bonpl.) Kunth, *Whitten 1803,* (FLAS), DQ315883, *Trujillo 340,* (HURP), FJ564744.

APÊNDICE 2. Material examinado utilizado na filogenia morfológica.

Centroglossa aurantiaca **Chiron & N. Sanson**: BRASIL: Espírito Santo, Domingos Martins, s.d., coletado por N. Sanson, s.n., ex. *Chiron 10129* (MBML). ***Centroglossa castellensis*** **Brade**: BRASIL: Espirito Santo, Castelo, Braço do Sul, cult. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 27 Out. 1948, *A.C. Brade 19141* (RB). Fundão, Goiapaba-Açu, 5 Mai 2003, *A.P. Fontana* et al. *577* (MBML). Minas Gerais: Belo Vale, 23 Out. 2001, *J.A. Lombardi 4494* (BHCB). ***Centroglossa greeniana*** **(Rchb.f.) Cogn.:** BRASIL. Sem localidade, s.d., *A.F.M. Glaziou 17809* (C); 15

Abri..1974, *Firma Pfister ex Brasilien* (HEID250651); 23 Mar. 1984, *Firma Pfister ex Brasilien* (HEID250650). Espirito Santo: Alegre, Caveira da Anta, 12 Out. 2007, *D.R. Couto* et al. *346* (MBML); Domingos Martins, Pedra Azul, 6 Nov. 1972, *R. Kautsky & G. Bomba s.n.* (HB 58521); Santa Maria do Jetibá, Garrafão, 3 Mar. 2003, *M.V.S. Berger & A. Belz 63* (MBML); Santa Teresa, Reserva Biológica Augusto Ruschi, 23 Ago. 2012, *T.B. Flores & G.O. Romão 1096* (ESA), Santo Antônio, 4 nov. 2005, *L. Kollmann & A.P. Fontana 8427* (MBML). Minas Gerais: Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó, Set. 1996, *L.S. Leoni 3467* (HB); Araponga, Pedra do Indio, 21 Nov. 2004, *A. Heringer Salles* et al. *3449* (HEPH); Caparaó, 20 Out. 1922, *P. Campos Porto 1135* (RB); Ibitipoca, Parque Estadual do Ibitipoca, 16 Out. 1993, *R.C. Forzza* et al. *59* (CESJ); Serra do Cipó, 3 Nov. 1973, *P.G. Windisch s.n.* (HB 53189). Rio de Janeiro: Miguel Pereira, Reserva Biológica do Tinguá, 11 Jul. 2005, *M. Bocayuva & E. Saddi 156* (RB); Nova Friburgo, Ago. 1965, *F. Dungs s.n.* (HB 40701); Petrópolis, Jul. 1931, *C. Spanngel s.n.* (R 35810); Teresópolis, 27 Set. 1929, *A.C. Brade 9458* (R); 17 September 1945, *A. Guimarães s.n.* (RB 00247644); Serra dos Orgãos, 13 Out. 1981, *A.C. Brade 17123* (RB); Parque Nacional da Serra dos Orgãos, 21 Out. 1977, *P.J.M. Maas & G. Martinelli 3390* (HB;RB). São Paulo: Santo André, Alto da Serra, Set. 1898, *G. Edwall 4041* (SP); Mairiporã, Parque Estadual da Cantareira, s.d., *F.A.R.D.P. Arzolla 265* (SPSF). ***Centroglossa nunes-limae*** **Porto & Brade**: BRASIL. Minas Gerais, Juiz de Fora, cult. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 16 Out. 1937, *J. Nunes Lima s.n.* (RB00542579). Rio de Janeiro: sem localidade, s.d., *C. Gaudichaud s.n.* (R35809). ***Centroglossa tripollinica*** **(Barb.Rodr.) Barb.Rodr.**: BRASIL. Sem localidade, 1994, *Firma Pfister ex Brasilien* (HEID250652). Sem localidade, florida em cultivo em Curitiba por M. Klingelfus s.n., 22 Jun, 2015, *A. Toscano de Brito 3408* (UPCB); 01 Jun. 2016, *C.A. Royer* 135 (UPCB). Espírito Santo: Castelo, s.d., *A.C. Brade 30* (HB). Minas Gerais: Bom Jardim de Minas, 12 Mai. 1961, *J.E. Saléh 60* (HB); Caldas, perto Fazenda Capivary, 15 Mai. 1874*, C.W.H. Mosén 1708* (S); Caldas, s.d., *A.F. Regnell III-1171* (S); Caldas, Pedra Branca, 18 Ago. 1857, *A.F. Regnell III-1170* (S; SP; P); Conceição do Mato Dentro, Parque Natural Municipal do Ribeirão do Campo, 8 Ago. 2002*, R.C.*

Mota et al. *2516* (BHCB). Rio de Janeiro: Itatiaia, Fev. 1942, *A.C. Brade 17336* (RB); Serra dos Orgãos, 1887, *J.T. de Moura 49* (BR). São Paulo: Campos do Jordão, Eugênio Lefreve, 15 Set. 1968, *O. Handro 2068* (SPF). Paraná: Sem localidade, 1908–1916, *P.K.H. Dusén s.n.* (S 1644828); Quatro Barras, Morro Mãe Catira, Rodovia da Graciosa, 13 Mai. 2016*, C.A. Royer* et al. *134* (UPCB). ***Chytroglossa marileoniae*** **Rchb.f.**: Brasil: Sem localidade, s.d., *Smidt 1046* (UPCB). Sem localidade, cultivada em orchidário, 26 Out. 2015, *C.A. Royer 55* (UPCB). ***Ornithocephalus myrticola*** **Lindl.:** Brasil. Espírito Santo: Domingos Martins, florida em cultivo, 17 Fev. 2017, *C.A. Royer & W.C. Cardoso 165* (UPCB). Santa Catarina, Benedito Novo, 27 Jan. 2016, *C.A. Royer 114* (UPCB). ***Phymatidium aquinoi*** **Schltr.:** Brasil. Espirito Santo: Castelo, Parque Estadual do Forno Grande, floresceu em cultivo, 22 Fev. 2017, *C.A. Royer* et al. *166* (UPCB). Paraná: Quatro Barras, Estrada da Graciosa, 29 Nov. 2015, *C.A. Royer & D.C. Imig 80* (UPCB). ***Phymatidium delicatulum*** **Lindl.:** BRASIL. Espírito Santo: Marechal Floriano, Santa Maria, floresceu em cultivo, 2 dez. 2016, *C.A. Royer* et al. *161* (UPCB). Paraná: Antonina, APA Guaraqueçaba, SPVS Cachoeira, 1 Mai. 2012, *C.A. Royer 16* (UPCB), Guaratuba, Fev. 2013, *C.A. Royer & M. Bornschein 17* (UPCB), Quatro Barras, Estrada da Graciosa, 28 Nov. 2014, *C.A. Royer & D.C. Imig 18* (UPCB), Pontal do Paraná, As margens do rio Guaraguaçu, 30 Nov. 2015, *C.A. Royer & D.C. Imig 81* (UPCB). São Paulo: Iporanga, Parque Estadual Turistico do Alto Ribeira, 17 Fev. 2012, *C.A. Royer & F.F.F. Mazziero 15* (UPCB). ***Phymatidium falcifolium*** **Lindl.:** Brasil: Paraná: Telemaco Borba, Usina Hidrelétrica de Mauá, 21 Jan. 2015, *C.A. Royer 26* (UPCB); Quatro Barras, Estrada da Graciosa, 29 Nov. 2015, *C.A. Royer & D.C. Imig 78* (UPCB). Rio de Janeiro: Itatiaia, Parque Nacional do Itatiaia, 24 Ago. 2015, *C.A. Royer & M. Bolson 47* (UPCB). ***Phymatidium geiselii*** **Ruschi:** BRASIL. Espírito Santo: Domingos Martins, florido em cultivo, Jul. 1969, *R. Kautsky s.n.* (HB), s.d., *F. Dungs s.n.* (HB). Rio de Janeiro: Itatiaia, nas Macieiras, 7 Jan. 1929, *J. Ferreira 1716* (US, S, AMES, G, F); Itatiaia, trilha para a estação metereológica, 25 Dec. 1915, *O. Ames 108* (AMES), florida em cultivo, 4 Dez. 2015, *C.A. Royer & M. Bolson 89* (UPCB). Nova Friburgo, Pico da Caledônia, 9 Mai. 2012, *A. Bonnet and E. Caglioni*

127 (UPCB); Nova Friburgo, 26 Mar.1967, *F. Dungs s.n.* (HB); Teresópolis, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Trilha Pedra do Sino, entre os abrigos 3 e 4, 23 Mar. 2014, *M. Bolson* et al. *505* (UPCB). ***Phymatidium mellobarretoi*** **L.O. Williams &Hohene.** Brasil. Minas Gerais: Alagoa, Parque Municipal da Serra do Papagaio, 19 Mai. 2005, *L. Echternacht & R.C. Mota 982* (BHCB); Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó, 2 Mar. 2010, *I.R. Martins da Costa* et al. *147* (BHCB); Airuoca, Parque Estadual da Serra da Papagaio, 18. Mai. 2005, *L. Echternacht & R.C. Mota 1019* (BHCB); 12 Mar. 2008, *P.L.Viana* et al. *3921* (BHCB); Delfim Moreira, Serra da Mantiqueira, 15 Mar. 2011, *R. Fernandes* et al. *769* (BHCB); 19 Mar. 2011, *A.L. Gasper* et al. *2703* (BHCB). Rio de Janeiro: Nova Friburgo, 21 Jan. 2010, *J. Meirelles* et al. *436* (UPCB). São Paulo: Caraguatatuba, s.d., *E.C. Smidt 1028* (UPCB). ***Platyrhiza quadricolor*** **Barb.Rodr.:** Sem localidade, cultivada em orquidário, 17 Dez. 2014, *C.A. Royer 39* (UPCB); cultivada em orquidário, 14 Nov. 2015, *C.A. Royer 61* (UPCB). ***Rauhiella seehawerii*** **(I.Bock) Toscano & Christenson**: BRASIL. Sem localidade: Cultivada em orquidário PR, Nov 2018. *M. Klingelfuss 273* (UPCB). ***Thysanoglossa jordanensis*** **Porto & Brade**: BRASIL. Sem localidade: Cultivada em orquidário PR, Nov 2018. *M. Klingelfuss 276* (UPCB). ***Zygostates aderaldoana*** **Toscano, L.P. Félix & Dornelas:** Brasil. Paraíba: Areia, Fazenda Pirauai, 31 Dez. 2002, *L.P. Felix 9790* (RB); 4 Jan. 1997, *L.P. Félix* et al. *sn*. (HUEFS187340); florida em cultivo, Dez. 2016, *C.A. Royer* et al. *159* (UPCB). ***Zygostates alleniana*** **Kraenzl.:** Argentina. Chaco: Fontana, Dez. 1932, *T. Meyer 840* (AMES). Formosa: Guaycube, Dez. 1918, P. Jorgensen 3050 (AMES). Jujuy: Capital, 26 Set. 1938, W.J. Eyerdam & A.A. Beetle sn (F1593988). Missiones: Apostoles, 16 Out. 1978, S.A. *Renvoize et al 3157* (AMES). Brasil. Sem localidade: cultivada em orquidário PR, 2 Out. 2015, *C.A. Royer 54* (UPCB); cultivada em orquidário SC, 26 Out. 2015, *C.A. Royer 56* (UPCB). Paraná: Planaltina do Paraná, 10 Nov. 1952*, G. Hatschbach 2722* (HB). Pernambuco: Caruaru, 6 Mar. 1966, *G.M. Barroso s.n.* (HB40948). Rio Grande do Sul: Porto Alegre, 8 Dez. 1963, *G.F.J. Pabst 7401* (HB). Santa Catarina: Florianópolis, 22 Jan. 1969, *R.M. Klein 8099* (FLOR). Paraguay. Caazapa, Tavai, 29 Out. 1988, *I. Basualdo 1697* (MO). Guaira: sem localidade, 19 Ago.

1989, *A. Aguayo 586* (MO). Paraguari: Caapucu, 20 Nov. 1956, *T.M. Pedersen 4364* (F). ***Zygostates apiculata* (Lindl.) Toscano:** Guyana. Potaro-Siparuni, 25 Jun. 2013, *H.D. Clarke* et al. *10137* (US). Equador. Sem localidade, 29 Jan. 2005, *M. Whitten 2929* (FLAS). Venezuela. Sem localidade, 1 Jun. 1964, *Palmengarten Frankfurt 3141* (HEID). ***Zygostates bradei* (Schltr.) Garay:** Brasil. Sem localidade: cultivada em orquidário PR, 9 Nov. 2015, *C.A. Royer 58* (UPCB). Pernambuco: Bonito, 14 Set. 2008, *A.T. Brito* et al. *2435* (HUEFS). Paraná: Guaratuba, 11 Nov. 1962, *G. Hatschbach 9820* (MBM). São Paulo: Iguape, Morro das Pedras, s.d., A.*C. Brade s.n.* (HB 57978). ***Zygostates cornuta* Lindl.:** BRASIL. Bahia: Camacan, 13 Jan. 2016, *C.A. Royer 97* (UPCB); 27 Jan. 2016, *C.A. Royer 112* (UPCB); Jequié, 7 Dez. 2004, *G.E.L. Macedo & J.L. Paixão 1431* (HUEFS). Espirito Santo: Mimoso do Sul, 7 Jan. 2005, *D.R. Couto 228* (MBML). Minas Gerais: Caratinga, 24 Nov. 1984, *P.M. Andrade & M. Lopes 573* (BHCB). Paraná: Paranaguá, 30 Abri. 1988, *W.S. Sousa* et al. *1282* (UPCB). Rio de Janeiro: Nova Friburgo, 26 Fev. 2004, *C.A. Zaldini 26* (RB). Santa Catarina: Sem localidade, 12 Fev. 2016, *C.A. Royer 126* (UPCB); Joinville: Estrada Bonita, 10 Abr. 2015, *C.A. Royer & M. Bolson 32* (UPCB). São Paulo: Cananéia, 7 Mar, 1985, *F. Barros 1055* (SP). ***Zygostates dasyrhiza* (Kraenzl.) Schltr.:**Brasil. Sem localidade, cultivada em orquidário, 17 Dez. 2014, *C.A. Royer 38* (UPCB). Paraná: Tijucas do Sul, 4 Dez. 2015, *C.A. Royer & D.C. Imig 90* (UPCB). Rio Grande do Sul: São Francisco de Paula, 15 Dez. 2008, *C.R. Buzatto 462* (ICN). Santa Catarina: Monte Castelo, BR 116, 21 Jan. 2016, *C.A. Royer 112* (UPCB). ***Zygostates densiflora* (Senghas) Baptista**: Bolivia. Sapecho, florida em cultivo no Jd. Botânico de Munique, cod. XI/1248, Fev. 2008, *s.col.* (M). Caranavai, florida em cultivo no Jd. Botânico de Munique, s.d., *s.col.* (M). ***Zygostates grandiflora* (Lindl.) Mansf.:** Brasil. Sem Localidade: cultivada em orquidário RJ, 17 Nov. 2015, *C.A. Royer 68 & Toscano de Brito 3466* (UPCB). Rio de Janeiro: Teresópolis, 5 Jul. 1968, *P.I.S. Braga 1732* (RB). ***Zygostates kuhlmannii* Brade:** Brasil. Sem localidade, cultivada em orquidário PR, 26 Out. 2015, *C.A. Royer 57* (UPCB). Bahia: Vitória da Conquista, 24 Nov. 1999, *A.L.V. Toscano de Brito 2115* (RB). Espirito Santo: Colatina, Rio Doce, 2 Dez. 1943, J.*G. Kuhlmann 6599* (RB). Pernambuco:

Taquaratinga do Norte, 13 Set. 2008, *A.T. Brito 2433* (HUEFS). ***Zygostates linearisepala* (Senghas) Toscano. *Zygostates luerorum* Toscano & R. Vásquéz:** Bolivia. Cochabamba, Cocapata, 5 Fev. 1997, *C. Luer, J. Luer and R. Vásquez 18390* (SEL). ***Zygostates lunata* Lindl**.: Brasil. Espirito Santo: Domingos Martins, florida em cultivo, 12 Dez. 2016, *C.A. Royer 162* (UPCB); 6 Fev. 2016, *C.A. Royer & W.C. Cardoso 164* (UPCB). Minas Gerais: Aiuroca, 17 Jan. 2008, *J.A.N. Batista 2423* (BHCB). Paraná: Telemâco Borba, 18 Set. 2008, *M. Kaehler 211* (UPCB). Rio de Janeiro: Cantagalo, 16 Abri.. 2009, *R. Borges 939* (RB). São Paulo: Ubatuba, 25 Dez. 1998, *R.B.Singer 98\142* (UEC). ***Zygostates multiflora* (Rolfe) Schltr.** Brasil. Paraná: Morretes, 19 Jan. 1971, *G. Hatschbach 25991* (MBM). Rio de Janeiro: Itatiaia, 8 Fev. 1942, *A.C. Brade 17200* (RB). São Paulo: Santo André, 18 Mai. 1961, *G. Eiten & L.T. Eiten 2767-A* (US). ***Zygostates nectarífera* (Senghas) Toscano**: Bolivia. Sem localidade: florida em cultivo no Jd. Botânico de Munique, cod. 2013_0222, Fev. 2013, *s. col.* (M). ***Zygostates obliqua* (Schnee) Toscano**: Bolivia. La Paz: Parque Nacional de Cotapata, 9 Set. 2000, *T. Kromer & C. Acebey 1496* (SEL). Venezuela. Sem localidade: florida em cultivo no Jd. Botânico de Munique, Jul. 2008, *G. Gerlach 93/3021* (M); 15 Set. 1964, *Botanical Garden Mainz s.n.* (HEID251301_spirit). Falcon: 28 Mar. 1984, *T. Plowman et al s.n.* (F1932097); florida em cultivo no Jd. Botânico de Munique, s.d., *G. Gerlach 93/3251* (M). ***Zygostates octavioreisii* Porto & Brade**. Brasil. Sem localidade: Out. 1951, *Brade s.n.* (RB280648). Rio de Janeiro: Cabo Frio, Jul. 1932, *C. Porto s.n.* (RB26628). ***Zygostates ovatipetala* (Brade) Toscano**. Brasil. Rio de Janeiro: Santo Antônio do Imbé, Jun. 1932, *A.C. Brade & Santos Lima 11771* (R). Santa Maria Madalena, florida em cultivo, 18 Mar. 2019*, Toscano de Brito 3757* (UPCB). ***Zygostates pellucida* Rchb.f.:** Sem localidade: cultivada em orquidário RJ, 14 Nov. 2015, *C.A. Royer 60 & Toscano de Brito 3457* (UPCB), 3 Dez. 2015, *C.A. Royer 83* (UPCB); cultivada em orquidário SC, 25 Jan. 2017, *C.A. Royer 168* (UPCB). Rio Grande do Sul: Dom Pedro de Alcantara, 22 Jan. 2005, *V.C. Souza & V.F. Kinupp 30564* (ESA). Rio de Janeiro: Mariacá, 3 Dez. 2015, *C.A. Royer 84* (UPCB). Santa Catarina: Benedito Novo, 21 Jan. 2016, *C.A. Royer 111* (UPCB); Palhoça, 8 Jan. 2016, *C.A. Royer*

95 (UPCB); 5 Fev. 2016, *C.A. Royer 125* (UPCB). São Paulo: Caraguatatuba, 13 Jan. 2016, *C.A. Royer 96* (UPCB). ***Zygostates pustulata* (Kraenzl.) Schltr.** Brasil. Sem localidade: cultivada em orquidário PR, 20 Mar. 2018, *C.A. Royer 172* (UPCB). Paraná: Morretes, Serra da Prata, 7 Mai. 2010, *W. Mancinelli & M.L. Brotto 1217A* (JOI). Santa Catarina: Garuva, 29 Jan. 2013, *E. Barboza* et al. *3533* (MBM).

APÊNDICE 3. Caracteres e estados de caráter codificados na filogenia morfológica.

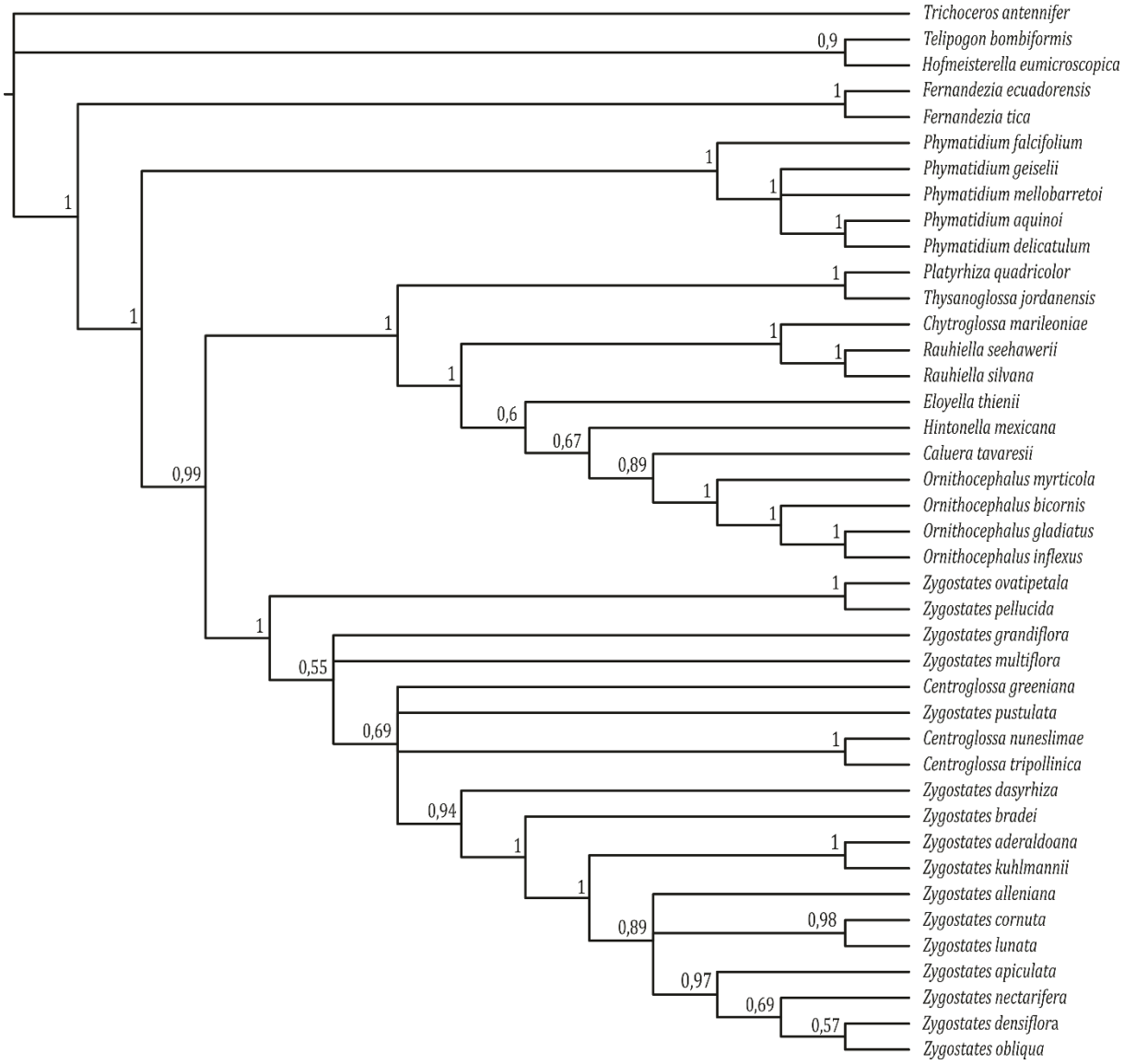
1. Crescimento: (0) Monopodial; (1) Simpodial.
2. Hábito: (0) Não-psigmoide; (1) Psigmoide.
3. Raíz superfície: (0) Glabra; (1) Pilosa.
4. Caule: (0) Inconspícuo; (1) Curto a alongado.
5. Filotaxia: (0) Espiralada; (1) Dística.
6. Pseudobulbos: (0) Ausente; (1) Presente.
7. Folha articulação: (0) Ausente; (1) Presente.
8. Folha forma geral: (0) Bifacial; (1) Unifacial.
9. Folha forma: (0) Unifacial sem estômatos no sulco adaxial; (1) Unifacial com estômatos no sulco adaxial; (2) Irregular, triangular, terete à semiterete; (3) Bifacial, leve ou distintamente em forma de V em seção transversal.
10. Folha distribuição dos estômatos: (0) Hipoestomático; (1) Anfiestomático.
11. Inflorescência eixo surperficie: (0) Glabra; (1) Papilosa/Pilosa.
12. Inflorescência raque em zig-zag: (0) Ausente; (1) Presente.
13. Flor sépalas cor: (0) Branca; (1) Esverdeada; (2) Laranja-Amarela; (3) Amarelada; (4) Rosa.
14. Flor sépala dorsal posição: (0) Espalhando ou levemente incurvada; (1) Reflexa.
15. Flor sépala dorsal forma: (0) Linear-oblonga, oblonga-lanceolada; (1) Largamente eliptica, elliptica ou oblonga-eliptica; (2) Oblonga, obovada à espatulada.
16. Flor sépala dorsal assimétrica: (0) Ausente; (1) Presente.
17. Flor sépala dorsal margens forma: (0) Inteira; (1) Irregular.
18. Flor sépala dorsal tricoma margens: (0) Ausente; (1) Presente.
19. Flor sépala dorsal ápice forma: (0) Agudo; (1) Obtuso.
20. Flor sépalas e pétalas marcadamente desiguais em tamanho: (0) Ausente; (1) Presente.
21. Flor segmento floral maior: (0) Sépala; (1) Pétala.
22. Flor sépalas laterais posição: (0) Espalhando; (1) Reflexa; (2) Curvada para frente.
23. Flor sépalas laterais forma: (0) Linear-oblonga; (1) Eliptica, eliptica-oblonga, oblonga; (2) Ovada ou ovada-lanceolada; (3) Obovada.
24. Flor sépalas laterais assimétricas: (0) Ausente; (1) Presente.
25. Flor sépalas laterais margens forma: (0) Inteira; (1) Irregular.
26. Flor sépalas laterais tricoma margens: (0) Ausente; (1) Presente.
27. Flor sépalas laterais ápice forma: (0) Agudo; (1) Obtuso; (2) Apiculado.
28. Flor pétalas cor: (0) Branca; (1) Esverdeada; (2) Esverdeada-amarela; (3) Amarelada-laranja; (4) Rosa; (5) Amarela e marron.
29. Flor pétalas posição: (0) Espalhando, ereta ou recurvada; (1) Curvada para frente.
30. Flor pétalas forma: (0) Obovada à obovada-unguiculada; (1) Oblonga-eliptica; (2) Linear-oblonga ou linear-ovada.
31. Flor pétalas surperfície visivelmente papilosa: (0) Ausente; (1) Presente.
32. Flor pétalas calo adaxial: (0) Ausente; (1) Presente.
33. Flor pétalas margens forma: (0) Inteira; (1) Variosamente irregular (leve à fortemente erosa-dentada, crenulada); (2) Denticulada, fimbriada à laciniada.
34. Flor pétalas ápice forma: (0) Aguda; (1) Obtuso; (2) Acuminado.
35. Flor labelo cor: (0) Branco; (1) Verde; (2) Amarelo-esverdeado; (3) Amarelado; (4) Branco e verde; (5) Amarelo e verde (6) Rosa; (7) Amarelo e Marrom.
36. Flor labelo assimétrico: (0) Ausente; (1) Presente.
37. Flor labelo forma: (0) Inteiro; (1) Lobado.
38. Flor labelo forma lâmina: (0) Ovado, eliptico, ovado-lanceolado; (1) Ligulado, oblongo-ligulado ou levemente pandurado; (2) Infundibiliforme; (3) Subquadrado, obovado ou retangular-obovado.
39. Flor labelo infundibiliforme forma: (0) Tubular; (1) Sacado; (2) Afunilado.
40. Flor labelo margens forma: (0) Inteiro; (1) Irregular.
41. Flor labelo ápice forma: (0) Agudo; (1) Obtuso; (2) Acuminado; (3) Truncado.
42. Flor labelo ápice surperfície glandular: (0) Ausente; (1) Presente.
43. Flor labelo cálcar: (0) Ausente; (1) Presente.
44. Flor labelo cálcar surperfície: (0) Glabra; (1) Papilosa/Pilosa.
45. Flor labelo tricomatoso na base: (0) Ausente; (1) Presente.
46. Flor labelo calo basal: (0) Ausente; (1) Presente.
47. Flor labelo calo cor: (0) Verde; (1) Branco; (2) Amarelo; (3) Roxo; (4) Amarelo-esverdeado; (5) Verde e amarelo; (6) Branco e verde; (7) Preto.
48. Flor labelo calo forma: (0) Basal e carnoso (1) Quilhado Longitudinalmente (2) Horizontal no meio
49. Flor coluna forma (sem rostelo): (0) Fortemente curvada; (1) Mais ou menos reta à levemente curvada.

50. Flor coluna forma assimétrica: (0) Ausente; (1) Presente.
51. Flor coluna asas laterais: (0) Ausente; (1) Presente.
52. Flor coluna estaminódios visíveis em antese: (0) Ausente; (1) Presente.
53. Flor coluna estaminódios visíveis em algum estágio do desenvolvimento: (0) Ausente; (1) Presente
54. Flor coluna estaminódios cor: (0) Verde; (1) Verde com ápice laranja; (2) Branco; (3) Branco com ápice verde; (4) Branco com ápice roxo.
55. Flor coluna estaminódios com células secretoras: (0) Ausente; (1) Presente.
56. Flor coluna estaminódios posição em relação a coluna: (0) Perpendicular, triangular ou auriculado; (1) Divergente ou paralelo; (2) Curvado para frente.
57. Flor coluna tábula infraestigmática: (0) Ausente; (1) Presente.
58. Flor coluna tábula infraestigmática base pilosa: (0) Ausente; (1) Presente.
59. Flor coluna clinândrio ápice com margens extendidas: (0) Ausente; (1) Presente.
60. Flor coluna rostelo: (0) Inconspícuo; (1) Conspícuo.
61. Flor coluna rostelo forma: (0) Linear-triangular à linear-oblongo; (1) Côncavo.
62. Flor coluna rostelo × coluna (tamanho): (0) Menor que a coluna; (1) Mais ou menos igual à coluna; (2) Duas vezes maior que a coluna.
63. Flor coluna capa da antera × rostelo (tamanho) quando espalhado na coluna: (0) Menor que a metade do comprimento do rostelo; (1) Mais ou menos metade que o rostelo; (2) Tão longo quanto o rostelo.
64. Flor coluna capa da antera surperfície: (0) Glabra; (1) Papilosa/Pilosa.
65. Flor coluna capa da antera forma: (0) Aguda; (1) Emarginada; (2) Obtusa
66. Flor coluna capa da antera ápice(0) Reta; (1) Claramente Recurvada; (2) Incurvada.
67. Flor coluna viscídio posição: (0) Dorsal; (1) Ventral; (2) Apical.
68. Flor coluna viscídio em forma de gancho: (0) Ausente; (1) Presente.
69. Flor polínia número: (0) Duas; (1) Quatro.
70. Flor polínia pares macromorfologia tipo: (0) Iguais ou levemente desiguais; (1) Distintamente desiguais.
71. Flor polínia caudículos forma: (0) Sem forma; (1) Cupulado; (2) Estreito.
72. Flor polínia estipe forma: (0) Claviforme/ cuneiforme; (1) linear; (2) Em forma de V.

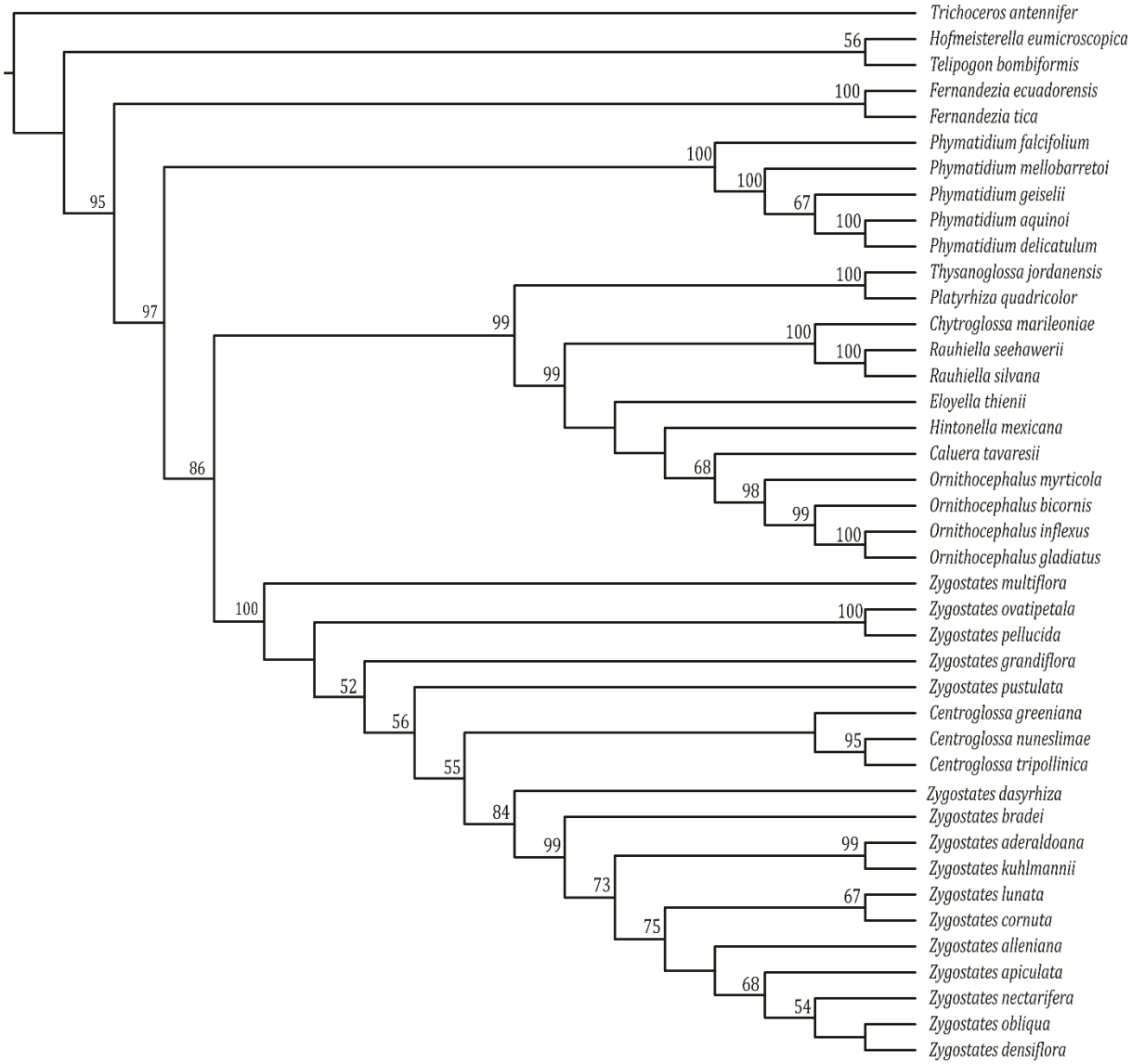
APÊNDICE 4. Matriz morfológica de *Zygostates, Centroglossa* e *Dunstervillea* mais grupo externo. ?= não há informações do estado, -= não se aplica. Descrições de cada caráter e estado de caráter descritos no apêndice 3.

Espécies	**Estados de caráter**
Caluera surinamensis	0110101100 0010001000 -[02]00100102 00100000-1 [01]00-111010 00?---0-01 0120012010 00
Caluera tavaresii	0100101l?0 0000001010 -130001000 00110000-1 100-112010 01?4?00-01 0120??2010 00
Caluera vulpina	0110101100 00000010[01]0 -[02]30100000 00100000-1 100-11[16]010 00?---0-01 0120012010 00
Centroglossa aurantiaca	100011103? 00[12]0200010 -110001[13]00 0001[45]01220 [01]011011010 0112?20-01 0120010010 00
Centroglossa castellensis	101011103? 00[13]0200010 -130001[12]00 0011401200 101111?010 0112?20-01 0110010010 00
Centroglossa greeniana	1010111030 00[01]0200010 -1[12][01]001010 0011401211 3011016010 0112120-01 0120010010 00
Centroglossa nuneslimae	101011103? 0010000010 -111001101 0001401220 101??1??10 0112?20-01 0120010010 00
Centroglossa tripollinica	1010111030 00[01]0200010 -[12]110010[01]0 0001[04]01220 3011111010 0112?20-01 0120010010 00
Chytroglossa marileoniae	1000111030 01101010[01]0 -[02]20[01]0[01]110 0011[12]010-1 100-112010 00?---0-10 -0-?201010 00
Dunstervillea mirabilis	0110101100 00100000[01]0 -20001[01]212 000[01]4000-0 [01]01111?110 00?---0-00 ---0211010 00
Eloyella cudinamarcae	0110101100 0010000010 -0000011020 0001000-11 00-1100100 11??00000- 0-10110100 00
Eloyella thienii	0100101100 0020000000 -000000302 00013000-0 1?0-112010 011??00000 -0-???1011 00
Fernandezia ecuadorensis	000110103? 003[01]000000 -11100[01]501 00017013-0 400-11[12]010 10?---0-10 -0-0??100- ?3
Fernandezia tica	000110103? 0040[01]00000 -221000411 00006000-0 000-013110 10?---0-10 -0-020100- ?3
Hintonella mexicana	1000111031 00002000[01]0 -21000[01]011 001[01]001[03]-1 [13]00-11??10 00?---1100 -0-0011010 20
Hofmeisterella eumicroscpica	0100100111 01[13]0000000 -001000[12]02 000030[01]0-0 [02]00-[01]13?10 00?---0-01 0000[02]11011 00
Ornithocephalus bicornis	0100101100 10[01]0201110 -130111011 00214011-0 [01]00-116010 000---0-01 0220?31010 00
Ornithocephalus gladiatus	0110101100 10[23][01][12]0[01]0[01]0 -1[13][01]002[12]10 0011[234]010-0 [01]00-11[25]010 000---0-01 0220031010 00
Ornithocephalus inflexus	0110101100 10[01]1101001 1110102000 001110[01][01]-0 000-116010 000---0-01 0220231010 00
Ornithocephalus myrticola	0100101100 1000201110 -[012]30111000 00210000-0 000-11[12]010 000---0-01 0220001010 00
Phymatidium aquinoi	0000000120 0001000000 -[01]01000001 0[01]000000-1 000-110000 10?---0-01 1120031010 10
Phymatidium delicatulum	0000000120 0000000000 -[01]01000002 00000010-1 000-110010 11100-1000 -0-0101010 10
Phymatidium falcifolium	000[01]000030 000[01][02]000[01]0 -[01][02]100[01]001 000[01]0000-1 100-111010 01100-1000 -0-0101010 10
Phymatidium geiselii	0000000120 0000000000 -201000012 00000010-1 000-110010 11100-1000 -0-0101010 10
Phymatidium mellobarretoi	0000000120 0000000000 -[01]01000012 00000010-1 000-110010 1110?-1000 -0-0201010 10
Platyrhiza quadricolor	1000111030 101[01]000010 -101001[12]02 00015013-0 [13]00-00-210 1111?01100 -0-0011011 00
Rauhiella seehawerii	100011103? 01[13]0000010 -201001[12]12 00010113-1 100-11[05]011 10?---0-00 -0-0001010 00
Rauhiella silvana	1000111031 0110000000 -21000111[12] 00[01][01]0103-1 100-11[01]011 1112?20-00 -0-0231010 00
Telipogon bombiformis	100110003? ?03?100001 1?20000500 ?002700?-0 100-11?010 00?---0-?1 ????????11 ??
Thysanoglossa jordanensis	1000111031 0[01][13]0001010 -100001202 0011[57]013-1 400-010010 1110111000 -0-1011010 20
Trichocerus antennifer	101111003? 00[13]0100000 -[02]2[01]000[15]01 ?0107010-0 000-11?010 00?---0-?1 0110001011 ?0
Zygostates aderaldoana	100011103? 0031111010 -111101300 00111110-0 200-10--01 001---0-01 0100010010 00
Zygostates alleniana	1000111030 000[01]201010 -[01]11101000 00110010-0 010-110000 0113110-01 0110010010 00
Zygostates apiculata	1000111030 0[01][13][01][01]0[01]010 -[02]11[01]0[01][23]00 0011[12]000-0 [01]00-10--00 001---0-01 0200010010 00
Zygostates bradei	1000111030 0011201011 0130101011 01010003-0 100-112011 0111000-01 0110000110 00
Zygostates cornigera	100011103? 0011201011 0131101000 01211003-1 300-110011 0111?00-01 0210010110 00
Zygostates cornuta	1000111030 0011110010 -121001300 00210001-1 000-114000 0111020-01 0110000010 00
Zygostates dasyrhiza	1011111030 0001200010 -111001000 00114000-0 200-1110100112000-11 0110010010 00
Zygostates densiflora	100011103? 00[13]1100011 0111001200 01112001-0 110-114101 001---0-01 0100010010 00
Zygostates grandiflora	10001[01]1030 0001100011 1110001010 00110003-1 100-115000 0112?00-11 0200210010 00
Zygostates kuhlmannii	1000111030 00[13][01]200010 -111001200 00112010-1 110-114100 001---0-01 0100010010 00
Zygostates ligulata	1000111030 0011200000 -101000101 00111001-0 [01]00-010110 001---0-01 0100010010 00
Zygostates linearisepala	1000111030 0001201011 0101101000 01110003-0 100-115010 0112?10-01 1110000010 00
Zygostates luerorum	100011103? 00[13]1210010 -111001200 01112000-0 100-114101 001---0-01 0100210010 00
Zygostates lunata	1000111030 0011111010 -121001300 00210000-1 000-114000 0111020-01 0110010010 00
Zygostates morenoi	1000111030 00[13]0201011 0011101200 00111000-0 200-110100 001---0-01 0110010010 00
Zygostates multiflora	1000111030 0001110001 1121000000 00110011-0 000-116000 0112?10-01 1220002010 02
Zygostates nectarifera	100011103? 0001201011 0111101000 00114000-0 110-111100 001---0-010100010010 00
Zygostates obliqua	100011103? 00[13]1211010 -[01]10101200 00111100-0 000-10--01 001---0-01 01000[01]0010 00
Zygostates octavioreisii	100011103? 0010200010 -0[12][01]001010 00112010-[01] [01]00-00--00 0110120-01 1220002010 00
Zygostates ovatipetala	1010111030 1010200011 0[01]10001000 10114010-0 [01]00-116000 0110?10-01 0100210010 00
Zygostates pellucida	1010111030 1001200010 -111001111 10114010-0 [01]00-110000 0110010-01 0100200010 00
Zygostates pustulata	1001111030 0001100001 1121000001 00010000-0 [01]00-110001 001---0-01 1100210010 00
Zygostates riefenstahliae	100011103? 0021200011 0101001300 00113011-0 1?0-1????1 001---0-01 0110010010 00

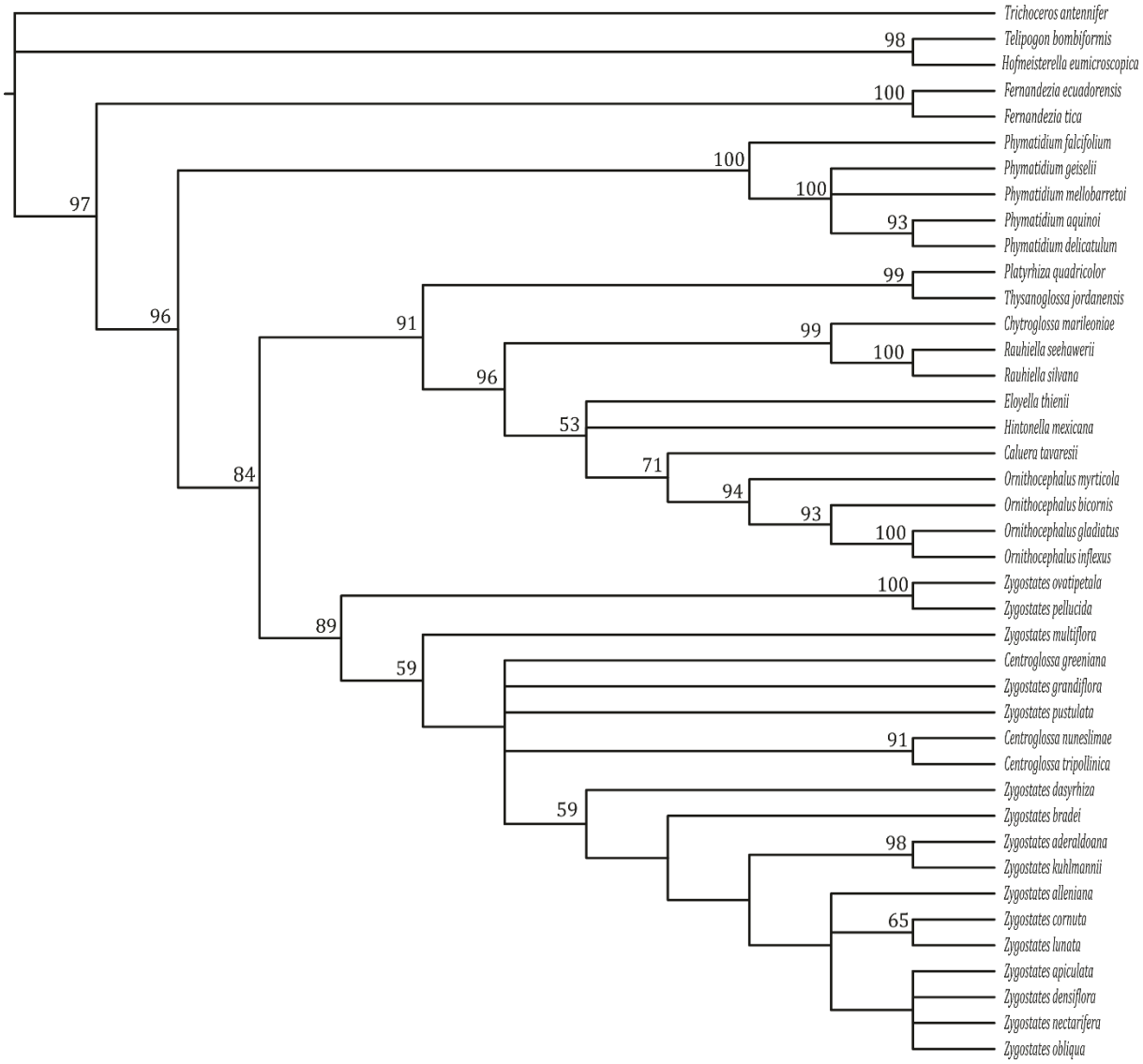
APÊNDICE 5. Árvore da Inferência Bayesiana do DNA nuclear (ITS). Números nos nós representam probabilidade posterior (>50%).



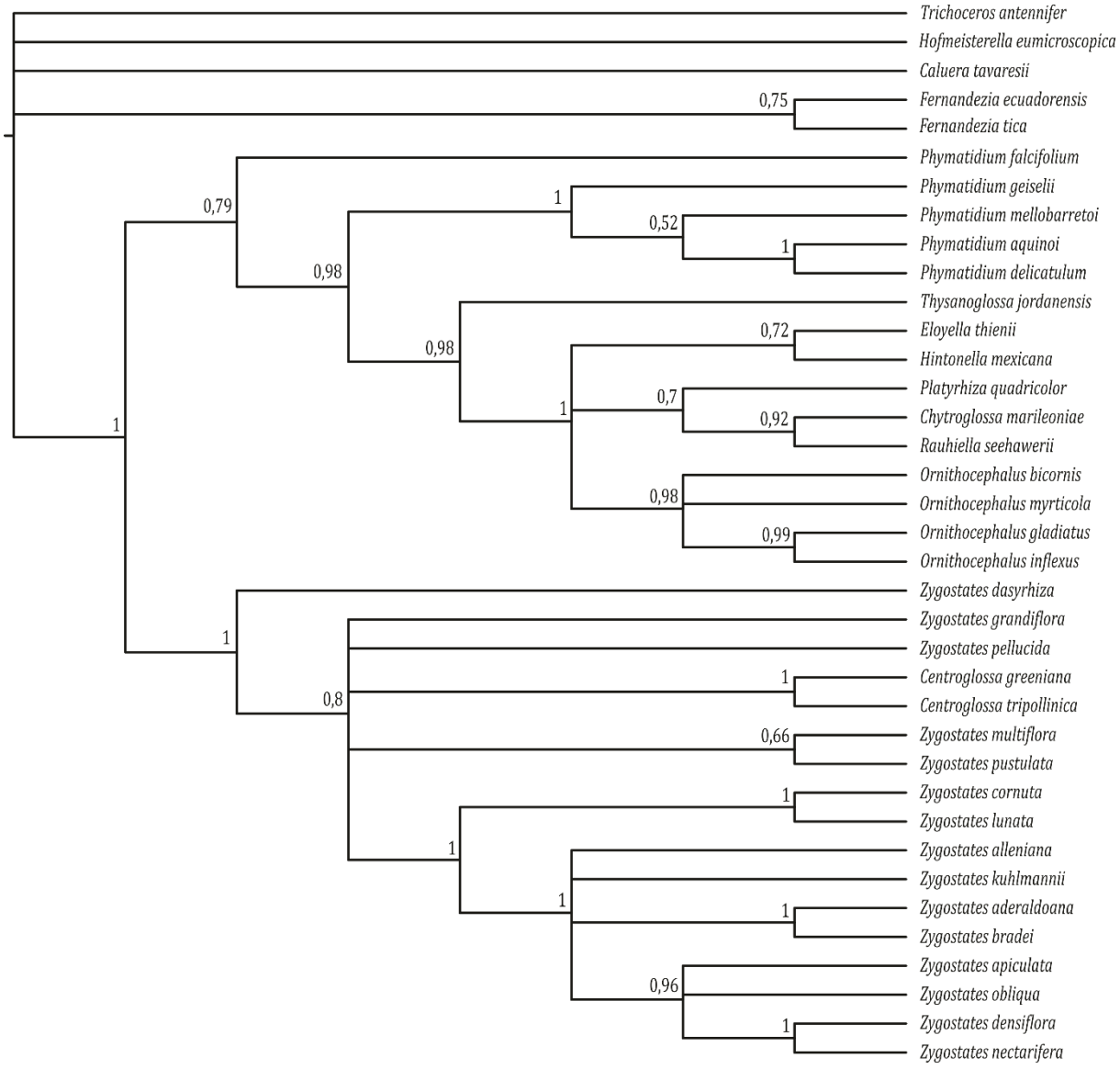
APÊNDICE 6. Árvore de Máxima Verossimilhança do DNA nuclear (ITS). Números nos nós representam porcentagens bootstrap (>50%).



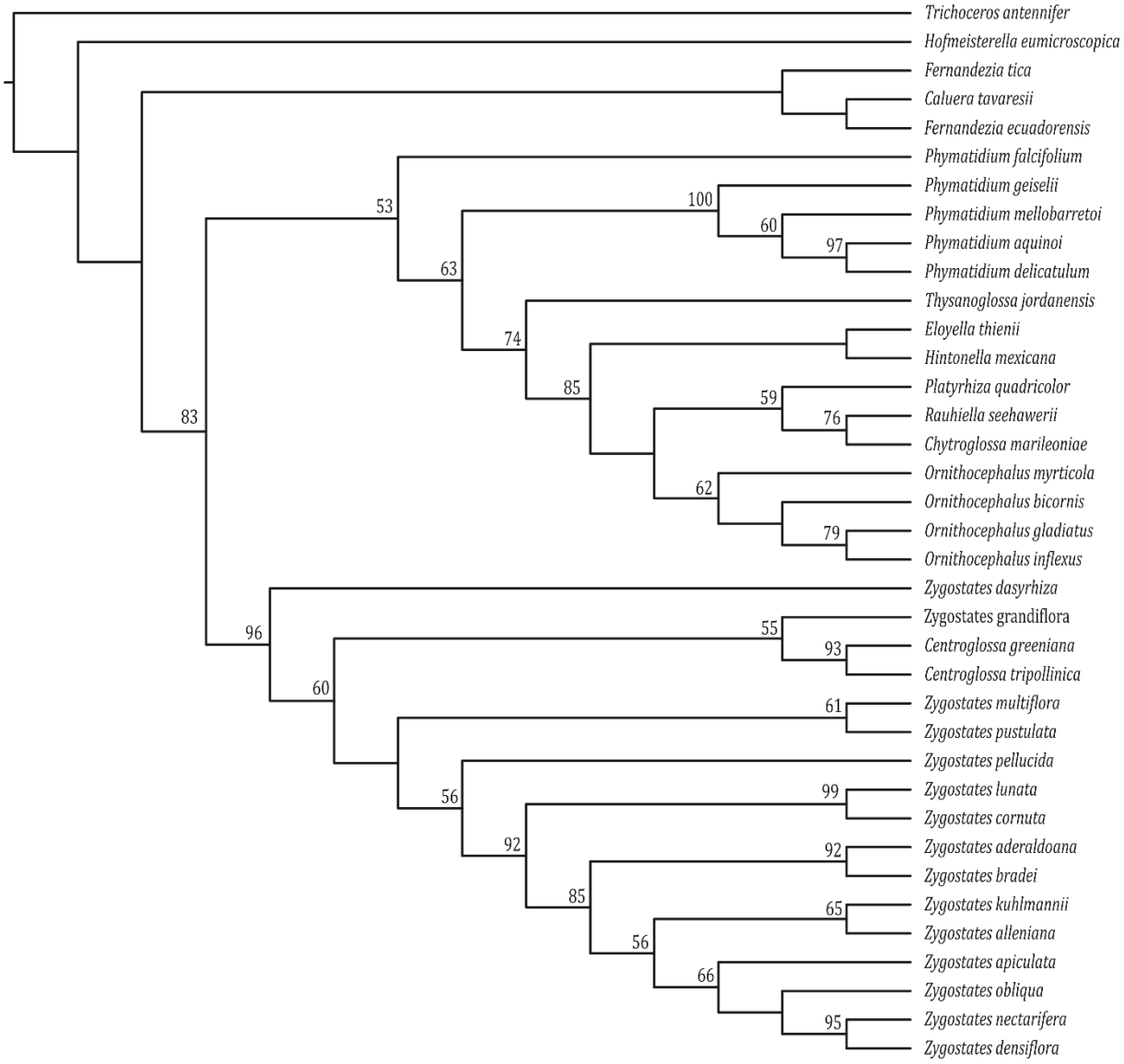
APÊNDICE 7. Árvore de Máxima Parcimônia do DNA nuclear (ITS). Números nos nós representam porcentagens bootstrap (>50%).



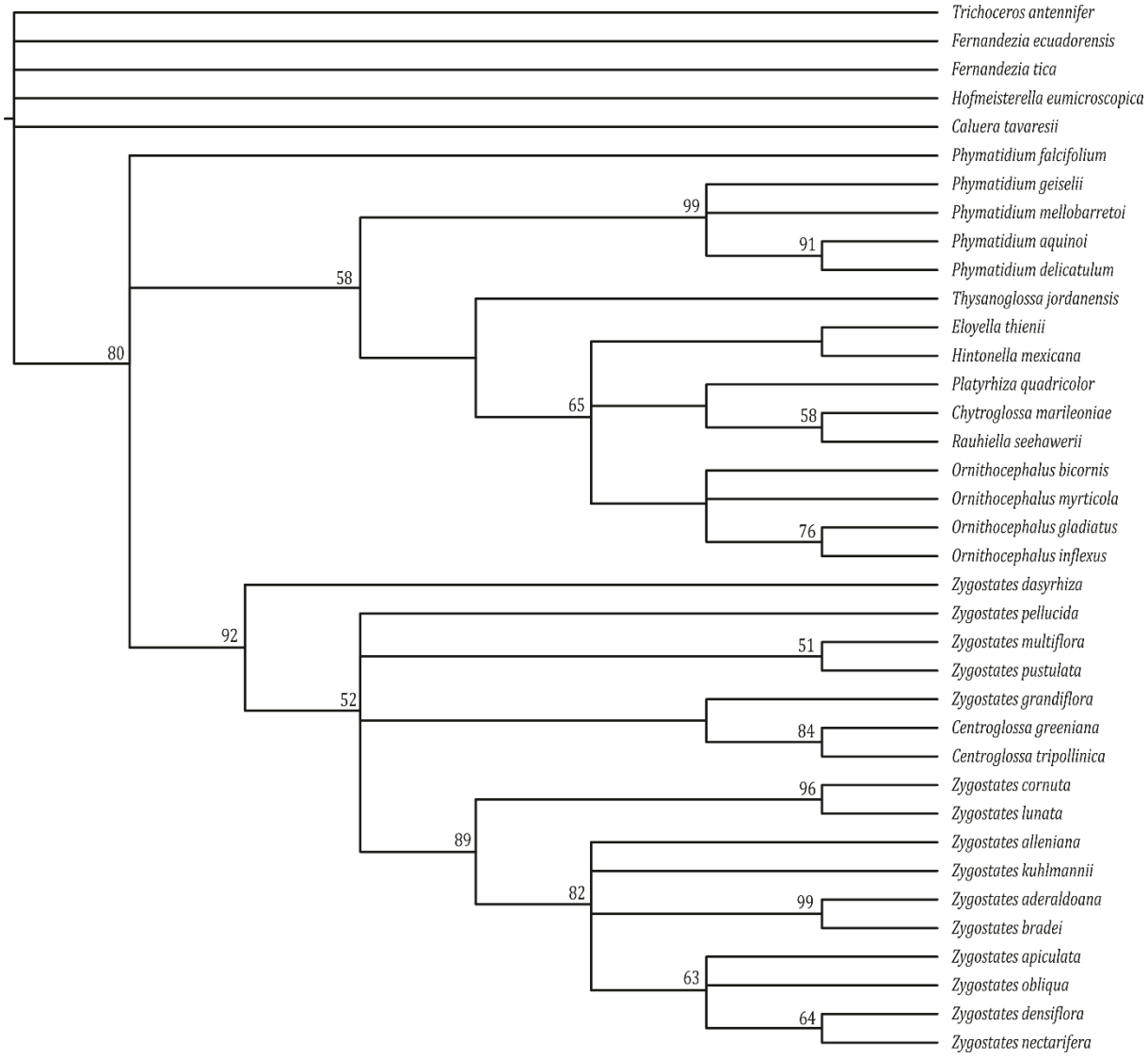
APÊNDICE 8. Árvore da Inferência Bayesiana do DNA plastidial (*matK*). Números nos nós representam probabilidade posterior (>50%).



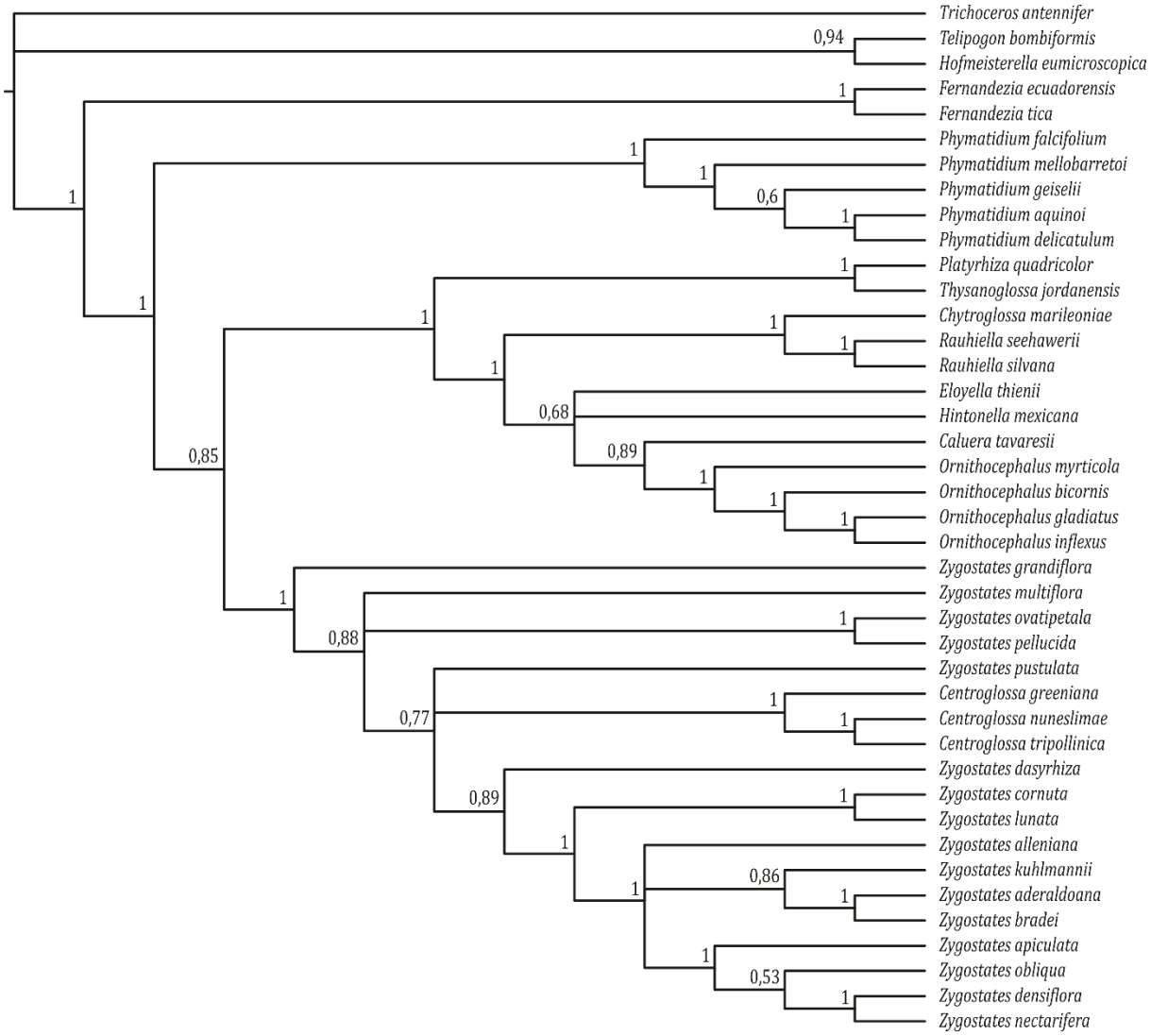
APÊNDICE 9. Árvore de Máxima Verossimilhança do DNA plastidial (*matK*). Números nos nós representam porcentagens bootstrap (>50%).



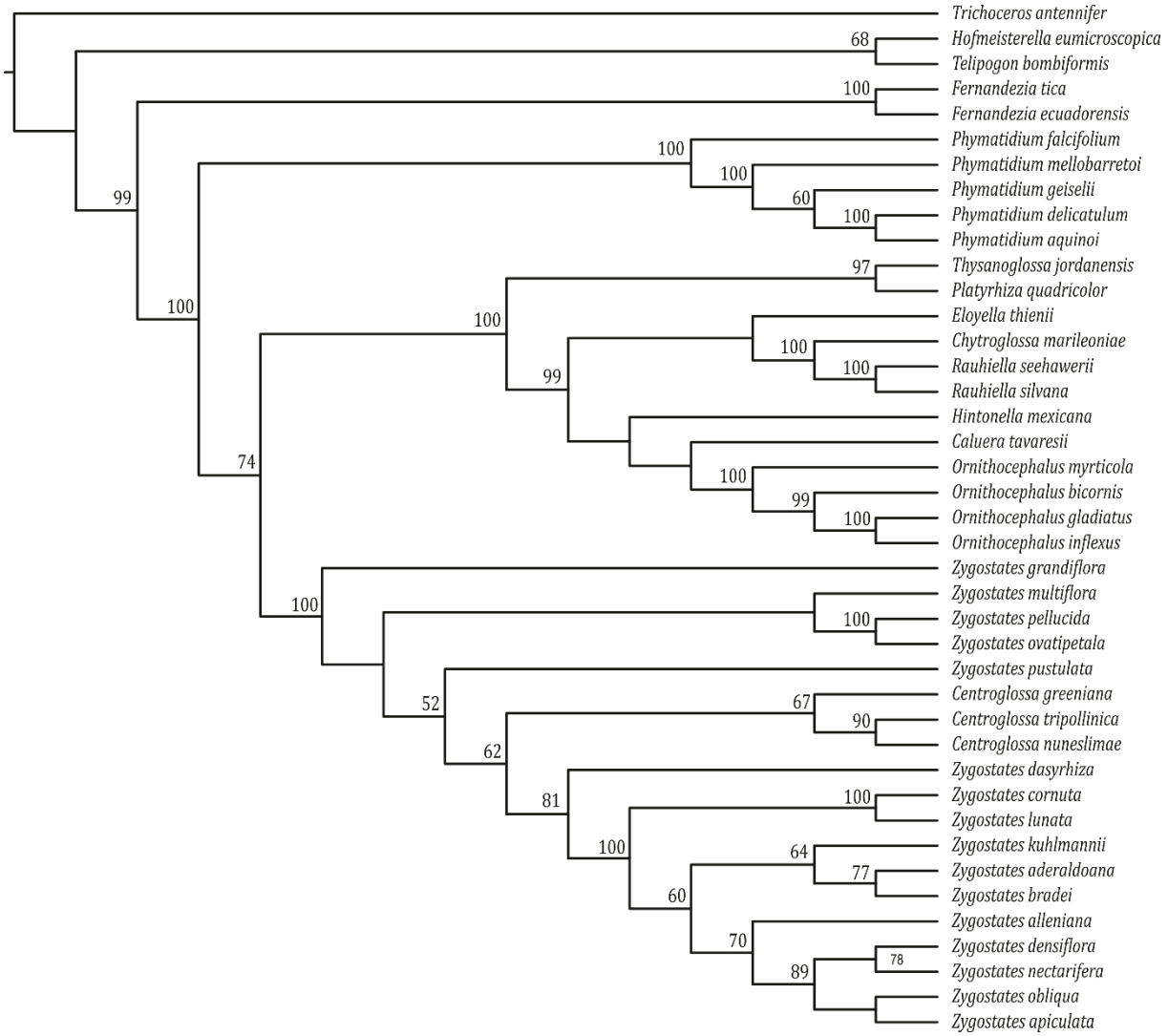
APÊNDICE 10. Árvore de Máxima Parcimônia do DNA plastidial (*matK*). Números nos nós representam porcentagens bootstrap (>50%).



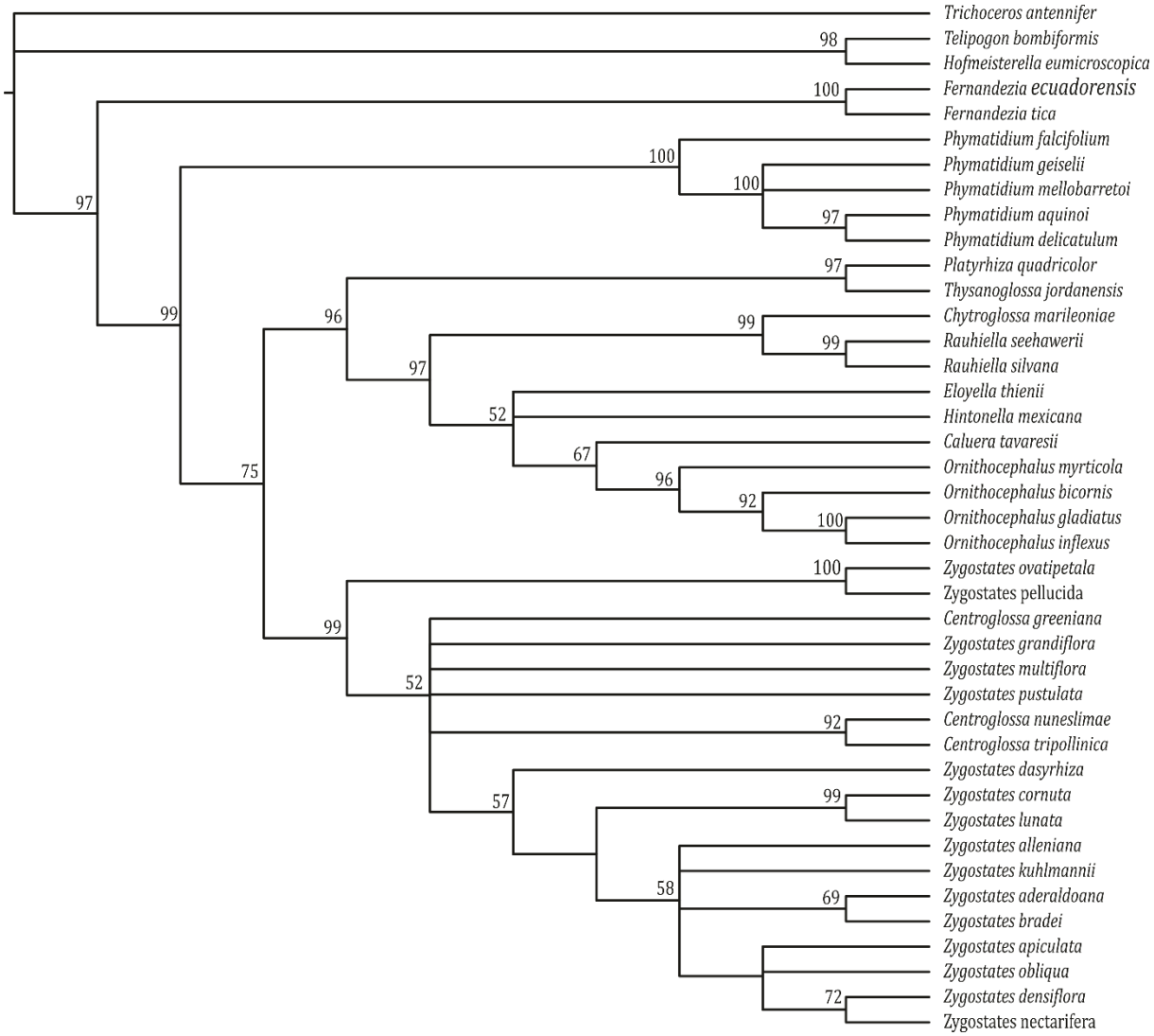
APÊNDICE 11. Árvore da Inferência Bayesiana da combinação dos dados moleculares (*matk*+ITS). Números nos nós representam probabilidade posterior (>50%).



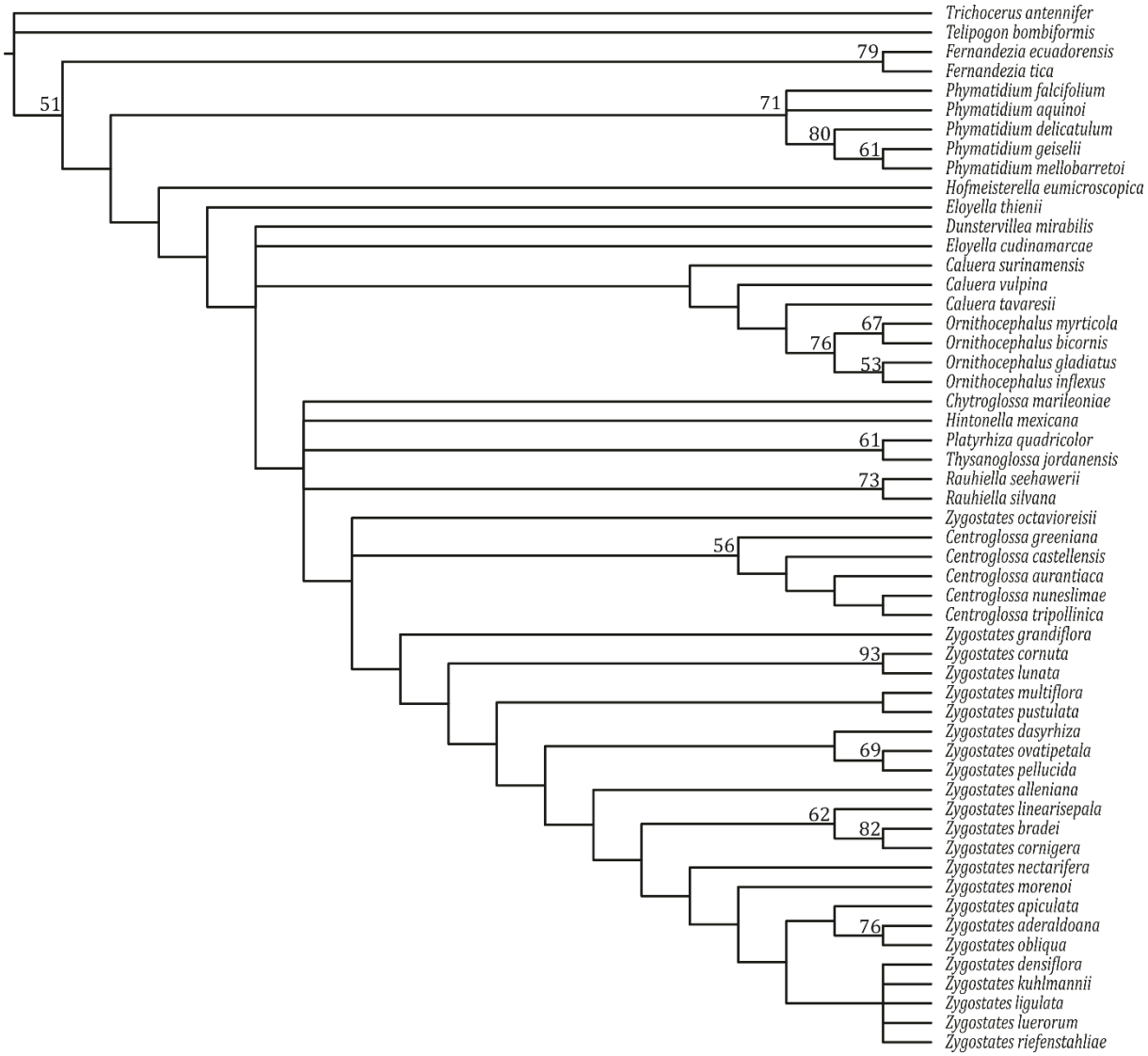
APÊNDICE 12. Árvore de Máxima Verossimilhança da combinação dos dados moleculares (*matk*+ITS). Números nos nós representam porcentagens bootstrap (>50%).



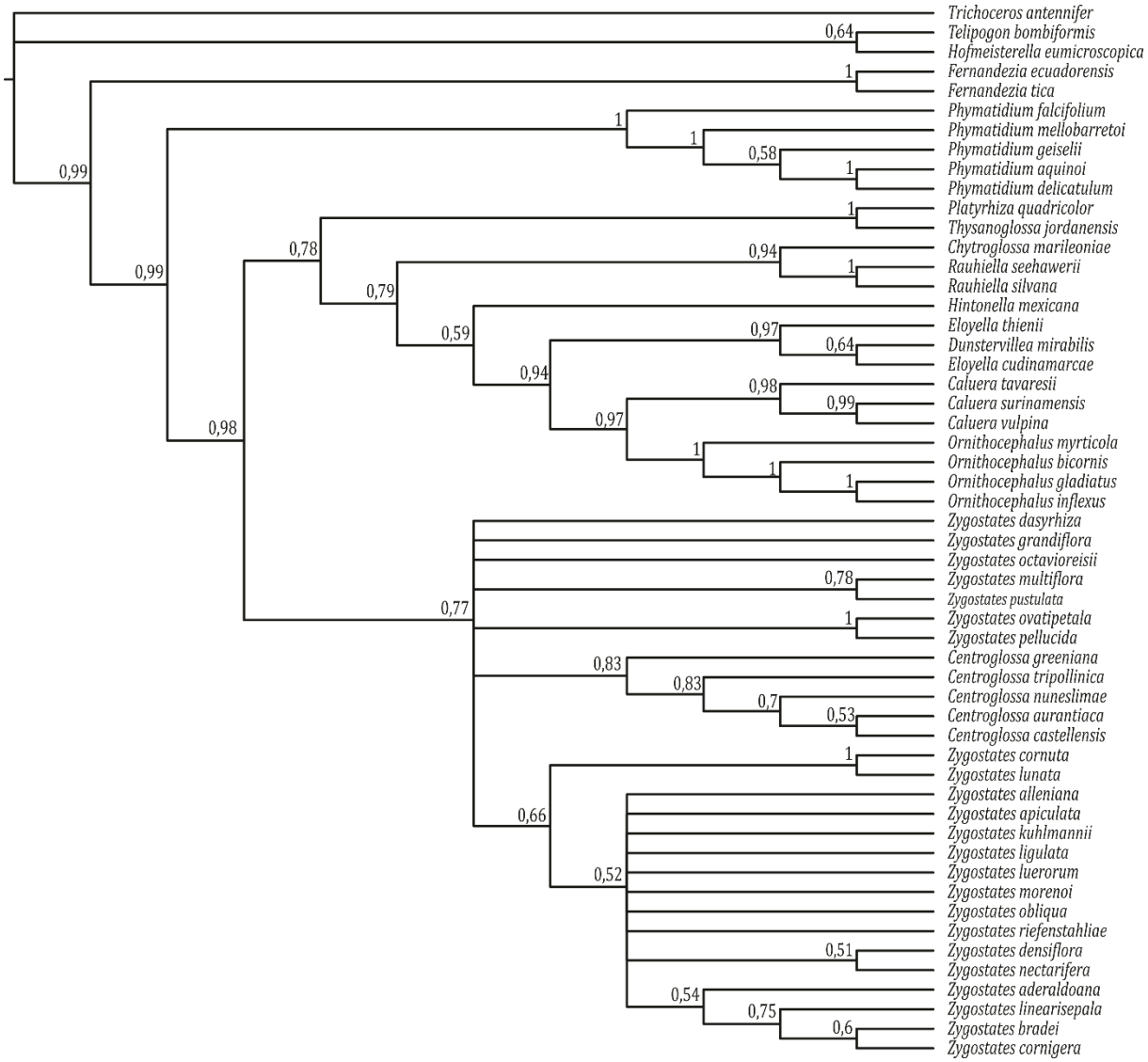
APÊNDICE 13. Árvore de Máxima Parcimônia da combinação dos dados moleculares (*matk*+ITS). Números nos nós representam porcentagens bootstrap (>50%).



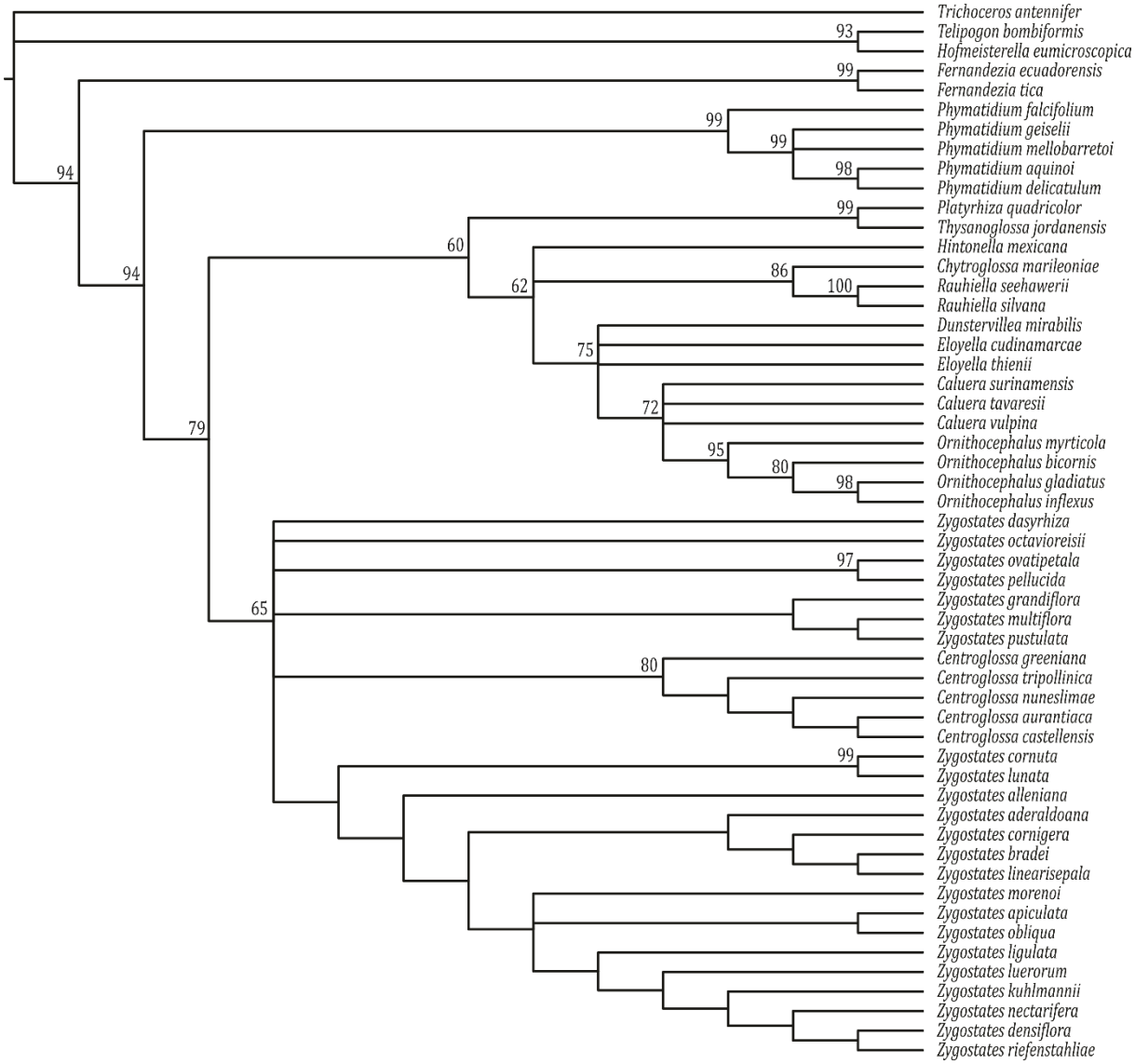
APÊNDICE 14. Árvore de Máxima Parcimônia dos dados morfológicos. Números nos nós representam porcentagens bootstrap (>50%).



APÊNDICE 15 - Árvore da Inferência Bayesiana da combinação dos dados moleculares (*matk*+ITS) e morfológicos. Números nos nós representam probabilidade posterior (>50%).



APÊNDICE 16. Árvore de Máxima Parcimônia da combinação dos dados moleculares (*matk*+ITS) e morfológicos. Números nos nós representam porcentagens bootstrap (>50%).



3. CAPÍTULO 2 — Origem e homologia de estruturas florais do clado *Ornithocephalus* (Oncidiinae, Orchidaceae)

(Artigo segundo normas da revista *Annals of Botany* –- https://academic.oup.com/aob).

Artigo Original

Origem e homologia de estruturas florais do clado *Ornithocephalus* (Oncidiinae, Orchidaceae)

Carla A. Royer[1*], A.L.V. Toscano de Brito[2], Elaine L.P.Nunes[3], Thomas Stützel[4], Eric C. Smidt[5]

[1] Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Instituto de Biocências Unesp- Rio Claro, BR; carladriane@gmail.com

[2]Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL 34236, USA

[4]Evolution and Biodiversity of Plants, Faculty for Biology and Biotechnology, Ruhr-Universität, D-44780, Bochum, Germany.

[3,5] Universidade Federal do Paraná, Departamento de Botânica, CX 19031, 81530–900, Curitiba, BR

[*] Para correspondência: carladriane@gmail.com

Contextualização e objetivos O clado *Ornithocephalus* compreende pequenas epífitas distribuídas em 12 gêneros e cerca de 120 espécies. Suas flores apresentam estruturas complexas, cujas homologias são difíceis de serem interpretadas. Através de métodos ontogenéticos, identificamos a origem da tábula infraestigmática, de apêndices florais localizados no ginostêmio e do calo labelar.

Métodos Por meio do microscópio eletrônico de varredura (MEV), analisamos flores em vários estágios de desenvolvimento de representantes de três gêneros: *Ornithocephalus* Hook. (2 spp.), *Phymatidium* Lindl. (2 spp.) e *Zygostates* Lindl. (3 spp.)

Principais resultados Em *Phymatidium*, a tábula infraestigmática, localizada na base do ginostêmio, possui uma origem mista, a porção central é originária dos carpelos laterais, conados na origem, enquanto as laterais originam-se dos estaminódios; as aurículas laterais, localizadas na região apical, derivam do ginostêmio, desenvolvendo-se tardiamente. As três espécies de *Zygostates* investigadas carecem de tábula infraestigmática, e os apêndices laterais da base do ginostêmio possuem origem estaminoidal. Em *Ornithocephalus*, os carpelos laterais apresentam um desenvolvimento discreto e os estaminódios não se desenvolvem. O calo labelar presente em todos os gêneros analisados tem origem tardia a partir de células do próprio labelo.

Conclusões A tábula infraestigmática constitui-se de uma estrutura complexa, resultado da fusão dos carpelos laterais e dos estaminódios que apresentam diferentes graus de sinorganização nas espécies. Já os apêndices laterais de *Zygostates* constituem estaminódios que crescem livres e podem se desenvolver (funcionais) ou terem seu crescimento cessado, apresentando-se inconspicuamente na flor em antese (vestigiais). Contradizendo hipóteses de uma origem estaminodial, as aurículas presentes no

ginostêmio de *Phymatidium* revelaram-se ser filamentos laterais oriundos da própria antera.

Palavras-chave: Ontogenia floral, Ginostêmio, Homologia, Estaminódios, Tábula infraestigmática.

INTRODUÇÃO

O clado *Ornithocephalus* pertence à subtribo Oncidiinae e compreende pequenas epífitas com cerca de 120 espécies distribuídas em 12 gêneros. Sua distribuição abrange desde o sul do México ao norte da Argentina, com centro de diversidade na Floresta Atlântica brasileira (Toscano de Brito, 2001; Chase e Toscano de Brito, 2009; Smidt et al., 2018), considerada um dos 34 *hotspots* de biodiversidade global e refúgio de um alto número de espécies endêmicas, ameaçada por uma extensiva perda de cobertura florestal (Myers et al., 2000; Mittermeier et al., 2005; Ribeiro et al., 2009).

A maioria dos gêneros que compõe o clado compreende poucas espécies: *Dunstervillea* Garay, *Hintonella* Ames e *Platyrhiza* Barb.Rodr. são monotípicos; *Caluera* Dodson and Determann, *Chytroglossa* Rchb.f., *Rauhiella* Pabst & Braga e *Thysanoglossa* Porto & Brade possuem três espécies; *Centroglossa* Barb.Rodr. consiste de seis espécies, e *Eloyella* P. Ortiz de dez espécies. Os gêneros mais diversos são *Phymatidium* Lindl. (11 spp.), *Zygostates* Lindl. (25 spp.) e *Ornithocephalus* Hook. (56 spp). Com base em hipótese filogenética molecular, Smidt et al. (2018) reconstruíram a evolução de vários caracteres morfológicos de representantes do clado e apontaram a necessidade de se entender a origem de várias estruturas florais encontradas no clado *Ornithocephalus* para melhor inferir suas homologias.

A complexa morfologia floral do clado revela-se na alta plasticidade do labelo e ginostêmio e nas diferentes estruturas a eles associadas. O labelo é geralmente caloso,

tricomatoso e glandular na base, além de possuir formas das mais variadas, desde mais ou menos plano, ovado, ligulado, triangular e lobado, a sacado e distintamente tubular. O ginostêmio pode apresentar-se leve ou distintamente sigmóide, frequentemente com apêndices e protuberâncias na base e às vezes no ápice, lateralmente à antera. Como mencionado por vários autores (Rasmussen, 1986; Weston, 1988; Toscano de Brito, 1994, 2001; Kurzweil e Kocyan, 2002; Smidt et al. 2018), estudos do desenvolvimento floral são necessários para esclarecer-se a origem dessas estruturas, assim como à elucidação de suas homologias.

A homologia das calosidades encontradas no labelo das Orchidaceae têm sido alvo de controvérsia entre diferentes autores. Inicialmente, Brown (1810) propôs a homologia entre o labelo e pétala mediana. Tal hipótese ainda é a mais aceita, sustentada pela ontogênese inicial do órgão (tamanho do primórdio labelar e tempo de iniciação – Kurzweil e Kocyan, 2002), além do desenvolvimento tardio de outros apêndices no labelo (Crüger, 1865) e do padrão de vascularização (Swamy, 1948). Contudo, em 1833, Brown passou a interpretar o labelo como uma estrutura heterogênea, formada também pelos estames adaxiais. Essa hipótese foi aceita por alguns autores, como Lindley (1853) e Darwin (1862), que acreditavam que os estaminódios laterais externos “perdidos” (A2, A3), e às vezes o estame mediano interno (a3), haviam sido integrados à pétala mediana (Ames e Correll, 1952-1953; Nelson, 1965, 1967, Rudall et al., 2013). Recentemente, Dirks-Mulder et al. (2017) demonstraram a origem petalar do labelo em *Erycina pusilla* (L.) N.H. Williams & M.W. Chase e aludiram à possibilidade da calosidade basal desse orgão ser derivada dos estames que seriam abortados ao longo da evolução das Orchidaceae.

O ginostêmio de muitas espécies do clado *Ornithocephalus* é provido de intricadas estruturas que podem ser encontradas na flor em antese de várias espécies do

clado. O gênero *Centroglossa*, algumas espécies de *Phymatidium* e várias de *Zygostates* apresentam apêndices laterais relativamente conspícuos, de morfologia muito variável, localizados lateralmente ou na base do ginostêmio. Essas estruturas são frequentemente denominadas de asas, aurículas, estelídios ou apêndices, e comumente interpretadas como estaminódios (e.g. Dressler, 1981; Toscano de Brito 1994; Toscano de Brito, 2001).

Ao contrário dos estames férteis, que são mais ou menos restritos em sua morfologia externa por sua função limitada ao de fornecimento de pólen, os estaminódios evoluíram em uma grande variedade de formas, por causa de suas funções variadas, obscurecendo padrões de homologia (Ronse De Craene e Smets, 2001). A identificação e descrição de um estaminódio frequentemente permanece vaga e arbitrária, uma vez que pode incluir uma gama de estruturas diferentes.

Em Oncidiinae, sobretudo no clado *Ornithocephalus*, poucas espécies tiveram seu desenvolvimento floral estudado (Kurzweil, 1985; Kurzweil, 1987a; Endress, 1994; Kocyan e Kurzweil, 2002). Ao investigar a origem dos apêndices laterais presentes no ginostêmio de algumas espécies da subfamília Epidendroideae, Kurzweil (1987a) demonstrou que os apêndices laterais no ginostêmio de algumas espécies (ex. *Ornithocephalus* sp., *Gongora galeata* (Lindl. ex Bosse) Rchb.f., *Trigonidium acuminatum* Bateman ex Lindl.) se tratam de estaminódios visíveis individualmente apenas nos estágios iniciais do desenvolvimento floral. Nesse mesmo trabalho, Kurzweil também demonstrou que em outras espécies (ex. *Gennaria* sp., *Disperis* sp.) algumas estruturas encontradas na área de transição entre a base e o resto do ginostêmio não possuem origem estaminodial, o que indica que estruturas morfologicamente similares na coluna de diferentes espécies podem ter origens distintas. Os apêndices laterais encontrados na região basal do ginostêmio de várias espécies de *Zygostates* e

em todos os membros do gênero *Centroglossa* assemelham-se àqueles encontrados em algumas espécies estudadas por Kurzweil (1987a), mas sua origem não pode ser determinada a menos que seja realizado um estudo de desenvolvimento detalhado (Toscano de Brito, 1994; Toscano de Brito, 2001; Smidt et al., 2018).

Além desses apêndices laterais ao ginostêmio, muitas espécies do clado *Ornithocephalus* são providas de uma protuberância ou prolongamento, usualmente denominada de apêndice ventral do ginostêmio, pé da coluna ou, mais recentemente, de tábula infraestigmática (Kurzweil, 1987a; Dressler, 1981, Toscano de Brito, 1994; Toscano de Brito, 2001; Toscano de Brito, 2007). Alguns estudos anatômicos dessa estrutura foram realizados por Toscano de Brito (1994, 2001) e diferenças significativas entre o tecido da tábula infraestigmática e do labelo não foram detectadas na flor em antese. O seu desenvolvimento, entretanto, não foi investigado até o presente.

Em *Phymatidium*, um crescimento independente dos ápices dos carpelos laterais foi identificado por Kurzweil (1985), porém o autor nada concluiu sobre a estrutura formada a partir deles na flor em antese. Diferentes interpretações da tábula infraestigmática de algumas espécies do clado podem ser encontradas na literatura. Por exemplo, ao publicar *Phymatidium hysteranthum*, em 1882, Barbosa Rodrigues a descreveu como uma porção da calosidade na base labelo, mas ao publicar nessa mesma obra uma outra espécie, *P. tillandsoides*, identificou a estrutura como um prolongamento do ginostêmio. Schlechter (1920) compartilhou essa mesma opinião, pois no protologo de *P. herteri* descreveu também como um prologamento do ginostêmio. Além de *Phymatidium*, estruturas florais semelhantes são também encontradas em algumas espécies de *Zygostates* (Toscano de Brito, 1994; Toscano de Brito, 2001). Já em *Ornithocephalus*, elas não são observadas na flor em antese.

Diante do apresentado, objetivamos responder aos seguintes questionamentos: a) Qual a origem da tábula infraestigmatica, dos apêndices do ginostêmio e da calosidade do labelo presentes em membros do clado *Ornithocephalus*? b) Existe estruturas homólogas? c) Como ocorreu a evolução dessas estruturas dentro do clado?

MATERIAIS E MÉTODOS

Flores em vários estágios de desenvolvimento de representantes dos gêneros *Ornithocephalus* (2 spp.), *Phymatidium* (2 spp) e *Zygostates* (3 spp.), coletadas em campo ou obtidas em jardins botânicos, foram utilizadas na presente investigação. Visando uma análise comparativa do desenvolvimento da calosidade do labelo, flores de *Oncidium sphacelatum* Lindl., representante da subtribo Oncidiinae, não pertencente ao clado *Ornithocephalus*, foram também analisadas. As amostras foram fixadas em diferentes soluções baseadas na viabilidade e adequação para coleta: FAA 50% (3,7% v/v formaldeído, 50% etanol, 5% ácido acético, Johansen, 1940) e armazenadas em etanol 70% ou 2,5% de glutaraldeído e 2% paraformaldeído em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,2 (modificado de Karnovsky, 1965) e armazenadas no próprio fixador. As informações referentes às espécies utilizadas, coletor e fixador encontram-se na Tabela 1.

As amostras passaram por uma pré-dissecção e, então, foram desidratadas em série de propanona (50, 60, 70, 80, 90 e 100%, por aprox. 40 min cada) sob vácuo, submetidas a ponto crítico usando propanona 100% (CPD 030 - Bal-tec AG, Balzers, Lichtenstein). As amostras secas foram afixadas em suporte metálico – *stub* - com adesivo líquido de carbono Leit C ou fita dupla-face de carbono (Leit pads), e dissecadas. Finalmente, os *stubs* foram recobertos com ouro por método *sputtering*

(SCD 050, Bal-Tec). As imagens do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) foram obtidas com SEM Sigma VP (Zeiss).

As pranchas de imagens foram confeccionadas com auxílio do programa CorelDRAW, a fim de melhorar a visualização das estruturas em cada estágio de desenvolvimento. Para os diferentes estágios de cada primórdio floral, utilizamos a mesma cor desde sua origem até a flor em antese. O eixo floral é representado em verde e as brácteas em rosa claro, para as sépalas utilizamos a cor roxa, enquanto para as pétalas a cor azul; o labelo está em azul claro, o estame funcional em amarelo, os carpelos em rosa e os estaminódios em vermelho.

Utilizamos aqui as definições de ginostêmio e coluna propostas por Rasmussen (1982), onde ginostêmio é o órgão resultado da fusão congenital do androecio e do epígino do ginoecio, formado no início do desenvolvimento, enquanto coluna é a base do ginostêmio que se alonga no final do desenvolvimento floral (Kurzweil, 1987a, Kurzweil e Kocyan, 2002).

A fim de compreendermos a evolução da origem e desenvolvimento das estruturas investigadas sob uma hipótese filogenética de relacionamento entre as espécies do clado, construímos uma matriz de presença e ausência desses caracteres com auxílio do programa Mesquite versão 3.31 (Maddison e Maddison 2017). O estado ancestral dos caracteres foi estimado baseando-se na hipótese filogenética de Smidt et al. (2018) e implementada no mesmo programa com otimização por parcimonia.

RESULTADOS

Como o processo de organogênese inicial é bastante similar nas espécies observadas, apresentamos a sequência de desenvolvimento por gênero, detalhando o primeiro e apontando as diferenças nos seguintes.

***Zygostates* Lindl.**

Os primórdios florais surgem arranjados em espiral em uma inflorescência ereta, com desenvolvimento sucessivo da base ao ápice (Fig. 1A). Cada meristema floral (MF) é formado na axila de uma bráctea que o protege durante seu desenvolvimento.

Em *Zygostates*, o primórdio floral é mais ou menos oval. Em seguida, forma-se uma cavidade central (Figs. 1B, C e D). Ainda neste estágio, inicia-se a formação simultânea de duas pequenas elevações adaxiais (Fig. 1D), que corresponderão aos primórdios das sépalas laterais (Fig. 1E). O terceiro primórdio a surgir é o do labelo, seguido pelo primórdio da sépala dorsal (Fig. 1E), e pelos primórdios das pétalas após um pequeno intervalo de tempo (Figs. 1E e F). O primórdio do estame surge na sequência, oposto à sépala dorsal (Fig. 1F).

Após a organogênese do perianto, suas peças crescem e rapidamente recobrem os demais órgãos. O primórdio labelar é bastante conspícuo e sua porção apical recobre parte da porção apical do estame em desenvolvimento (Fig. 1G); pequenos primórdios estaminais epipétalos também são visíveis. Neste mesmo estágio surge o carpelo mediano, entre o estame e o labelo (não visível na imagem). Ao abrir parcialmente um botão floral no estágio subsequente, em vista ventral, é possível observar o primórdio estaminal mediano (episssépalo) bem desenvolvido, sendo o órgão mais volumoso (Fig. 1H), enquanto os estames laterais (epipétalos) apresentaram um crescimento discreto. É possível observar - envolvido pelo primórdio estaminal mediano - o carpelo mediano desenvolvendo-se em dois domínios: o primeiro, acima do receptáculo floral, e o segundo, abaixo do receptáculo floral (Fig. 1H, seta). O segundo domínio constitui a futura cavidade ovariana, em conjunto com o domínio inferior dos carpelos laterais. Nos estágios seguintes, o domínio superior dos carpelos laterais torna-se visível (Figs. 1H-J),

enquanto o carpelo mediano e o estame mediano seguem crescendo mais pronunciadamente do que os carpelos laterais (Figs. 1I e J).

Com a antera já diferenciada, o ginostêmio é formado pela fusão da porção abaxial do estame mediano ao domínio superior dos carpelos mediano e laterais. Os estames laterais se distinguem pelo tamanho reduzido e desenvolvimento estagnado, sendo devido a isso, considerados estaminódios (Figs. 2A-B). Após a consolidação do ginostêmio (Fig. 2A), a porção apical estéril do carpelo mediano alonga-se (Figs. 2B e C) e forma o rostelo e o viscídio na flor em antese (Figs. D-F). Simultaneamente à formação do rostelo, o ápice da antera também se alonga igualando seu comprimento à porção abaxial do rostelo. Posteriormente, segue-se o crescimento das peças florais, sendo notável o alongamento das regiões equivalentes ao filete do estame mediano e ao estilete do carpelo mediano (Figs. 2 C-F).

Nas flores em antese das diferentes espécies investigadas, observa-se um gradiente no tamanho dos estaminódios; em algumas espécies os estaminódios apresentam-se apenas vestigiais e de difícil visualização (Fig. 2D), auriculados, posicionados lateralmente ao estigma (Fig. 2E), ou longos e braciformes (Fig. 2F).

***Phymatidium* Lindl.**

Em *Phymatidium*, a ordem de iniciação dos verticilos e suas respectivas peças são semelhantes à do *Zygostates*. Ao final da organogênese inicial do perianto, o primórdio da sépala dorsal apresenta desenvolvimento posterior ao das laterais (Fig. 3A) e os primórdios do perianto já formados alongam-se e recobrem os órgãos internos. Neste mesmo estágio, o estame mediano começa a se desenvolver (Fig. 3B).

Enquanto a antera do estame mediano cresce e passa a ocupar grande parte do primórdio floral, o domínio superior do carpelo mediano e dos dois carpelos laterais – que aparentam ser fundidos congenitamente – desenvolvem-se mais ou menos

concomitantemente (Fig. 3C). De forma similar a *Zygostates*, a antera mediana envolve a porção apical do carpelo mediano (Figs. 3C e D). Pequenos primórdios estaminais epipétalos também são visíveis (Fig. 3C).

A consolidação do ginostêmio se dá após a fusão do estame mediano abaxialmente ao carpelo mediano que, por sua vez, funde-se aos carpelos laterais e origina a cavidade estigmática (Figs. 3D e E). Após o estabelecimento do ginostêmio (Fig. 3D), algumas espécies desenvolvem apêndices aliformes lateralmente à antera (Figs. 3D, F e H); a porção apical estéril do carpelo mediano alonga-se e origina o rostelo e viscídio. Posteriormente, segue-se o crescimento das peças florais, sendo notável o alongamento da região equivalente ao filete do estame mediano. A porção apical dos carpelos laterais também cresce pronunciadamente, adquirindo um formato que lembra uma almofada. Os estaminódios podem permanecer livres ou ser incorporados aos ápices dos carpelos laterais com diferentes graus de fusão, formando a tábula infraestigmática (Figs. 3D-I).

***Ornithocephalus* Hook.**

Em *Ornithocephalus* o desenvolvimento inicial é semelhante aos demais gêneros estudados. Também se observa que o desenvolvimento da sépala dorsal é tardio em relação às laterais (Fig. 4A). Similarmente a *Zygostates* e *Phymatidium*, porções do estame mediano fundem-se à parte dorsal apical do carpelo mediano (Figs. 4B-D). Nas espécies analisadas de *Ornithocephalus*, o domínio superior dos carpelos laterais é reduzido e de difícil visualização, participando pouco da formação da cavidade estigmática alongada. Não foram observados primórdios de estaminódios. Nos próximos estágios ocorre o crescimento dos órgãos, diferenciação do calo do labelo e diferenciação do estigma e do rostelo, com um longo prolongamento apical da antera, uma característica do gênero (Figs. 4E-F).

Calo do labelo

Para determinar a origem do calo labelar e semelhança ao já descrito para outras Oncidiinae, estudamos seu o desenvolvimento em *Zygostates dasyrhiza* e *Oncidium sphacelatum*. O calo inicia-se após a organogênese floral, quando todos os demais órgãos estão em crescimento e diferenciação. Em *Z. dasyrhiza*, após o surgimento de duas protuberâncias iniciais (Figs. 5A e B), as células superficiais se diferenciam em tricomas (Fig. 5C). Em *O. sphacelatum*, o calo é formado por protuberâncias que se desenvolvem em camadas sucessivas (Figs. 5D-F).

Evolução das estruturas dentro do clado

A análise de reconstrução dos caracteres investigados nos mostra que os ápices dos carpelos laterais se desenvolvem somente no gênero *Phymatidium*. Já os estaminódios alongam-se em *Phymatidium* e *Zygostates*, e podem estar reduzidos em algumas espécies, como em *Z. nectarifera*. Em *Ornithocephalus*, ambas as estruturas se encontram ausentes (Fig. 6).

DISCUSSÃO

Os nossos resultados elucidam a origem da tábula infraestigmática encontrada na maioria das espécies do gênero *Phymatidium*. De origem mista, sua porção central é originária dos carpelos laterais, enquanto as porções laterais são originárias dos estaminódios a1 e a2. Essas porções se fusionam em maior ou menor grau, tardiamente no desenvolvimento, compondo uma estrutura com diferentes graus de sinorganização na flor madura.

A origem da tábula infraestigmática tem sido debatida ao longo dos anos por diversos autores, com base principalmente na morfologia da flor em antese. Reichenbach (1877) e Brieger et al. (1970-1984) a interpretam como estaminoidal,

enquanto para Dressler (1981) seria labelar. Kurzweil (1985) identificou o crescimento dos carpelos laterais e de apêndices laterais no ginostêmio na fase inicial do desenvolvimento de *P. falcifolium*, mas nada concluiu sobre o que estas estruturas gerariam na flor em antese. Ao estudar o desenvolvimento floral de *Oncidium flexuosum* Lodd. (= *Gomesa flexuosa* (Lodd.) M.W. Chase & N.H. Williams) e *Oncidium ornithorhynchum* Kunth, que apresentam uma estrutura semelhante à tábula infraestigmática, Kurzweil (1987a) e Endress (1994) também identificaram o crescimento dos carpelos laterais e dos apêndices laterais no ginostêmio dessas espécies. Contudo apontam uma origem tardia para a tábula, sem, entretanto, mostrar a sequência completa do desenvolvimento desse órgão. A tábula infraestigmática encontrada em *Gomesa* e *Oncidium* é provavelmente homóloga àquela presente nas espécies de *Phymatidium.* Estudos adicionais do desenvolvimento floral de representantes desses e outros gêneros das Oncidiinae são obviamente necessários para que se confirme ou não tal hipótese.

Dentro das orquídeas monandras, estruturas em diferentes posições e formas crescem lateralmente ao ginostêmio (Kurzweil e Kocyan, 2002). Por sua origem incerta no clado *Ornithocephalus*, o termo "apêndice lateral" é o mais adotado (ex. Toscano de Brito, 2008, 2012; Royer et al. 2017a, b). Em *Zygostates,* os estaminódios a1 e a2 são iniciados lateralmente ao estigma e assumem as diversas formas e tamanhos na fase de crescimento e diferenciação. Em algumas espécies, como observado em *Z. nectarifera*, os estaminódios cessam o crescimento logo após sua iniciação e encontram-se ausentes na flor em antese. Neste trabalho, seguimos (Ronse De Craene e Smets (2001) e classificamos como estaminódios vestigiais aqueles que, embora presentes no início da ontogênese floral, na flor em antese apresentam-se inconspícuos ou ausentes; e de

estaminódios funcionais aqueles cujo desenvolvimento é contínuo ao longo da ontogênese são visiveis na flor em antese (Ronse De Craene e Smets 2001).

Para Walker-Larsen e Harder (2000) a evolução de um estaminódio pode ocorrer diretamente, onde um estame fértil torna-se um estaminódio exercendo funções realizadas também pelo estame funcional, como a atração de polinizadores; e indiretamente, onde um estame fértil torna-se um estaminódio vestigial, e partir dele surge um estaminódio funcional com funções não desempenhadas pelos estames férteis, como barreiras físicas para a autopolinização. A persistência de estaminódios em uma linhagem está relacionada ao número de funções que ele desempenha, quando os estaminódios não interferem na interação entre a flor e o polinizador, eles são perdidos rapidamente (Walker-Larsen e Harder 2000). Sendo assim, a perda total dos estaminódios, como ocorre em *Ornithocephalus*, ou sua transformação em novas estruturas, seria o próximo passo evolutivo das possíveis modificações dos estaminódios.

Em *Phymatidium*, os apêndices auriculiformes que se desenvolvem lateralmente na região apical do ginostêmio são estruturas filamentares que crescem tardiamente, característica também encontrada em outros grupos de orquídeas, tais como as Orchideae e Diseae (Kurzweil, 1987b, 1989, 1990; Kurzweil e Weber, 1991, 1992), contradizendo hipóteses de que seriam também estaminódios (Dressler 1981, Toscano de Brito 1994, 2001).

Observamos no clado *Ornithocephalus* uma sequência de iniciação do perianto similar ao descrito para outras Orchidaceae, como em *Dactylorhiza* Neck. ex Nevski, *Habenaria* Willd, *Bletia* Ruiz & Pav., *Malaxis* Sol. ex Sw., *Doritis* Lindl. e *Oncidium* Sw. (Kurzweil, 1987a,b; Sattler, 1973; Endress, 1994). Os órgãos do perianto surgem de um meristema em anel, do lado adaxial para o abaxial, na seguinte sequência: sépalas

laterais > labelo > sépala dorsal > pétalas (Kurzweil 1987a, 1988, Kurzweil e Kocyan 2002). Além deste padrão de iniciação do perianto, podem ainda ocorrer outros dois na família: iniciação simultânea de todas as pétalas, incluindo a pétala mediana (ou labelo), antes da sépala dorsal (*Neuwiedia* Blume, *Apostasia* Blume e *Cypripedium* L. — Kurzweil, 1993; Kocyan e Endress, 2001b), ou a iniciação das pétalas e da sépala dorsal de um primórdio comum – antes (*Oncidium* sp. — Endress, 1994) ou depois da iniciação do labelo (*Telipogon andicola* Rchb.f. e *Telipogon nervosus* (L.) Druce — Pábon-Mora e González, 2008). No clado *Ornithocephalus*, a iniciação do primórdio do labelo anteriormente às demais pétalas devem estar funcionalmente correlacionada com a diferenciação mais complexa do labelo, como ocorre na maioria das orquídeas monandras (Vanilloideae, Orchidoideae e Epidendroideae - Kocyan e Endress, 2001a; Pábon-Mora e González, 2008).

Nossos resultados não sustentam a fusão da pétala mediana a qualquer primórdio estaminal, demonstrando que o labelo se trata de um órgão único. Tal conclusão já havia sido alcançada por Brown (1810) e corrobora com trabalhos posteriores baseados em morfologia e desenvolvimento (Swamy, 1948; Vermeulen, 1966; Kurzweil, 1988, Kocyan e Endress, 2001a). Nossas observações também demonstraram que a calosidade do labelo das espécies aqui investigadas se origina tardiamente de tecido do próprio labelo. Da mesma forma, estudos de expressão gênica com diferentes gêneros de Orchidaceae (Hsu et al. 2015) e de *Erycina pusilla* (L.) N.H. Williams e M.W. Chase (Dirks-Mulder et al. 2017) oferecem evidências adicionais de que o labelo é homólogo à pétala mediana. No primeiro trabalho (Hsu et al. 2015), os autores observaram que genes expressos no perianto não foram expressados nos estames e carpelos, e em espécies que apresentam o labelo mais distinto, genes expressados nas pétalas e sépalas são suprimidos no labelo, sugerindo que a formação de um labelo diferenciado ocorreu

devido à duplicação de genes MADS-box classe B, cujas novas cópias adquiriram novos domínios de expressão. Já no segundo trabalho (Dirks-Mulder et al., 2017), os autores sugerem que o labelo e sua calosidade são derivados de órgãos distintos, enquanto confirmam a origem do primeiro pela pétala mediana, sugerem que o calo seria aparentemente derivado de estames que adquiriram uma identidade petalar, embora modelos de desenvolvimento floral existentes atualmente não explicam a origem e expressão gênica desses complexos órgãos florais. A neofuncionalização de genes MADS-box classe B parálogos expressados no labelo, bem como a expressão ectópica de genes de identidade estaminal no calo são boas hipóteses para o surgimento e identidade do calo labelar a serem investigadas futuramente.

A evolução de estruturas complexas como a tábula infraestigmática provavelmente envolve processos diretos e indiretos de sinorganização de órgãos, os quais originam novas estruturas com diferentes funções (Jacob, 1977, 1982; Gregory, 2008). Características que se estabelecem no desenvolvimento tardio, como o desenvolvimento vestigial ou funcional dos estaminódios, a forma do calo do labelo, e a sinorganização dos carpelos e estaminódios são mais propícias a mudanças. Mesmo que os genes que controlam os caracteres do desenvolvimento tardio sejam geralmente conservados, existe um grande componente de variação genética neutra ou quase neutra dentro e entre espécies intimamente relacionadas (Nei, 1975, 1983, 1987). O acúmulo de novas mutações, a pressão da seleção natural e de diferentes tipos de barreiras podem explicar a intricada morfologia floral do clado *Ornithocephalus*.

Considerando-se o posicionamento basal do gênero *Phymatidium* no clado *Ornithocephalus* (Smidt et al., 2018), entendemos que a tábula infraestigmática, presente em quase todas as suas espécies, se trata de uma característica pleisiomórfica no clado, e que ao longo da diversificação dos táxons houve uma a redução de estruturas

obscuras no ginostêmio (Fig. 6). Em *Zygostates*, o domínio apical dos carpelos laterais não alonga e os estaminódios desenvolvem-se em maior ou menor grau, podendo ser totalmente suprimidos. Nesses dois gêneros, observa-se uma labilidade na manutenção dessas estruturas (carpelos laterais e estaminódios) nas diferentes espécies. Em *Ornithocephalus*, a perda dos estaminódios já está fixada nas espécies aqui estudadas. Estudos anatômicos, histológicos e de polinização são necessários para compreender se existe ou não uma pressão seletiva atuando no desenvolvimento dessas estruturas presentes no clado.

LITERATURA CITADA

Ames O, Correll DS. 1952-1953. Orchids of Guatemala. *Fieldiana (Botany)* 26: 1-727.

Barbosa Rodrigues J. 1882. *Genera et Species Orchidearum Novarum,* Vol. 2. Sebastianopolis, Rio de Janeiro: Typographia Nacional, 228.

Brown R. 1810. *Prodromus Florae Novae Hollandiae et Insula Van-Diemen,* 1th edn. London: Johnson and Co.

Brown R. 1833. Observations on the organs and the mode of fecundation in Orchideae and Asclepiadeae. *Transactions of the Linnean. Society of London* 16: 685-745.

Brieger GG, Maatsch R, Senghas K. 1970-1984. In: Schlechter R. eds. *Die Orchideen – Ihre Beschreibung, Kultur und Züchtung*, 3th edn. Berlin: Paul Parey

Chase MW, Toscano de Brito ALV. 2009. *Zygostates*. In: Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW, Rasmussen F, eds. *Genera Orchidacearum: Epidendroideae*, Part 2, 1th edn. New York: Oxford University Press Inc, 391-394.

Crüger H. 1865. A few notes on the fecundation of orchids and their morphology. *Botanical Journal of Linnean Society* 8: 127-135.

Darwin C. 1862. *On the various contrivances by which british and foreign orchids are fertilised by insects, and on the good effects of intercrossing*, 1th edn. London: A & C Black.

Dressler RL. 1981. *The orchids – natural history and classification*. Cambridge: Massachusets.

Dirks-Mulder A, Butôt R, van Schaik P, *et al.* 2017. Exploring the evolutionary origin of floral organs of *Erycina pusilla,* an emerging orchid model system. *BMC Evolutionary Biology*: 17: 89.

Endress PK. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers.* Cambridge: Cambridge University Press.

Gregory T.R. 2008. The Evolution of Comples Organs. *Evolution: Education and Outreach* 1, 358-389.

Jacob F. 1997. Evolution and tinkering. *Science* 196, 1161–1166.

Jacob F. 1982. The possible and the actual. Seattle: University of Washington Press.

Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Company.

Karnovsky MJ. 1965. A formaldehyde–glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27, 137A–138A.

Kocyan A, Endress PK. 2001a. Floral structure and development and systematic aspects of some 'lower' Asparagales. *Plant Systematic Evolution* 229: 187-216.

Kocyan A, Endress PK. 2001b. Floral structure and development of *Apostasia* and *Neuwiedia* (Apostasioideae) and their relationships to other Orchidaceae. *International Journal of Plant Sciences* 162: 847–867.

Kurzweil H. 1985. *Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an Orchideenbliiten, unter besonderer Beriicksichtigung des Gynostemiums.* Ph. D. thesis. University of Vienna.

Kurzweil H. 1987a. Developmental studies in orchid flowers I: Epidendroid and vandoid species. *Nordic Journal of Botany* 7: 427–442.

Kurzweil H. 1987b. Developmental studies in orchid flowers II: Orchidoid species. *Nordic Journal of Botany* 7: 443–451.

Kurzweil H. 1988. Developmental studies in orchid flowers III: Neottioid species. *Nordic Journal of Botany* 8: 271-282.

Kurzweil H. 1989. An investigation of the floral morphogenesis of *Bonatea speciosa* (Orchidaceae). *South African Journal of Botany* 55: 433-437.

Kurzweil H. 1990. Floral morphology and ontogeny in Orchidaceae subtribe Disinae. *Botanical Journal of the Linnean Society*: 102: 61–83.

Kurzweil H. 1993. Developmental studies in orchid flowers IV. Cypripedioid species. *Nordic Journal of Botany* 13: 423–430.

Kurzweil H, Weber A. 1991. Floral morphology of southern African Orchideae. I. Orchidinae. *Nordic Journal of Botany* 11: 155-178.

Kurzweil H, Weber A. 1992. Floral morphology of southern African Orchideae. II. Habenariinae. *Nordic Journal of Botany* 12: 39-61.

Kurzweil H, Kocyan A. 2002. Ontogeny of Orchid Flowers. In: Kull T, Arditti J, eds. *Orchid Biology: Reviews and Perspectives*. Dordrecht, Kluwer, 83-138.

Hsu H, Hsu W. Lee Y., *et al.* 2015. Model for perianth formation in orchids. *Nature Plants* 1: 1-8.

Lindley J. 1853. *The vegetable kingdom*, 3th edn. London.

Mittermeier RA, Robles Gil P, Hoffman M, Pilgrim J, Brooks T, Mittermeier CG, Lamoreux J, Da Fonseca GAB. 2005. Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. University of Chicago Press, Chicago.

Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Da Fonseca GA, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858.

Nei M. 1975. *Molecular Population Genetics and Evolution* (North–Holland, Amsterdam).

Nei M. 1983. Genetic polimorphism and the role of mutation and evolution. In Koehn P.K., Nei M, eds. *Evolution of Genes and Proteins*. Sinauer, Sunderland, 165–190.

Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics.* Columbia Univ Press, New York.

Nelson E. 1965. Zur organographischen Natur des Orchideenlabellums. *Botanische Jahrbücher fur Systematik* 84: 175-214.

Nelson E. 1967. Das Orchideenlabellum ein Homologon des eifachen medianen Petalums der Apostasiaceae oder ein zusammengesetztes Organ? *Botanische Jahrbücher fur Systematik* 87: 22-35.

Pábon-Mora N, González F. 2008. Floral ontogeny of Telipogon spp. (Orchidaceae) and insights on the perianth symmetry in the family. *International Journal of Plant Sciences* 169(9): 1159-1173.

Rasmussen FN. 1982. The gynostemium of the neottioid orchids. *Opera Botanica* 65: 1-96.

Rasmussen FN. 1986. Ontogeny and phylogeny in Orchidaceae. *Lindleyana* 1: 114-124.

Reichenbach HG. 1877. Morphologische Mitteilungen in Bezug auf die Orchideenbliite. *Botanische Zeitung* 35: 38-43.

Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation* 142: 1141–1153.

Ronse De Craene LP, Smets EF. 2001. Staminodes: Their Morphological and Evolutionary Significance. *The Botanical Review* 67(3): 351-402.

Royer CA, Toscano de Brito ALV, Smidt EC. 2017a. *Centroglossa tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotypification and rediscovery in the State of Paraná, BRASIL. *Hoehnea* 44(1): 139-144.

Royer CA, Toscano de Brito ALV, Smidt EC. 2017b. O gênero *Zygostates* (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná, Brasil. *Rodriguésia* 68 (4): 1431-1446.

Rudall PJ, Perl CD, Bateman RM. 2013. Organ homologies in orchid flowers re-interpreted using the Musk Orchid as a model. *PeerJ* 1: e26.

Sattler R. 1973. *Organogenesis of flowers*, Toronto: University of Toronto Press.

Schlechter FRR. 1920. *Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis*, 16th vol. Berlim: Selbstverlag des Herausgebers Fabeckstrasse.

Smidt EC, Toscano de Brito ALV, Martins AC, Royer CA, Whitten WM, Chase MW. 2018. Phylogenetics, biogeography and character evolution in the *Ornithocephalus* clade (Orchidaceae, Oncidiinae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 188: 339–354

Swamy BGL. 1948. Vascular anatomy of orchid flowers. *Botanical Museum Leaflets* 13:61-95.

Toscano de Brito ALV. 1994. Systematic studies in the subtribe Ornithocephalinae (Orchidaceae). Tese de Doutorado. Universidade de Reading e Royal Botanic Gardens, Kew. 652p

Toscano de Brito ALV. 2001. Systematic review of the *Ornithocephalus* group (Oncidiinae:Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella. Lindleyana* 16: 157-217.

Toscano de Brito ALV. 2007. A taxonomic revision of the genus *Phymatidium* (Orchidaceae: Oncidiinae). *Kew Bulletin* 62: 529-560.

Toscano de Brito ALV, Felix LP, Dornelas GV. 2008. *Zygostates aderaldoana* — A new species in the *Ornithocephalus* group of subtribe Oncidiinae (Orchidaceae) from Paraíba, northeast BRASIL. *Selbyana* 29 (1). 125-127.

Toscano de Brito ALV. 2012. A new species and a new combination in *Zygostates* (Orchidaceae: Oncidiinae) from Bolivia. *Kew Bulletin* 67: 495-497.

Vermeulen P. 1966. The system of the Orchidales. *Acta Botanica Neerlandica* 15: 224-253.

Walker-Larsen J, Harder LD. 2000. The evolution of staminodes in Angiosperms: patterns of stamen reduction, loss and functional re-invention. *American Journal of Botany* 87(10): 1367-1384.

Weston PH. 1988. Indirect and Direct Methods in Systematics. In: Humphries CL, ed. *Ontogeny and Systematics.* New York: Columbia University Press, 27-56.

Tabela 1- Espécie, coletor, número e localidade, solução de fixação e herbário tombado dos táxons utilizados no trabalho.

Especies	Coletor, número e localidade	Fixador	Herbário
Phymatidium falcifolium Lindl.	Royer, C.A. 26_Telêmaco Borba, PR	FAA & Karnovsky	UPCB
Phymatidium falcifolium Lindl.	Royer, C.A. & Imig, D.C. 78_Quatro Barras, PR	FAA & Karnovsky	UPCB
Phymatidium microphyllum (Barb.Rodr.) Toscano	Royer, C.A. & Imig, D.C. 59_Tijucas do Sul, PR	FAA	UPCB
Oncidium sphacelatum Lindl.	BG_Bochum	Karnovsky	BOCH
Ornithocephalus myrticola Lindl.	Royer, C.A. 114_Benedito Novo, SC	FAA	UPCB
Ornithocephalus myrticola Lindl.	BG_Bochum	Karnovsky	BOCH
Ornithocephalus biloborostratus Salazar & R.González	BG_Munique 2010/2536W	FAA	M
Zygostates dasyrhiza Kraenzl.	Royer, C.A. & Imig, D.C. 90_Tijucas do Sul, PR	FAA & Karnovsky	UPCB
Zygostates dasyrhiza Kraenzl.	Imig, D.C. 472_Balsa Nova, PR	FAA	UPCB
Zygostates lunata Lindl.	Royer, C.A. 162_Domingos Martins, ES	FAA & Karnovsky	UPCB
Zygostates lunata Lindl.	Royer, C.A. 164_Domingos Martins, ES	FAA	UPCB
Zygostates lunata Lindl.	Toscano de Brito, A.L.V. 3336. Without locality	FAA	UPCB
Zygostates nectarifera (Senghas) Toscano	BG_Munique 2013/0222	FAA	M

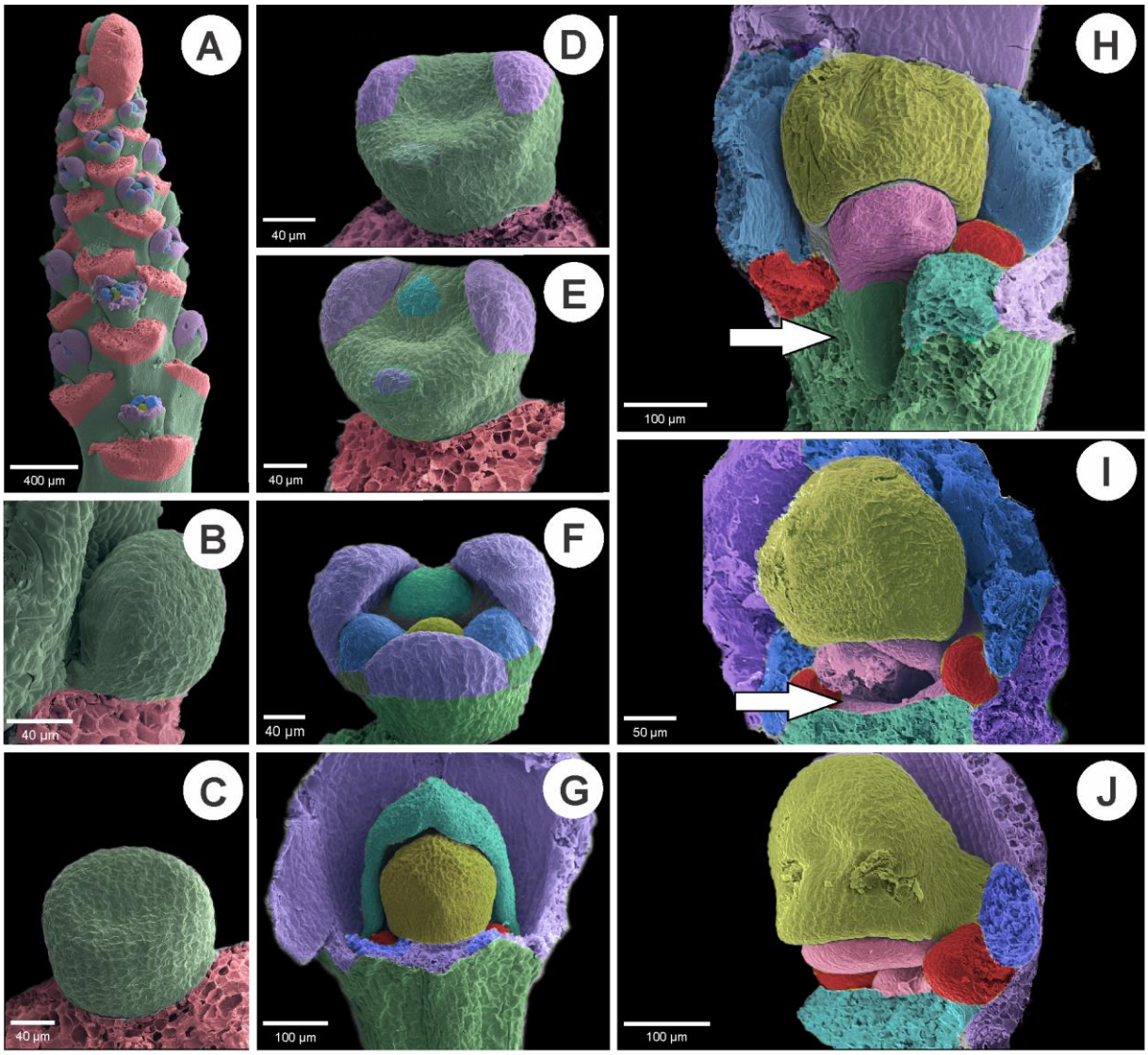


Fig. 1. Desenvolvimento floral de *Zygostates.* A-G, I e J – *Z. lunata*, H – *Z. nectarífera*, L-O – *Z. dasyrhiza*. Legendas das cores: Verde= Ovário, Roxo= Sépalas, Azul= Pétalas, Azul claro= labelo, Amarelo= Antera, Rosa= carpelos, Vermelho = estaminódio. Setas indicam cavidade ovariana.

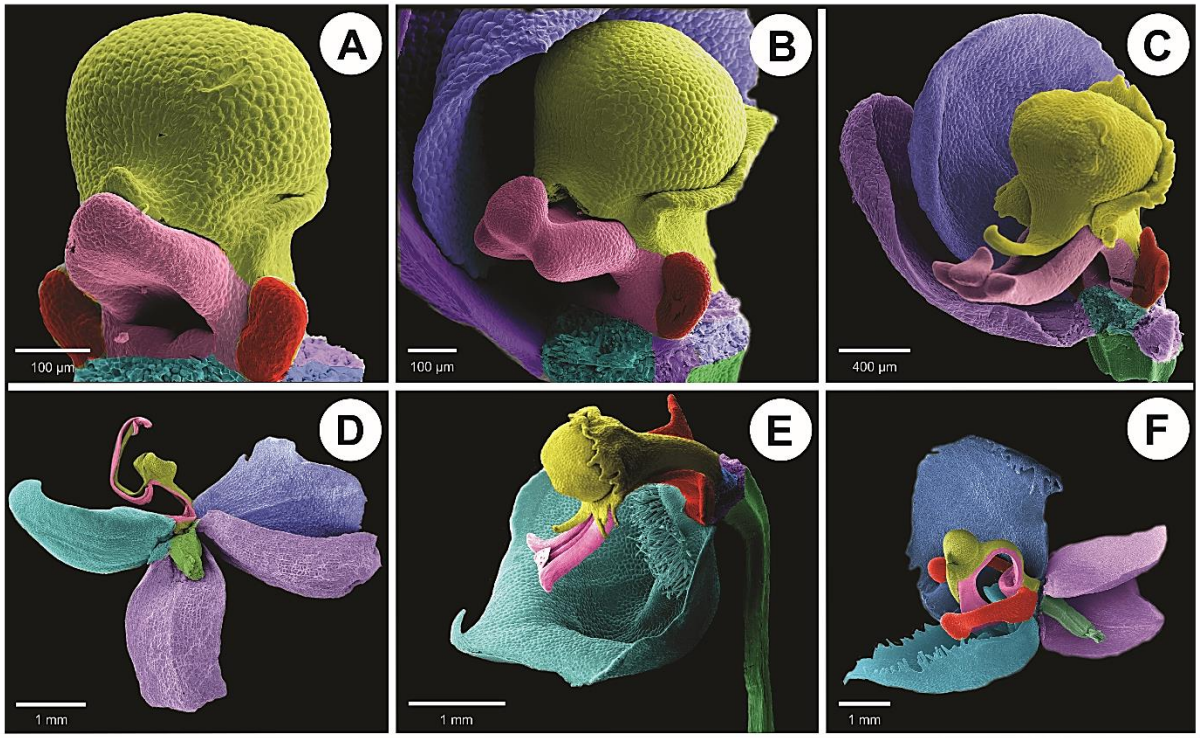


Fig. 2. Desenvolvimento floral de *Zygostates* em vista ressupinada. A-C e E– *Z. dasyrhiza*, D – *Z. nectarífera*, F – *Z. lunata*. Legendas das cores: Verde= Ovário, Roxo= Sépalas, Azul= Pétalas, Azul claro = labelo, Amarelo= Antera, Rosa= carpelos, Vermelho= estaminódio.

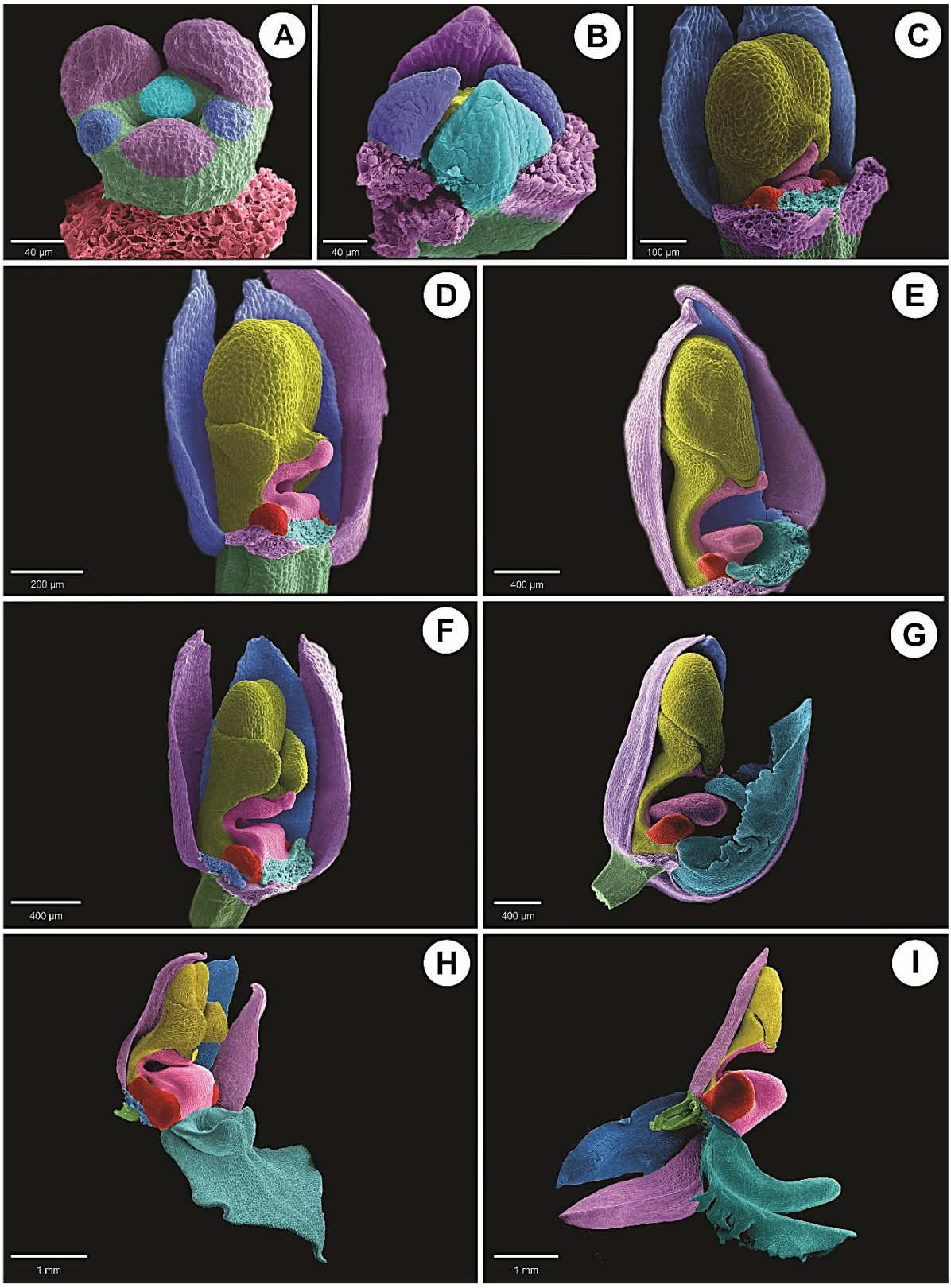


Fig. 3. Desenvolvimento floral de *Phymatidium*. A, E, G e I – *P. falcifolium.* B, C, D, F e H – *P. microphyllum.* Legendas das cores: Verde= Ovário, Roxo= Sépalas, Azul= Pétalas, Azul claro = labelo, Amarelo= Antera, Rosa= carpelos, Vermelho = estaminódio.

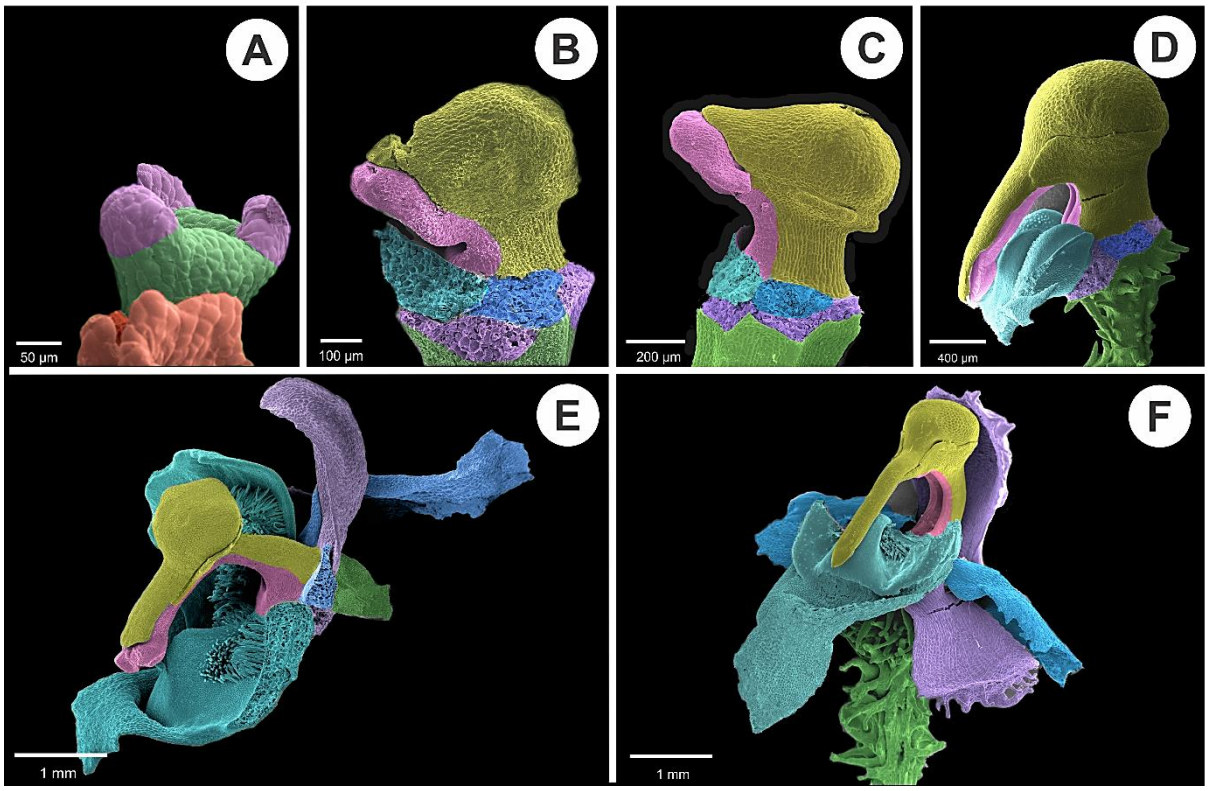


Fig. 4. Desenvolvimento floral de *Ornithocephalus.* A, B. E e F – *O. myrticola.* C e D – *O. biloborostratus.* Legendas das cores: Verde= Ovário, Roxo= Sépalas, Azul= Pétalas, Azul claro = labelo, Amarelo= Antera, Rosa= carpelos, Vermelho = estaminódio.

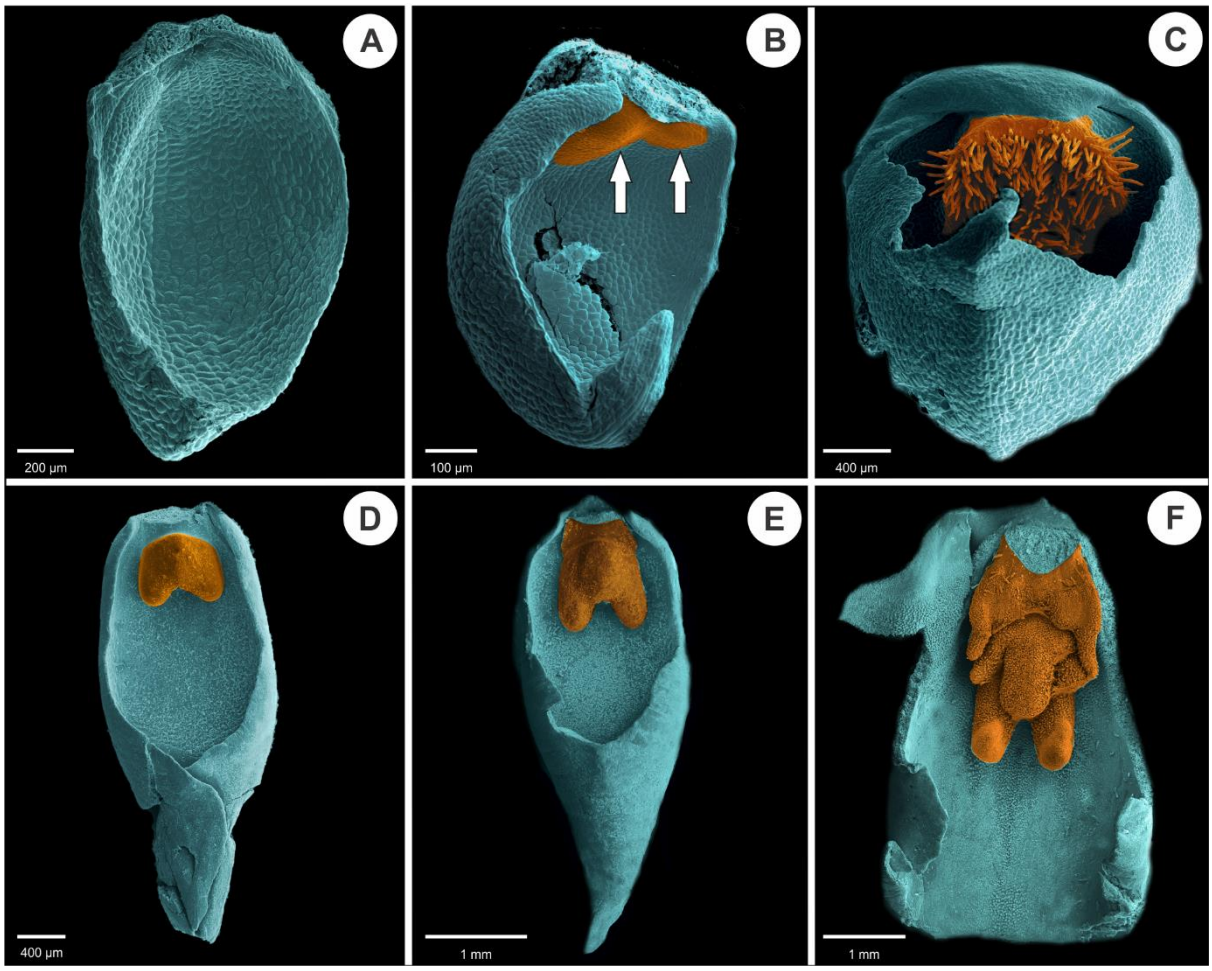


Fig. 5. Desenvolvimento do calo do labelo em Oncidiinae. A-C- *Zygostates dasyrhiza*. D-F- *Oncidium sphacelatum*. Legendas das cores: laranja= calo, Azul claro = labelo. Setas indicam primórdio da calosidade.

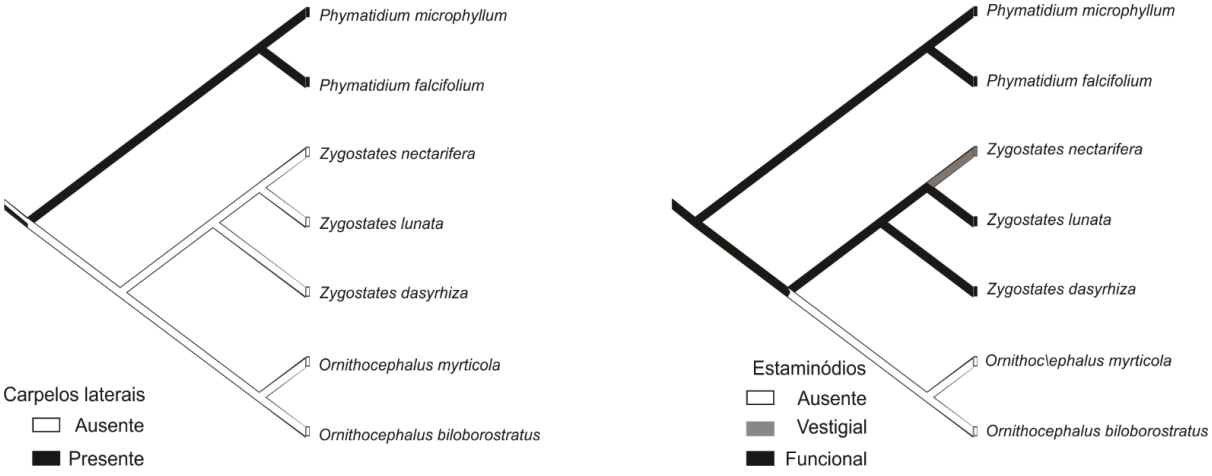


Fig. 6. Evolução de caracteres investigados no trabalho baseado nas relações filogenéticas proposta por Smidt et al. (2018).

4. CAPÍTULO 3 — Micromorfologia floral de *Zygostates* e gêneros afins (Orchidaceae: Oncidiinae).

(Artigo segundo normas da revista *Brazilian Journal of Botany – Sociedade Botânica de São Paulo (SBSP)* - https://www.springer.com/life+sciences/plant+sciences/journal/40415).

Carla A. Royer[1,5], A.L.V. Toscano de Brito[2], Elaine L. P. Nunes[3], Thomas Stützel[4] e Eric C. Smidt[1,5].

Micromorfologia floral de *Zygostates* e gêneros afins (Orchidaceae: Oncidiinae).

[1] Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), Instituto de Biocências Unesp- Rio Claro, BR; carladriane@gmail.com

[2]Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL 34236, USA

[4]Evolution and Biodiversity of Plants, Faculty for Biology and Biotechnology, Ruhr-Universität, D-44780, Bochum, Germany.

[3,5] Universidade Federal do Paraná, Departamento de Botânica, CX 19031, 81530–900, Curitiba, BR

[5] Autor para correspondência: carladriane@gmail.com

Resumo – O clado *Ornithocephalus* compreende pequenas epífitas de morfologia floral bastante complexa que ao longo do tempo vem gerando dúvidas nas descrições e delimitações das espécies. Objetivamos aqui, identificar estruturas micromorfológicas florais, incluindo estruturas secretoras que auxiliem na sistemática e na filogenia de gêneros e espécies do clado *Ornithocephalus* (*Zygostates* Lindl., *Centroglossa* Barb.Rodr., *Platyrhiza* Barb.Rodr., *Chytroglossa* Rchb.f., *Thysanoglossa* Porto & Brade, *Rauhiella* Pabst & P.I.S. Braga, *Ornithocephalus* Hook e *Phymatidium* Lindl.). Investigamos estruturas micromorfológicas florais em 30 táxons do clado através de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e em outras 20 espécies analisamos a presença de estruturas secretoras por meio de testes histoquímicos com Sudan III, Lugol e vermelho neutro. Um total de 26 caracteristicas micromorfológicas florais foram observadas em seis gêneros do clado *Ornithocephalus.* Identificamos sinapomorfias que sustentam a monofilia do gênero *Ornithocephalus* e *Phymatidium* e um clado do gênero *Zygostates.* Além da evidência de células glandulares secretoras de óleos, revelamos possível secreção de compostos voláteis, característica de osmóforos, corroboradas com presença de tecido com reserva de amido.

Palavras-chave: clado *Ornithocephalus,* MEV, histoquímica, elaióforos, osmóforos.

1 Introdução

Dentre as subfamílias de Orchidaceae, Epidendroideae é considerada a maior subfamília, possuindo aproximadamente 21100 espécies classificadas em 650 gêneros, com distribuição cosmopolita (Cribb & Chase 2005, Freudstein & Chase 2015). Desde a publicação de Chase et al. (2003), a subfamília, e em especial a subtribo Oncidiinae tem sofrido muitas modificações nos limites genéricos. Isto se deve, principalmente, pela evidente plasticidade da morfologia floral na subtribo, graças à evolução paralela da polinização por abelhas em muitos clados (Chase et al. 2015).

Williams et al. (2001) incorporaram as antigas subtribos Ornithocephalinae e Telipogoninae em Oncidiinae, a primeira sendo, a partir de então, reconhecida informalmente como clado *Ornithocephalus*. O clado *Ornithocephalus* compreende 12 gêneros e ca. de 120 espécies, distribuídas de norte ao sul nas Américas, desde o México até a Argentina, com centro de diversidade na Floresta Atlântica do sudeste do Brasil, com *Zygostates* Lindl. tendo a maior diversidade de espécies neste bioma (Toscano de Brito 2001, Chase & Toscano de Brito 2009).

O clado é composto por pequenas epífitas, de morfologia floral altamente complexa, que gera dificuldades nas descrições e delimitações das espécies até os dias atuais (Toscano de Brito 1994, 2001). As flores apresentam todos os caracteres que distinguem a maioria dos membros de Orchidaceae das outras famílias de monocotiledôneas: androceu e gineceu parcialmente fundidos em um ginostêmio, pétala mediana modificada em labelo, carpelo mediano - que forma o rostelo - responsável pela transferência das políneas, compostas por agregados de grãos de pólen.

A sépala mediana ou dorsal é em geral, um pouco diferente no tamanho e formato, em comparação às laterais e as pétalas são usualmente diferentes das sépalas. O labelo possui diferentes formas, desde ovado, ligulado, triangular ou marcadamente lobado,

sacado, podendo apresentar um cálcar em sua base. Juntamente com o ginostêmio, o labelo é o órgão mais informativo taxonomicamente, apresentando-se, em muitos casos, tão unidos que é difícil precisar os limites entre cada órgão. A base do labelo é usualmente provida de uma calosidade, carnosa ou em forma de quilha, muitas vezes coberta por tricomas (Toscano de Brito 1994, 2001, Royer et al. 2017).

O ginostêmio do clado *Ornithocephalus*, como o labelo, é bastante variável na forma, desde curvada à sutil ou distintamente sigmoide. A maioria das espécies possuem apêndices derivados de diferentes peças florais. A tábula infraestigmática, presente em alguns gêneros, é uma extensão basal, localizada abaixo do estigma, proveniente do desenvolvimento e crescimento dos carpelos laterais (Royer et al. dados não publicados, Cap. 2). Os apêndices ou aurículas, que se localizam na região apical do ginostêmio, lateralmente a antera, são derivados da mesma. Enquanto estruturas por vezes similares, localizadas base do ginostêmio, lateralmente ao estigma, são estaminódios - um vestígio dos estames perdidos ao longo da diversificação do grupo (Toscano de Brito 2001, 2007, Royer et al. dados não publicados, Cap. 2).

Nos últimos anos, muitas árvores filogenéticas foram propostas para a subtribo Oncidiinae, inferindo a posição das espécies do clado *Ornithocephalus* (Williams et al. 2001, Chase & Toscano de Brito 2009, Neubig et al. 2012). Mais recentemente, Smidt et al. (2018) aumentaram a amostragem do grupo, apresentando uma hipótese filogenética para o clado. Em Royer et al. (dados não publicados, Cap. 1), ainda mais táxons e diferentes fontes de dados são adicionadas, corroborando as relações intra e intergenéricas já indicadas: *Phymatidium* Lindl. é grupo irmão dos demais gêneros do clado, *Zygostates* Lindl. e *Centroglossa* Barb.Rodr. formam um clado monofilético e, *Ornithocephalus* Hook é o gênero mais próximo dos demais gêneros do clado.

O clado *Ornithocephalus* apresenta registro de secreção de óleos florais para todos os gêneros (Reis et al. 2006, Renner & Schaefer 2010), contudo existem descrições da estrutura dos elaióforos florais apenas para algumas espécies de *Ornithocephalus, Phymatidium* e *Zygostates* (Vogel 1974, Toscano de Brito 2001, Reis et al. 2006, Pacek & Stpiczynska 2007, Pacek et al. 2012, Gómiz et al. 2014). Os poucos estudos disponíveis apontam para uma enorme diversidade de estruturas secretoras. Pacek et al. (2012) observaram que elaióforos tricomatosos estão presentes no labelo de quatro espécies do clado, porém o calo tricomatoso às vezes é ausente e, em *Centroglossa*, há a presença de cálcar no labelo. Ainda, em *Zygostates pellucida* Rchb.f., a superfície adaxial das pétalas, também já foi identificada como secretora (Toscano de Brito 2001). Além disso, estruturas como a tábula infraestigmática e os estaminódios não foram investigados sobre possível atividade secretora que elucidem sua função e/ou vantagem evolutiva.

Estudos anatômicos e micromorfológicos recentes têm auxiliado na sistemática de Orchidaceae em diferentes níveis (Buzzato et al. 2012; Smidt et al. 2013; Nunes et al. 2014, 2015, 2017, Francisco et al. 2015). Historicamente, tais análises têm sido utilizadas em taxonomia vegetal para a elucidação de características específicas das superfícies epidérmicas e estruturas especializadas, com o intuito de esclarecer funções, diferenciar táxons e auxiliar na detecção de homologias (Pridgeon 1982; Kong 2001; Stern & Carlsward 2006).

Dada à ausência de estudos micromorfológicos em *Zygostates* e gêneros afins, aqui pretendemos esclarecer as seguintes questões: (a) quais características micromorfológicas florais são comuns as espécies de *Zygostates* Lindl., *Centroglossa* Barb.Rodr., *Platyrhiza* Barb.Rodr., *Chytroglossa* Rchb.f., *Rauhiella* Pabst & P.I.S. Braga, *Ornithocephalus* Hook e *Phymatidium* Lindl.? (b) existem caracteres

micromorfológicos florais que sustentam os clados inferidos nas análises filogenéticas? (c) quais são as substâncias secretoras presentes nas espécies do clado *Ornithocephalus* e onde elas são secretadas?

2 Material e Métodos

Os táxons amostrados, bem como a análise realizada em cada um, foram baseados na filogenia do clado *Ornithocephalus* (Smidt et al. 2018, Royer et al. dados não publicados, Cap. 1) e estão sumarizados na Tabela 1.

Para a microscopia eletrônica de varredura (MEV), flores foram previamente obtidas em campo, orquidários comerciais, jardins botânicos ou coleção líquida de herbários, e armazenadas em diferentes soluções baseadas na viabilidade e adequação de coleta. Foram utilizados: etanol 70% (para amostras de coleções liquidas); FAA 50% (3,7% v/v formaldeído, 50% etanol, 5% ácido acético - Johansen, 1940) – com posterior armazenamento em etanol 70%; ou glutaraldeído 2,5% e paraformaldeído 2% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,2 (modificado de Karnovsky, 1965) com posterior armazenamento no próprio fixador.

Devido à raridade de coleta do grupo, sua disponibilidade e viabilidade em cultivo e/ou número restrito de flores, na maioria das espécies amostramos somente um indivíduo, confirmando, quando possível, o maior número de caracteres por materiais de herbários, ilustrações ou imagens de arquivo pessoal.

As amostras para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram desidratadas em série de etanol (aprox. 3hrs) ou em série de propanona sob vácuo (aprox. 4 h), submetidas a ponto crítico com CO_2 (CPD 030, Bal-Tec), afixadas em suporte metálico com adesivo dupla-face de carbono (Leit Pads, PELCO Tabs™) ou adesivo líquido Leit C (PLANO GmbH) e metalizadas com ouro (MED 010, Bal-Tec e

SCD 050, Bal-Tec). Então, foram visualizadas ao MEV (JEOL JSM – 6360LV e Sigma VP, Zeiss). As análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Paraná – Brasil (CME – UFPR) e no Lehrstuhl für Evolution und Biodiversität der Pflanzen da Ruhr-Universität, em Bochum (RUB) – Alemanha.

Realizamos também testes histoquímicos em 20 espécies do clado *Ornithocephalus* (tabela 1) que revelam possíveis produção de substâncias secretoras. Utilizamos vermelho neutro, para identificação de estruturas secretoras (Stern et al., 1986 com modificações) – especialmente osmóforos; Sudan III para lipídios (O´Brien & McCully, 1981) e Lugol para amido (Jensen, 1962). Flores inteiras foram imersas por ca. de 40 min em cada solução, posteriormente lavadas com água destilada e fotografadas com câmera fotográfica Canon EOS Digital Rebel XT.

Através da investigação do desenvolvimento floral (Royer et al. dados não publicados, Cap. 2), e analises micromorfológicas, consideramos aqui como calo ou quilha do labelo, a metade basal do labelo onde observa-se uma protuberância das células do labelo ou um disco formado por um tecido elevado ao tecido do labelo, geralmente papiloso e/ou piloso (Fig. 1). Sendo assim, consideramos não haver um calo labelar em *Z. aderaldoana* e *Z. obliqua*, devido à ausência ou indício de qualquer protuberância no labelo, sendo a metade basal do labelo recoberta apenas por tricomas. Em espécies que o calo do labelo ocupa toda a porção proximal da face adaxial, codificamos somente os caracteres relacionados ao calo e nada adicionamos à característica da metade basal da lâmina do labelo. Ainda, como a distinção entre papilas e tricomas é dificil, consideramos papilas as saliências mais curtas (largura maior que altura) e tricomas as mais longas (altura maior que largura – Fig. 2). Verificamos também, que as células das peças florais das espécies investigadas

apresentam em geral a forma convexa. A fim de tornar a descrição mais clara e objetiva, indicaremos aqui somente quando ocorrer alteração desta característica.

Para efeitos de comparação de nossos resultados com a filogenia já existente do clado (Smidt et al. 2018, Royer et al. dados não publicados, Cap. 1), construímos uma matriz de caracteres micromorfológicos. A sequência das espécies apresentadas nesta matriz, bem como na figura e a tabela dos resultados dos testes histoquímicos, segue as relações filogenéticas entre as espécies e gêneros do clado. Posteriormente, esta matriz será utilizada para reconstruir a evolução destes caracteres no clado.

3 Resultados

Características intragenéricas

Zygostates

Na face adaxial da sépala dorsal, presença de estômatos foi observada em todas as espécies analisadas, enquanto na face abaxial, estômatos foram encontrados somente em *Z. bradei*, *Z. densiflora*, *Z. nectarífera* e *Z. obliqua*. Já nas sépalas laterais, estômatos foram observados em todas as espécies somente em sua face abaxial.

Nas pétalas de *Z. bradei* e *Z. pellucida* há predominância de células epidérmicas papilosas em ambas as faces, com destaque para a face adaxial. Estômatos são observados em todas as espécies na face abaxial, exceto *Z. bradei*, *Z. pellucida* e *Z. linerisepala*. *Zygostates dasyrhiza*, Z. *grandiflora*, *Z. lunata* e *Z. nectarífera* não apresentam estômatos na face adaxial de suas pétalas.

A epiderme cuticular das sépalas e pétalas de todas as espécies do gênero indicaram a presença de lipídios quando coraram positivamente ao Sudan III, com exceção de *Z. pustulata* e *Z. aderaldoana.* Já o teste com Lugol, indicando a presença de amido, foi positivo somente para a epiderme das sépalas e pétalas de *Z. alleniana,* e para

a epiderme de *Z. cornuta, Z. lunata* e *Z. aderaldoana*. Tanto a epiderme das sépalas quanto as das pétalas de *Z. pellucida* e *Z. alleniana* reagiram positivamente ao vermelho neutro, indicando a secreção de compostos voláteis (Figs. 3 e 4).

No labelo, a presença de papilas ocorre em ambas as faces de *Z. pellucida* e na face abaxial de *Z. bradei*. Estômatos são encontrados na face abaxial de *Z. cornuta*, *Z. dasyrhiza* e *Z. pellucida*. A região proximal adaxial do labelo apresenta tricomas naquelas espécies em que o calo é ausente ou naquelas em que ele se apresenta em forma de quilha mais ou menos no centro da lâmina, i.e. *Z. aderaldoana*, *Z. densiflora*, *Z. kuhlmannii*, *Z. nectarífera* e *Z. obliqua* (Fig. 1).

De forma geral, o calo labelar em *Zygostates* é recoberto por tricomas unicelulares na regiao proximal adaxial (Fig. 2F) e, somente em *Z. bradei*, encontramos tricomas capitados (Fig. 2G). O ápice do calo geralmente apresenta células convexas. Em *Z. alleniana* e *Z. dasyrhiza*, tricomas recobrem todo o calo.

As células epidérmicas dos estaminódios, seguem o mesmo padrão dos demais órgãos, possuindo, em geral, parede periclinal externa (PPE) convexas. Em *Z. bradei*, células papilosas ocorrem na base.

Da mesma forma como ocorre nas sépalas e pétalas, a epiderme do labelo de todas as espécies, exceto de *Z. aderaldoana*, indicaram a presença de lipidios. Amido foi encontrado na epiderme de *Z. aderaldoana, Z. alleniana, Z. cornuta* e *Z. lunata*. Em *Z. pustulata* a reação ao lugol pareceu mais intensa que nas demais espécies. Compostos voláteis foram detectados somente no labelo e nos tricomas presente nele em *Z. aderaldoana* e nos tricomas de *Z. kuhlmannii*.

O calo do labelo em todas as espécies observadas, indicaram a presença de lipídios e amido. Compostos voláteis não foram detectados nos tricomas do calo de *Z. dasyrhiza* e *Z. pustulata*.

Os estaminódios de *Z. dasyrhiza* e o ápice de *Z. alleniana* indicaram a presença de lipídios. Amido está presente nos estaminódios de *Z. lunata* e no ápice dos estaminódios de *Z. alleniana*. Compostos voláteis foram detectados somente nos estaminódios de *Z. pellucida*.

Os resultados das características observadas no gênero *Zygostates* encontram-se sumarizados na tabela 3.

Clado *Centroglossa*

Em *Centroglossa*, observamos estômatos na face abaxial das sépalas de *C. greeniana*. *C. castellensis* carecem de estômatos em suas peças florais e em *C. tripollinica* observamos estômatos na face abaxial das sépalas laterais.

Nas pétalas, estômatos estão presentes em ambas as faces de *C. greeniana.*

O cálcar presente no labelo de *Centroglossa* apresenta três tipos de células epidérmicas na ppe: convexas, papilosas e pilosas. O calo é possuem células epidérmicas de paredes celulares lisas em *C. greeniana*, papilosas em *C. castellensis* e pilosas em *C. tripollinica*. Todos os tricomas observados são aparentemente unicelulares.

Os testes histoquímicos foram realizados somente em *C. greeniana*. Lipidios foram detectados na epiderme das sépalas e pétalas. Nos estaminódios foram detectados lipídios e amido. Tanto o labelo, quanto o calo de *C. greeniana* não reagiram aos testes realizados. Os resultados das características observadas no gênero *Centroglossa* encontram-se sumarizados na tabela 4.

Phymatidium

No gênero *Phymatidium* a face abaxial da sépala dorsal possui estômatos em *P. falcifolium* e em *P. microphyllum* var. *herteri*. Nas sépalas laterais e pétalas, estômatos foram observados apenas na face abaxial de *P. falcifolium*.

A morfologia das células epidérmicas do labelo é bastante homogênea e somente *P. delicatulum* possui células de ppe papilosas em seu ápice.

O calo labelar nas espécies do gênero é sempre leve ou distintamente côncavo, recoberto por tricomas em toda a extensão (ex. *P. falcifolium*) ou pelo menos metade (ex. *P. aquinoi*). Estes tricomas podem ser capitados, como em *P. falcifolium*, segmentados como em *P. aquinoi, P. delicatulum* e *P. geiselii* ou unicelulares como *P. hysteranthum* e *P. microhyllum* (Fig. 2F, G e H).

Em todas as espécies ocorrem aurículas na lateral do ginostêmio, mais ou menos na altura das anteras. Em *P. aquinoi* e *P. falcifolium*, essas são quase inconspícuas e suas células epidérmicas possuem ppe convexas e lisas. Em *P. microphyllum* var. *herteri*, as aurículas são maiores, com células convexas e lisas, já em *P. hysteranthum* e *P. microphyllum* essas são convexas e estriadas (Fig. 2D). *Phymatidium delicatulum, P. delicatulum* var. *curvisepalum* e *P. geiselii* apresentam aurículas papilosas-pilosas estriadas.

Na tábula infraestigmática e nos estaminódios, as células epidérmicas possuem ppe convexas. Células papilosas são observadas na tábula infraestigmatica de *P. microphyllum* var. *herteri*.

A presença de lipídios foi detectada na epiderme das sépalas, pétalas, labelo e calo do labelo em todas as espécies do gênero. Em *P. geiselii, P. microphyllum* var. *herteri, P. aquinoi e P. delicatulum* lipídios foram identificados nas aurículas e em *P. geiselii* e *P. microphyllum* var. *herteri* também na tábula infraestigmática. A presença de amido foi verificada na epiderme de todas as peças florais estéreis de *P. falcifolium* e

intensamente, no calo e tricomas do calo de todo o gênero. Em *P. aquinoi*, amido foi identificado nas aurículas. Compostos volateis foram detectados na epiderme das sépalas, pétalas e labelo de *P. microphyllum* var. *herteri*, enquanto em *P. geiselii* e *P. delicatulum* nos tricomas do calo (Fig. 6).

Os resultados das características observadas em *Phymatidium*, encontram-se sumarizados na tabela 5.

Thysanoglossa, Platyrhiza, Chytroglossa e *Rauhiella*

Em *Platythiza quadricolor*, observamos estômatos na face abaxial das sépalas dorsal e laterais. Já em *Rauhiella silvana*, a presença de estômatos foi verificada na face abaxial das sépalas laterais e pétalas. Em *Chytroglossa marileoniae* os estômatos estão presentes na face abaxial das pétalas e em ambas as faces do labelo.

Chytroglossa marileoniae também apresenta células epidérmicas papilosas em ambas as faces do labelo. *Rauhiella silvana* possui tricomas pluricelulares na face adaxial do labelo.

Assim como ocorre em algumas espécies de *Ornithocephalus* e *Zygostates*, em *P. quadricolor* o calo do labelo é caracterizado por uma quilha presente no centro, e, diferente dos outros gêneros estudados, nessa espécie nao há tricomas. Já em *C. marileoniae* e *R. silvana* apresentam um calo basal que é recoberto por tricomas.

Auriculas laterais ao ginostêmio são encontradas em todas as espécies, contudo somente em *Chytroglossa* ocorrem células epidérmicas papilosas. Enquanto estaminódios se desenvolvem somente em *Rauhiella*, em *Platyrhiza* existe um prolongamento na base do ginostêmio que apresenta tricomas em seu ápice.

Testes histoquímicos foram realizados em *Thysanoglossa jordanensis*, *Chytroglossa marileoniae* e *Rauhiella seehawerii*. Lipidios foram identificados nas

aurículas e a tábula infrasestigmática de *Thysanoglossa*, aurículas e tricomas do calo de *Rauhiella* e na porção proximal do labelo, no calo e nos tricomas do calo em *Chytroglossa*. Amido está presente na base das sépalas e pétalas, nas aurículas, na tábula infraestigmática e no calo do labelo de *Thysanoglossa*, e no tricomas do calo de *Chytroglossa*. Compostos voláteis foram identificados na base das sépalas e pétalas e no calo do labelo de *Thysanoglossa*. (Fig. 5).

Os resultados das características observadas nos exemplares desses gêneros, encontram-se sumarizados na tabela 6.

Ornithocephalus

Em *Ornithocephalus*, todas as peças florais de *O. myrticola* e *O. bryostachyus* apresentam tricomas pluricelulares na face abaxial (Fig. 2D). Nas pétalas de *O. bryostachyus*, também ocorrem tricomas na face adaxial. Estômatos foram encontrados na face abaxial das sépalas de *O. biloborostratus* e na sépala lateral de *O. myrticola*.

Tanto o labelo de *O. myrticola*, quanto o labelo *O. bryostachyus* apresentam um calo que recobre toda superfície proximal da lâmina. Já em *O. biloborostratus* o labelo apresenta uma quilha na mesma posição que as espécies anteriores. O labelo de *O. biloborostratus* possui tricomas unicelulares na porção proximal da lâmina do labelo, enquanto *O. myrticola* e *O. bryostachyus* os tricomas são encontrados na superfície do calo do labelo. *O. biloborostratus* foi a única espécie em que observamos a presença de estômatos na face adaxial do labelo.

Os testes histoquímicos foram realizados somente em *O. myrticola*. Em todas as peças florais foi identificado a presença de lipídios e compostos voláteis. Nos tricomas do calo verificou-se uma presença intensa de lipídios e amido. Os resultados

das características observadas em *Ornithocephalus*, encontram-se sumarizados na tabela 6.

Características intergenéricas

As características micromorfológicas observadas entre os gêneros diferem em poucos aspectos. Em geral, as células epidérmicas das sépalas possuem paredes celulares periclinais externas convexas e lisas (Tabelas 3, 4, 5 e 6 Fig. 2A). *Ornithocephalus* é o único gênero estudado que apresenta tricomas na superfície das sépalas. Em relação aos estômatos, salvo em *P. falcifolium*, estes estão ausentes em *Phymatidium*. Em *Centroglossa*, *Ornithocephalus*, *Platyrhiza* e *Rauhiella*, quando presentes, os estômatos ocorrem somente abaxialmente. Já em *Zygostates*, todas as espécies apresentam estômatos na face abaxial das sépalas e, em muitas espécies, os estômatos ocorrem também na face adaxial.

As pétalas, assim como as sépalas, em geral apresentam células de ppe convexas e lisas. Células epidérmicas com paredes papilosas são características de *Z. bradei* e *Z. pellucida* (Fig. 2B e C), enquanto tricomas são encontrados em *O. bryostachyus* e *O. myrticola* (Fig. 2E). Estômatos são comuns na face abaxial dos gêneros analisados, exceto em *Ornithocephalus* e *Phymatidium* (neste último, observado somente em *P. falcifolium*). Na face adaxial estão presentes em poucas espécies de *Zygostates* e *Centroglossa*.

Quanto aos testes histoquímicos (Tabela 2), lipídios foram identificados na epiderme das sépalas e pétalas de todos os gêneros. Em *Phymatidium microphyllum* var. *herteri, Ornithocephalus myrticola* e *Zygostates pellucida, Z. kuhlmannii* e Z. *alleniana* verificou-se também a presença de compostos voláteis. E em algumas espécies de *Zygostates* e *P. falcifolium*, foi detectado a presença de amido (Figs. 2, 3, 4 e 5).

Todos os calos labelares apresentam tricomas em sua superfície, e aqueles providos de quilha central apresentam tricomas anteriormente a esta quilha, ou seja, na porção proximal do labelo (Fig. 1). No entanto, *Platyrhiza quadricolor* (Fig. 1B), que apresenta uma quilha longitudinal no centro da lâmina labelar, não apresenta tricomas em sua superfície. A ocorrência de estômatos no labelo é rara, sendo observada na face abaxial de poucas espécies de *Zygostates* e em *Chytroglossa*.

Lipidios foram detectados em todos calos ou nos tricomas presente na porção proximal do labelo em todas as espécies, exceto *Z. aderaldoana* (Fig. 3C). Da mesma forma, o amido não foi observado somente no calo de *Rauhiella seehawerii* (Fig 5C). Já compostos voláteis, foram identificados em algumas espécies de *Phymatidium*, *Thysanoglossa* e *Zygostates*.

A presença de aurículas laterais ao ginostêmio é comum em *Phymatidium*, e estas podem ou não apresentar tricomas, papilas e células estriadas (Fig. 2D). Além de *Phymatidium*, tal estrutura é observada em *Thysanoglossa*, *Platyrhiza*, *Chytroglossa* e *Rauhiella.* Lipidios foram detectados nas aurículas de *Phymatidium, Thysanoglossa* e *Rauhiella*, já o amido está presente nas aurículas de *P. aquinoi* e *Thysanoglossa*.

Estaminódios estão ausentes na flor em antese de *Ornithocephalus*, algumas espécies de *Zygostates, P. aquinoi, Chytroglossa* e *Platythiza*. No gênero *Phymatidium*, os estaminódios são adnatos aos carpelos laterais e recobertos por células epidérmicas com ppe convexas. Nos demais gêneros, os estaminódios crescem livres adquirindo tamanho e forma variada. Nos estaminódios de *Centroglossa castellensis* e *C. tripollinica*, células papilosas são observadas (Fig. 2B). Em *Zygostates bradei*, os estaminódios possuem células epidérmicas com paredes convexas com uma papila central (Fig. 2C).

Nas espécies que apresentam os estaminódios adnados aos carpelos laterais, lipídios foram encontrados em *Phymatidium geiselii*, *P. microphyllum* var. *herteri* e *Thysanoglossa jordanensis*, enquanto amido somente na superfície da ppe em *P. falcifolium* e mais pronunciadamente de *T. jordanensis*. Nas espécies em que os estaminódios são livres, lipidos foram observados em *Centroglossa greeniana*, *Zygostates dasyrhiza* e *Z. alleniana*. Amido nos estaminódios de *C. greeniana*, *Z. lunata* e *Z. alleniana*. Já compostos voláteis somente em *C. greeniana* e *Z. pellucida*.

A cavidade estigmática é conspícua na maioria das espécies, algumas apresentam-se mais ovadas e alongadas (ex. *Phymatidium*, *Chytroglossa*, *Ornithocephalus*), outras mais arredondas e alargadas (ex. *Centroglossa* e *Zygostates*). O rostelo também difere entre os gêneros analisados, em *Phymatidium*, *Thysanoglossa Platyrhiza*, *Chytroglossa* e *Rauhiella* ele é mais curto que o ginostêmio e mais ou menos linear, enquanto em *Ornithocephalus*, *Zygostates* e *Centroglossa*, ele é longo e sigmoide.

A cavidade estigmática é rica em lipidios em todas as espécies investigadas e, em *Phymatidium delicatulum*, *Thysanoglossa jordanensis*, *Zygostates kuhlmannii* e *Z. bradei* apresenta também compostos voláteis. Já *Centroglossa greeniana*, *P. aquinoi*, *T. jordanensis*, *Z. pellucida*, *Z. lunata*, *Z. aderaldoana* e *Z. alleniana* detectamos a presença de amido.

4 Discussão

Investigamos 26 caracteristicas micromorfológicas presentes em mais de 30 espécies de seis diferentes gêneros do clado *Ornithocephalus*. Este é o primeiro estudo para o clado que engloba um grande número de táxons. Conseguimos a priori identificar alguns caracteres que podem melhorar a compreensão do relacionamento

entre os gêneros e fortalecer as relações filogenéticas entre as espécies, além de auxiliar na delimitação das mesmas. Ainda, indicamos a presença de elaióforos e/ou osmóforos em 18 espécies do clado que podem contribuir para o maior conhecimento sobre as estruturas relacionadas a polinização.

O monofiletismo do gênero *Ornithocephalus* é sustentado por cinco sinapomorfias (caráter 1, 5, 9, 13 e 14) todas relacionados a presença de tricomas pluricelulares na parede periclinal externa da face abaxial das sépalas, pétalas e labelo. Estômatos na face adaxial do labelo (caráter 18) sustentam relações aproximadas entre espécies de *Chytroglossa* e *Ornithocephalus*. O rostelo menor que o ginostêmio (caráter 26) é pleisiopomórfico para o gênero *Phymatidium* e para o clado composto por *Thysanoglossa*, *Platyrhiza*, *Chytroglossa* e *Rauhiella* (Smidt et al. 2018).

Em *Zygostates* a presença de estômatos na face adaxial da sépala dorsal (carater 4) aparece como uma sinapomorfia para *Z. densiflora*, *Z. nectarifera* e *Z. obliqua*. Tal característica também está presente em *Z. bradei*, cujo relacionamento com esse clado não está claro, uma vez que varia segundo a análise e conjunto de dados utilizado na análise filogenética (Royer et al. dados não publicados, Cap. 1)

Caracteres autapomorficos são encontrados na forma da parede periclinal externa da tábula infraestigmática (caráter 23) em que *Phymatidium microphyllum* var. *herteri* é o único que apresenta papilas e *Platyrhiza quadricolor* o único táxon com a presença de tricomas. A forma papilosa da parede periclinal externa da pétala também se caracteriza como um caráter sinapomórfico para *Zygostates bradei*.

Nossos resultados evidenciam a presença de glândulas secretoras de óleo (elaióforos) em 17 espécies estudadas. No clado *Ornithocephalus*, Renner e Schaefer (2010) indicaram a presença de elaióforos em todas as espécies do clado, contudo a estrutura foi descrita para poucas delas - *Ornithocephalus ciliatus* Lindl., *O. gladiatus*

Hook., *Phymatidium falcifolium*, *Zygostates pustulata*, *Z. ovatipetala* (Brade) Toscano, *Z. multiflora* (Rolfe) Schltr., *Z. grandiflora*, *Z. cornuta* (erroneamente identificada como *Z. lunata*) e *Z. alleniana* (Vogel 1974, Pacek e Stpiczyńska 2007, Pacek et al. 2012; Gómiz et al. 2014).

Para *Phymatidium falcifolium*, *Z. cornuta e Z. alleniana* nossos resultados corroboram com os já realizados. Embora os autores indiquem que o calo de *P. falcifolium* compreende duas partes, salientamos aqui que o calo em *P. falcifolium* é composto de uma estrutura única coberta por tricomas glandulares secretores de óleo, acima desse calo, a estrutura observada é a tábula infraestigmática. Portanto toda a estrutura que corresponde ao calo em *P. falcifolium* é secretora. Em *Z. alleniana*, além dos tricomas do calo como já indicado por Gómiz et al. (2014), nossos testes coraram positivamente os tricomas com Sudan III, além do ápice e da margem do labelo e o ápice dos estaminódios. Além disso, o ápice dos estaminódios e do labelo indicam possuir tecido com reserva de amido. Ainda, em *Z. alleniana* e em *Z. cornuta* os tricomas do calo apresentaram grande atividade metabólica pelo teste positivo de vermelho neutro, indicando que além dessas estruturas corresponderem a elaióforos, também podem ser osmóforos.

Nas espécies investigadas aqui, a secreção de lipídios que caracterizam os elaióforos se localiza principalmente no calo do labelo; nessas espécies, os elaióforos são principalmente do tipo tricomatoso. Em *Chytroglossa marileoniae*, observamos, além do elaióforo tricomatoso no calo do labelo, elaióforos epiteliais na porção proximal do labelo.

Na maioria das espécies muitas estruturas florais, como sépalas, pétalas, labelo e às vezes o calo, tiveram reação positiva com Sudan III de menor intensidade. Neste caso, a reação positiva pode indicar somente os componentes lipídicos da cutícula que

compõe a parede celular destas estruturas. Algumas espécies como *Ornithocephalus myrticola*, *Zygostates dasyrhiza* e *Phymatidium microphyllum* não apresentaram intensidade de coloração nos três testes realizados. Hipóteses para explicar a não coloração dessas espécies e outras que não coraram com um teste ou outro, podem ser levantadas: como o tempo da flor em antese quando submetidas aos reagentes; tempo de exposição das flores ao reagente; a impossibilidade do corante em atingir o interior da secreção de tecido devido ao número muito pequeno ou ausente de estômatos e a integridade da cutícula (Wiemer et al. 2009; Gonçalves-Souza et al. 2017).

Em todas as espécies observamos forte coloração do estigma no teste com Sudan III. Clifford e Owens (1990) estudando o desenvolvimento do estigma em espécies de Oncidiinae, observaram que o estigma maduro dessas espécies é coberto por uma camada cuticular e lipídica fracamente aderida e o lipídio intra-celular está localizado nas células do tecido de transmissão do grão de pólen, o que resulta na intensa coloração desta área quando em reação ao Sudan III.

Além da evidência da presença de elaióforos, em espécies do gênero *Zygostates*, *Centroglossa greeniana, Thysanoglossa jordanensis, Phymatidium geiselii* e *P. delicatulum* detectamos reação positiva do vermelho neutro em células epidérmicas regulares, papilas e tricomas. Este resultado indica a presença de tecido secretor de compostos voláteis e está associado a ocorrência de osmóforos nas flores.

O resultado se torna um pouco mais conclusivo pelo fato de que, em todas as estruturas coradas positivamente com vermelho neutro há presença de tecido com reserva de amido. Em Oncidiinae a presença de osmóforos é relatada para poucos táxons *Capanemia* Barb.Rodr. (Buzatto et al. 2012), *Gomesa* R.Br. (Pansarin et al. 2016), *Trichopilia* Lindl. (Dressler & Pupulin 2005) e *Cohniella* Pfitzer (Kettler et al. 2019). Aparentemente, em *Thysanoglossa jordanensis* ocorrem apenas osmóforos, na

base das sépalas e pétalas e no calo do labelo. Em *Centroglossa greeniana* os osmóforos estão localizados no ápice dos estaminódios, *Zygostates aderaldoana* se localizam nos tricomas do calo e em *Z. pellucida* nas pétalas. Nos tricomas do calo de *Phymatidium geiselii, P. delicatulum, Zygostates pellucida, Z. lunata, Z. cornuta, Z. kuhlmannii, Z. bradei* e *Z. alleniana* osmóforos também foram detectados, contudo também houve reação positiva para lipídios.

Em muitos táxons, as espécies oferecem mais de uma recompensa floral, e funcionalmente parece estar associada a atração de polinizadores a curta e longa distância e a uma maior abrangência de visitantes florais (Kettler et al. 2019). Não obstante, estudos anatômicos e ultraestruturais nos tecidos de todas as espécies analisadas são necessários para confirmar se correspondem há presença de osmóforos e se as espécies que não reagiram ao vermelho neutro também não apresentam liberação de compostos voláteis, como observado por Gonçalves-Souza et al. (2017), que detectaram a presença de osmóforos nos estames de *Philodendron adamantinum* Mart. ex. Schott pelas características ultraestruturais do tecido, já que o resultado com vermelho neutro pareceu ineficiente.

Observações de agentes polinizadores no clado são escassas. van der Pijl & Dodson (1969) relataram visitas de abelhas *Paratetrapedia* Moure, 1941 no gênero *Ornithocephalus*. Gomiz et al. (2014) indicaram *Lophopedia nigrispinis* Vachal, 1909 como o agente polinizador de *Z. alleniana*, onde os óleos florais coletados seriam misturados ao poléns de outras flores e utilizados como constituintes de alimentos para suas larvas.

Referências

Buzzato C.R., K.L. Davies, R.B. Singer, R.P. Santos & C. van den Berg. 2012. A comparative survey of floral characters in *Capanemia* Barb.Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae). *Annals of Botany* 109: 135-144.

Chase M.W. & A.L.V. Toscano de Brito. 2009. *Zygostates*. In: A.M. Pridgeon; P.J. Cribb; M.W. Chase; F. Rasmussen. (Org.). Genera Orchidacearum: Epidendroideae (Part 2), 1 ed. New York: Oxford University Press Inc., vol. 5, pp. 391-394

Chase M.W., K.M. Cameron, R.L. Barrett & J.V. Freudenstein. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. In *Orchid conservation*, ed. K. W. Dixon, S. P. Kell, R. L. Barrett, and P. J. Cribb. Borneo: Natural History Classification, Kota Kinabalu, Sabah.

Chase M.W, K.M. Cameron, J.V. Freudenstein, A.M. Pridgeon, G. Salazar, C. van den Berg & A. Schuiteman. 2015. An uptaded classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177: 151-174.

Clifford S.C. & S.J. Owens. 1990. The stigma, style and ovarian transmitting tract in the Oncidiinae (Orchidaceae): morphology, developmental anatomy and histochemistry. *Botanical Gazette* 15(4):440-451.

Cribb P.J. & M.W. Chase. 2005. Epidendroideae. *In* Pridgeon, A.M; Cribb, P.J.; Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. *Genera Orchidacearum.* Vol. 4. Epidendroideae (Part One). Oxford University Press, Oxford, pp. 3.

Dressler R.L. & F. Pupulin. 2005. Some problems in *Trichopilia* (Orchidaceae: Oncidiinae) with two new species of modest flower size. *Havard Papers in Botany* 10: 89-93.

Francisco A., M. Porto & L. Ascenção. 2015. Morphological phylogenetic analysis of *Ophrys* (Orchidaceae): insights from morpho-anatomical floral traits into the interspecific relationspships in an unresolved clade. *Botanical Journal of the Linnean Society* 179: 454-476.

Freudenstein J.V. & M.W. Chase. 2015. Phylogenetic relationships in Epidendroideae (Orchidaceae), one of the great flowering plant radiations: progressive specialization and diversification. *Annals of Botany* 115 (4): 665-681.

Gómiz N.E., J.P. Torretta & S.S. Aliscioni. 2014. *Zygostates alleniana* (Orchidaceae: Epidendroideae: Cymbidieae: Oncidiinae): estructura floral relacionada con la polinización. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 71(1): 18-26

Gonçalves-Souza P., Schlindwein C., Dötterl, S. & Paiva, E.A.S. 2017. Unveiling the osmophores of *Philodendron adamantinum* (Araceae) as a means to understanding interactions with pollinators. *Annals of Botany* 119: 533-543.

Jensen W.A. 1962. *Botanical microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Company.

Johansen D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Company.

Karnovsky M.J. 1965. A formaldehyde–glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27, 137A–138A.

Kettler B.A., S.M. Solís & M.S. Ferrucci. 2019. Comparative survey of secretory structures and floral anatomy of *Cohniella cepula* and *Cohniella jonesiana* (Orchidaceae: Oncidiinae). New evidences of nectaries and osmophores in the genus. *Protoplasma* 256: 703-720.

Kong H.Z. 2001. Comparative morphology of leaf epidermis in the Chloranthaceae. *Botanical Journal of Linnean Society* 136: 279- 294.

Neubig K.M., W.M. Whitten, N.H. Williams, M.A. Blanco, L. Endara, J.G. Burleigh, K. Silvera, J.C. Cushman & M.W. Chase. 2012. Generic recircumscriptions of Oncidiinae (Orchidaceae: Cymbidieae) based on maximum likelihood analysis of combined DNA datasets. *Botanical Journal of the Linnean Society* 168: 117-146.

Nunes E.L., E.C. Smidt, T. Stützel & A.I. Coan. 2014. What do floral anatomy and micromorphology tell us about Neotropical *Bulbophyllum* section *Didactyle* (Orchidaceae: Bulbophyllinae)? *Botanical Journal of the Linnean Society* 175: 438-452.

Nunes E.L., E.C. Smidt, T. Stützel & A.I. Coan. 2015. Comparative floral micromorphology and anatomy of species of *Bulbophyllum* section *Napelli* (Orchidaceae), a Neotropical section widely distributed in forest habitats. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177: 378-394.

Nunes E.L., P.E. Maldonado, E.C. Smidt, T. Stützel & A.I. Coan. Floral micromorphology and anatomy and its systematic application to Neotropical *Bulbophyllum* section *Micranthae* (Orchidaceae). 2017. *Botanical Journal of the Linnean Society* 183: 294-315.

O'Brien T.P & M.E. McCully. 1981. *The study of plant structure: principles and selected methods*. Melbourne: Termarcarphi Pty. Ltd.

Pacek A. & M. Stpiczyńska. 2007. The structure of elaiophores in *Oncidium cheirophorum* Rchb. f. and *Ornithocephalus kruegeri* Rchb. f. (Orchidaceae). *Acta Agrobotanica* 60: 9-14.

Pacek, A., M. Stpiczyńska, K.L. Davies & G. Szymczak. 2012. Floral elaiophore structure in four representatives of the *Ornithocephalus* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). *Annals of Botany* 110: 809-820.

Pansarin E.R., I. Alves Dos Santos & L.M. Pansarin. 2016. Comparative reproductive biology and pollinator specificity among sympatric *Gomesa* (Orchidaceae: Oncidiinae). *Plant Biology* 19:147–155.

Pridgeon A.M. 1982. Diagnostic characters in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 69: 921–938.

Reis M.G., R.B. Singer, R. Goncalves & A.J. Marsaioli. 2006. The chemical composition of *Phymatidium delicatulum* and *P. tillandsioides* (Orchidaceae) floral oils. *Natural Product Communications* 1: 757-761.

Renner S.S. & H. Schaefer 2010. The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 365: 423-435.

Royer C.A., A.L.V. Toscano De Brito & E.C. Smidt. 2017. O gênero *Zygostates* (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná, Brasil. *Rodriguésia* 68(4): 1431-1446.

Smidt E.C., L.W. Gallo & V.L. Scatena. 2013. Leaf anatomical and molecular studies in *Bulbophyllum* section *Micranthae* (Orchidaceae) and their implications for systematics. *Brasilian Journal of Botany* 36: 75-82.

Smidt, E.C., A.L.V. Toscano de Brito, A.C. Martins, C.A. Royer, W.M. Whitten, M.W. Chase. 2018. Phylogenetics, biogeography and character evolution in the *Ornithocephalus* clade (Orchidaceae, Oncidiinae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 188, 339–354

Stern, W.L., K.J. Curry & W.M. Whitten. 1986. Staining fragrance glands in orchid flowers. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 113 (3): 288-297.

Stern W.L. & B.S. Carlsward. 2006. Comparative vegetative anatomy and systematics of the Oncidiinae (Maxillarieae, Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 152: 91-107.

Toscano de Brito A.L.V. 1994. *Systematic studies in the subtribe Ornithocephalinae (Orchidaceae).* Tese de Doutorado. Universidade de Reading e Royal Botanic Gardens, Kew, p. 652, 1994.

Toscano de Brito A.L.V. 2001. Systematic review of the *Ornithocephalus* group (Oncidiinae: Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella. Lindleyana* 16: 157-217.

Toscano de Brito A.L.V. 2007. A taxonomic revision of the genus *Phymatidium* (Orchidaceae: Oncidiinae). *Kew Bulletin* 62: 529-560.

Wiemer A.P., M. Moré, S. Benitez-Vieyra, A.A. Cocucci, R.A. Raguso & A.N. Sérsic. 2009. A simple floral fragrance and unusual osmophore structure in *Cyclopogon elatus* (Orchidaceae). *Plant Biology* 11: 506-514.

Williams N.H., M.W. Chase, T. Fulcher & W.M. Whitten. 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: 113-139.

van der Pijl L. & C.H. Dodson. 1969. Orchid flowers; their pollination and evolution. University Miami Press, Coral Gables.

Vogel S. 1974. Ölblumen und ölsammelnde Bienen. *Abhandlungen Akademie Wissenschaften Mathematisch-Naturwissenschaften Klasse Tropische und Subtropische Pflanzenwelt* 7: 1–267.

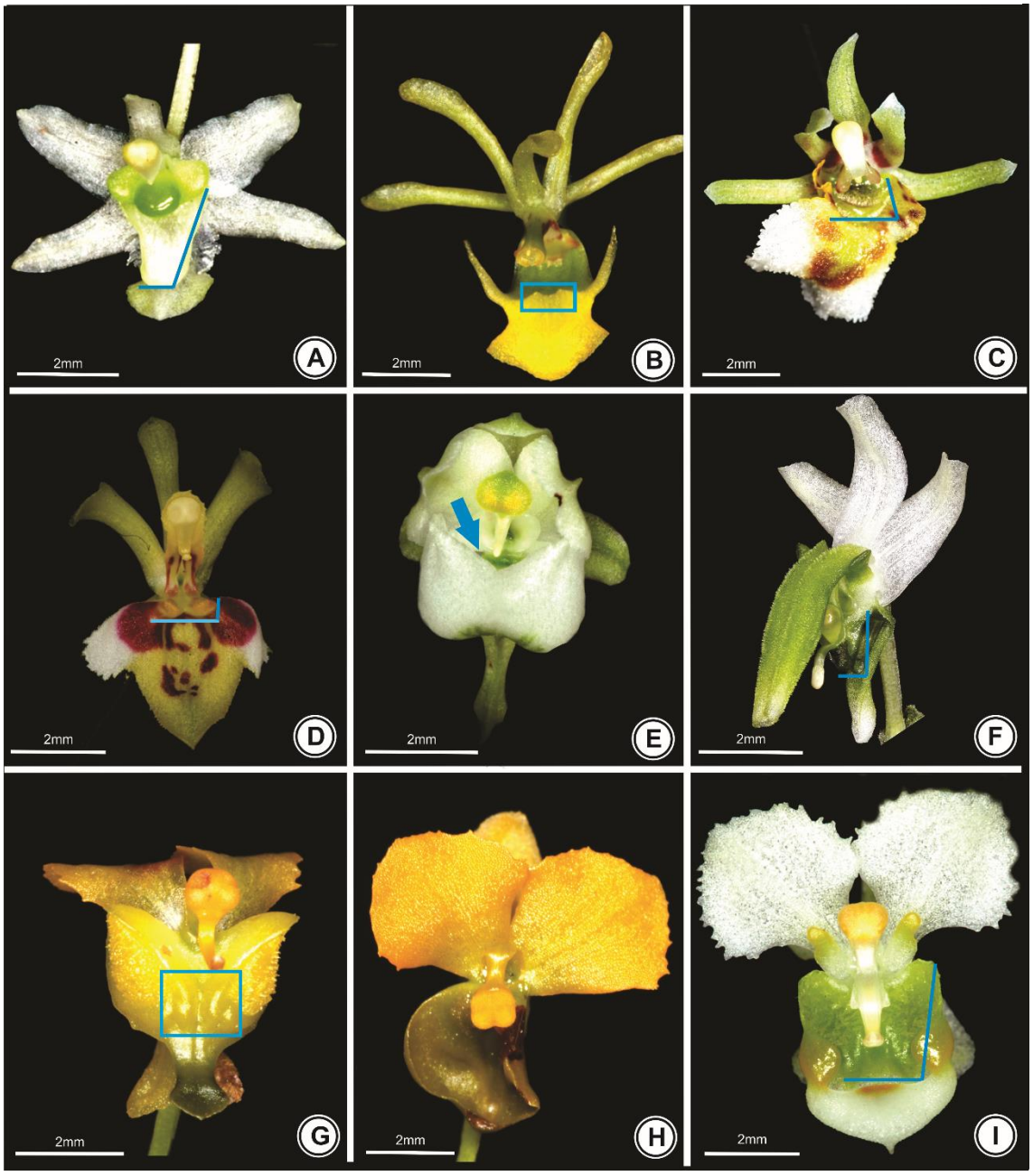


Figura 1 – Diferenças morfológicas encontradas em *Zygostates* e gêneros afins, com destaque para o calo do labelo (quando presente). A- *Phymatidium falcifolium*; B- *Platyrhiza quadricolor;* C- *Rauhiella seewaherii;* D- *Chytroglossa marileoniae;* E- *Centroglossa greeniana;* F- *Zygostates pellucida;* G- *Zygostates kuhlmannii;* H- *Zygostates aderaldoana;* I- *Zygostates alleniana.*

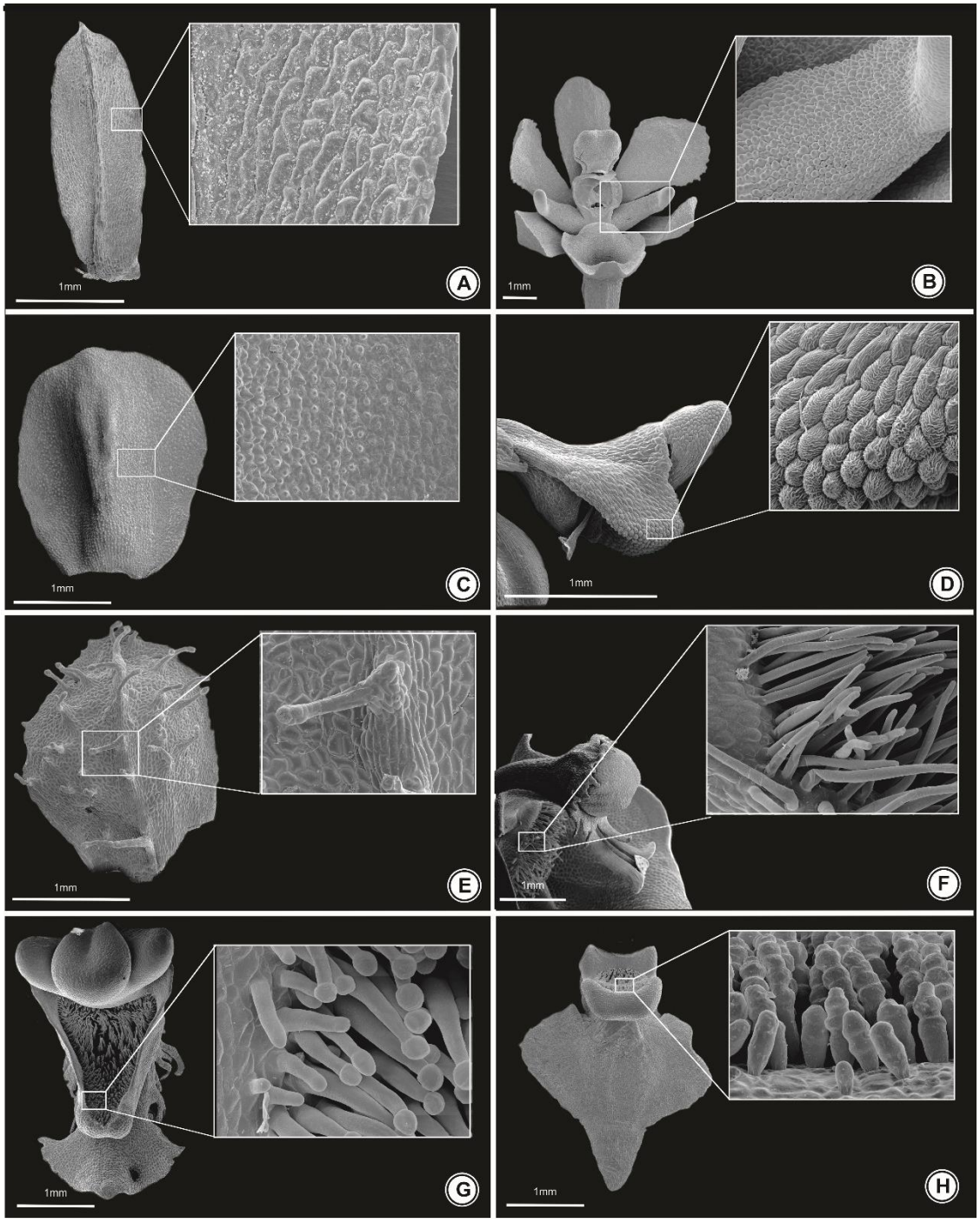


Figura 2 – Diferenças formas da parede periclinal externa encontradas em *Zygostates* e gêneros afins. A- Sépala dorsal de *Zygostates alleniana* –convexa; B- Estaminódios de *Centroglossa castellensis* – papilas; C- Pétala de *Zygostates bradei* –papilas centrais; D- Aurículas de *Phymatidium microphyllum* – papilas estriadas; E- Sépala lateral de *Ornithocephalus myrticola* – tricoma; F- Calo labelar de *Zygostates dasyrhiza* – tricomas unicelulares; G- Calo labelar de *Phymatidium falcifolium* –tricomas capitados; H- Calo labelar de *Phymatidium hysteranthum* – tricomas segmentados.

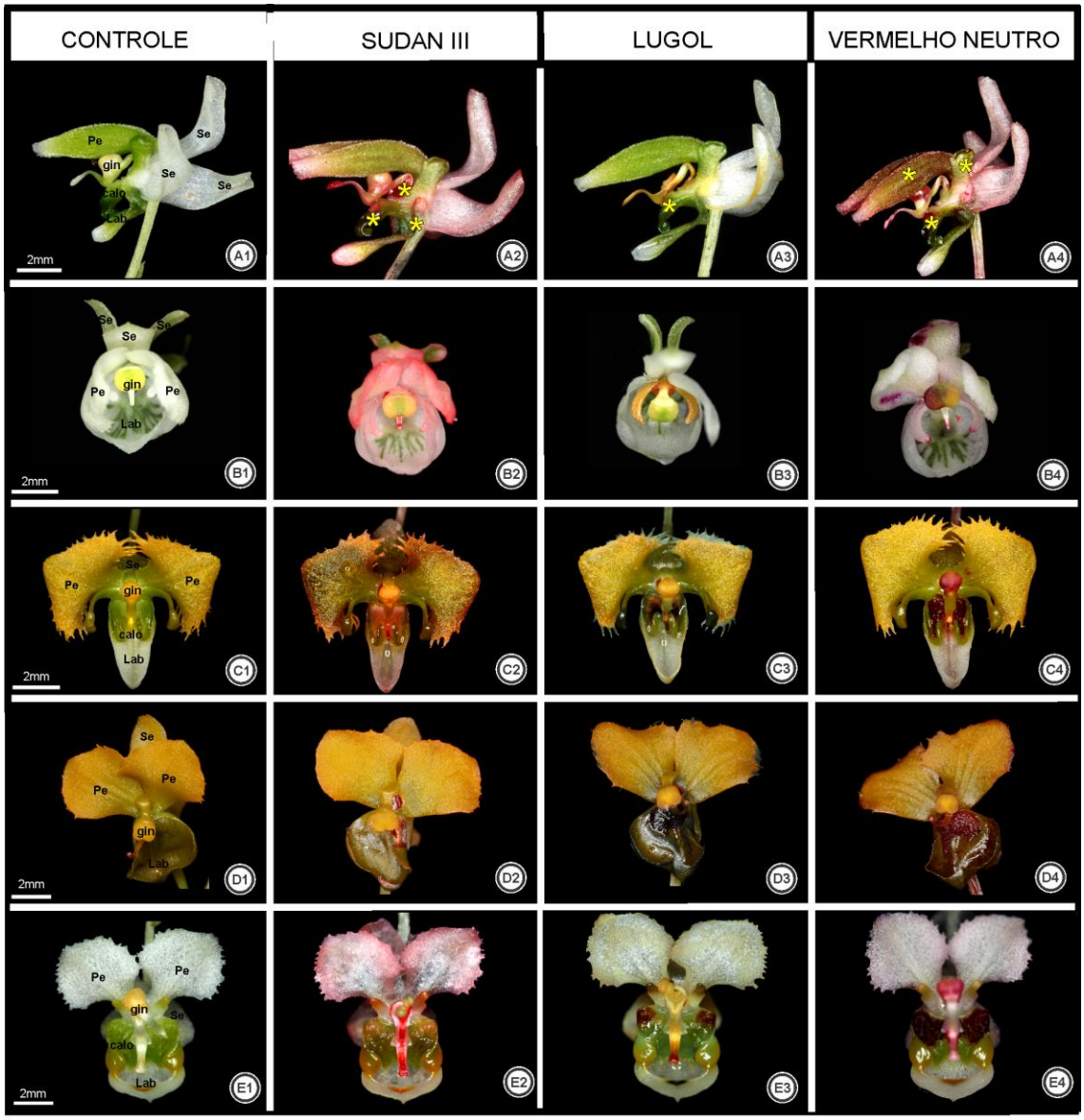


Figura 3 – Análises histoquímica de *Zygostates*. A1-A4 *Zygostates pellucida*; B1-B4 *Centroglossa greeniana*; C1-C4 *Z. cornuta*; D1-D4 *Z. aderaldoana*; E1-E4 *Z. alleniana*. Legenda: Se= sépala; Pe= pétala, Lab= labelo; calo= calo do labelo; gin= ginostêmio.

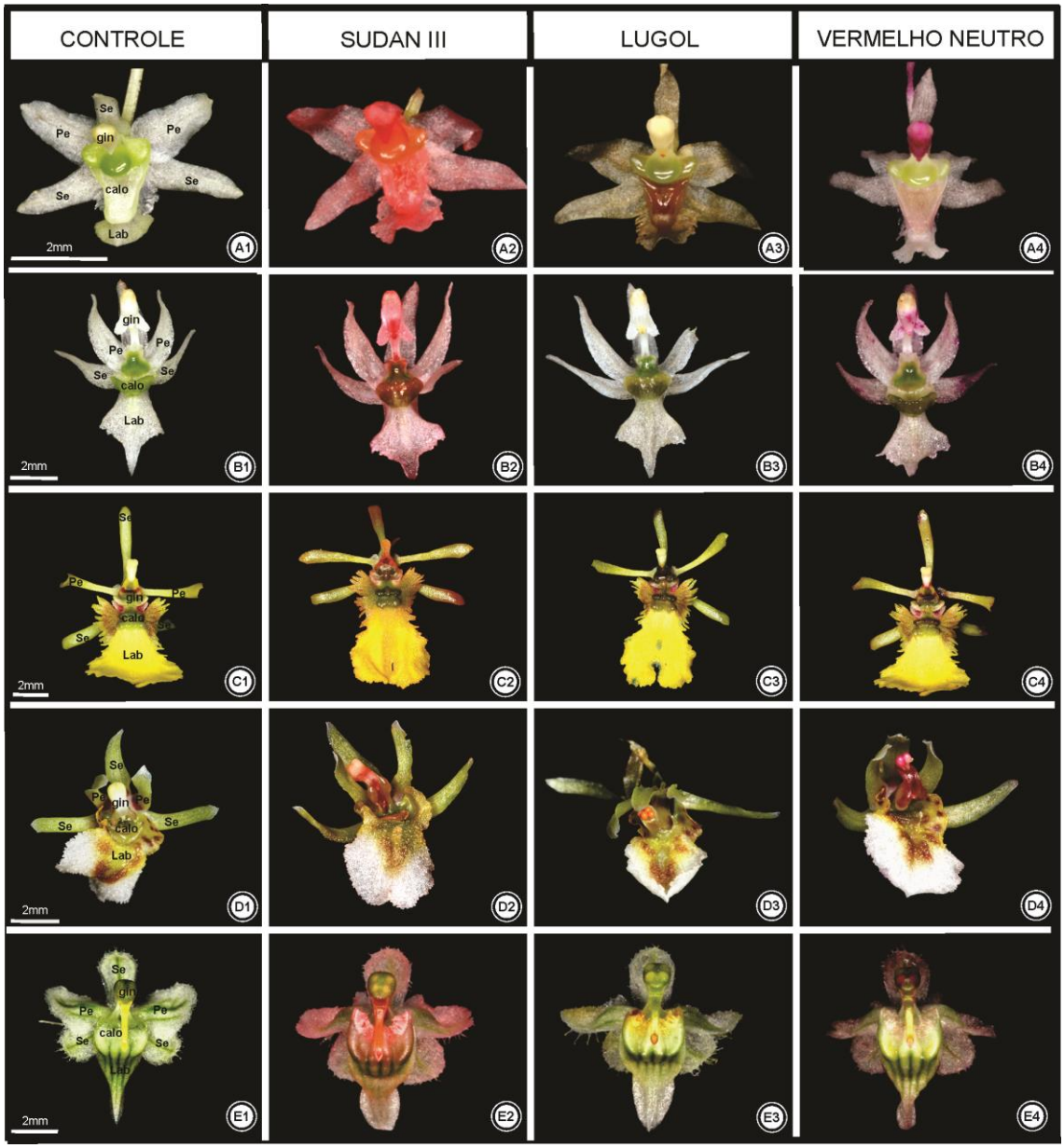


Figura 4 – Análise histoquímica dos gêneros afins à *Zygostates*. A1-A4 *Phymatidium falcifolium*; B1-B4 *Phymatidium geisellii*; C1-C4 *Thysanoglossa jordanensis*; D1-D4 *Rauhiella seehawerii;* E1-E4 *Ornithocephalus myrticola.* Legenda: Se= sépala; Pe= pétala, Lab= labelo; calo= calo do labelo; gin= ginostêmio.

Tabela 1 – Espécies, vouchers e análises realizadas

Espécie	Material testemunha	MEV	Histoquímica
Phymatidium falcifolium Lindl.	Royer, C.A. 26 (Telêmaco Borba, Paraná - UPCB); Royer, C.A. & Imig, D.C. 78 (Quatro Barras, Paraná – UPCB)	X	X
Phymatidium geiselii Ruschi	Royer, C.A. & Bolson, M. 89 (Itatiaia, Rio de Janeiro - UPCB)	X	X
Phymatidium hysteranthum Barb.Rodr.	Bolson, M. 529 (Quatro Barras, Paraná - UPCB); Royer, C.A. & Bolson, M. 44 (Itatiaia, Rio de Janeiro - UPCB)	X	
Phymatidium microphyllum var. *herteri* Schltr.	Royer, C.A. & Matos, F.B. 110 (Urubici, Santa Catarina - UPCB)	X	X
Phymatidium microphyllum Barb.Rodr.	Royer, C.A. et al. 59 (Tijucas do Sul, Paraná - UPCB)	X	X
Phymatidium aquinoi Schltr.	Royer, C.A. & Imig, D.C. 80 (Quatro Barras, Paraná - UPCB); Royer, C.A. et al. 166 (Castelo, Espírito Santo – UPCB); Santos, T.F. 174 (Morretes, Paraná – UPCB)	X	X
Phymatidium delicatulum Lindl.	Royer, C.A. & Imig, D.C. 81 (Pontal do Paraná, Paraná – UPCB);	X	X
Phymatidium delicatulum var. *curvisepalum* Toscano	Royer, C.A. et al. 43 (Piraquara, Paraná - UPCB)	X	
Platyrhiza quadricolor Barb.Rodr.	Royer, C.A. 39 (Cultivada em Orquidário - UPCB)	X	
Thysanoglossa jordanensis Porto e Brade	Klingelfuss, M. 276 (Cultivada em Orquidário - UPCB);		X
Chytroglossa marileoniae Rchb.f.	Royer, C.A. 55 (Cultivada em Orquidário - UPCB)	X	X
Rauhiella seehaweri (I.Bock) Toscanos & Christenson	Klingelfuss, M. 273 (Cultivada em Orquidário – UPCB)		X
Rauhiella silvana Toscano	Toscano de Brito, A.L.V. 3532 (Pico das Almas, Bahia)	X	
Ornithocephalus biloborostratus Salazar & R.González	Jardim Botânico de Munique, 2010/2536W	X	
Ornithocephalus bryostachyus Schltr.	Instituto de Botânica, Universidade de Viena ORCH090225/0006245 (Cultivada)	X	
Ornithocephalus myrticola Lindl.	Royer, C.A. & Imig, D.C. 114 (Benedito Novo, Santa Catarina - UPCB); Smidt, E.C. sn (Sem procedência – UPCB)	X	X
Zygostates dasyrhiza (Kraenzl.) Schltr.	Royer, C.A. & Imig, D.C. 90 (Tijucas do Sul, Paraná – UPCB); Royer, C.A. 109 (Monte Castelo, Santa Catarina – UPCB)	X	X
Zygostates grandiflora (Lindl.) Mansf.	Royer, C.A. 68 & Toscano 3466 (Cultivada em Orquidário - UPCB)	X	
Zygostates pellucida Rchb.f.	Royer, C.A. 84 (Mariacá, Rio de Janeiro - UPCB) Royer, C.A. 168 (Santa Catarina – UPCB)	X	X
Zygostates pustulata (Kraenzl.) Schltr.	Royer, C.A. 172 (Cultivada em Orquidário - UPCB)		X
Centroglossa greeniana (Rchb.f.) Cogn.	Royer, C.A. & Matos, F.B. 154 (Teresópolis, Rio de Janeiro - UPCB)	X	X
Centroglossa tripollinica (Barb.Rodr.) Barb.Rodr.	Royer, C.A. 135 (Cultivada em Orquidário - UPCB)	X	
Centroglossa castellensis Brade	Fontani, L. & Frey, M. sn (Sem localidade, Espirito Santo)	X	
Zygostates cornuta Lindl.	Royer, C.A. 97 (Camacan, Bahia - UPCB); Royer, C.A. 112 (Camacan, Bahia - UPCB)	X	X
Zygostates lunata Lindl.	Toscano, A.L.V. 3336 (Sem procedência - UPCB); Jardim Botânico de Munique 93/2164; Klingelfuss, M. 231 (Sem procedência – UPCB)	X	X
Zygostates alleniana Kraenzl.	Royer, C.A. 54 (Cultivada em Orquidário - UPCB); Royer, C.A. 56 (Cultivada em Orquidário - UPCB);	X	X
Zygostates kuhlmannii Brade	Royer, C.A. 57 (Cultivada em Orquidário - UPCB), Félix, L.P. 14577 (Sem procedência – UPCB)	X	X
Zygostates obliqua (Schnee) Toscano	Jardim Botânico de Munique, 95/3121	X	
Zygostates densiflora (Senghas) Baptista	Jardim Botânico de Munique, XI/1248	X	
Zygostates nectarifera (Senghas) Toscano	Jardim Botânico de Munique, 2013/0222	X	
Zygostates aderaldoana Toscano, L.P. Felix & Dornelas	Royer, C.A. et al. 159 (Areia, Paraíba - UPCB)	X	X
Zygostates linearisepala (Senghas) Toscano	Kautsky, R. 1064 (Sem procedência)	X	
Zygostates bradei (Schltr.) Garay	Royer, C.A. 58 (Cultivada em Orquidário - UPCB)	X	X

Tabela 2 – Resultados dos testes histoquímicos com vermelho Neutro, Lugol e Sudan III, para as espécies de *Zygostates* e outros gêneros do clado *Ornithocephalus*. Legenda: palavras em negrito = coloração positiva intensa. *possível autapomorfia para o gênero. **possível autapomorfia para o clado.

Espécies	Sudan III	Lugol	Vermelho neutro
Phymatidium falcifolium	Epiderme de sépalas, pétalas, labelo e ginostêmio. **Calo do labelo e tricomas.**	Epiderme de sépalas, pétalas, labelo e ginostêmio*. **Tricomas do calo**	**Antera**
P. geisellii	Epiderme de sépalas, pétalas, labelo. **Viscidio, aurículas, antera, estigma, tábula infraestigmatica, calo do labelo e tricomas.**	**Calo do labelo e tricomas.**	**Tricomas do calo.**
P. microphyllum var. herteri	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Viscidio, aurículas, antera, estigma, tábula infraestigmatica, calo do labelo e tricomas.**	**Viscidio, calo do labelo e tricomas**.	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo*. **Borda do estigma e viscidio.**
P. microphyllum	Epiderme de sépalas, pétalas, labelo, calo do labelo e tricomas. **Viscidio, estigma, calo do labelo e tricomas.**	**Viscidio, calo do labelo e tricomas.**	Viscidio.
P. aquinoi	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Viscídio, aurículas, antera, estigma, calo do labelo e tricomas.**	**Viscidio, aurículas*, rostelo*, estigma*, calo do labelo e tricomas.**	-
P. delicatulum	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Viscídio, aurículas, antera, estigma, calo do labelo e tricomas.**	**Tricomas do calo.**	**Antera, estigma e tricomas do calo.**
Thysanoglossa jordanensis	**Aurículas, viscídio e tábula infraestigmatica**.	**Base das sépalas e pétalas, viscidio, aurículas, estigma, tábula infraestigmática** e calo do labelo**.	**Base das sépalas e pétalas, viscidio, estigma e calo do labelo.**
Chytroglossa marileoniae	**Estigma, porção proximal do labelo e calo do labelo e tricomas**	**Tricomas do calo.**	Cuticula das polinias.
Rauhiella seewaheri	**Viscídio, aurículas, antera, estigma e tricomas do calo.**	Cutícula das polinias.	Cutícula das polinias.
Ornithocephalus myrticola	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Rostelo, estigma e tricomas do calo.**	Viscídio e tricomas do calo.	Epiderme de sépalas, pétalas, labelo e tricomas do calo.
Zygostates pellucida	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Viscidio, rostelo, estigma, tricomas do calo e margem do labelo*.**	**Rostelo, estigma e tricomas do calo**	Epiderme das sépalas. **Pétalas, rostelo, antera, estaminódios e tricomas do calo.**
Z. pustulata	Epiderme do Labelo. **Viscídio, rostelo, antera. estigma e tricomas do calo.**	**Viscídio, rostelo, antera, labelo, calo do labelo e tricomas.**	-
Centroglossa greeniana	Epiderme de sépalas, pétalas e estamimódios. **Viscídio e estigma**	**Estaminódios e estigma.**	**Ápice do rostelo e dos estaminódios.**
Z. dasyrhiza	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo e tricomas do calo. **Rostelo, estigma e estaminódios.**	Tricomas do calo. **Viscidio e rostelo.**	**Rostelo**
Z. lunata	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Rostelo, estigma e tricomas do calo.**	Margem das pétalas e do labelo. **Viscidio, rostelo, estigma, ápice dos estaminódios e tricomas do calo.**	**Antera e tricomas do calo.**
Z. cornuta	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Viscídio, rostelo, estigma e tricomas do calo.**	Margem das pétalas e do labelo. **Viscidio, estigma e tricomas do calo.**	**Antera e tricomas do calo.**
Z. kuhlmannii	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Rostelo, estigma e tricomas do labelo.**	**Viscidio e tricomas do labelo.**	Epiderme de sépalas e pétalas **Estigma e tricomas do labelo.**
Z. aderaldoana	Epiderme dos tricomas do labelo. **Viscídio, rostelo e estigma**	Margem das pétalas e do labelo. **Viscídio, rostelo, estigma e tricomas do labelo.**	**Viscídio, rostelo, labelo e tricomas.**
Z. bradei	Margem das sépalas, Epiderme das pétalas e labelo. **Rostelo, estigma e tricomas do calo.**	**Tricomas do calo**	**Rostelo, estigma e calo tricomas.**
Z. alleniana	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Viscídio, rostelo, ápice dos estaminódios, estigma e tricomas do calo**	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Viscídio, rostelo, ápice dos estaminódios, estigma, tricomas do calo e ápice do labelo****	Epiderme de sépalas, pétalas e labelo. **Rostelo, antera e tricomas do calo.**

Tabela 3- Características micromorfológicas observadas no gênero *Zygostates*. Legendas: Gn= ginostêmio, ES= estaminódio, ppx= parede periclinal externa, uni= unicelular, pluri= pluricelular, seg= segmentado, cap= capitado, NA= não se aplica, - = não analisado.

Peça floral	**Local**	**Característica**	*Z. aderaldoana*	*Z. alleniana*	*Z. bradei*	*Z. cornuta*	*Z. dasyrhiza*	*Z. densiflora*	*Z. grandiflora*	*Z. kuhlmannii*	*Z. linearisepala*	*Z. lunata*	*Z. nectarifera*	*Z. obliqua*	*Z. pellucida*
Sépala Dorsal	Abaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	-	-	-	-	presente
	Adaxial	Forma pwe	-	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	-	ausente	presente	ausente	ausente	presente	ausente	ausente	-	ausente	presente	presente	ausente
Sépala Lateral	Abaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	-	presente	presente	-	presente
	Adaxial	Forma pwe	-	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	-	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	-	-	ausente	ausente	ausente
Pétala	Abaxial	Forma ppx	-	convexa	papilas	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	papilas
		estômato	-	presente	ausente	presente	presente	presente	presente	presente	ausente	presente	presente	presente	ausente
	Adaxial	Forma ppx	convexa	convexa	papilas	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	ausente	presente	ausente	presente	ausente	ausente	presente	presente	ausente	ausente
Labelo	Abaxial Porção proximal	Forma pp	-	convexa	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	-	convexa	convexa	-	papilas
	Abaxial Porção distal	Forma ppx	-	convexa	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	-	convexa	convexa	-	papilas
		estômato	-	ausente	ausente	presente	presente	-	ausente	ausente	-	-	-	-	presente
	Adaxial Porção proximal	Forma pp	tricomas	NA	convexa	NA	convexa	tricomas	convexa	tricomas	convexa	convexa	tricomas	tricomas	convexa
	Adaxial Porção distal	Forma ppx	convexa	convexa	papilas	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	papilas
		Estômato	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Calo	Porção proximal	Forma ppx	NA	tricomas uni	tricomas cap	tricomas uni	tricomas uni	convexa	tricomas uni	convexa	tricomas uni	tricomas uni	convexa	NA	tricomas uni
	Porção distal	Forma ppx	NA	tricomas uni	convexa	convexa	tricomas uni	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	NA	convexa
Gn	ES	Forma ppx	NA	convexa	papila central	convexa	convexa	NA	convexa	NA	convexa	convexa	NA	NA	convexa
	Estigma	Forma	ovado	ovado		ovado	ovado	ovado	ovado	alongado	ovado	ovado	-	ovado	ovado
	Rostelo	Tamanho	longo	longo	longo	longo	longo	longo	longo	longo	longo	longo	longo	longo	longo

Tabela 4- Características micromorfológicas observadas no gênero *Centroglossa.* Legendas: Gn= ginostêmio, ES= estaminódio, ppx= parede periclinal externa, uni= unicelular, pluri= pluricelular, seg= segmentado, cap= capitado, NA= não se aplica, - = não analisado.

Peça floral	**Local**	**Característica**	***Centroglossa castellensis***	***Centroglossa greeniana***	***Centroglossa tripollinica***
Sépala	Abaxial	Forma ppx	-	convexa	-
		estômato	-	presente	-
	Adaxial	Forma ppx	convexa	-	convexa
		estômato	ausente	-	ausente
Sépala	Abaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	presente	presente
	Adaxial	Forma ppx	convexa	convexa	-
		estômato	ausente	ausente	-
Pétala	Abaxial	Forma ppx	convexa	convexa	-
		estômato	ausente	presente	-
	Adaxial	Forma pp	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	presente	ausente
Labelo	Abaxial Porção proximal	Forma ppx	papilas	-	-
	Abaxial Porção distal	Forma ppx	convexa	-	-
		estômato	ausente	-	-
	Adaxial Porção proximal	Forma ppx	tricomas	convexa	tricomas
	Adaxial Porção distal	Forma ppx	tricomas	tricomas	tricomas
		Estômato	ausente	ausente	ausente
Calo	Porção proximal	Forma ppx	papilas	convexa	Tricomas uni
	Porção distal	Forma ppx	papilas	convexa	Tricomas uni
Gn	ES	Forma ppx	papilas	convexa	papilas
	Estigma	Forma	ovado	ovado	ovado
	Rostelo	Tamanho	longo	longo	longo

Tabela 5- Características micromorfológicas observadas no gênero *Phymatidium*. Legendas: Gn= ginostêmio, ES= estaminódio, ppx= parede periclinal externa, uni= unicelular, pluri= pluricelular, seg= segmentado, cap= capitado, NA= não se aplica, - = não analisado.

Peça floral	**Local**	**Característica**	*P. aquinoi*	*P. delicatulum*	*P. deli. curvisepalum*	*P. falcifolium*	*P. geiselii*	*P. hysteranthum*	*P. microphyllum*	*P. micro. herteri*
Sépala dorsal	Abaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		Estômato	ausente	ausente	ausente	presente	ausente	ausente	ausente	presente
	Adaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	-	ausente	ausente	ausente	ausente
Sépala Lateral	Abaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	presente	ausente	ausente	ausente	ausente
	Adaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Pétala	Abaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	presente	ausente	ausente	ausente	ausente
	Adaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Labelo	Abaxial Porção proximal	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	convexa	-
	Abaxial Porção distal	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	-	convexa	convexa	convexa	-
		estômato	ausente	ausente	ausente	-	ausente	ausente	ausente	-
	Adaxial Porção proximal	Forma ppx	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Adaxial Porção distal	Forma ppx	convexa	papilas	papilas	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Calo	Porção proximal	Forma ppx	tricomas seg	tricomas seg	tricomas seg	tricomas cap	tricomas seg	tricomas seg	tricomas uni	convexa
	Porção distal	Forma ppx	convexa	tricomas seg	convexa	tricomas cap	convexa	tricomas seg	tricomas uni	tricomas seg
Gn	auriculas	Forma ppx	convexa	tricomas, estriada	Tricomas, estriada	NA	Tricomas, estriada	Convexa, estriada	Papilas, estriada	convexa
	tábula	Forma ppx	NA	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	papilas
	Es	Forma ppx	NA	convexa	convexa	convexa	convexa	NA	convexa	convexa
	Estigma	Forma	ovado	alongado	alongado	-	alongado	alongado	-	alongado
	Rostelo	Tamanho	longo	curto	curto	curto	curto	curto	curto	curto

Tabela 6- Características micromorfológicas observadas no gênero *Ornithocephalus*, *Chytroglossa*, *Platythiza* e *Rauhiella*. Legendas: Gn= ginostêmio, ES= estaminódio, ppx= parede periclinal externa, uni= unicelular, pluri= pluricelular, seg= segmentado, cap= capitado, NA= não se aplica, - = não analisado.

Peça floral	**Local**	**Característica**	*C. marileoniae*	*O. biloborostratus*	*O. bryostachyus*	*O. myrticola*	*P. quadricolor.*	*R. silvana*
Sépala dorsal	Abaxial	Forma ppx	-	convexa	tricomas pluri	tricomas pluri	convexa	-
		Estômato	-	presente	ausente	ausente	-	-
	Adaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Sépala Lateral	Abaxial	Forma ppx	-	convexa	tricomas pluri	tricomas pluri	convexa	convexa
		estômato	-	presente	ausente	presente	presente	presente
	Adaxial	Forma ppx	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Pétala	Abaxial	Forma ppx	convexa	convexa	tricomas pluri	tricomas pluri	convexa	convexa
		estômato	presente	ausente	ausente	ausente	-	presente
	Adaxial	Forma ppx	-	convexa	convexa	convexa	convexa	convexa
		estômato	-	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Labelo	Abaxial Porção proximal	Forma ppx	papilas	convexa	tricomas pluri	tricomas pluri	convexa	-
	Abaxial Porção distal	Forma ppx	convexa	convexa	tricomas pluri	tricomas pluri	convexa	-
		estômato	presente	-	-	-	-	-
	Adaxial Porção proximal	Forma ppx	papilas	tricomas	NA	NA	convexa	tricomas
	Adaxial Porção distal	Forma ppx	convexa	convexa	papilas	convexa	convexa	tricomas
		estômato	presente	presente	ausente	ausente	ausente	ausente
Calo	Porção proximal	Forma ppx	tricomas uni	convexa	tricomas uni	tricomas seg	convexa	tricomas cap
	Porção distal	Forma ppx	tricomas uni	convexa	convexa	convexa	convexa	tricomas cap
Gn	auriculas	Forma ppx	papilas	NA	NA	NA	convexa	convexa
	tábula	Forma ppx	NA	NA	NA	NA	tricomas	NA
	Es	Forma ppx	NA	NA	NA	NA	NA	convexa
	Estigma	Forma	alongado	-	alongado	alongado	alongado	-
	Rostelo	Tamanho	curto	longo	longo	longo	curto	curto

Tabela 7 – Caracteres e estados de caráter micromorfológicos observados em *Zygostates* e nos gêneros afins.

1. Sépala dorsal, face abaxial, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Tricoma.
2. Sépala dorsal, face abaxial, estômatos: (0) Ausente; (1) Presente.
3. Sépala dorsal, face adaxial, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
4. Sépala dorsal, face adaxial, estômatos: (0) Ausente; (1) Presente.
5. Sépala lateral, face abaxial, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
6. Sépala lateral, face abaxial, estômatos: (0) Ausente; (1) Presente.
7. Sépala lateral, face adaxial, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
8. Sépala lateral, face adaxial, estômatos: (0) Ausente; (1) Presente.
9. Pétala, face abaxial, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
10. Pétala, face abaxial, estômatos: (0) Ausente; (1) Presente.
11. Pétala, face adaxial, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
12. Pétala, face adaxial, estômatos: (0) Ausente; (1) Presente.
13. Labelo, face abaxial, porção proximal, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
14. Labelo, face abaxial, porção distal, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
15. Labelo, face abaxial, estômatos: (0) Ausente; (1) Presente.
16. Labelo, face adaxial, porção proximal, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma unicelular; (3) Tricoma pluricelular.
17. Labelo, face adaxial, porção distal, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
18. Labelo, face adaxial, estômatos: (0) Ausente; (1) Presente.
19. Labelo, calo, porção proximal, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma unicelular; (3) Tricoma capitado; (4) Tricoma segmentado.
20. Labelo, calo, porção distal, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma unicelular; (3) Tricoma capitado; (4) Tricoma segmentado.
21. Ginostêmio, aurícula, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
22. Ginostêmio, aurícula, superfície da parede periclinal externa: (0) Lisa; (1) Estriada.
23. Ginostêmio, tábula infraestigmática, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
24. Ginostêmio, estaminódios, forma da parede periclinal externa: (0) Convexa; (1) Papila; (2) Tricoma.
25. Ginostêmio, estigma, forma: (0) Ovado; (1) Alongado.
26. Ginostêmio, rostelo, tamanho: (0) Menor que ginostêmio; (1) Maior que ginostêmio.

Tabela 8 – Matriz dos caracteres micromorfológicos de *Zygostates* e gêneros afins. ?= não há informações do estado, -= não se aplica. Descrições de cada caráter e estado de caráter constam na tabela 8.

Espécies	**Estados de caráter**
Phymatidium falcifolium	0 1 ? ? 0 1 0 0 0 1 0 0 ? ? ? – 0 0 3 3 - - 0 0 ? 0
Phymatidium hysteranthum	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 – 0 0 4 4 0 1 0 ? 1 0
Phymatidium geiselii	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 – 0 0 4 0 2 1 0 0 1 0
Phymatidium microphyllum	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 – 0 0 2 2 1 1 0 0 ? 0
Phymatidium microphyllum var. *herteri*	0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 ? ? ? – 0 0 0 4 0 0 1 0 1 0
Phymatidium aquinoi	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 – 0 0 4 0 0 0 - - 0 1
Phymatidium delicatulum	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 – 1 0 4 4 2 1 0 0 1 0
Phymatidium delicatulum var. *curvisepalum*	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 – 1 0 4 0 2 1 0 0 1 0
Zygostates pellucida	0 1 0 0 0 1 0 0 1 0 0 0 1 1 1 0 1 0 2 0 - - - 0 0 1
Zygostates grandiflora	0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 0 1 0 0 0 0 0 0 2 0 - - - 0 0 1
Centroglossa greeniana	0 1 ? ? 0 1 0 0 0 1 0 1 ? ? ? 0 2 0 0 0 - - - 0 0 1
Centroglossa tripollinica	? ? 0 0 0 1 ? ? ? ? 0 0 ? ? ? 2 2 0 2 2 - - -1 0 1
Centroglossa castellensis	? ? 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 1 0 0 2 2 0 1 1 - - - 1 0 1
Zygostates dasyrhiza	0 1 0 0 0 1 0 0 0 1 0 1 0 0 1 0 0 0 2 2 - - - 0 0 1
Zygostates bradei	0 1 0 1 0 1 0 0 1 0 1 0 0 0 0 0 0 0 3 0 - - - 1 ? 1
Zygostates aderaldoana	0 1 ? ? 0 1 ? ? ? ? 0 0 ? ? ? 2 0 0 - - - - - - 0 1
Zygostates kuhlmannii	0 1 0 0 0 1 0 0 0 1 0 0 0 0 0 2 0 0 0 0 - - - - 1 1
Zygostates lunata	0 ? 0 0 0 1 0 ? 0 1 0 1 0 0 ? 0 0 0 2 0 - - - 0 0 1
Zygostates cornuta	0 1 0 0 0 1 0 0 0 1 0 0 0 0 1 – 0 0 2 0 - - - 0 0 1
Zygostates alleniana	0 1 0 0 0 1 0 1 0 1 0 0 0 0 0 – 0 0 2 2 - - - 0 0 1
Zygostates densiflora	0 1 0 1 0 1 0 0 0 1 0 0 ? ? ? 2 0 0 0 0 - - - - 0 1
Zygostates linearisepala	? ? ? ? ? ? ? ? 0 0 0 0 ? ? ? 0 0 0 2 0 - - - 0 0 1
Zygostates nectarifera	0 ? 0 1 0 1 0 0 0 1 0 1 0 0 ? 2 0 0 0 0 - - - - ? 1
Zygostates obliqua	0 ? 0 1 0 ? 0 0 0 1 0 0 ? ? ? 2 0 0 - - - - - - 0 1
Platyrhiza quadricolor	0 ? 0 0 0 1 0 0 0 ? 0 0 0 0 ? 0 0 0 0 0 0 0 0 2 – 1 0
Chytroglossa marileoniae	? ? 0 0 ? ? 0 0 0 1 ? ? 1 0 1 1 0 1 2 2 1 0 - - 1 0
Rauhiella silvana	? ? 0 0 0 1 0 0 0 1 0 0 ? ? ? 3 2 0 3 3 0 0 – 0 ? 0
Ornithocephalus myrticola	1 0 0 0 1 1 0 0 2 0 0 0 2 2 ? – 0 0 4 0 - - - - 1 1
Ornithocephalus bryostachyus	1 0 0 0 1 0 0 0 2 0 0 0 2 2 ? – 1 0 2 0 - - - - 1 1
Ornithocephalus biloborostratus	0 1 0 0 0 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 ? 2 0 1 0 0 - - - - ? 1

5. CAPÍTULO 4 — O gênero *Zygostates* Lindl. (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná**,** Brasil

(Artigo publicado em 2017 na revista *Rodriguésia* 68(4): 1431-1446 – Revista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro ISSN - 0370-6583 (versão impressa) / ISSN - 2175-7860 (versão eletrônica))

O gênero *Zygostates* Lindl. **(Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná**

Carla Adriane Royer[1,4], A. L. V. Toscano de Brito[2], Eric de Camargo Smidt[1,3]

1. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências - UNESP, Departamento de Botânica, 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil.

2. Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL 34236, Estados Unidos. Associate, Oakes Ames Orchid Herbarium, Harvard University Herbarium, Estados Unidos.

3. Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Jardim da Américas, 81531-980, Curitiba, PR, Brasil.

4. Autor para correspondência: carladriane@gmail.com

Zygostates no estado do Paraná

Resumo: (O gênero *Zygostates* Lindl. (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná, Brasil). *Zygostates* consiste em ca. 26 espécies, das quais 15 ocorrem no Brasil. Através de consultas a herbários nacionais e estrangeiros, além da realização de trabalho de campo, oito espécies de *Zygostates* foram encontradas no Paraná: *Zygostates alleniana*, *Z. bradei*, *Z. cornuta*, *Z. dasyrhiza*, *Z. lunata*, *Z. multiflora*, *Z. pellucida* e *Z. pustulata*. O gênero é registrado para 36 dos 399 municípios paranaenses, principalmente na Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista, localizadas na Serra do Mar, Primeiro e Segundo Planaltos. De acordo com os critérios da IUCN, *Z. alleniana*, com ampla distribuição no estado, é a espécie de menor risco de extinção, enquanto *Z. bradei*, *Z. pellucida* e *Z. multiflora*, presentes somente em uma localidade, são as mais ameaçadas. *Zygostates bradei* encontra-se "Possivelmente Extinta" no estado; *Z. pellucida* e *Z. multiflora* foram avaliadas como "Criticamente em Perigo". São apresentados uma chave para identificação das espécies, descrições, ilustrações, lista de material examinado, dados sobre distribuição geográfica e estado de conservação dos táxons.

Palavras-chave: Biodiversidade, Flora do Paraná, IUCN, Mata Atlântica.

(The genus *Zygostates* Lindl. (Orchidaceae: Oncidiinae) in the state of Paraná, BRASIL.) *Zygostates* comprises ca. 26 species of which 15 occur in BRASIL. Based on fieldwork and study of BRASILian and foreign herbaria eight species of *Zygostates* are recognized for Paraná: *Zygostates alleniana*, *Z. bradei*, *Z. cornuta*, *Z. dasyrhiza*, *Z. lunata*, *Z. multiflora*, *Z. pellucida* and *Z. pustulata*. The genus is recorded for 36 out of 399 municipalities, mostly inhabiting areas of *Floresta Ombrófila Densa* and *Floresta Ombrófila Mista* in *Serra do Mar*, *Primeiro* and *Segundo Planaltos*. *Zygostates alleniana* has low extinction risk according to IUCN criteria since it is distributed all over the state, while *Z. bradei*, *Z. pellucida* and *Z. multiflora* are found in only one locality, and, thus, they are the most threatened species. *Zygostates bradei* is "Possibly Extinct" locally; *Z. pellucida* and *Z. multiflora* are "Critically Endangered". A key for species identification,

descriptions, illustrations, list of specimens examined, distribution maps and conservation status for all taxa are herein provided.

Key words: Atlantic Forest, biodiversity, IUCN, Paraná flora.

Introdução

Com cerca de 26 espécies (Toscano de Brito in prep.), o gênero *Zygostates* Lindl. apresenta distribuição disjunta entre a Mata Atlântica e o norte da América do Sul (Chase & Toscano de Brito 2009, Sambin & Chiron 2015). Dentre as espécies aceitas até o momento, 15 ocorrem no Brasil, todas endêmicas do bioma Mata Atlântica (BFG 2015). O gênero pertence à subfamília Epidendroideae, tribo Cymbidieae, subtribo Oncidiinae (Chase *et al.* 2015).

Zygostates foi descrito por Lindley (1837), baseando-se em duas espécies: *Zygostates cornuta* Lindl., selecionada como lectótipo por Toscano de Brito (2001), e *Zygostates lunata* Lindl. No estado do Paraná, o gênero foi citado pela primeira vez por Kräenzlin (1911). Três espécies são citadas por esse autor: *Z. lunata*, *Z. dasyrhiza* (Kräenzl.) Schltr. (como *Ornithocephalus dasyrhizus* Kräenzl.) e *Z. pustulata* (Kräenzl.) Schltr. (como *O. pustulatus* Kräenzl.). Pabst & Dungs (1977) listam sete espécies de *Zygostates* para o estado: *Z. alleniana* Kräenzl., *Z. bradei* (Schltr.) Garay (como *Dipteranthus*), *Z. dasyrhiza*, *Z. lunata*, *Z. multiflora* (Rolfe) Schltr., *Z. papillosa* Cogn. (= *Z. alleniana*) e *Z. pustulata*. Recentemente, Smidt (2014) catalogou o mesmo número de espécies, acrescentando *Z. cornuta* à lista anterior. Esses mesmos táxons são também considerados presentes para o estado por BFG (2015).

Este trabalho tem como objetivo elaborar a monografia do gênero *Zygostates* para o estado do Paraná, incluindo chave de identificação das espécies, descrições, ilustrações, lista de material estudado, dados sobre a distribuição e estado de conservação dos táxons.

Material e Métodos

Análises morfológicas foram realizadas baseando-se em exsicatas depositadas nos herbários AMES, B, C, CESJ, EFC, F, FUEL, HB, HCF, HRCB, HUEFS, HUEM, K, MBM, MO, NY, PACA, R, RB, S, SP, UPCB e US (acrônimos segundo Thiers, continuamente atualizado), e complementadas com materiais coletados no campo, principalmente em Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista. A terminologia morfológica adotada foi baseada em Toscano de Brito

(2001) e Stern (2004). As descrições foram padronizadas utilizando-se o programa DELTA (Dallwitz *et al.* 2011). Os sinônimos aceitos neste trabalho estão de acordo com Toscano de Brito (2001). As ilustrações foram organizadas em pranchas de acordo com a similaridade morfológica entre as espécies.

A distribuição geográfica dos táxons no estado do Paraná foi mapeada em imagem delimitada por quadrículas de 1° × 1° através do programa DIVA-GIS 7.5 (Hijmans *et al*. 2012). O estado de conservação local de cada táxon foi inferido seguindo as recomendações do sistema IUCN (2001), considerando-se o número de localidades, a área, extensão e a qualidade do habitat. A extensão de ocorrência (EOO) e a área de ocupação (AOO) foram obtidas utilizando-se o *software* GeoCAT (Geospatial Conservation Assessment Tool - Bachman *et al*. 2011).

A descrição do habitat ocupado pelas espécies foi baseada nas cinco regiões ou zonas de paisagens naturais reconhecidas para o estado (Maack 1968): Litoral, Serra do Mar, Primeiro, Segundo e Terceiro Planaltos. Nestas são encontrados cinco tipos de vegetação (Veloso *et al*. 1991, Roderjan *et al.* 1993): 1. Floresta Ombrófila Densa, no Litoral e Serra do Mar, com os subtipos de floresta Altomontana (acima de 1200 m), Montana (600-1200 m), Submontana (20-600 m) e de Terras Baixas (até 20 m), além de formações associadas (refúgios ou campos de altitude, formações pioneiras ou restinga e mangue); 2. Floresta Ombrófila Mista, nas regiões mais altas ao sul da região planaltina; 3. Estepe Ombrófila (Campos Gerais) nas mesmas regiões; 4. Floresta Estacional Semidecidual Subxérica, norte e oeste do Segundo e Terceiro Planaltos; 5. Savana Estacional Subxérica (Cerrado), no nordeste do estado.

Resultados e Discussão

Foram analisados 89 materiais coletados em 36 municípios do estado, todos inseridos no bioma Mata Atlântica, e 12 exsicatas provenientes de outros estados, citados como material adicional examinado. Foram reconhecidas para o Paraná: *Zygostates alleniana*, *Z. bradei*, *Z. cornuta*, *Z. dasyrhiza*, *Z. lunata*, *Z. multiflora*, *Z. pustulata*. *Z. pellucida* Rchb.f. foi citada pela

primeira vez por Blum *et al.* (2011) para o Paraná, informação ignorada pelos autores de listas posteriores. Com um total de oito espécies ocorrentes, o estado passa a ser considerado o mais rico em espécies no Brasil. Segundo BFG (2015), o estado do Rio de Janeiro, com sete espécies, se trata do segundo mais rico, seguido do Espírito Santo, São Paulo e Santa Catarina, todos com seis espécies cada.

No Brasil, *Zygostates* encontra-se restrito à Mata Atlântica, bioma sob constante pressão antrópica e historicamente ameaçado. Na lista vermelha de plantas ameaçadas de extinção do Paraná (Hatschbach & Ziller 1995), nenhuma espécie foi relatada como rara, em perigo ou vulnerável. Porém o presente estudo identificou espécies com poucos registros e localizados em áreas bastante reduzidas, fato que as enquadra nas categorias “Espécie em Perigo”, “Criticamente em Perigo” e “Possivelmente Extinta” segundo os índices da IUCN (2001).

A maior riqueza de espécies é encontrada na Serra do Mar, Primeiro e Segundo Planaltos, principalmente na Floresta Ombrófila Densa com um total de seis espécies, incluindo aquelas com somente um registro para o estado, e a Floresta Ombrófila Mista com cinco espécies. Assim como observado em outras regiões, a riqueza presente no leste paranaense pode ser influenciada pelo esforço de coleta, já que um dos maiores herbários e centros de pesquisa do estado localizam-se nessa região. Outro fato a ser destacado é da região possuir a maior área de Floresta Atlântica do Brasil devido principalmente as altas escarpas da Serra do Mar, o relevo acidentado e o solo de baixa fertilidade agrícola que dificultaram o avanço antrópico na região (Lange 1997).

Zygostates Lindl., Edwards's Bot. Reg. 23: t.1927 (1837). LECTÓTIPO: *Zygostates cornuta* Lindl., selecionado por Toscano de Brito (2001).

Plantas epífitas, simpodiais, eretas ou pendentes. Raízes cespitosas ou distribuídas ao longo do caule, glabras ou pilosas. Caule inconspícuo ou alongado, às vezes ramificado, geralmente coberto pelas bainhas das folhas laterais, a região apical entumecida em pseudobulbo. Pseudobulbos uni ou bifoliados, glabros, raramente papilosos, pequenos, ovoides, elipsoides ou fusiformes, sulcados ou lisos, aglomerados ou raramente distribuídos ao longo do caule. Folhas laterais alternas,

verdes à verde-acinzentadas, inconspícuamente à distintamente pecioladas, invaginantes, articuladas, bifaciais, planas a conduplicadas, coriáceas ou carnosas, lanceoladas, espatuladas ou elípticas, glabras, raramente papilosas, usualmente quilhadas abaxialmente e às vezes sulcadas adaxialmente, geralmente torcidas, ápice agudo a obtuso. Folhas apicais similares às laterais, desprovidas de bainhas, inconspícuamente pecioladas e articuladas com o pseudobulbo. Inflorescência racemosa, lateral, emergindo da base do pseudobulbo, ereta ou arqueada, distintamente pedunculada; eixo da inflorescência torcido, glabro, raro papiloso, coberto por brácteas. Flores simétricas, raramente assimétricas, geralmente ressupinadas, pedicelo frequentemente curvado no ápice. Sépala dorsal reflexa ou patente, obovada, oblonga, elíptica ou espatulada, livre ou minimamente conada na base com as sépalas laterais, margens inteiras. Sépalas laterais reflexas ou patentes, oblongas à ovadas, espatuladas, às vezes falciformes, livres ou levemente conadas na base, margens inteiras. Pétalas patentes, às vezes inflexas, unguiculadas, obovadas, espatuladas ou elípticas, planas ou convexas, raro densamente glandular ou carenada na face adaxial, ápice agudo ou obtuso, margens retas ou recurvadas, inteiras ou irregulares. Labelo inteiro, raramente bilobado na base, inflexo, reflexo ou patente, ovado, ovado-lanceolado, oblongo, subquadrado, panduriforme ou sacado, côncavo, usualmente quilhado na face abaxial e às vezes na face adaxial, ápice agudo, margens retas ou recurvadas, inteiras ou irregulares; disco provido de calosidade glandular-tricomatosa, de cores e formas variadas. Coluna sigmoide, provida de dois apêndices basais ou laterais ao redor da cavidade estigmática, raramente ausentes; cavidade estigmática conspícua, oblonga, ovada ou elíptica; rostelo conspícuo, geralmente ultrapassando em comprimento o restante da coluna, variável na forma, curvado ou projetado para frente; antera muito mais curta ou quase tão longa quanto o rostelo, o ápice curto ou longo-rostrado, as margens laterais geralmente providas de um dente inconspícuo próximo ao 1/3 basal ou região mediana; polínias 4, em pares superpostos, ovoides ou globosas; estipe longo e estreito, usualmente dilatado próximo à área de inserção das polínias; viscídio dorsal, ovado, elíptico, arredondado ou unciforme. Frutos pedicelados, subglobosos, carenados e angular em seção transversal.

Chave de identificação para as espécies de *Zygostates* ocorrentes no estado do Paraná

1. Raízes pilosas, ápice da coluna com margem fortemente dentada ou lacerada..... (4) *Z. dasyrhiza*

1’. Raízes glabras, ápice da coluna com margem inteira.

2. Pétalas densamente glandular-tricomatosas na face adaxial, fortemente convexas, às vezes quase tubulares, projetadas para frente e para baixo .....(7) *Z. pellucida*

2’. Pétalas glabras, patentes ou levemente curvadas para frente, côncavas, planas ou levemente convexas.

3. Coluna desprovida de apêndices ..... (8) *Z. pustulata*

3’. Coluna provida de apêndices basais ou laterais ao redor da cavidade estigmática.

4. Labelo com margem dentada ou fimbriada.

5. Calo do labelo apiculado na base e bilobado no ápice; rostelo provido abaxialmente de uma aba truncada, levemente crenada ou bilobada..... (5) *Z. lunata*

5’. Calo do labelo truncado na base, o ápice inteiro e abaxialmente sulcado; rostelo desprovido de aba abaxial..... (3) *Z. cornuta*.

4’. Labelo com margem inteira.

6. Flores assimétricas; pétalas carenadas na face adaxial ..... (2) *Z. bradei*

6’. Flores simétricas; pétalas adaxialmente lisas.

7. Labelo distintamente sacado, calosidade do labelo rasa, base cordada e bilobada e ápice inteiro.....(1) *Z. alleniana*

7’ Labelo levemente panduriforme quando explanado, giboso na região mediana, calosidade do labelo carnosa, arredondada, base inteira e ápice emarginado ... (6) *Z. multiflora*

1. *Zygostates alleniana* Kräenzl. Notizbl. Königl., Bot. Gart. Berlin. 2: 55. 1898.

= *Dipteranthus lindmanii* Kräenzl. Kongl. Svenska Vetensk. Acad. Handl. 46: 80. 1911.

= *Zygostates lindmanii* (Kräenzl.) Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg. Beih. 16: 449. 1920.

= *Zygostates aquinoi* Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg. Beih. 35: 105. 1925.

= *Zygostates papillosa* Cogn. Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique 43: 333. 1907.

Fig. 1A-H

Planta 37–59 mm alt., ereta. Raízes cespitosas, glabras. Pseudobulbos 2,8–3,6 × 1,6–2 mm, uni ou bifoliados, glabros, ovoides a subglobosos, lisos, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 18–30 × 1,9–4,3 mm, verdes, carnosas, lanceoladas, glabras, abaxialmente quilhadas e um pouco torcidas, ápice agudo a obtuso. Folhas apicais similares às laterais, 17–34 × 2,2–4,1 mm. Inflorescência 33-50 mm compr., ereta ou arqueada; brácteas 1,4–4 × 0,6–1,5 mm, laxas, ovadas à lanceoladas, glabras, côncavas, abaxialmente quilhadas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 2,9–4 × 1,2–1,8 mm, branca, reflexa ou patente, espatulada, côncava, abaxialmente quilhada, ápice obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 2,8–3,9 × 1,6–1,9 mm, brancas, reflexas ou patentes, ovadas, côncavas, ápice agudo ou obtuso, margens inteiras. Pétalas 2,9–4,3 × 2,1–3,7 mm, brancas, patentes, unguiculadas, levemente convexas, glabras, ápice obtuso, margens erosas. Labelo 2,8–4,2 × 2–3,2 mm, branco, inflexo, sacado, côncavo, abaxialmente quilhado, ápice agudo, margens inteiras; disco com calosidade verde, rasa, cuneiforme, levemente côncava, glandular-tricomatosa, a base cordada e bilobada. Coluna 2,5–3,7 mm compr., sigmoide, curvada em direção ao ápice, provida na base de dois apêndices laterais eretos, triangulares, verde-claros; cavidade estigmática conspícua, ovada; rostelo recurvado; ápice da coluna com margem inteira; antera com âmbito claviforme, distintamente rostrada, aguda a subaguda, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo ao terço basal; polinário com viscídio ovado.

Material examinado: BRASIL. PARANÁ: Campo Mourão, Parque Municipal do Lago, 21.IX.2004, fl., *E.G. Paulino 54* (HCF, MBM); Capela do Calvário, 05.XI.2005, fl., *H.C.L. Geraldino 275* (HCF). Curitiba, s.d., fl., *F. Lange 8512* (MBM); Pinheirinho, XII.1970, fl. cult., *M.*

Leinig 461 (HB). Foz do Iguaçu, Parque Nacional do Iguaçu, 12.X.2009, fl., *L.G. Temponi et al. 694* (MBM). Guaíra, Sete Quedas, 14.XI.1963, fl., *E. Pereira & G. Hatschbach 7889* (HB). Maringá, Orquidário UEM - Campus UEM, 16.IX.2005, fl., *A.M. Janunzzi 137* (HUEM). Palmeira, Colônia Quero-Quero, 10.II.1951, fl., *G. Hatschbach 2722* (MBM, HB). Pitanga, Borboleta, 13.XII.1973, fl., *G. Hatschbach 33506* (MBM). Planaltina do Paraná, 17.IX.1969, fl., *G. Hatschbach 22196* (C, MBM). Ponta Grossa, Buraco do Padre, 24.X.1989, fl., *J.M. Silva et al. 729* (MBM). Ribeirão do Pinhal, Salto Laranjinha, 04.XI.1999, fl., *J. Carneiro 800* (MBM). São João do Triunfo, 07.XI. 1967, fl., *G. Hatschbach 17735* (HB, MBM). São José dos Pinhais, Cultivado em orquidário, 17.XII.2014, fl., *C.A. Royer 56* (UPCB). Serrinha, 9.XII.1908, *P.K.H. Dusén 7333b* - misturada com espécimes de *Z. dasyrhiza* (AMES, HB, NY, S).

Zygostates alleniana é encontrada por quase toda a extensão territorial paranaense, desde o Primeiro ao Terceiro Planaltos, habitando as Florestas Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual e Estepe Gramíneo Lenhosa (Fig. 6). Ocorre também nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo (BFG 2015), na Argentina (Johnson 2001) e no Paraguai (Toscano de Brito 1994).

Segundo os critérios da IUCN (2001), esta espécie se enquadra na categoria “Pouco Preocupante” (LC; B1b(i,ii)). Encontrada em todos os biomas do estado, apresenta uma extensa área de ocorrência (EOO) e ocupação (AOO). Além disso, ocorre em dois parques nacionais (PARNA): PARNA Iguaçu e PARNA dos Campos Gerais.

Zygostates alleniana assemelha-se à *Z. multiflora*, mas difere dessa através do labelo sacado, abaxialmente quilhado e sua calosidade rasa e cuneiforme. Floresce entre setembro e dezembro.

2. *Zygostates bradei* (Schltr.) Garay, Bot. Mus. Leafl. 21: 263. 1967.

= *Dipteranthus bradei* Schltr. Anexos Mem. Inst. Butantan, Secc. Bot. 1(4): 65. 1922.

= *Dipteranthus duchii* Pabst. Bradea. 1(8): 56. 1971.

= *Zygostates rotundiglossa* Pabst. An. 14 Congr. Soc. Bot. Bras.:21. 1964.

Fig. 2A-G

Planta ca. 73,5 mm alt., pendente. Raízes cespitosas, glabras. Pseudobulbos ca. 2,8 × 1,6 mm, unifoliados, glabros, ovoides, lisos, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais ca. 35,3 × 5,7 mm, verdes, carnosas, lanceoladas a espatuladas, glabras, abaxialmente quilhadas, sulcadas adaxialmente, torcidas, ápice agudo. Folha apical similar às laterais, ca. 11,5 × 3,5 mm. Inflorescência ca. 70 mm compr., ereta ou arqueada; brácteas 2,3–2-8 × 0,9–1 mm, laxas, ovadas a lanceoladas, glabras, côncavas, abaxialmente quilhadas. Flores assimétricas, ressupinadas. Sépala dorsal ca. 3 × 1,9 mm, verde, reflexa, espatulada a obovada, côncava, abaxialmente quilhada, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Sépalas laterais ca. 6 × 2,2 mm, verdes, reflexas, espatuladas, côncavas, abaxialmente quilhadas, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Pétalas ca. 2,8 × 1,6 mm, brancas a levemente esverdeadas, curvadas para frente, obovadas, convexas, glabras, carenadas na face adaxial, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Labelo ca. 3 × 3 mm, branco, reflexo, subquadrado, ligeiramente convexo, adaxialmente quilhado, ápice agudo, margens inteiras; disco com calosidade amarela, sublunada, côncava, glandular-tricomatosa. Coluna ca. 2 mm compr., fortemente recurvada em direção ao ápice, provida de dois apêndices laterais triangulares, verdes com ápice amarelo; cavidade estigmática conspícua, raro inconspícua, elíptica; rostelo recurvado, torcido e voltado para direita ou para esquerda; ápice da coluna com margem inteira; antera estreitamente ovada, distintamente rostrada, aguda, muita mais curta do que o rostelo, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio escuro, arredondado, torcido, apiculado, distintamente unciforme.

Material examinado: BRASIL. PARANÁ: Guaratuba, Rio da Divisa, 11.II.1962, fl., *G. Hatschbach 9820* (B, MBM).

Material adicional examinado: BRASIL. Cultivada no orquidário Seidel, 09.XI.2015, fl., *C.A. Royer 58* (UPCB).

Zygostates bradei possui registro somente para o litoral paranaense (Fig. 7). Ocorre também nos estados de Santa Catarina, São Paulo, Alagoas e Pernambuco (BFG 2015).

Segundo os critérios da IUCN (2001), *Z. bradei* deve ser enquadrada na categoria "Possivelmente Extinta" para o estado (VU; D2 CR), uma vez que possui somente um registro fora de unidade de conservação e foi coletado há mais de 50 anos.

Zygostates bradei é reconhecida através da forma das sépalas laterais, que são visivelmente maiores que o restante das peças florais, pela morfologia das pétalas, as quais são providas de uma calosidade em forma de "V" na face adaxial, mais ou menos na metade da lâmina, pelo labelo fortemente recurvado e pela assimetria de suas flores, sobretudo o rostelo torcido e o viscídio unciforme. Floresce em fevereiro.

3. *Zygostates cornuta* Lindl. Edwards's Bot. Reg. 23: t.1927 (1837).

= *Zygostates chateaubriandii* Ruschi. Bol. Mus. Biol. Prof. Mello Leitão 16:1. 1955.

= *Zygostates lunata* var. *subintegripetala* Cogn. Fl. Bras. 3(6): 218. 1905.

Fig. 3J-Q

Planta 88–233 mm alt., geralmente pendente. Raízes cespitosas, glabras. Pseudobulbos 4,6–11,6 × 1,5–3,2 mm, unifoliados, glabros, ovoides a elipsoides, lateralmente sulcados, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 53,4–64,2 × 5–10,1 mm, verdes, coriáceas, lanceoladas, espatuladas ou elípticas, glabras, abaxialmente quilhadas e um pouco torcidas, ápice agudo a obtuso. Folhas apicais similares às laterais, 29,9–72,6 × 6,1–10,8 mm. Inflorescência 83,2-125 mm compr., arqueada; brácteas 1,8–3,3 × 0,6–1,2 mm, laxas, lanceoladas, ovadas ou triangulares, glabras, côncavas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 3,4–4,2 × 1,4–2 mm, amarelo-clara, reflexa, elíptica, plana, abaxialmente quilhada, ápice agudo a obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 3,3–4 × 1,7–2,5 mm, amarelo-claras, reflexas, ovadas, falciformes, convexas, abaxialmente quilhadas, ápice obtuso, margens inteiras. Pétalas 3,7–4,6 × 3,8–5 mm, alaranjadas, eretas, unguiculadas, reflexas em direção ao ápice, planas, glabras,

ápice obtuso, margens fimbriadas. Labelo 4–5,1 × 1,1–1,5 mm, branco a esverdeado, inflexo, oblongo, côncavo, ápice agudo, margens dentadas ou fimbriadas; disco com calosidade amarelo-marrom, côncava, base truncada e pilosa, ápice inteiro, papiloso, abaxialmente sulcado. Coluna 2–3,7 mm compr., sigmóide, provida na base de dois apêndices laterais claviformes, amarelos ou alaranjados; cavidade estigmática conspícua, ovada a elíptica; rostelo curvado para cima em direção ao ápice; ápice da coluna com margem inteira; antera operculada, ovada, distintamente rostrada, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio ovado.

Material examinado: BRASIL. PARANÁ: Antonina, 27.II.1965, fl., *G. Hatschbach 13910* (MBM); Rio Manduira, 11.II.1981, fl., *G. Hatschbach 43583* (MBM, MO); Rio Faisqueira, 07.I.1986, fl., *R. Kummrow et al. 2708* (MBM); Porto Limoeiro, 26.II.1997, fl., *G. Tiepolo & R.M. Britez 735* (EFC). Cerro Azul, Turvo, 11.II.1960, fl., *G. Hatschbach* 6741 (HB, MBM); Barra do Canha, 18.II.1982, fl., *G. Hatschbach 43610* (MBM). Curitiba, I.2010, fl., *E.C. Smidt 972* (UPCB). Doutor Ulysses, Rio Turvo, 19.IV.2006, fl., *E. Barbosa & E.F. Costa 1259* (MBM). Guaraqueçaba, Rio do Cedro, 08.III.1968, fl., *G. Hatschbach 18676* (MBM, HB). Guaratuba, Porto Miranda, Rio São João, 26.II.1968, fl., *G. Hatschbach 18640* (C, HB, MBM, US); Descampado, 15.I.1994, fl., *G. Hatschbach & J.M. Silva 58811* (MBM); Rio Cubatão, Ilha do Furado, 02.II.2000, fl., *M. Borgo et al. 590* (MBM); Rio São João, 04.II.2012, fl., *M.G. Caxambu et al. 3790* (HCF). Morretes, Colônia Floresta, 23.I.1969, fl., *G. Hatschbach & C. Koczicki 20870* (HB, MBM). Paranaguá, Serra da Prata, 21.III.1910, fl. cult., *P.K.H. Dusén 9856* (S); 05.III.1911, fl., *P.K.H. Dusén 11584* (S); 28.I.1963, fl., *G. Hatschbach 9880* (B, MBM); Morro do Inglês, 18.II.1976, fl., *G. Hatschbach 38106* (MBM); Ilha do Mel, Praia da Fortaleza, 10.XII.1996, fl., *R.B. Singer s.n.* (MBM 226960); Estação Biológica da Ilha do Mel, 27.I.1998, fl., *S.M. Silva s.n.* (UPCB 49568). São José dos Pinhais, Castelhanos, 07.II.1998, fl., *J.M. Silva et al. 2266* (CESJ, HUEFS, MBM). Sem localidade, 30.IV.1979, fl. cult., *S. Birk 22* (HB); 1908-1916, fl., *Dusén s.n.* (S).

Zygostates cornuta é encontrada no Litoral, Serra do Mar, Primeiro e Segundo Planaltos, habitando as Florestas Ombrófilas Densa e Mista e Estepe Gramíneo Lenhosa (Fig. 8). Ocorre ao longo da Mata Atlântica abrangendo além do Paraná, os estados de Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo e Bahia (BFG 2015).

Segundo os critérios da IUCN (2001), esta espécie enquadra-se na categoria "Quase Ameaçada" (NT; B1b(i,ii)). A restrita área de ocorrência (EOO) e de ocupação (AOO) indicam uma possível transferência futura deste táxon para a categoria "Vulnerável". Ocorre em dois parques nacionais do estado: PARNA da Ilha do Mel e PARNA Saint Hilaire/Lange, além da área de proteção ambiental de Guaraqueçaba (APA Guaraqueçaba).

Zygostates cornuta e *Z. lunata* são espécies muito próximas e comumente confundidas. Vegetativamente são indistinguíveis, porém *Z. cornuta* difere de *Z. lunata* pela forma do calo do labelo (truncado na base, com o ápice inteiro e abaxialmente sulcado *vs.* apiculado na base e bilobado no ápice) e morfologia da coluna, sobretudo pela ausência de uma membrana na face abaxial do rostelo. Floresce de dezembro a abril.

4- *Zygostates dasyrhiza* (Kräenzl.) Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg 16: 449. 1920.

= *Ornithocephalus dasyrhizus* Kräenzl. Kongl. Svenska Vetensk. Acad. Handl., n.s. 46(10): 77. 1911.

= *Zygostates paranaenses* Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg. 22: 68. 1926.

Fig. 4A-J

Planta 26,5–54,4 mm alt., pendente ou ereta. Raízes dispersas, pilosas, distribuídas ao longo de um caule alongado, ramificado, folioso, com até ca. 35 mm de compr. Pseudobulbos 2,6–4,7 × 0,9–1,4 mm, unifoliados, papilosos, fusiformes, lateralmente sulcados, esparsos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 9,2–19,8 × 2,2–4,6 mm, verde-acizentadas, carnosas, lanceoladas, papilosas, abaxialmente quilhadas, sulcadas adaxialmente, torcidas, ápice agudo. Folhas apicais similares às laterais, 10,1–18,6 × 2,6–4,6 mm. Inflorescência

17,4–36 mm compr., ereta ou arqueada; brácteas 0,9–1,7 × 0,4–1 mm, laxas, ovadas a lanceoladas, glabras, côncavas. Flores simétricas, geralmente ressupinadas. Sépala dorsal 2,5–3,6 × 1–1,4 mm, branca, reflexa, oblonga a espatulada, côncava, abaxialmente quilhada, ápice obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 2,5–3 × 1,2–1,5 mm, brancas, patentes, elípticas ou oblongas, falciformes, côncavas, abaxialmente quilhadas, ápice obtuso, margens inteiras. Pétalas 3–3,4 × 2–2,6 mm, brancas, patentes, obovadas a espatuladas, planas, glabras, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Labelo 1,8–4,4 × 2,2–3,8 mm, branco, patente, ovado-lanceolado, côncavo, abaxialmente quilhado, ápice acuminado e inflexo, margens levemente irregulares; disco com calosidade branca, arredondada, convexa, glandular-tricomatosa. Coluna 2–2,5 mm compr., levemente sigmóide, provida de dois apêndices laterais auriculados, patentes, obtusos, brancos; cavidade estigmática conspícua, oblonga à ovada; rostelo curvado para cima; ápice da coluna com margem fortemente dentada ou lacerada; antera com âmbito claviforme, longo-rostrada, acuminada, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio ovado.

Material examinado: BRASIL. PARANÁ: Balsa Nova, Serra São Luiz, 06.I.1971, fl., *G. Hatschbach 25945* (HB, K, MBM). Campo Largo, Ferraria, XI.1960, fl., *M. Leinig 224* (HB). Curitiba, Capão Boi, Restinga Seca, 11.XII.1909, fl., *Dusén 9863* (S); 28.XI.1944, fl. cult., *A. Guimarães s.n.* (RB 260431); Parque Barigui, 19.XII.1995, fl., *C. Kozera & V.A. Dittrich 29* (UPCB); Bosque Jardim Saturno, 13.I.2001, fl., *M. Borgo 1130* (UPCB). Guaratuba, Estrada Curitiba-Joinville, 20.III.1949, fl., *G. Hatschbach 1251* (MBM). Mandirituba, 02.I.1964, fl., *G. Hatschbach 10872* (HB, MBM). Próximo a Piraí do Sul, 16.X.1972, fl. cult., *A. Seidel 1046* (HB). Piraquara, Rio São Jerônimo, 20.III.2003, fl., *R. Kersten et al. 608* (UPCB); Haras Santo Antônio, 15.I.2004, fl., *R. Kersten 766* (UPCB). Ponta Grossa, Passo do Pupo, 04.XII.1967, fl., *G. Hatschbach 17999* (HB, MBM); Parque Estadual de Vila Velha, Mata da Fortaleza, 03.XII.2014, fl., *J.M. Silva & J.T. Motta 8700* (UPCB). São José dos Pinhais, Rincão, 22.I.1950, fl., *G. Hatschbach 1784* (MBM, SP); cultivado em orquidário, 17.XII.2014, fl., *C.A. Royer 38* (UPCB).

Serrinha, 09.XII. 1908, *P.K.H. Dusén 7333b* (AMES, HB, NY, S); I.1910, fl. cult., *P.K.H. Dusén 9039* (S). Tijucas do Sul, Matulão, I.I.1964, fl., *G. Hatschbach 10870* (B, HB, MBM); Ambrósios, 10.I.1992, fl., *O.S. Ribas & J. Cordeiro 398* (MBM); Fazenda São Benedito, 04.XII.2015, fl., *C.A. Royer & D.C. Imig 90* (UPCB). Tunas do Paraná, Parque Estadual de Campinhos, 19.II.1999, fl., *J.M. Silva & L.M. Abe 2882* (HRCB, MBM). Sem localidade, s.d., fl., *F. Lange 9863* (HB, MBM).

Zygostates dasyrhiza é encontrada no Litoral, Serra do Mar, Primeiro e Segundo Planaltos, habitando as Florestas Ombrófilas Densa e Mista e a Estepe Gramíneo Lenhosa (Fig. 7). No Brasil ocorre somente nos três estados do Sul (BFG 2015).

Segundo os critérios da IUCN (2001), a espécie enquadra-se na categoria "Vulnerável" (VU; B1b(i,ii)) devido à restrita área de ocorrência (EOO) e ocupação (AOO), apesar de ser encontrada em 11 localidades e em dois parques estaduais (PE): PE Campinhos e PE Vila Velha.

Em seu hábito usualmente reptante e pendente, *Zygostates dasyrhiza* assemelha-se à *Z. pustulata*. Distingui-se dessa, porém, pelo labelo marcadamente acuminado, pela coluna simétrica e pela margem dentada ou lacerada do ápice da coluna. Floresce de dezembro a março.

5. *Zygostates lunata* Lindl. Edwards's Bot. Reg. 23: *sub* t.1927. 1837.

= *Dactylostylis fimbriata* Scheidw. Allg. Gartenzeitung. 7: 406. 1839.

= *Epidendrum trilabiatum* Vell. Fl. Flum. 9: t. 42. 1831.

= *Ornithocephalus navicularis* Barb.Rodr. Gen. Sp. Orchid. 1: 135. 1877.

Fig. 3A-I

Planta 90–162 mm alt., pendente. Raízes cespitosas, glabras. Pseudobulbos 3,8–7,2 × 1,3–2,2 mm, unifoliados, glabros, ovoides a elipsoides, lateralmente sulcados, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 45,2–85,2 × 6,5–13 mm, verdes, coriáceas, lanceoladas, espatuladas ou elípticas, glabras, abaxialmente quilhadas e um pouco torcidas, ápice agudo a obtuso. Folhas apicais similares às laterais, 34,7–85,4 × 4,4–10,1 mm. Inflorescência 67,8–155 mm compr., arqueada; brácteas 1,3–4,7 × 0,7–1,4 mm, laxas, lanceoladas,

ovadas a triangulares, glabras, côncavas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 2,4–3,2 × 1,3–2 mm, brancas a esverdeadas, reflexa, elíptica, convexa, abaxialmente quilhada, às vezes levemente conada com as sépalas laterais na base, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Sépalas laterais 2,4–3,3 × 1,5–2,2 mm, brancas a esverdeadas, reflexas, ovadas, falciformes, convexas, abaxialmente quilhadas, conadas na base, ápice obtuso, margens inteiras. Pétalas 2,5–3,7 × 2,9–4,2 mm, alaranjadas, patentes a um pouco eretas, unguiculadas, reflexas em direção ao ápice, planas, glabras, ápice obtuso, margens fimbriadas. Labelo 2,8–3,9 × 1,4–2,2 mm, branco, inflexo, ovado, côncavo, ápice agudo, margens dentadas ou fimbriadas; disco com calosidade amarelo-marrom, côncava, glandular-tricomatosa, apiculada na base, bilobada no ápice. Coluna 1,7–2,5 mm compr., sigmóide, provida na base de dois apêndices laterais claviformes, alaranjados; cavidade estigmática conspícua, ovada à elíptica; rostelo reflexo, provido abaxialmente de uma aba ou membrana truncada, às vezes levemente crenada ou bilobada; ápice da coluna com margem inteira; antera operculada, mais curta do que o rostelo, longo-rostratada, acuminada, as margens laterais providas de um dente inconspicuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio elíptico.

Material examinado: BRASIL. PARANÁ: Mauá da Serra, 23.XII.2009, fl., *M.A. Guttiere 64* (HUEM). Monte Alegre, XI.1959, fl. cult., *F. Feigl s.n. in M. Leinig* 161 (HB). Telêmaco Borba, 28.XI.2007, fl., *A. Bonnet 580105* (UPCB); XII.2011, fl., *V. Ariati 567* (MBM); Área de alagamento da UHE Mauá, 02.II.2012, fl., *M.A. Milaneze-Gutierre s.n.* (HUEM 22249); 07.XII.2012, fl., *C. Michelon 1603* (MBM); Área de alagamento da UHE Mauá, 23.X.2013, fl., *M.A. Milaneze-Gutierre et al. s.n.* (HUEM 24240). Tibagi, Jaguatirica – Fazenda Monte Alegre, 15.XII.1952, fl., *G. Hatschbach 2859* (MBM). Sapopema, Fazenda Guaporé, Rio Tibagi, 09.XII.1995, fl., *L.H. Soares et al s.n.* (FUEL 17003). Sem localidade, 5.IV.1911, fl., *F. Lange s.n.* (MBM 215509).

Zygostates lunata ocorre somente no Segundo Planalto, na Floresta Ombrófila Mista e na Estepe Gramíneo Lenhosa (Fig. 8). Ocorre também nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro (BFG 2015).

Segundo critérios da IUCN (2001), esta espécie deve ser enquadrada na categoria “Espécie em Perigo” (EN; B1b(i,ii)), pois é encontrada em apenas cinco localidades no estado e sua área de ocorrência (EOO) e ocupação (AOO) são reduzidas. Além disso, não há registro para unidades de conservação e os locais indicados nos materiais testemunhos indicam uma área atualmente alagada pela barragem da Usina Hidrelétrica Mauá da Serra.

Zygostates lunata assemelha-se muito à *Z. cornuta*, mas difere dessa pela morfologia da calosidade do labelo, sobretudo o prolongamento apiculado em sua base e pela presença de uma membrana localizada na face abaxial da coluna, mais ou menos na região mediana do rostelo. Floresce entre outubro e abril.

6. *Zygostates multiflora* (Rolfe) Schltr. Arch. Bot. São Paulo. 1: 295. 1926.

= *Ornithocephalus multiflorus* Rolfe Bull. Misc. Inform. Kew. 149. 1901.

= *Dipteranthus multiflorus* (Rolfe) I.Bock & Seehawer. Orchidee (Hamburg). 47: 282. 1996.

Fig. 1I-O

Planta 66–118 mm alt., ereta. Raízes cespitosas, glabras. Caule 7,8–11 mm compr. Pseudobulbos 5,1–5,6 × 2,4–2,6 mm, uni ou bifoliados, glabros, ovoides, lisos, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 25,6–34,4 × 3,3–4 mm, verdes, coriáceas, lanceoladas, espatuladas ou elípticas, glabras, ápice agudo. Folhas apicais similares às laterais, 22,7–36,3 × 4–4,8 mm. Inflorescência 60–107 mm compr., arqueada; brácteas 2–3,4 × 0,6–1,2 mm, congestas, ovadas a triangulares, glabras, côncavas, abaxialmente quilhadas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 1,7–2,1 × 0,5–0,8 mm, branca, reflexa, elíptica, côncava, abaxialmente quilhada, levemente conada na base com as sépalas laterais, ápice agudo a obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 1,5–1,8 × 0,7–1,2 mm, brancas, reflexas, ovadas,

falciformes, côncavas, conadas na base, ápice agudo, margens inteiras. Pétalas 2–2,8 × 2,1–2,5 mm, brancas, patentes, unguiculadas, levemente convexas, glabras, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Labelo 2,4–4 × 1–1,4 mm, branco, patente, bilobado na base, giboso na região mediana, levemente panduriforme quando explanado, côncavo, ápice agudo, margens inteiras; disco com calosidade branca, carnosa, arredondada, côncava, glandular-tricomatosa, com ápice verde, emarginado e recurvado. Coluna 1,2–2,1 mm compr., levemente sigmoide, geniculada mais ou menos no meio, provida na base por dois apêndices laterais eretos, triangulares, brancos; cavidade estigmática conspícua, ovada; rostelo projetado para frente; ápice da coluna com margem inteira; antera claviforme, as margens laterais providas de um dente insconspícuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio arredondado.

Material examinado: BRASIL. PARANÁ: Morretes, Serra Marumbi, 19.I.1971, fl., *G. Hatschbach 25991* (C, HB, MBM, S); Véu da Noiva, 05.V.1986, fl., *J. Cordeiro & J.M. Silva 234* (MBM).

Até o presente, *Zygostates multiflora* é conhecida somente para a Serra do Mar, habitando a Floresta Ombrófila Densa (Fig. 6). Ocorre também nos estados de São Paulo e do Rio de Janeiro (BFG 2015).

Segundo os critérios da IUCN (2001), a espécie é considerada “Criticamente em Perigo” (CR; B1b(i,ii)), uma vez que possui apenas dois registros de coleta, ambos para o município de Morretes, sendo um deles para o Parque Estadual do Pico Marumbi.

Zygostates multiflora se caracteriza pelo labelo levemente panduriforme e giboso, pela calosidade do labelo arredondada e carnosa, e pela coluna geniculada, provida na base de dois apêndices laterais conspícuos, eretos e triangulares. Floresce de janeiro a maio.

7. *Zygostates pellucida* Rchb.f Ann. Bot. Syst. 6: 564 (1863).

= *Dipteranthus pellucidus* (Rchb.f.) Cogn. Fl. Brasil. 3(6): 214. 1905.

= *Ornithocephalus pseudobulbifer* Barb.Rodr. Gen. Spec. Orchid. Nov. 1: 134 (1877).

= *Dipteranthus pseudobulbifer* (Barb.Rodr.) Barb.Rodr. Gen. Spec. Orchid. Nov. 2: 233 (1882).

Fig. 5A-G

Planta 38–100 mm alt., pendente ou às vezes ereta. Raízes cespitosas, pilosas. Pseudobulbos 6,3–12 × 2,5–5,7 mm, unifoliados, papilosos, ovoides, lateralmente sulcados, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 25–53× 9,3–11,6 mm, se presentes, verde-escuras, coriáceas, ovadas a elípticas, minimamente papilosas e um pouco torcidas na base, ápice agudo. Folhas apicais similares às laterais, 34,9–89,1 × 9,1–16 mm. Inflorescência 22,4–86,4 mm compr., arqueada; brácteas 1,9–3,9 × 0,9–1,6 mm, laxas, lanceoladas a ovadas, papilosas, côncavas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 3,9–4,7 × 1,7–2,2 mm, branca, reflexa, linear ou elíptica, convexa, abaxialmente quilhada, ápice obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 3,9–4,5 × 1,7–2,3 mm, brancas, reflexas, obovadas, falciformes, côncavas, ápice obtuso, margens inteiras. Pétalas 4,8–5,4 × 1,6–2,7 mm, verdes, inflexas, espatuladas, convexas, papilosas, densamente glandular-tricomatosas na face adaxial, fortemente convexas, às vezes quase tubulares, projetadas para a frente e para baixo, ápice agudo ou obtuso, margens inteiras. Labelo 3,4–5,1 × 1,4–1,7 mm, verde, patente, bilobado na base, panduriforme, côncavo, ápice agudo, margens levemente irregulares; disco com calosidade verde, oblonga, côncava, glandular-tricomatosa, com ápice truncado e reflexo. Coluna 2,9–3,1 mm compr., geniculada, bruscamente curvada para frente, provida na base por dois apêndices laterais eretos, espatulados, verdes; cavidade estigmática conspícua, arredondada; rostelo projetado para frente e para cima; ápice da coluna com margem inteira; antera ovada, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo a região mediana; polinário com viscídio ovado.

Material adicional examinado: BRASIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Morro do Ribeirão, 14.II.1967, fl., *R.M. Klein 7173* (FLOR); Morro do Rio Vermelho, 11.II.1969, fl., *R.M. Klein & A. Bresolin 8217* (FLOR); Morro Costa da Lagoa, 13.XI.1969, fl., *R.M. Klein 8213* (FLOR); Morro do Ribeirão, 14.II.1969, fl., *R.M. Klein 8213* (FLOR); Pântano do Sul, 21.I.1971, fl., *A. Bresolin 133* (FLOR); Vargem Grande, 20.II.1974, fl., *A. Bresolin 1121* (FLOR). Joinville,

Morro da Tromba, 14.I.2008, fl., *W. Mancinelli 821* (JOI). Palhoça, Morro do Cambirela, 23.II.1972, fl., *R.M. Klein & A. Bresolin 10074* (FLOR); Praia da Ponta do Papagaio, 08.I.2016, fl., *C.A. Royer 95* (UPCB). Paulo Lopes, Bom Retiro, 19.XI.1973, fl., *R.M. Klein & A. Bresolin 10833* (FLOR). SÃO PAULO: Caraguatatuba, 13.I.2016, fl., *C.A. Royer & M. Rodrigues 96* (UPCB).

Zygostates pellucida possui registro somente para o litoral paranaense (Blum *et al.* 2011) (Fig. 9). Apesar do espécime citado em Blum *et al.* (2011) não ter sido localizado, a espécie é bem distribuída nos demais estados do sul e sudeste do Brasil, ocorrendo no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo (BFG 2015). A descrição e ilustração aqui fornecidos baseiam-se em *C.A. Royer 95* (UPCB).

Segundo os critérios da IUCN (2001), *Z. pellucida* deve ser enquadrada na categoria "Criticamente em Perigo" (CR; B1b(i,ii)). Ainda que coletada em unidade de conservação, a espécie possui somente um registro para o estado.

Zygostates pellucida pode ser reconhecida através da forma das pétalas distintamente glandular-tricomatosas, curvadas para frente e fortemente convexas, pelo labelo panduriforme, e pela coluna geniculada e bruscamente curvada para a frente. Floresce de novembro a fevereiro.

8. *Zygostates pustulata* (Kräenzl.) Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg. 22: 69. 1926.

= *Ornithocephalus pustulatus* Kräenzl. Kongl. Svenska Vetensk. Acad. Handl., n.s. 46(10): 77. 1911.

= *Dipteranthus pustulatus* (Kräenzl.) Pabst, Orquídea (Rio de Janeiro) 28(3): 167. 1966.

= *Ornithocephalus dusenianus* Kräenzl. Ark. Bot. 16(8): 26. 1921.

= *Zygostates duseniana* (Kräenzl.) Pabst Arch. Jard. Bot. Rio de Janeiro. 14: 27. 1956.

Fig. 4K-P

Planta 76,1–120 mm alt., pendente ou às vezes ereta. Raízes dispersas, glabras, distribuídas ao longo de um caule alongado, ramificado, folioso, de até ca. 70 mm de compr. Pseudobulbos 2,8–5 × 0,7–1,4 mm, unifoliados, glabros, elipsoides, lisos, esparsos, parcialmente cobertos pelas

bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 25,6–40,4 × 2,3–2,7 mm, verde-acizentadas, carnosas, lanceoladas a espatuladas, glabras, abaxialmente quilhadas, sulcadas adaxialmente, torcidas, ápice acuminado. Folhas apicais similares às laterais, 21,1–33,2 × 1,9–3,1 mm. Inflorescência 38,3-63 mm compr., ereta ou arqueada; brácteas 1,6–5 × 0,4–1,1 mm, laxas, ovadas a lanceoladas, glabras, côncavas, abaxialmente quilhadas. Flores simétricas, geralmente não-ressupinadas. Sépala dorsal 2,4–2,8 × 1–1,4 mm, branca, reflexa, ovada à elíptica, ligeiramente côncava, abaxialmente quilhada, ápice agudo, margens inteiras. Sépalas laterais 1,9–2,8 × 1,1–1,4 mm, brancas, reflexas, obliquas, ligeiramente côncavas, ápice agudo, margens inteiras. Pétalas 3,8–4,7 × 2,3–2,5 mm, brancas, patentes, elípticas, planas, glabras, abaxialmente quilhadas, ápice agudo a obtuso, margens inteiras. Labelo 3,6–4,6 × 2,3–3,1 mm, branco, patente, ovado, côncavo, abaxialmente quilhado, ápice agudo a obtuso, margens inteiras; disco com calosidade verde, subquadrada, côncava, glandular-tricomatosa, bilobada no ápice. Coluna 2,3–3,4 mm compr., fortemente curvada para frente e fundida com o calo presente na base do labelo, desprovida de apêndices; cavidade estigmática inconspícua; rostelo adaxialmente caniculado, curvado para cima, paralelo à curvatura do labelo, assimétrico, o ápice dilatado, distintamente entumescido e torcido; ápice da coluna com margem inteira; antera ovada, brevemente rostrada, as margens inteiras; polinário com víscidio ovado, inserido numa depressão lateral na região apical do rostelo.

Material examinado: BRASIL. PARANÁ: Campina Grande do Sul, Serra Ibitiraquire, 10.IV.2006, fl., *O.S. Ribas et al. 7175* (MBM). Corumbataí do Sul, Córrego Palmital, 14.III.2008, fl., *H.C.L. Geraldino 492* (HCF). Morretes, Pico Marumbi, Serra do Mar, 22.II.1962, fl., *M. Leinig 280* (HB); Estrada da Graciosa, Alto da Serra 16.IV.1975, fl., *G. Hatschbach 36642* (HB, MBM); Parque Estadual do Pico Marumbi, 20.IV.1998, fl., *C. Giongo 40* (UPCB); Parque Estadual do Pico Marumbi, 25.III.1999, fl., *C. Giongo et al. 139* (UPCB); Parque Estadual do Pico Marumbi, 27.II.2001, fl., *M.P. Petean 162* (UPCB); Serra Marumbi, 22.II.2005, fl., *E.F. Costa et al. 35* (MBM); Serra da Prata, 09.XI.2009, fr., *C.T. Blum & M.L. Brotto 659* (EFC); Serra da Farinha Seca, Morro Mãe Catira, 21.IV.2014, fl., *C.T. Blum 1603* (EFC); Mãe Catira, 30.III.2015, fl., *T.F.*

Santos & R. Kersten 76 (UPCB). Piraquara, Roça Nova, Serra do Mar, 18.II.1911, fl. cult., *Dusén 11608* (S); Morro Anhangava, 08.IV.1951, fl., *G. Hatschbach 2212* (HB, MBM, PACA, SP). Quatro Barras, Casa Ypiranga em Silva prim., 02.IV.1910, fl., *F. Lange 9856=1184=11392* (HB); Casa Ypiranga em Silva prim., 18.III.1916, fl. cult., *P.K.H. Dusén 18029* (S); Rio do Corvo, 01.IV.1969, fl., *G. Hatschbach 21308* (HB, MBM); Morro Mãe Catira, 09.IV.1986, fl., *J. Cordeiro & A. Manosso 279* (MBM).

Zygostates pustulata é encontrada no Litoral, Serra do Mar e Primeiro Planalto, habitando a Floresta Ombrófila Densa (Fig. 9). Ocorre também no estado de Santa Catarina (BFG 2015).

Segundo os critérios da IUCN (2001), a espécie é considerada "Vulnerável" (VU; B1b(i,ii)), pois ocorre em apenas seis localidades no estado e possui área de ocorrência (EOO) e ocupação (AOO) reduzidas. Além disso, não é encontrada em Unidades de Conservação no Paraná.

Zygostates pustulata possui hábito semelhante à *Z. dasyrhiza*, mas difere dessa por possuir raízes glabras. A coloração das flores também é semelhante nas duas espécies, mas *Z. pustulata* é facilmente reconhecida pelas pétalas bem maiores que as sépalas e o rostelo torcido e entumescido no ápice. Floresce de fevereiro a abril.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos curadores dos herbários aqui citados pelo empréstimo dos materiais, ao Marie Selby Botanical Gardens pelo apoio financeiro para a confecção dos desenhos a nanquin, à Helena Ignowski pela realização das ilustrações. Somos também gratos ao Dr. Wade Collier pela ajuda na montagem das estampas. CAR agradece à CAPES pela bolsa de doutorado concedida, ao IAP (N° 32.15) e ao ICMBio (SISBIO – 30642-1) pelas autorizações de coletas. ECS agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela Bolsa de Produtividade em Pesquisa do CNPq-Nível 2 (proc. 311001/2014-9) e ao MCTI/CNPq Nº 14/2013 – Universal (proc. 485396/2013-0). ALVTB agradece à CAPES pela Bolsa Programa Pesquisador Visitante Especial (PVE), 88881.065009/2014-0.

Referências

Bachman, S.; Moat, J.; Hill, A.W.; De La Torre, J. & Scott, B. 2011. Supporting Red List Threat assessments with GeoCAT: geospatial conservation assessment tool. *In*: Smith, V. & Penev, L. (eds.) e-Infratructures for data publishing in biodiversity science. Zookeys 150: 117-126.

BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in BRASIL. Rodriguésia 66: 1085-1113.

Blum, C.T.; Roderjan, C.V. & Galvão, F. 2011. Composição florística e distribuição altitudinal de epífitas vasculares da Floresta Ombrófila Densa na Serra da Prata, Morretes, Paraná, Brasil. Biota Neotropica 11: 141-159.

Chase, M.W. & Toscano de Brito, A.L.V. 2009. *Zygostates*. *In*: Pridgeon, A.M.; Cribb, P.J.; Chase, M.W. & Rasmussen, F. (orgs.). *Genera Orchidacearum*. Oxford University Press Inc., New York, Epidendroideae (Part 2), 1 ed., vol. 5, pp. 391-394.

Chase, M.W.; Cameron, K.M.; Freudenstein, J.V.; Pridgeon, A.M.; Salazar, G.; van den Berg, C. & Schuiteman, A. 2015. An uptaded classification of Orchidaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 177: 151-174.

Dallwitz, M.J.; Paine, T.A. & Zurcher, E.J. 2011. DELTA Editor: description language for taxonomy. Disponível em <http://delta-intkey.com>. Acesso em 16 fevereiro 2016.

Gonçalves, E.G. & Lorenzi, H. 2011. Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. 2. Ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa. 512p.

Harris, J.G. & Harris, M.W. 1994. Plant identification terminology: an illustrated glossary. Spring Lake Publishing, Spring Lake. 206p.

Hatschbach, G.G. & Ziller, S.R. 1995. Lista vermelha de plantas ameaçadas de extinção no estado do Paraná. SEMA/GTZ, Curitiba. 139p.

Hijmans, R.J.; Guarino, L.; Bussink, C.; Mathur, P.; Cruz, M.; Barrentes, I. & Rojas, E. 2012. DIVA-GIS: A geographic information system for the analysis of species distribution data. Versão 7.5. Disponível em <http://www.diva-gis.org>. Acesso em 07 março 2016.

IUCN Standards and Petitions Subcommittee. 2001. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 8.1. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee in March 2010. Disponível em <http://jr.iucnredlist.org/documents/redlist_cats_crit_en.pdf>. Acesso em 29 agosto 2016.

Johnson, A.E. 2001. Las Orquídeas del Parque Nacional Iguazú. L.O.L.A., Buenos Aires. 296p.

Lange, M.B.R. 1997. Programa Guaraqueçaba – Seis anos de atuação da Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem (SPVS) na Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba, PR. *In*: *Congresso Brasileiro de Unidades De Conservação*. Curitiba: IAP/UNILIVRE/Rede Nacional Pró Unidades de Conservação, v. 2. 911p.

Lindley, J. 1837. Burlingtónia cándida. Snow-white Burlingtonia. Edwards's Botanical Register 23: t. 1927.

Kräenzlin, F.W.L. 1911. Beiträge zur Orchideenflora Südamerikas. Kongliga Svenska Vetenskaps Academiens nya Handlingar. 46:10. 105p.

Maack, R. 1968. As zonas das paisagens naturais. *In*: Maack, R. *Geografia física do Paraná.* BADEP, UFPR, Curitiba. 526p.

Pabst, G.F.J. & Dungs, F. 1977. Orchidaceae Brasilienses, Vol. 2. Brucke-Verlag Kurt Schmersow, Hildesheim. 418p.

Roderjan, C.V.; Kuniyoshi, Y.S. & Galvão, F. 1993. As regiões fitogeográficas do Estado do Paraná. Acta Forestalia Brasiliensis 1: 1-7.

Sambin, A. & Chiron, G.R. 2015. Premier enregistrement de *Zygostates* Lindley (Orchidaceae) en Guyane française. Richardiana 16: 51-56.

Smidt, E.C. 2014. Orchidaceae. *In*: Kaehler, M.; Goldenberg, R.; Labiak, P.H.; Ribas, O.S.; Vieira, A.O.S. & Hatschbach, G.G. (eds.). *Plantas vasculares do Paraná*. Departamento de Botânica, Curitiba. Pp.156.

Stern, W.T. 2004. Botanical Latin. Timber Press, Portland. 546p.

Thiers, B. [continuously updated]. Index Herbariorum: The Herbaria of the world. New York Botanical Garden. Disponível em: <http://sweetgum.nybg.org/ih/>. Acesso em 09 de março de 2016.

Toscano de Brito, A.L.V. 1994. Systematic studies in the subtribe Ornithocephalinae (Orchidaceae). Tese de Doutorado. Universidade de Reading e Royal Botanic Gardens, Kew. 652p.

Toscano de Brito, A.L.V. 2001. Systematic review of the *Ornithocephalus* group (Oncidiinae:Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella.* Lindleyana 16: 157-217.

Veloso, H.P.; Rangel Filho, A.L.R. & Lima, J.C.A. 1991. Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal. IBGE/Projeto Radambrasil, Rio de Janeiro. 123p.

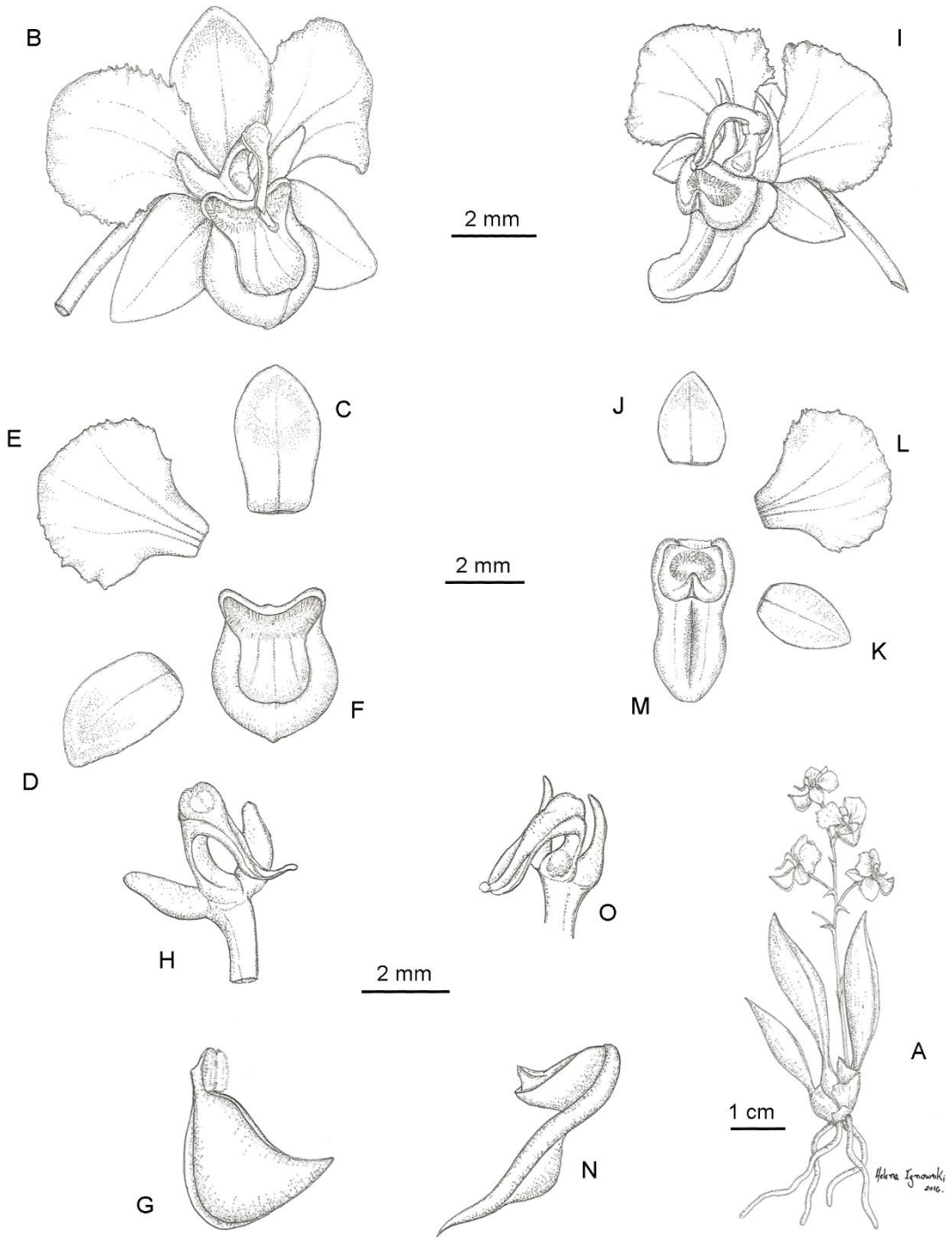


Figura 1 – A-H: *Zygostates alleniana*: A- Hábito; B- Flor; C- Sépala dorsal, vista frontal; D- Sépala lateral, vista frontal; E- Pétala, vista frontal; F- Labelo, vista frontal; G- Labelo, vista lateral; H- Coluna, vista frontal (*C.A. Royer 56)*. I-N: *Z. multiflora*: I- Flor; J- Sépala dorsal, vista frontal; K- Sépala lateral, vista frontal; L- Pétala, vista frontal; M- Labelo, vista frontal; N- Labelo, vista lateral; O- Coluna, vista frontal (*J. Cordeiro & J.M. Silva 234*).

Figure 1 – A-H: *Zygostates alleniana*: A- Habit; B- Flower; C- Dorsal sepal, frontal view; D- Lateral sepal, frontal view; E- Petal, frontal view; F- Lip, frontal view; G- Lip, lateral view; H- Column, frontal view (*C.A. Royer 56)*. I-N: *Z. multiflora*: I- Flower; J- Dorsal sepal, frontal view; K- Lateral sepal, frontal view; L- Petal, frontal view; M- Lip, frontal view; N- Lip, lateral view; O- Column, frontal view (*J. Cordeiro & J.M. Silva 234*).

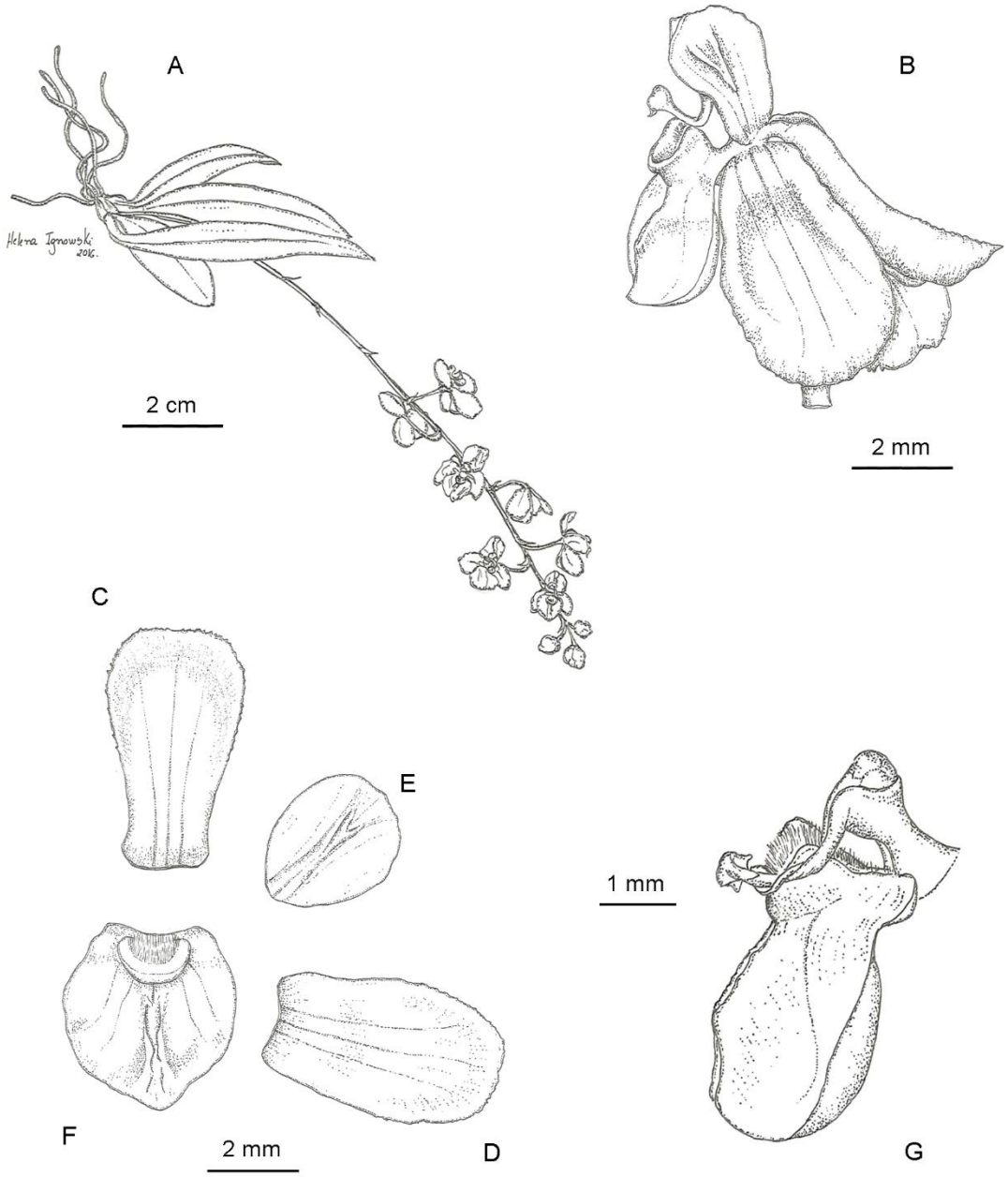


Figura 2 – A-G: *Zygostates bradei*: A- Hábito; B- Flor; C- Sépala dorsal, vista frontal; D- Sépala lateral, vista frontal; E- Pétala, vista frontal; F- Labelo, vista frontal; G- Labelo e coluna, vista lateral (*C.A. Royer 58)*.

Figure 2 – A-G: *Zygostates bradei*: A- Habit; B- Flower; C- Dorsal sepal, frontal view; D- Lateral sepal, frontal view; E- Petal, frontal view; F- Lip, frontal view; G- Lip and column, lateral view (*C.A. Royer 58)*.

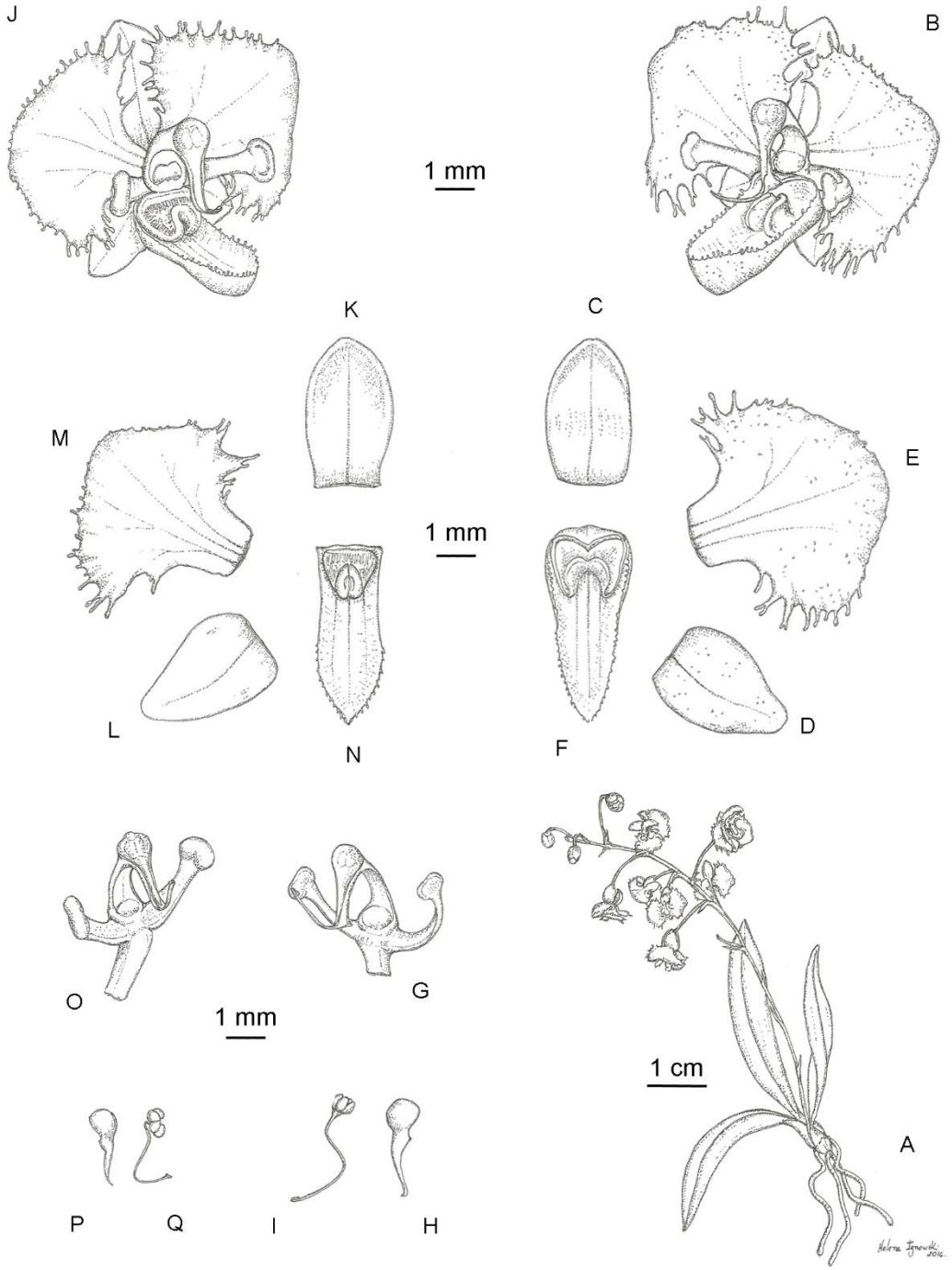


Figura 3 – A-I: *Zygostates lunata*: A- Hábito; B- Flor; C- Sépala dorsal, vista frontal; D- Sépala lateral, vista frontal; E- Pétala, vista frontal; F- Labelo, vista frontal; G- Coluna, vista frontal; H- Capa da antera, vista lateral; I- Polinário, vista lateral (*M. Borgo et al. 590)*. J-K: *Z. cornuta*: J- Flor; K- Sépala dorsal, vista frontal; L- Sépala lateral, vista frontal; M- Pétala, vista frontal; N- Labelo, vista frontal; O- Coluna, vista frontal; P- Antera, vista lateral; Q- Polinário, vista lateral (*E.C. Smidt 972*).

Figure 3 – A-I: *Zygostates lunata*: A- Habit; B- Flower; C- Dorsal sepal, frontal view; D- Lateral sepal, frontal view; E- Petal, frontal view; F- Lip, frontal view; G- Column, frontal view; H- Anther, lateral view; I- Pollinarium, lateral view (*M. Borgo et al. 590)*. J-Q: *Z. cornuta*: J- Flower; K- Dorsal sepal, frontal view; L- Lateral sepal, frontal view; M- Petal, frontal view; N- Lip, frontal view; O- Column, frontal view; P- Anther, lateral view; Q- Pollinarium, lateral view (*E.C. Smidt 972*).

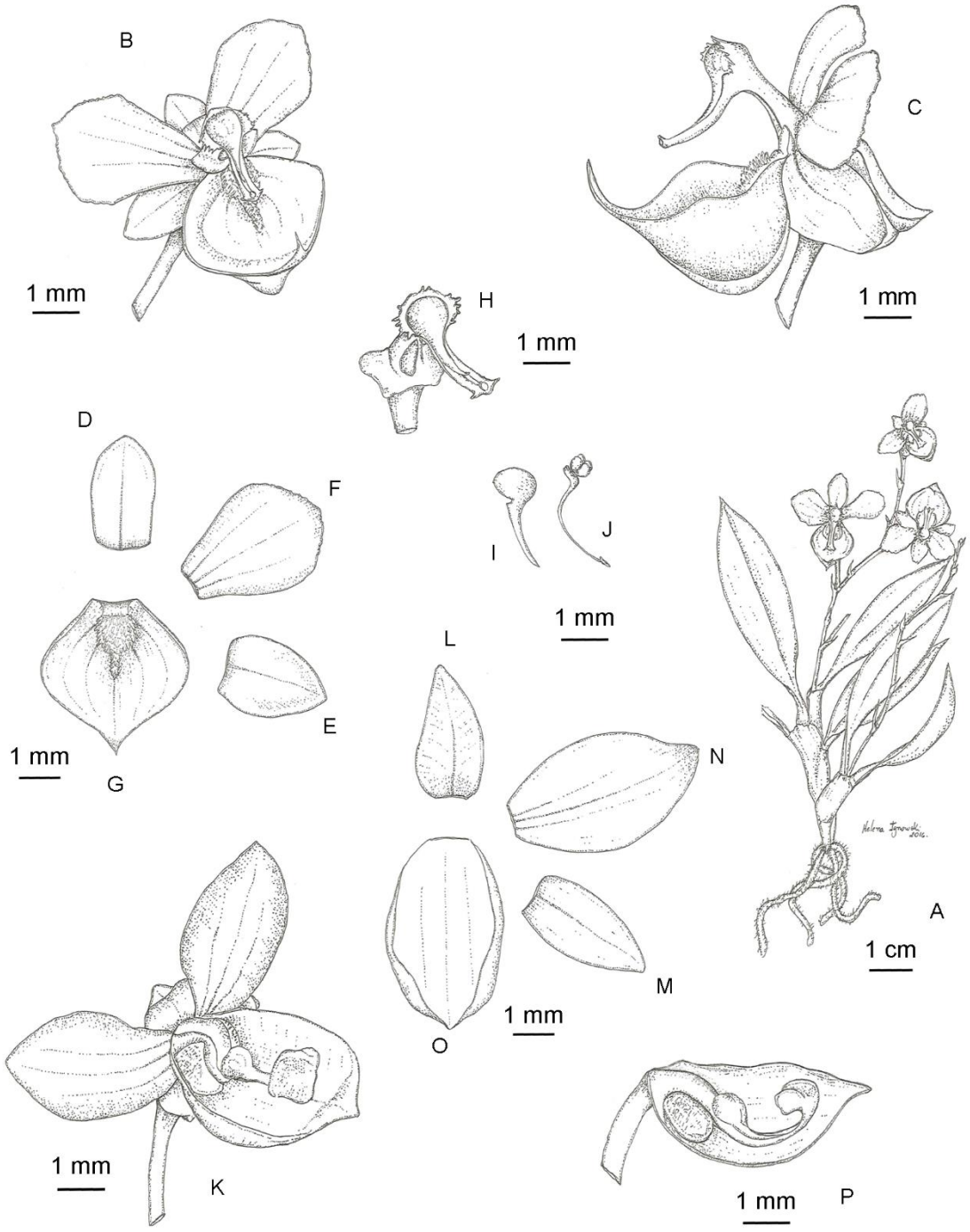


Figura 4 – A-J: *Zygostates dasyrhiza*: A- Hábito; B- Flor; C- Flor, vista lateral; D- Sépala dorsal, vista frontal; E- Sépala lateral, vista frontal; F- Pétala, vista frontal; G- Labelo, vista frontal; H- Coluna, vista frontal; I- Antera, vista lateral; J- Polinário, vista lateral (*C.A. Royer & D.C. Imig 90)*. K-P: *Z. pustulata:* K- Flor; L- Sépala dorsal, vista frontal; M- Sépala lateral, vista frontal; N- Pétala, vista frontal; O- Labelo, vista frontal; P- Labelo e coluna em vista lateral, o labelo em secção longitudinal. (*E.F. Costa et al. 35*).

Figure 4 – A-J: *Zygostates dasyrhiza*: A- Habit; B- Flower; C- Flower, lateral view; D- Dorsal sepal, frontal view; E- Lateral sepal, frontal view; P- Petal, frontal view; G- Lip, frontal view; H- Column, frontal view; I- Anther, lateral view; J- Pollinarium, lateral view (*C.A. Royer & D.C. Imig 90)*. K-P: *Z. pustulata*: K - Flower; L- Dorsal sepal, frontal view; M- Lateral sepal, frontal view; N- Petal, frontal view; O- Lip, frontal view; P- Lip and column, lateral view, lip longitudinally sectioned. (*E.F. Costa et al. 35*).

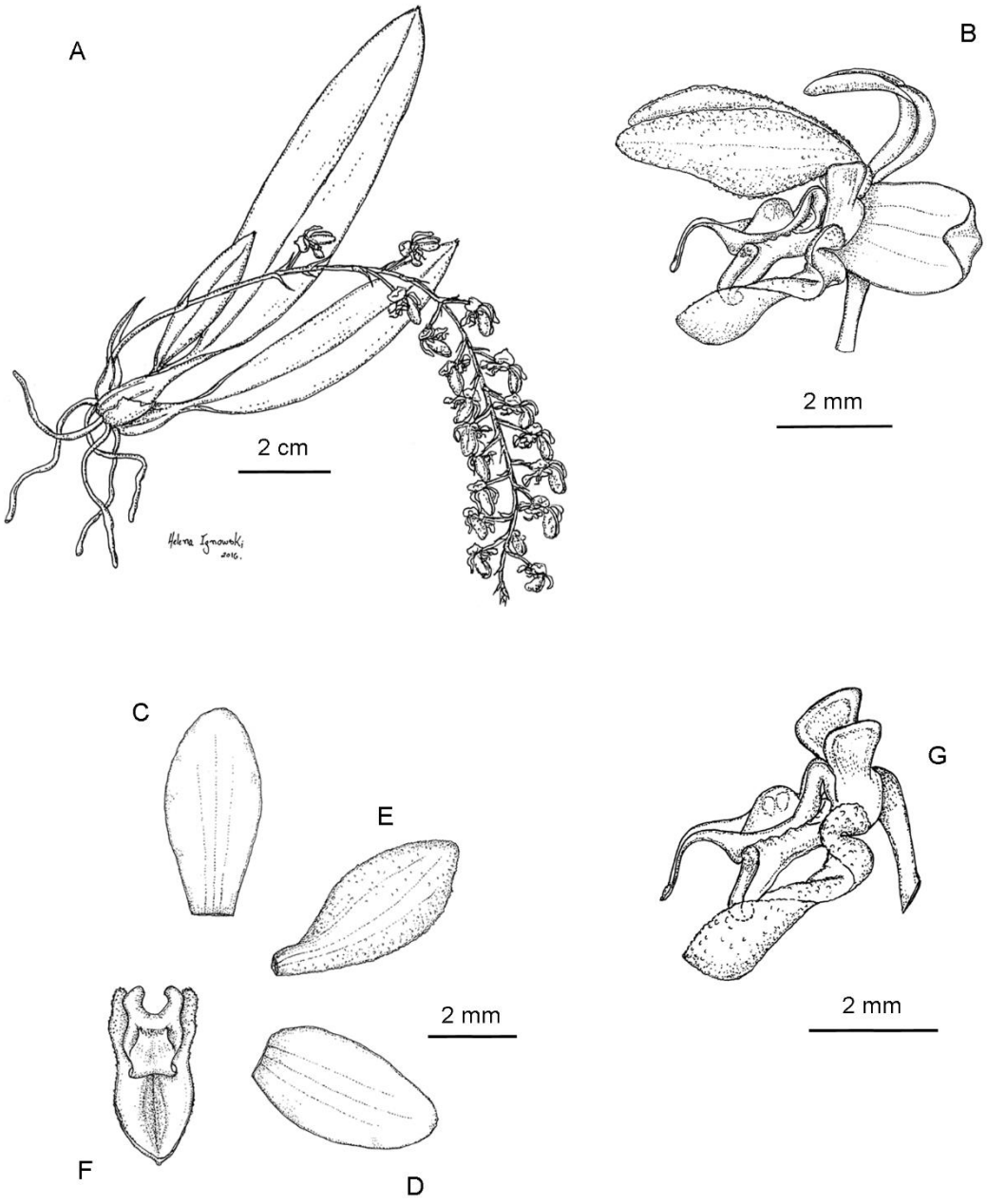


Figura 5 – A-G: *Zygostates pellucida*: A- Hábito; B- Flor; C- Sépala dorsal, vista frontal; D- Sépala lateral, vista frontal; E- Pétala, vista frontal; F- Labelo, vista frontal; G- Coluna com labelo, vista lateral (*C.A. Royer 95*).

Figure 5 – A-G: *Zygostates lunata*: A- Habit; B- Flower; C- Dorsal sepal, frontal view; D- Lateral sepal, frontal view; E- Petal, frontal view; F- Lip, frontal view; G- Column with lip, lateral view (*C.A. Royer 95*).

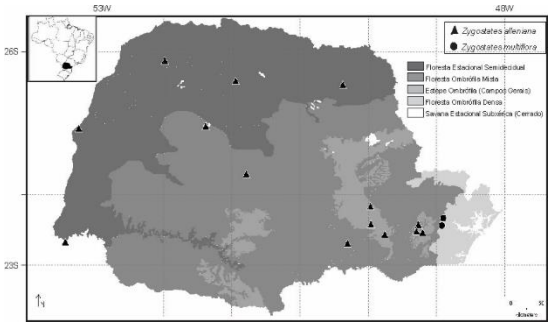


Figura 6 - Distribuição de *Zygostates alleniana* e *Zygostates multiflora* no Paraná.

Figure 6 – Distribution of *Zygostates alleniana* and *Zygostates multiflora* in Paraná.

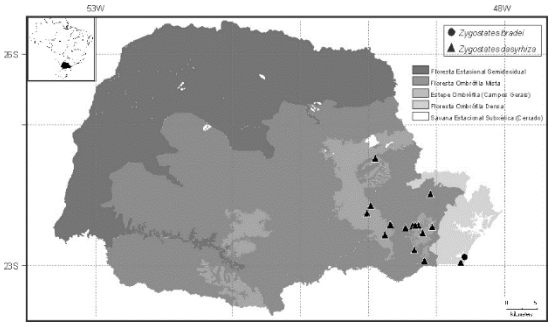


Figura 7 - Distribuição de *Zygostates bradei* e *Zygostates dasyrhiza* no Paraná.

Figure 7 – Distribution of *Zygostates bradei* and *Zygostates dasyrhiza* in Paraná.

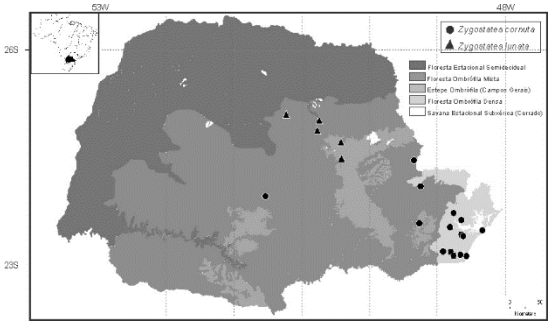


Figura 8 - Distribuição de *Zygostates cornuta* e *Zygostates lunata* no Paraná.

Figure 8 – Distribution of *Zygostates cornuta* and *Zygostates lunata* species in Paraná.

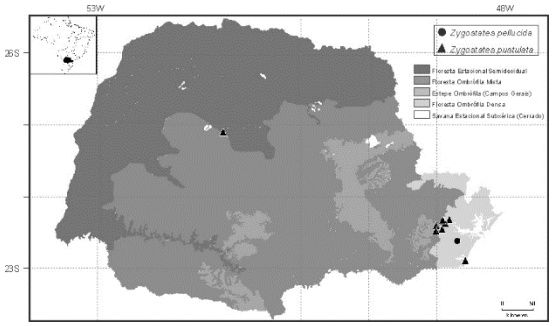


Figura 9 - Distribuição de *Zygostates pellucida* e *Zygostates pustulata* no Paraná.

Figure 9 – Distribution of *Zygostates pellucida* and *Zygostates pustulata* in Paraná.

6. CAPÍTULO 5 — *Centroglossa* Barb. Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae) in the state of Paraná: rediscovery and lectotypification of *Centroglossa tripollinica*

(Artigo publicado em 2017 na revista *Hoehnea* 44(1): 139-144 – Revista do Instituto de Botânica de São Paulo ISSN - 0073-2877 (versão impressa) / ISSN - 2236-8906 (versão eletrônica).

***Centroglossa tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb.Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotypification and rediscovery in the state of Paraná**

Carla Adriane Royer[1, 4, 5], A. L. V. Toscano de Brito[2], Eric de Camargo Smidt[1,3]

1. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Av. 24-A, 1515, 13506-900 Rio Claro, São Paulo, BRASIL.

2. Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL. 34236, U.S.A. Associate, Oakes Ames Orchid Herbarium, Harvard University Herbarium, U.S.A.

3. Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Av. Cel. Francisco H. dos Santos, s.n., Jardim das Américas 80530-900 Curitiba, PR, BRASIL.

4. Part of the senior author´s doctoral thesis.

5. Corresponding author: carladriane@gmail.com

Centroglossa tripollinica in Paraná state

ABSTRACT - (*Centroglossa tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotypification and rediscovery in the state of Paraná): The genus *Centroglossa* consists of six species, all endemic to the Atlantic Forest in southern and southeastern BRASIL. It was known to occur in the state of Paraná based on three specimens of *C. tripollinica* collected by the Swedish botanist Per Karl Hjalmar Dusén at the beginning of last century. During recent fieldwork in BRASIL, this species was rediscovered in Paraná. The aim of this article is to confirm the presence of *C. tripollinica* in the state of Paraná, provide a detailed description and illustrations of this species, and discuss its conservation status. A lectotype is designated for *C. tripollinica*.
Keywords: Atlantic Forest, Biodiversity, Flora of Paraná, IUCN.

RESUMO - (*Centroglossa tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotipificação e redescoberta no estado do Paraná): O gênero *Centroglossa* consiste de seis espécies endêmicas da Mata Atlântica do sul e sudeste brasileiros. No estado do Paraná, o gênero encontrava-se registrado por três coleções pertencentes à *C. tripollinica*, todas realizadas pelo botânico suéco Per Karl Hjalmar Dusén. Durante a realização de recentes trabalhos de campo no Paraná, a referida espécie foi redescoberta no estado. O objetivo deste artigo é confirmar a presença de *C. tripollinica* no Paraná, detalhando-a por meio de uma descrição e ilustração, além de discutir o seu presente estado de conservação. Um lectótipo é selecionado para *C. tripollinica*.

Palavras-chave: Biodiversidade, Flora do Paraná, IUCN, Mata Atlântica

Introduction

The genus *Centroglossa* Barb.Rodr. consists of six species of erect to pendulous, small epiphytic orchids restricted to the Atlantic Forest in southern and southeastern Brazil. It is a member of the *Ornithocephalus* clade of subtribe Oncidiinae and apparently related to the genus *Zygostates* Lindl., with which it shares similar vegetative and floral morphology (Toscano de Brito 2001, Chase & Toscano de Brito 2009). However, it is readily distinguished from *Zygostates* by its distinctive spurred lip.

Barbosa Rodrigues (1877) described *Centroglossa* based on two species, *C. macroceras* Barb.Rodr. and *C. tripollinica* (Barb.Rodr.) Barb.Rodr. The latter species was originally described as *Ornithocephalus tripollinicus* Barb.Rodr. and was selected as the lectotype of the genus (Toscano de Brito 2001).

In this work we describe and illustrate *Centroglossa tripollinica*, the only species so far known to occur in Paraná. We also provide nomenclatural notes and conservation status of this species in the state.

Material and Methods

This study was based on review of literature, examination of living fertile plants and specimens deposited in the herbaria BHCB, BR, HB, P, RB, S, SP and UPCB (acronyms according to Thiers 2016), and supplemented with material collected on fieldwork. Morphological descriptions followed the terminology used by Toscano de Brito (1994, 2001) and Stern (2004). Synonyms accepted in this study followed Toscano de Brito (2001).

The conservation status of the taxon was inferred by following IUCN's recommendations (2010), which considered the number of locations, the area of occupancy, and the extent and quality of the habitat.

The description of the species's habitat was based on Maack (1968) and Veloso *et al.* (1991).

Results and Discussion

Centroglossa tripollinica is the only representative of this genus in Paraná. A new record (*C.A. Royer et al. 134*) confirms the unpublished information provided by one of us (Toscano de Brito1994), who previously cited the presence of the genus *Centroglossa* in the state. This citation was based on a specimen of *C. tripollinica* collected by the Swedish botanist and explorer Per Karl Hjalmar Dusén (1855–1926), which is deposited in the herbarium of the Swedish Museum of Natural History (S).

Centroglossa tripollinica (Barb.Rodr.) Barb.Rodr. Gen. Sp. Orchid. 2: 235. 1882. = *Ornithocephalus tripollinicus* Barb.Rodr., Gen. Sp. Orchid. 1: 136. 1877. TYPE: BRASIL: MINAS GERAIS: Poços de Caldas, in wet forests, flowered in April, *J. Barbosa Rodrigues s.n.* (Holotype: Lost; **lectotype here designated**: illustration tab. 312, fig. A, vol. 6, in Iconogr. Orchid. Brésil at the Library of Rio de Janeiro Botanical Garden, cited as tab. 461 (then unpublished) in Barb.Rodr. loc.cit; copied and reproduced in black and white in Cogn., Fl. Bras. (Mart.) 3(5), tab.46, fig.1, 1.1904.; reproduced in color in Sprunger *et al.*, 1996, vol. 1: 440, fig. A).

Figures 1–3.

Plant sympodial, 32–48 mm tall. Roots caespitose, hairy. Pseudobulbs 3.6–7.5 × 1.4–2.2 mm, unifoliate, oblong, partially covered by the sheaths of the lateral leaves. Lateral leaves 14.8–32.6 × 1.9–3.6 mm, distichous, bifacial, elliptical, fleshy, abaxially keeled, apex acute, articulated with a V-shaped sheath. Apical leaf similar to the lateral ones, sessile and articulated with the pseudobulbs. Inflorescence 16–21 mm long, emerging from the base of the pseudobulbs, laxly covered by lanceolate bracts. Flowers resupinate or non-resupinate. Sepals 2.2–2.4 × 1.5–2 mm, white, slightly greenish at apex, incurved, obovate, concave, abaxially keeled, margin obscurely crenulate, apex obtuse. Petals 1.9–2.8 × 1.6–1.9 mm, white, incurved, obovate, concave, abaxially keeled, margins obscurely crenulate, apex obtuse. Lip 3.2–4.5 × 1.8–2.4 mm, white, deflexed, distinctly infundibuliform, markedly spurred, obscurely lobed at apex, glandular within, with a

fleshy, white callus embedded on the disc near the attachment to column, margins entire, apex obtuse. Column short, straight or a slightly curved, with a pair of conspicuous, lateral, arm-like, white appendages at base; stigmatic cavity rounded, occupying a large portion of the abaxial surface of the column; rostellum spreading or projected forwards; anther ca. 1 mm long, acute; pollinia four, arranged in two superposed, subequal pairs, stipe elongate, linear-spatulate, viscidium, dorsal, elliptic. Capsule ca. 10.8 × 6.5 mm, triangular in cross-section with wavy wings at angles.

Material examined - BRASIL. PARANÁ: WITHOUT LOCALITY, 1908–1916, *P.K.H. Dusén s.n.* (S1644828). Quatro Barras, Morro Mãe Catira, Rodovia da Graciosa, 13-V-2016, *C.A. Royer et al. 134* (UPCB, *spirit*).

Additional material examined - BRASIL. WITHOUT LOCALITY, obtained from a private collector, fl. cult. in Curitiba by M. Klingelfus s.n., 22-VI-2015, *A. Toscano de Brito 3408* (UPCB, spirit); 01-VI-2016, *C.A. Royer* 135 (UPCB, spirit); 01-VI-2016, *C.A. Royer* 135 (UPCB, spirit). ESPÍRITO SANTO: Castelo, s.d., *A.C. Brade 30* (HB). MINAS GERAIS: Bom Jardim de Minas, 12-V-1961, *J.E. Saléh 60* (HB). Caldas, near Fazenda Capivary, 15-V-1874, *C.W.H. Mosén 1708* (S, spirit). Caldas, s.d., *A.F. Regnell III-1171* (S). Caldas, Pedra Branca, 18-VIII-1857, *A.F. Regnell III-1170* (S; SP; P). Conceição do Mato Dentro, Parque Natural Municipal do Ribeirão do Campo, 08-VIII-2002, *R.C. Mota et al. 2516* (BHCB). RIO DE JANEIRO: Itatiaia, lote 88, 900 m, II-1942, *A.C. Brade 17336* (RB). Serra dos Orgãos, ?-1887, *J.T. de Moura 49* (BR).

Centroglossa tripollinica was first described in the genus *Ornithocephalus* Hook. based on a specimen from Poços de Caldas, in the state of Minas Gerais, southeastern Brazil. The type specimen of *Ornithocephalus tripollinicus* was lost (Cribb & Toscano de Brito, 1996), and the only extant original material is the illustration which appeared in Barbosa Rodrigues's Iconographie des orchidées du Brésil, which is now deposited in the library of Rio de Janeiro Botanical Garden. This illustration was copied and reproduced in black and white in Cogniaux (1904), and later reproduced in color in Sprunger *et al.* (1996). It is here selected as the lectotype.

Centroglossa tripollinica is apparently well distributed in the Atlantic Forest in southeastern Brazil. However, to our current knowledge no specimen has been collected and deposited in a herbarium in over 40 years. It has been reported for the states of Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro and Paraná (Kraenzlin, 1911; Pabst & Dungs, 1977; BFG, 2015). Hoehne (1953), Pabst & Dungs (1977) and BFG (2015) cited this species for the state of São Paulo, but so far we have been unable to confirm this information. In the state of Paraná, *Centroglossa tripollinica* seems to be uncommon, so far only found in the Floresta Ombrófila Densa in Serra do Mar, a region that houses part of the largest remnant of Atlantic Forest in Brazil (PROBIO 2007) and presents great richness and diversity of *Ornithocephalus clade* (Royer *et al.* 2014, Estevinho *et al.* 2016). Apart from the specimen collected in the municipality of Quatro Barras (*C.A. Royer et al. 134*), the authors are aware of three other collections by Dusén. One of them, *Dusén s.n.* which is deposited at S (Figure 3), was studied by one of us (ALVTB). It has no precise locality noted and was collected between 1908 and 1916. The other two specimens, *Dusén 10098* and *Dusén 10287*, were cited by Kraenzlin (1911), but unfortunately we have been unable to locate these collections. It is possible that they were destroyed during the bombing of the Berlin herbarium (B) as Kraenzlin's herbarium is known to have been acquired by B in 1907 (Stafleu & Cowan 1979). Two additional collections without provenance, *A. Toscano de Brito 3408* (UPCB) and *C.A. Royer 135* (UPCB), are based on the same individual. They flowered in cultivation in Curitiba and might have been collected in Paraná. One of them, *C.A. Royer 135*, is illustrated in Figure 2a, c–d.

Based on the IUCN criteria (2010), *C. tripollinica* was previously considered "Possibly Extinct" locally, as over 100 years has passed since it was last collected. With present evidence, the species should now be placed in the category "Critically Endangered" (VU D2 CR) in Paraná state, because the area of distribution is very limited, and there is a natural and/or anthropogenic threat.

Acknowledgements

The authors are grateful to Wade Collier for helping assemble the images and editing the text, Helena Ignowski for preparing the black and white illustrations, and the Marie Selby Botanical Gardens for providing funds for the artwork. We thank the following herbaria for the privilege of studying their collections: BHCB, BR, HB, P, RB, S, SP and UPCB. We also thank the Keeper of the Herbarium of the Swedish Museum of Natural History (S) for permission to reproduce the image which appears in Figure 3. CAR and ALVTB acknowledge Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for a doctoral grant and grant Programa Pesquisador Visitante Especial (PVE), 88881.065009/2014-0, respectively. ECS thanks Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for Bolsa de Produtividade em Pesquisa CNPq-Nível 2 (proc. 311001/2014-9) and for grant MCTI/CNPq 14/2013 – Universal (proc. 485396/2013-0).

Literature Cited

Barbosa Rodrigues, J. 1877. Genera et Species Orchidearum Novarum quas Collecit, Descripsit et Iconibus Illustravit. 1 ed. Typographia Nacional, Rio de Janeiro.

BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in BRASIL. Rodriguésia 66(4): 1085–1113.

Chase, M.W. & Toscano de Brito, A.L.V. 2009. *Zygostates*. *In*: A.M. Pridgeon, P.J. Cribb, M.W. Chase & F. Rasmussen (Orgs.). Genera Orchidacearum: Epidendroideae (Part 2), vol. 5, 1 ed. Oxford University Press Inc, New York., pp. 391–394.

Cogniaux, A. 1904. *Centroglossa* Barb. Rodr. *In*: C. F. P. von Martius, A. W. Eichler & I. Urban (eds.). Flora Brasileinsis. Vol. 3, Part 6. R. Oldenbourg, Monachii et Lipsiae, pp. 188–192.

Cribb, P.J. & Toscano de Brito, A.L.V. (1996). Introduction and History. *In*: S. Sprunger, P. J. Cribb & A. L. V. Toscano de Brito A.L.V. (eds.). João Barbosa Rodrigues: Iconographie des orchidées du Brésil. Vol. 1: The Illustrations. Friedrich Reinhardt, Basle, pp. 23–30.

Estevinho, T.F., Toscano de Brito, A.L.V. & Smidt, E.C. 2016. O gênero *Ornithocephalus* Hook. (Orchidaceae: Oncidiinae) nos estados do Paraná e Santa Catarina. Acta Biológica Paranaense 45 (1–2): 1–9

Hoehne, F.C. 1953. *Centroglossa*. *In*: F.C. Hoehne (ed.). Flora Brasílica, Orchidaceas. Vol. 12, n. 7. Companhia Brasileira de Impressão e Propaganda, São Paulo, pp. 375–381.

IUCN Standards and Petitions Subcommittee. 2010. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 8.1. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee in March 2010. Available at http://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf/ (access in 05-VI-2016).

Kraenzlin, F. 1911. Beitrage zur Orchideenflora Südamerikas. Kongl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar 46(10): 76.

Maack, R. 1968. As zonas das paisagens naturais. *In*: R. Maack (ed.). Geografia física do Paraná. BADEP, Curitiba. 526p.

Pabst, G.F.J. & Dungs, F. 1977. Orchidaceae Brasilienses. Vol. 2. Brucke-Verlag Kurt Schmersow, Hildesheim.

PROBIO - Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira. 2007. Levantamento da Cobertura Vegetal Nativa do Bioma Mata Atlântica. Instituto de Estudos Socioambientais do Sul da Bahia (IESB), Rio de Janeiro.

Royer, C.A., Toscano de Brito, A.L.V. & Smidt, E.C. 2014. O gênero *Phymatidium* Lindl. (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná. Rodriguésia 65 (1): 251–260.

Sprunger, S., Cribb, P. & Toscano de Brito A.L.V. (eds.). 1996. João Barbosa Rodrigues: Iconographie des orchidées du Brésil. Vol. 1: The Illustrations. Friedrich Reinhardt, Basle. 540p.

Stafleu, F.A. & Cowan, R.S. 1979. Taxonomic Literature. A selective guide to botanical publications and collections with dates, commentaries and types. 2 ed. Vol. 2. H–Le. Bohn, Scheltema & Holkema, Utrecht.

Stern, W.T. 2004. Botanical Latin. Timber Press, Portland.

Thiers, B. 2016. Index Herbariorum. Part I: The herbaria of the world. New York Botanical Garden. Available at http://sweetgum.nybg.org/ih/ (access in 05-VI-2016).

Toscano de Brito, A.L.V. 1994. Systematic studies in the subtribe Ornithocephalinae (Orchidaceae). Tese de Doutorado. Universidade de Reading e Royal Botanic Gardens, Londres.

Toscano de Brito, A.L.V. 2001. Systematic review of the *Ornithocephalus* group (Oncidiinae: Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella*. Lindleyana 16: 157–217.

Veloso, H.P., Rangel Filho, A.L.R. & Lima, J.C.A. 1991. Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal. IBGE/Projeto Radambrasil, Rio de Janeiro. 123p.

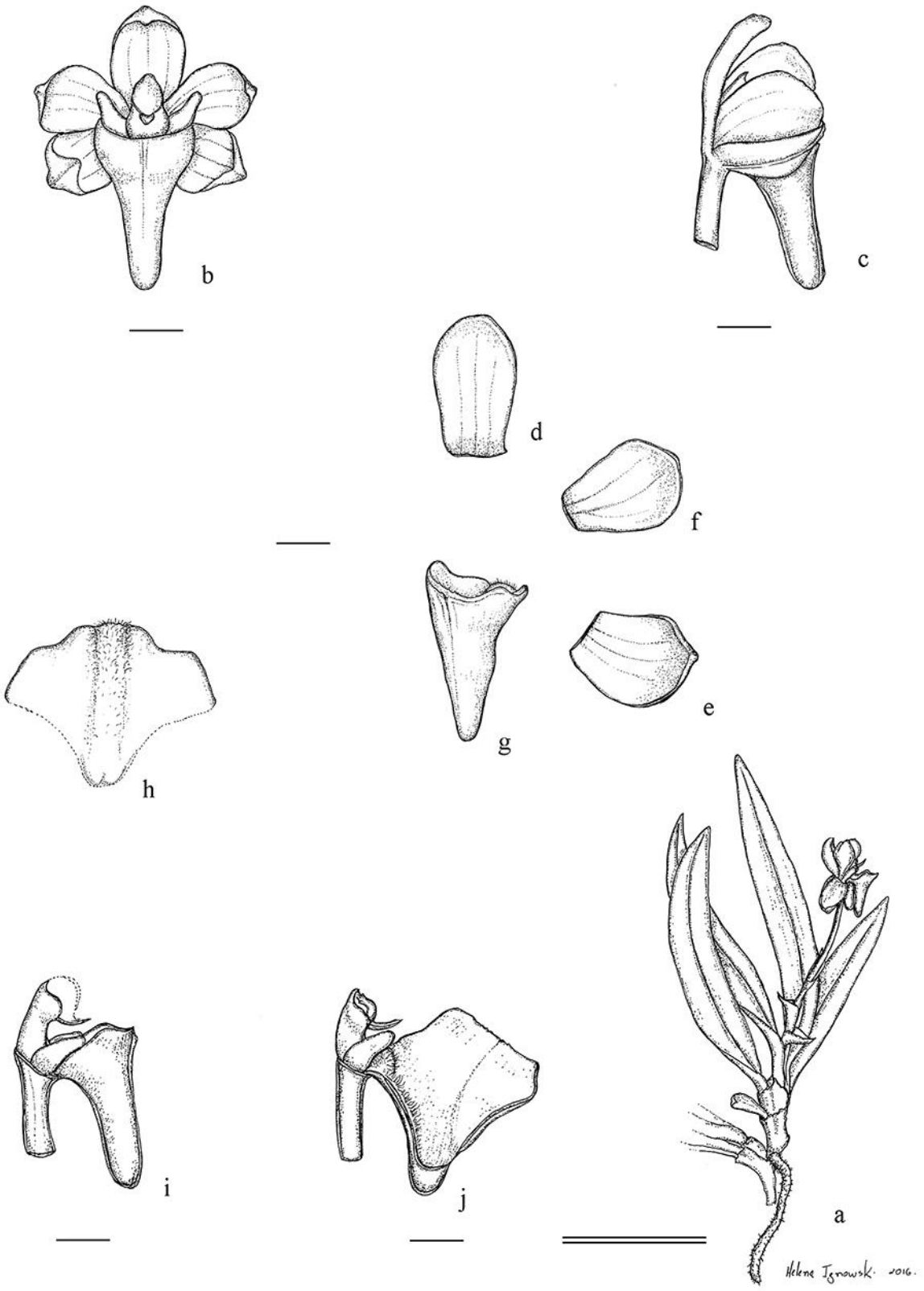


Figure 1. *Centroglossa tripollinica* (Barb.Rodr.) Barb.Rodr. a. Habit; b. Flower, frontal view; c. Flower, lateral view; d. Dorsal sepal; e. Lateral sepal; f. Petal; g. Lip, lateral view; h. Lip,

longitudinal section; i. Ovary, column and lip, lateral view; j. Ovary, column and lip in lateral view, anther removed and lip laterally sectioned (*C.A. Royer 134*). Double-line scale = 1 cm. Single-line scale = 1 mm.

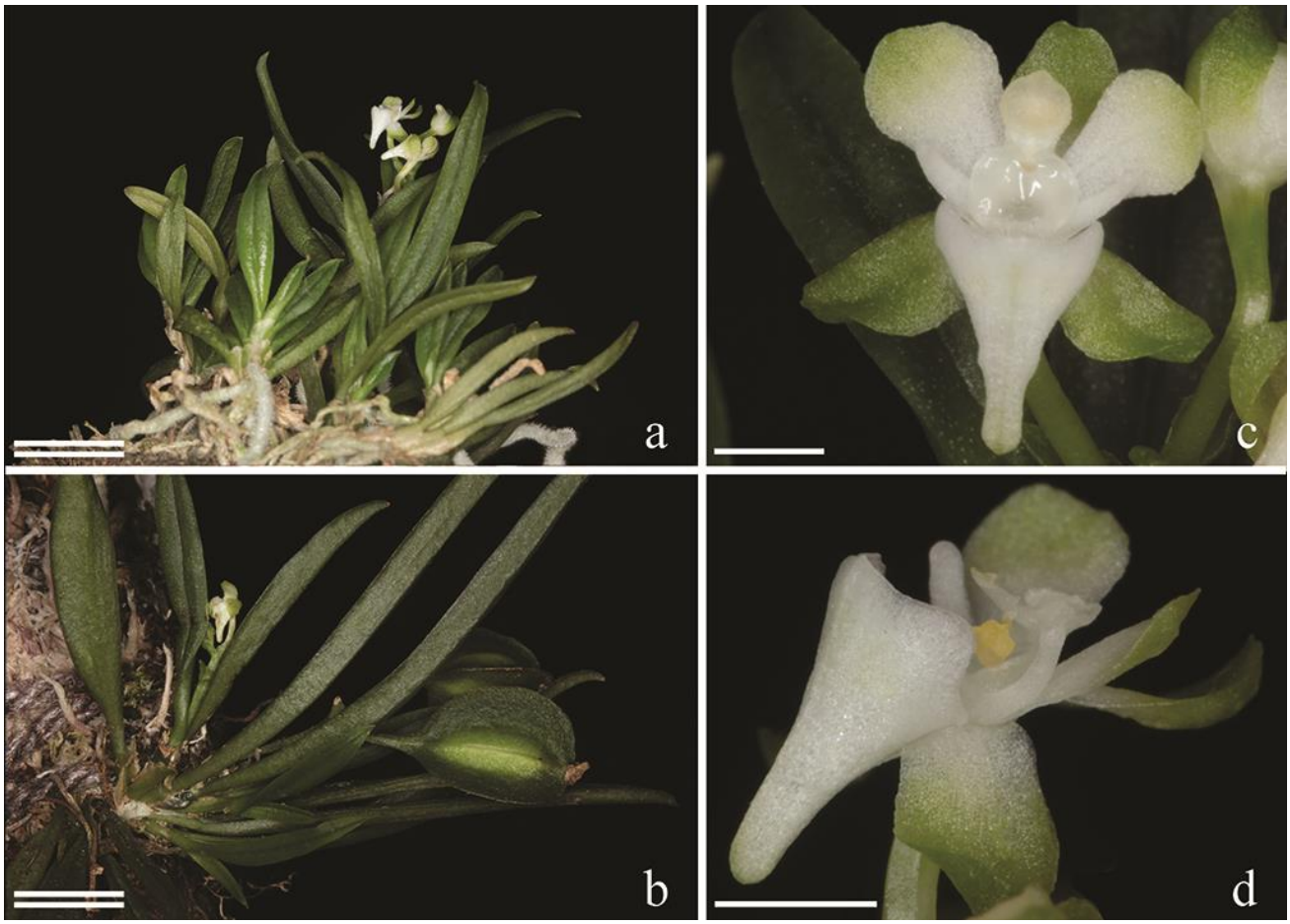


Figure 2. *Centroglossa tripollinica* (Barb.Rodr.) Barb.Rodr. a. Habit (*C.A. Royer et al. 135*); b. Habit showing immature fruit (*C.A. Royer 134)*; c. Flower, frontal view (*C.A. Royer et al. 135*); d. Flower; lateral view (*C.A. Royer et al. 135*). Double-line scale = 5 mm. Single-line scale = 1 mm.



Figure 3 - Dusén's collection deposited at S. It has no precise locality noted and it was collected between 1908 and 1916. By permission of the Keeper, Herbarium of the Swedish Museum of Natural History.

7. CAPÍTULO 6 — A Rapid Color Field Guide

(Guia de campo a ser publicado no site do Field Museum de Chicago. https://fieldguides.fieldmuseum.org).

Oncidiinae: ORCHIDACEAE

Zygostates Lindl. of the Brazilian Atlantic rainforest

1

Carla Adriane Royer[1], A. L. V. Toscano de Brito[2] & Eric de Camargo Smidt[3]

[1] Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Unesp, Rio Claro, SP., Brazil [2] Marie Selby Botanical Gardens, Sarasota, FL., USA, [3] Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR., Brazil

Photos by Eric de Camargo Smidt, except where indicated. Produzido por: Carla Adriane Royer with support from Connie Keller & Andrew Mellon Foundation.

© Carla Adriane Royer [carladriane@gmail.com], A. L. V. Toscano de Brito & Eric de Camargo Smidt. Acknowledgment: Leonardo Pessoa Félix, Marcos Klingelfuss, Maria Rita Cabral and Wade Collier.

[fieldguides.fieldmuseum.org] [número do guia – fornecido pela nossa equipe] versão 1 XXX



1 *Zygostates aderaldoana* Foto: L.P. Félix



2 *Zygostates aderaldoana* Foto: L.P. Félix



3 *Zygostates aderaldoana* Foto: L.P. Félix



4 *Zygostates aderaldoana* Foto: L.P. Félix



5 *Zygostates alleniana*



6 *Zygostates alleniana*



7 *Zygostates alleniana*



8 *Zygostates alleniana*



9 *Zygostates bradei* Foto: W. Collier



10 *Zygostates bradei* Foto: W. Collier



11 *Zygostates bradei* Foto: W. Collier



12 *Zygostates cornuta*



13 *Zygostates cornuta*



14 *Zygostates cornuta*



15 *Zygostates cornuta*



16 *Zygostates dasyrhiza*



17 *Zygostates dasyrhiza*



18 *Zygostates dasyrhiza*



19 *Zygostates dasyrhiza*



20 *Zygostates grandiflora* Foto: W. Collier

Oncidiinae: ORCHIDACEAE

Zygostates Lindl. of the Brazilian Atlantic rainforest 2

Carla Adriane Royer[1], A. L. V. Toscano de Brito[2] & Eric de Camargo Smidt[3]

[1] Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Unesp, Rio Claro, SP., Brazil [2] Marie Selby Botanical Gardens, Sarasota, FL., USA, [3] Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR., Brazil

Photos by Eric de Camargo Smidt, except where indicated. Produzido por: Carla Adriane Royer with support from Connie Keller & Andrew Mellon Foundation.

© Carla Adriane Royer [carladriane@gmail.com], A. L. V. Toscano de Brito & Eric de Camargo Smidt. Acknowledgment: Leonardo Pessoa Félix, Marcos Klingelfuss, Maria Rita Cabral and Wade Collier.

[fieldguides.fieldmuseum.org] [número do guia – fornecido pela nossa equipe] versão 1 X/X



21 *Zygostates grandiflora*



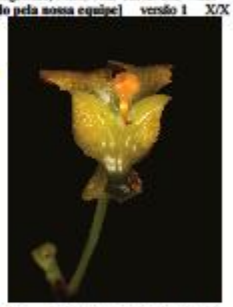
22 *Zygostates grandiflora*



23 *Zygostates kuhlmannii*



24 *Zygostates kuhlmannii*



25 *Zygostates kuhlmannii*



26 *Zygostates kuhlmannii*



27 *Zygostates lunata*



28 *Zygostates lunata*



29 *Zygostates lunata*



30 *Zygostates multiflora*



31 *Zygostates multiflora*



32 *Zygostates multiflora*



33 *Zygostates multiflora*



34 *Zygostates ovatipetala*



35 *Zygostates ovatipetala*



36 *Zygostates ovatipetala*



37 *Zygostates pellucida*



38 *Zygostates pellucida*



39 *Zygostates pellucida*



40 *Zygostates pellucida*

Oncidiinae: ORCHIDACEAE

Zygostates Lindl. of the Brazilian Atlantic rainforest 3

Carla Adriane Royer[1], A. L. V. Toscano de Brito[2] & Eric de Camargo Smidt[3]

[1] Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Unesp, Rio Claro, SP., Brazil [2] Marie Selby Botanical Gardens, Sarasota, FL., USA, [3] Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR., Brazil

Photos by Eric de Camargo Smidt, except where indicated. Produzido por: Carla Adriane Royer with support from Connie Keller & Andrew Mellon Foundation.

© Carla Adriane Royer [carladriane@gmail.com], A. L. V. Toscano de Brito & Eric de Camargo Smidt. Acknowledgment: Leonardo Pessoa Félix, Marcos Klingelfuss, Maria Rita Cabral and Wade Collier.

[fieldguides.fieldmuseum.org] [número do guia – fornecido pela nossa equipe] versão 1 X/X



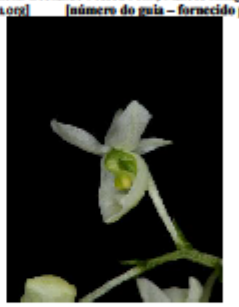
41 *Zygostates pustulata*



42 *Zygostates pustulata*



43 *Zygostates pustulata*



44 *Zygostates pustulata*

8. CONCLUSÃO GERAL

Tendo como objetivo principal investigar as relações filogenéticas entre gêneros e espécies do clado *Ornithocephalus,* um extenso trabalho de campo, visita a coleções particulares e instituicionais, pesquisa bibliográfica e consulta a materiais testemunho de diversos herbários mundiais foram necessários para reunir dados moleculares, morfológicos, ontogenéticos, micromorfológicos e taxonômicos sobre o clado. Por meio de métodos filogenéticos, inferimos um posicionamento próximo de *Dunstervillea* ao gênero *Eloyella,* mesmo que características morfológicas do labelo de *Dunstervillea* sejam convergentes às de *Centroglossa.* Confirmamos a intima relação filogenética de *Centroglossa* e *Zygostates*, baseando-se nas diferentes fontes de dados investigadas. Identificamos por meio do estudo do desenvolvimento floral que estruturas até então dúbias quanto sua homologia, possuem diferentes origens. Apêndices localizados lateralmente a antera, encontrados no gênero *Phymatidium,* não são homólogos aos apêndices encontrados na base do ginostêmio de *Zygostates;* a tábula infraestigmática parece ser uma característica pleisiomórfica no clado. Investigamos a micromorfologia de diversas espécies do clado e identificamos características que no futuro poderão auxiliar na delimitação taxonômica de espécies, gêneros e subclados no grupo. Ainda, indicamos a presença de estruturas secretoras de óleos e compostos voláteis em diversos gêneros. Monografamos e confirmamos a presença de oito espécies de *Zygostates* e de *Centroglossa tripollinica* no estado do Paraná, além de determinarmos o lectótipo desta última. Além disso, constatamos por meio das categorias da IUCN que o estado apresenta diferentes graus de ameaça às espécies investigadas. Por fim, apresentamos um guia de campo que auxiliará taxonomistas e leigos na identificação das espécies de *Zygostates* encontradas na Floresta Atlântica brasileira. Com este trabalho, observamos uma grande diversidade morfológica no clado *Ornithocephalus,* que é refletida nas relações interespecíficas sugeridas pela hipótese filogenética gerada. A adição de dados

morfológicos nas análises nos permitiu incluir todos os táxons dos gêneros em foco, além de fornecer maiores informações acerca das relações entre as espécies. Ainda assim, a adição de diferentes marcadores moleculares, estudos anatômicos, histológicos e de polinização são necessários para inferir uma filogenia mais robusta, comprovar a presença e a função de estruturas secretoras nas espécies e compreender quais mecanismos evolutivos estão por trás da alta diversidade floral do clado *Ornithocephalus*.

9. APÊNDICE

Rodriguésia 68(4): 1431-1446. 2017
http://rodriguesia.jbrj.gov.br
DOI: 10.1590/2175-7860201768422

O gênero *Zygostates* (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná, Brasil

The genus Zygostates *(Orchidaceae: Oncidiinae) in the state of Paraná, Brazil*

Carla Adriane Royer[1,4], *A.L.V. Toscano de Brito*[2] & *Eric de Camargo Smidt*[3]

Resumo

Zygostates consiste de ca. 26 espécies, das quais 15 ocorrem no Brasil. Através de consultas a herbários nacionais e estrangeiros, além da realização de trabalho de campo, oito espécies de *Zygostates* foram encontradas no Paraná: *Zygostates alleniana*, *Z. bradei*, *Z. cornuta*, *Z. dasyrhiza*, *Z. lunata*, *Z. multiflora, Z. pellucida* e *Z. pustulata*. O gênero é registrado para 36 dos 399 municípios paranaenses, principalmente na Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista, localizadas na Serra do Mar, Primeiro e Segundo Planaltos. De acordo com os critérios da IUCN*, Z. alleniana*, com ampla distribuição no estado, é a espécie de menor risco de extinção, enquanto *Z. bradei, Z. pellucida* e *Z. multiflora*, presentes somente em uma localidade, são as mais ameaçadas. *Zygostates bradei* encontra-se "Possivelmente Extinta" no estado; *Z. pellucida* e *Z. multiflora* foram avaliadas como "Criticamente em Perigo". São apresentados uma chave para identificação das espécies, descrições, ilustrações, lista de material examinado, dados sobre distribuição geográfica e estado de conservação dos táxons.

Palavras-chave: biodiversidade, flora do Paraná, IUCN, Mata Atlântica.

Abstract

Zygostates comprises ca. 26 species of which 15 occur in Brazil. Based on fieldwork and study of Brazilian and foreign herbaria eight species of *Zygostates* are recognized for Paraná: *Zygostates alleniana*, *Z. bradei*, *Z. cornuta*, *Z. dasyrhiza*, *Z. lunata*, *Z. multiflora*, *Z. pellucida* and *Z. pustulata*. The genus is recorded for 36 out of 399 municipalities, mostly inhabiting areas of *Floresta Ombrófila Densa* and *Floresta Ombrófila Mista* in *Serra do Mar*, *Primeiro* and *Segundo Planaltos*. *Zygostates alleniana* has low extinction risk according to IUCN criteria since it is distributed all over the state, while *Z. bradei, Z. pellucida* and *Z. multiflora* are found in only one locality, and, thus, they are the most threatened species. *Zygostates bradei* is "Possibly Extinct" locally; *Z. pellucida* and *Z. multiflora* are "Critically Endangered". A key for species identification, descriptions, illustrations, list of specimens examined, distribution maps and conservation status for all taxa are herein provided.

Key words: biodiversity, Paraná flora, IUCN, Atlantic Forest.

Introdução

Com cerca de 26 espécies (Toscano de Brito, em preparação), o gênero *Zygostates* Lindl. apresenta distribuição disjunta entre a Mata Atlântica e o norte da América do Sul (Chase & Toscano de Brito 2009; Sambin & Chiron 2015). Dentre as espécies aceitas até o momento, 15 ocorrem no Brasil, todas endêmicas do bioma Mata Atlântica (Royer *et al.* 2017). O gênero pertence à subfamília Epidendroideae, tribo Cymbidieae, subtribo Oncidiinae (Chase *et al.* 2015).

Zygostates foi descrito por Lindley (1837), baseando-se em duas espécies: *Zygostates cornuta* Lindl., selecionada como lectótipo por Toscano de Brito (2001), e *Zygostates lunata* Lindl. No estado do Paraná, o gênero foi citado pela primeira vez

[1] Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, Inst. Biociências, Depto. Botânica, Av. 24A 1515, 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil.

[2] Harvard University Herbaria, Associate, Oakes Ames Orchid Herbarium, Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL 34236, Estados Unidos.

[3] Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Jardim da Américas, 81531-980, Curitiba, PR, Brasil.

[4] Autor para correspondência: carladriane@gmail.com

por Kräenzlin (1911). Três espécies são citadas por esse autor: *Z. lunata*, *Z. dasyrhiza* (Kräenzl.) Schltr. (como *Ornithocephalus dasyrhizus* Kräenzl.) e *Z. pustulata* (Kräenzl.) Schltr. (como *O. pustulatus* Kräenzl.). Pabst & Dungs (1977) listam sete espécies de *Zygostates* para o estado: *Z. alleniana* Kräenzl., *Z. bradei* (Schltr.) Garay (como *Dipteranthus*), *Z. dasyrhiza*, *Z. lunata*, *Z. multiflora* (Rolfe) Schltr., *Z. papillosa* Cogn. (= *Z. alleniana*) e *Z. pustulata*. Recentemente, Smidt (2014) catalogou o mesmo número de espécies, acrescentando *Z. cornuta* à lista anterior. Esses mesmos táxons foram também considerados presentes para o estado por BFG (2015).

Este trabalho tem como objetivo elaborar a monografia do gênero *Zygostates* para o estado do Paraná, incluindo chave de identificação das espécies, descrições, ilustrações, lista de material estudado, dados sobre a distribuição e estado de conservação dos táxons.

Material e Métodos

Análises morfológicas foram realizadas baseando-se em exsicatas depositadas nos herbários AMES, B, C, CESJ, EFC, F, FUEL, HB, HCF, HRCB, HUEFS, HUEM, K, MBM, MO, NY, PACA, R, RB, S, SP, UPCB e US (acrônimos segundo Thiers, continuamente atualizado), e complementadas com materiais coletados no campo, principalmente em Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista. A terminologia morfológica adotada foi baseada em Toscano de Brito (2001) e Stern (2004). As descrições foram padronizadas utilizando-se o programa DELTA (Dallwitz *et al.* 2011). Os sinônimos aceitos neste trabalho estão de acordo com Toscano de Brito (2001). As ilustrações foram organizadas em pranchas de acordo com a similaridade morfológica entre as espécies.

A distribuição geográfica dos táxons no estado do Paraná foi mapeada em imagem delimitada por quadrículas de $1^{o} \times 1^{o}$ através do programa DIVA-GIS 7.5 (Hijmans *et al*. 2012). O estado de conservação local de cada táxon foi inferido seguindo as recomendações do sistema IUCN (2001), considerando-se o número de localidades, a área, extensão e a qualidade do habitat. A extensão de ocorrência (EOO) e a área de ocupação (AOO) foram obtidas utilizando-se o *software* GeoCAT (Geospatial Conservation Assessment Tool - Bachman *et al*. 2011).

A descrição do habitat ocupado pelas espécies foi baseada nas cinco regiões ou zonas de paisagens naturais reconhecidas para o estado (Maack 1968): Litoral, Serra do Mar, Primeiro, Segundo e Terceiro Planaltos. Nestas são encontrados cinco tipos de vegetação (Veloso *et al*. 1991; Roderjan *et al.* 1993): 1. Floresta Ombrófila Densa, no Litoral e Serra do Mar, com os subtipos de floresta Altomontana (acima de 1200 m), Montana (600–1200 m), Submontana (20–600 m) e de Terras Baixas (até 20 m), além de formações associadas (refúgios ou campos de altitude, formações pioneiras ou restinga e mangue); 2. Floresta Ombrófila Mista, nas regiões mais altas ao sul da região planaltina; 3. Estepe Ombrófila (Campos Gerais) nas mesmas regiões; 4. Floresta Estacional Semidecidual Subxérica, norte e oeste do Segundo e Terceiro Planaltos; 5. Savana Estacional Subxérica (Cerrado), no nordeste do estado.

Resultados e Discussão

Foram analisados 89 materiais coletados em 36 municípios do estado, todos inseridos no bioma Mata Atlântica, e 12 exsicatas provenientes de outros estados, citados como material adicional examinado. Foram reconhecidas para o Paraná: *Zygostates alleniana*, *Z. bradei*, *Z. cornuta*, *Z. dasyrhiza*, *Z. lunata*, *Z. multiflora*, *Z. pustulata* e *Z. pellucida* Rchb.f., esta última citada pela primeira vez para para o Paraná por Blum *et al*. (2011). Com um total de oito espécies ocorrentes, o estado passa a ser considerado o mais rico em espécies no Brasil. Segundo Royer *et al.* (2017), o estado do Rio de Janeiro, com sete espécies, se trata do segundo mais rico, seguido do Espírito Santo, São Paulo e Santa Catarina, todos com seis espécies cada.

No Brasil, *Zygostates* encontra-se restrito à Mata Atlântica, bioma sob constante pressão antrópica e historicamente ameaçado. Na lista vermelha de plantas ameaçadas de extinção do Paraná (Hatschbach & Ziller 1995), nenhuma espécie foi relatada como rara, em perigo ou vulnerável. Porém o presente estudo identificou espécies com poucos registros e localizados em áreas bastante reduzidas, fato que as enquadra nas categorias "Espécie em Perigo", "Criticamente em Perigo" e "Possivelmente Extinta" segundo os índices da IUCN (2001).

A maior riqueza de espécies é encontrada na Serra do Mar, Primeiro e Segundo Planaltos, principalmente na Floresta Ombrófila Densa com um total de seis espécies, incluindo aquelas com somente um registro para o estado, e a Floresta Ombrófila Mista com cinco espécies. Assim como observado em outras regiões, a riqueza presente no

leste paranaense pode ser influenciada pelo esforço de coleta, já que um dos maiores herbários e centros de pesquisa do estado localizam-se nessa região. Outro fato a ser destacado é da região possuir a maior área de Floresta Atlântica do Brasil devido principalmente as altas escarpas da Serra do Mar, o relevo acidentado e o solo de baixa fertilidade agrícola que dificultaram o avanço antrópico na região (Lange 1997).

1. *Zygostates* Lindl., Edwards's Bot. Reg. 23: t.1927 (1837). LECTÓTIPO: *Zygostates cornuta* Lindl., selecionado por Toscano de Brito (2001).

Plantas epífitas, simpodiais, eretas ou pendentes. Raízes cespitosas ou distribuídas ao longo do caule, glabras ou pilosas. Caule inconspícuo ou alongado, às vezes ramificado, geralmente coberto pelas bainhas das folhas laterais, a região apical entumecida em pseudobulbo. Pseudobulbos uni ou bifoliados, glabros, raramente papilosos, pequenos, ovoides, elipsoides ou fusiformes, sulcados ou lisos, aglomerados ou raramente distribuídos ao longo do caule. Folhas laterais alternas, verdes à verde-acinzentadas, inconspícuamente à distintamente pecioladas, invaginantes, articuladas, bifaciais, planas a conduplicadas, coriáceas ou carnosas, lanceoladas, espatuladas ou elípticas, glabras, raramente papilosas, usualmente quilhadas abaxialmente e às vezes sulcadas adaxialmente, geralmente torcidas, ápice agudo a obtuso. Folhas apicais similares às laterais, desprovidas de bainhas, inconspícuamente pecioladas e articuladas com o pseudobulbo. Inflorescência racemosa, lateral, emergindo da base do pseudobulbo, ereta ou arqueada, distintamente pedunculada; eixo da inflorescência torcido, glabro, raro papiloso, coberto por brácteas. Flores simétricas, raramente assimétricas, geralmente ressupinadas, pedicelo frequentemente curvado no ápice. Sépala dorsal reflexa ou patente, obovada, oblonga, elíptica ou espatulada, livre ou minimamente conada na base com as sépalas laterais, margens inteiras. Sépalas laterais reflexas ou patentes, oblongas à ovadas, espatuladas, às vezes falciformes, livres ou levemente conadas na base, margens inteiras. Pétalas patentes, às vezes inflexas, unguiculadas, obovadas, espatuladas ou elípticas, planas ou convexas, raro densamente glandular ou carenada na face adaxial, ápice agudo ou obtuso, margens retas ou recurvadas, inteiras ou irregulares. Labelo inteiro, raramente bilobado na base, inflexo, reflexo ou patente, ovado, ovado-lanceolado, oblongo, subquadrado, panduriforme ou sacado, côncavo, usualmente quilhado na face abaxial e às vezes na face adaxial, ápice agudo, margens retas ou recurvadas, inteiras ou irregulares; disco provido de calosidade glandular-tricomatosa, de cores e formas variadas. Coluna sigmoide, provida de dois apêndices basais ou laterais ao redor da cavidade estigmática, raramente ausentes; cavidade estigmática conspícua, oblonga, ovada ou elíptica; rostelo conspícuo, geralmente ultrapassando em comprimento o restante da coluna, variável na forma, curvado ou projetado para frente; antera muito mais curta ou quase tão longa quanto o rostelo, o ápice curto ou longo-rostrado, as margens laterais geralmente providas de um dente inconspícuo próximo ao 1/3 basal ou região mediana; polínias 4, em pares superpostos, ovoides ou globosas; estipe longo e estreito, usualmente dilatado próximo à área de inserção das polínias; viscídio dorsal, ovado, elíptico, arredondado ou unciforme. Frutos pedicelados, subglobosos, carenados e angular em seção transversal.

Chave de identificação das espécies de *Zygostates* ocorrentes no estado do Paraná

1. Raízes pilosas, ápice da coluna com margem fortemente dentada ou lacerada ..... 1.4. *Zygostates dasyrhiza*
1'. Raízes glabras, ápice da coluna com margem inteira.
    2. Pétalas densamente glandular-tricomatosas na face adaxial, fortemente convexas, às vezes quase tubulares, projetadas para frente e para baixo ..... 1.7. *Zygostates pellucida*
    2'. Pétalas glabras, patentes ou levemente curvadas para frente, côncavas, planas ou levemente convexas.
        3. Coluna desprovida de apêndices ..... 1.8. *Zygostates pustulata*
        3'. Coluna provida de apêndices basais ou laterais ao redor da cavidade estigmática.
            4. Labelo com margem dentada ou fimbriada.
                5. Calo do labelo apiculado na base e bilobado no ápice; rostelo provido abaxialmente de uma aba truncada, levemente crenada ou bilobada ..... 1.5. *Zygostates lunata*

5'. Calo do labelo truncado na base, o ápice inteiro e abaxialmente sulcado; rostelo desprovido de aba abaxial.....1.3. *Zygostates cornuta*.

4'. Labelo com margem inteira.

6. Flores assimétricas; pétalas carenadas na face adaxial .....1.2. *Zygostates bradei*

6'. Flores simétricas; pétalas adaxialmente lisas.

7. Labelo distintamente sacado, calosidade do labelo rasa, base cordada e bilobada e ápice inteiro .....1.1. *Zygostates alleniana*

7'. Labelo levemente panduriforme quando explanado, giboso na região mediana, calosidade do labelo carnosa, arredondada, base inteira e ápice emarginado..... 1.6. *Zygostates multiflora*

1.1. *Zygostates alleniana* Kräenzl. Notizbl. Königl., Bot. Gart. Berlin. 2: 55. 1898.
= *Dipteranthus lindmanii* Kräenzl. Kongl. Svenska Vetensk. Acad. Handl. 46: 80. 1911.
= *Zygostates lindmanii* (Kräenzl.) Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg. Beih. 16: 449. 1920.
= *Zygostates aquinoi* Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg. Beih. 35: 105. 1925.
= *Zygostates papillosa* Cogn. Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique 43: 333. 1907. Fig. 1a-h

Planta 37–59 mm alt., ereta. Raízes cespitosas, glabras. Pseudobulbos 2,8–3,6 × 1,6–2 mm, uni ou bifoliados, glabros, ovoides a subglobosos, lisos, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 18–30 × 1,9–4,3 mm, verdes, carnosas, lanceoladas, glabras, abaxialmente quilhadas e um pouco torcidas, ápice agudo a obtuso. Folhas apicais similares às laterais, 17–34 × 2,2–4,1 mm. Inflorescência 33–50 mm compr., ereta ou arqueada; brácteas 1,4–4 × 0,6–1,5 mm, laxas, ovadas à lanceoladas, glabras, côncavas, abaxialmente quilhadas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 2,9–4 × 1,2–1,8 mm, branca, reflexa ou patente, espatulada, côncava, abaxialmente quilhada, ápice obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 2,8–3,9 × 1,6–1,9 mm, brancas, reflexas ou patentes, ovadas, côncavas, ápice agudo ou obtuso, margens inteiras. Pétalas 2,9–4,3 × 2,1–3,7 mm, brancas, patentes, unguiculadas, levemente convexas, glabras, ápice obtuso, margens erosas. Labelo 2,8–4,2 × 2–3,2 mm, branco, inflexo, sacado, côncavo, abaxialmente quilhado, ápice agudo, margens inteiras; disco com calosidade verde, rasa, cuneiforme, levemente côncava, glandular-tricomatosa, a base cordada e bilobada. Coluna 2,5–3,7 mm compr., sigmoide, curvada em direção ao ápice, provida na base de dois apêndices laterais eretos, triangulares, verde-claros; cavidade estigmática conspícua, ovada; rostelo recurvado; ápice da coluna com margem inteira; antera com âmbito claviforme, distintamente rostrada, aguda a subaguda, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo ao terço basal; polinário com viscídio ovado.

Material examinado: Campo Mourão, Parque Municipal do Lago, 21.IX.2004, fl., *E.G. Paulino 54* (HCF, MBM); Capela do Calvário, 5.XI.2005, fl., *H.C.L. Geraldino 275* (HCF). Curitiba, s.d., fl., *F. Lange 8512* (MBM); Pinheirinho, XII.1970, fl., *M. Leinig 461* (HB). Foz do Iguaçu, Parque Nacional do Iguaçu, 12.X.2009, fl., *L.G. Temponi et al. 694* (MBM). Guaíra, Sete Quedas, 14.XI.1963, fl., *E. Pereira & G. Hatschbach 7889* (HB). Maringá, Orquidário UEM - Campus UEM, 16.IX.2005, fl., *A.M. Janunzzi 137* (HUEM). Palmeira, Colônia Quero-Quero, 10.II.1951, fl., *G. Hatschbach 2722* (MBM, HB). Pitanga, Borboleta, 13.XII.1973, fl., *G. Hatschbach 33506* (MBM). Planaltina do Paraná, 17.IX.1969, fl., *G. Hatschbach 22196* (C, MBM). Ponta Grossa, Buraco do Padre, 24.X.1989, fl., *J.M. Silva et al. 729* (MBM). Ribeirão do Pinhal, Salto Laranjinha, 4.XI.1999, fl., *J. Carneiro 800* (MBM). São João do Triunfo, 7.XI.1967, fl., *G. Hatschbach 17735* (HB, MBM). São José dos Pinhais, Cultivado em orquidário, 17.XII.2014, fl., *C.A. Royer 56* (UPCB). Serrinha, 9.XII.1908, *P.K.H. Dusén 7333b* - misturada com espécimes de *Z. dasyrhiza* (AMES, HB, NY, S).

Zygostates alleniana é encontrada por quase toda a extensão territorial paranaense, desde o Primeiro ao Terceiro Planaltos, habitando as Florestas Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual e Estepe Gramíneo Lenhosa. Ocorre também nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo (Royer *et al.* 2017), na Argentina (Johnson 2001) e no Paraguai (Toscano de Brito 1994).

Segundo os critérios da IUCN (2001), esta espécie se enquadra na categoria "Pouco Preocupante" (LC; B1b(i,ii)). Encontrada em todos os biomas do estado, apresenta uma extensa área de ocorrência (EOO) e ocupação (AOO). Além disso, ocorre em dois parques nacionais (PARNA): PARNA Iguaçu e PARNA dos Campos Gerais.

Zygostates alleniana assemelha-se à *Z. multiflora*, mas difere dessa através do labelo sacado, abaxialmente quilhado e sua calosidade rasa e cuneiforme. Floresce entre setembro e dezembro.

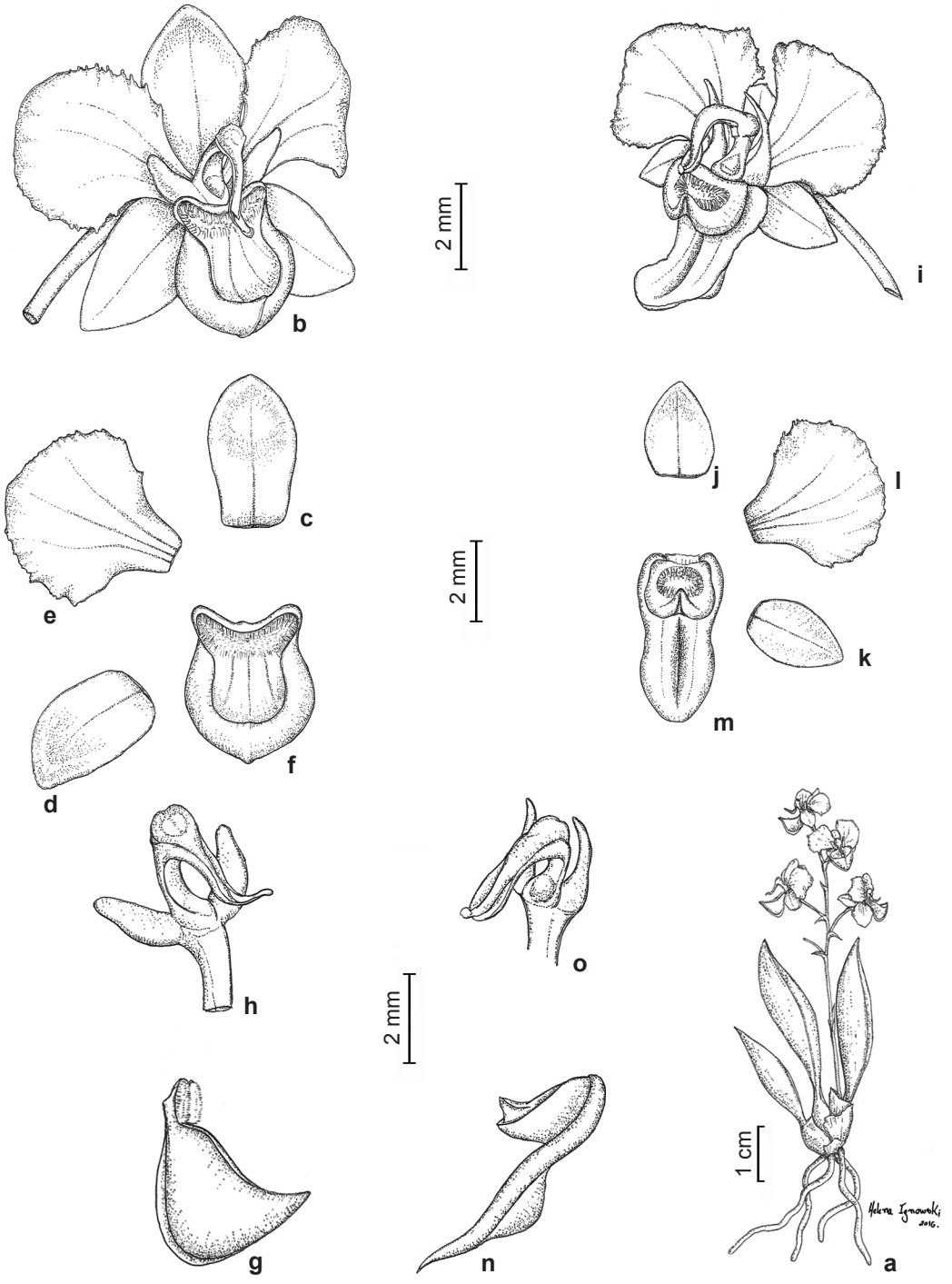


Figura 1 – a-h. *Zygostates alleniana* – a. hábito; b. flor; c. sépala dorsal, vista frontal; d. sépala lateral, vista frontal; e. pétala, vista frontal; f. labelo, vista frontal; g. labelo, vista lateral; h. coluna, vista frontal. i-n. *Z. multiflora* – i. flor; j. sépala dorsal, vista frontal; k. sépala lateral, vista frontal; l. pétala, vista frontal; m. labelo, vista frontal; n. labelo, vista lateral; o. coluna, vista frontal. (a-h. *C.A. Royer 56*; o. *J. Cordeiro & J.M. Silva 234*).

Figure 1 – a-h. *Zygostates alleniana* – a. habit; b. flower; c. dorsal sepal, frontal view; d. lateral sepal, frontal view; e. petal, frontal view; f. lip, frontal view; g. lip, lateral view; h. column, frontal view. i-n. *Z. multiflora* – i. flower; j. dorsal sepal, frontal view; k. lateral sepal, frontal view; l. petal, frontal view; m. lip, frontal view; n. lip, lateral view; o. column, frontal view. (a-h. *C.A. Royer 56*; o. *J. Cordeiro & J.M. Silva 234*).

1.2. *Zygostates bradei* (Schltr.) Garay, Bot. Mus. Leafl. 21: 263. 1967.
= *Dipteranthus bradei* Schltr. Anexos Mem. Inst. Butantan, Secc. Bot. 1(4): 65. 1922.
= *Dipteranthus duchii* Pabst. Bradea. 1(8): 56. 1971.
= *Zygostates rotundiglossa* Pabst. An. 14 Congr. Soc. Bot. Bras.: 21. 1964. Fig. 2a-g

Planta ca. 73,5 mm alt., pendente. Raízes cespitosas, glabras. Pseudobulbos ca. 2,8 × 1,6 mm, unifoliados, glabros, ovoides, lisos, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais ca. 35,3 × 5,7 mm, verdes, carnosas, lanceoladas a espatuladas, glabras, abaxialmente quilhadas, sulcadas adaxialmente, torcidas, ápice agudo. Folha apical similar às laterais, ca. 11,5 × 3,5 mm. Inflorescência ca. 70 mm compr., ereta ou arqueada; brácteas 2,3–2–8 × 0,9–1 mm, laxas, ovadas a lanceoladas, glabras, côncavas, abaxialmente quilhadas. Flores assimétricas, ressupinadas. Sépala dorsal ca. 3 × 1,9 mm, verde, reflexa, espatulada a obovada, côncava, abaxialmente quilhada, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Sépalas laterais ca. 6 × 2,2 mm, verdes, reflexas, espatuladas, côncavas, abaxialmente quilhadas, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Pétalas ca. 2,8 × 1,6 mm, brancas a levemente esverdeadas, curvadas para frente, obovadas, convexas, glabras, carenadas na face adaxial, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Labelo ca. 3 × 3 mm, branco, reflexo, subquadrado, ligeiramente convexo, adaxialmente quilhado, ápice agudo, margens inteiras; disco com calosidade amarela, sublunada, côncava, glandular-tricomatosa. Coluna ca. 2 mm compr., fortemente recurvada em direção ao ápice, provida de dois apêndices laterais triangulares, verdes com ápice amarelo; cavidade estigmática conspícua, raro inconspícua, elíptica; rostelo recurvado, torcido e voltado para direita ou para esquerda; ápice da coluna com margem inteira; antera estreitamente ovada, distintamente rostrada, aguda, muita mais curta do que o rostelo, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio escuro, arredondado, torcido, apiculado, distintamente unciforme.
Material examinado: Guaratuba, Rio da Divisa, 11.II.1962, fl., *G. Hatschbach 9820* (B, MBM).
Material adicional examinado: BRASIL. SANTA CATARINA: Cultivada no orquidário Seidel, 9.XI.2015, fl., *C.A. Royer 58* (UPCB).

Zygostates bradei possui registro somente para o litoral paranaense. Ocorre também nos estados de Santa Catarina, São Paulo, Alagoas e Pernambuco (Royer *et al*. 2017).

Segundo os critérios da IUCN (2001), *Z. bradei* deve ser enquadrada na categoria "Possivelmente Extinta" para o estado (VU; D2 CR), uma vez que possui somente um registro fora de unidade de conservação e foi coletado há mais de 50 anos.

Zygostates bradei é reconhecida através da forma das sépalas laterais, que são visivelmente maiores que o restante das peças florais, pela morfologia das pétalas, as quais são providas de uma calosidade em forma de "V" na face adaxial, mais ou menos na metade da lâmina, pelo labelo fortemente recurvado e pela assimetria de suas flores, sobretudo o rostelo torcido e o viscídio unciforme. Floresce em fevereiro.

1.3. *Zygostates cornuta* Lindl. Edwards's Bot. Reg. 23: t.1927 (1837).
= *Zygostates chateaubriandii* Ruschi. Bol. Mus. Biol. Prof. Mello Leitão 16: 1. 1955.
= *Zygostates lunata* var. *subintegripetala* Cogn. Fl. Bras. 3(6): 218. 1905. Fig. 3j-q

Planta 88–233 mm alt., geralmente pendente. Raízes cespitosas, glabras. Pseudobulbos 4,6–11,6 × 1,5–3,2 mm, unifoliados, glabros, ovoides a elipsoides, lateralmente sulcados, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 53,4–64,2 × 5–10,1 mm, verdes, coriáceas, lanceoladas, espatuladas ou elípticas, glabras, abaxialmente quilhadas e um pouco torcidas, ápice agudo a obtuso. Folhas apicais similares às laterais, 29,9–72,6 × 6,1–10,8 mm. Inflorescência 83,2–125 mm compr., arqueada; brácteas 1,8–3,3 × 0,6–1,2 mm, laxas, lanceoladas, ovadas ou triangulares, glabras, côncavas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 3,4–4,2 × 1,4–2 mm, amarelo-clara, reflexa, elíptica, plana, abaxialmente quilhada, ápice agudo a obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 3,3–4 × 1,7–2,5 mm, amarelo-claras, reflexas, ovadas, falciformes, convexas, abaxialmente quilhadas, ápice obtuso, margens inteiras. Pétalas 3,7–4,6 × 3,8–5 mm, alaranjadas, eretas, unguiculadas, reflexas em direção ao ápice, planas, glabras, ápice obtuso, margens fimbriadas. Labelo 4–5,1 × 1,1–1,5 mm, branco a esverdeado, inflexo, oblongo, côncavo, ápice agudo, margens dentadas ou fimbriadas; disco com calosidade amarelo-marrom, côncava, base truncada e pilosa, ápice inteiro, papiloso, abaxialmente sulcado. Coluna 2–3,7 mm compr., sigmóide, provida na base de dois apêndices laterais claviformes, amarelos ou alaranjados; cavidade estigmática conspícua, ovada a elíptica; rostelo curvado para cima em direção ao ápice; ápice da coluna com margem inteira; antera

operculada, ovada, distintamente rostrada, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio ovado.

Material examinado: Antonina, 27.II.1965, fl., *G. Hatschbach 13910* (MBM); Rio Manduira, 11.II.1981, fl., *G. Hatschbach 43583* (MBM, MO); Rio Faisqueira, 7.I.1986, fl., *R. Kummrow et al. 2708* (MBM); Porto Limoeiro, 26.II.1997, fl., *G. Tiepolo & R.M. Britez 735* (EFC). Cerro Azul, Turvo, 11.II.1960, fl., *G. Hatschbach 6741* (HB, MBM); Barra do Canha, 18.II.1982, fl., *G. Hatschbach 43610* (MBM). Curitiba, I.2010, fl., *E.C. Smidt 972* (UPCB). Doutor Ulysses, Rio Turvo, 19.IV.2006, fl., *E. Barbosa & E.F. Costa 1259* (MBM). Guaraqueçaba, Rio do Cedro, 8.III.1968, fl., *G. Hatschbach 18676* (MBM, HB). Guaratuba, Porto Miranda, Rio São João, 26.II.1968, fl., *G. Hatschbach 18640* (C, HB, MBM, US); Descampado, 15.I.1994, fl., *G. Hatschbach & J.M. Silva 58811* (MBM); Rio Cubatão, Ilha do Furado, 2.II.2000, fl., *M. Borgo et al. 590* (MBM); Rio São João, 4.II.2012, fl., *M.G. Caxambu et al. 3790* (HCF). Morretes, Colônia Floresta, 23.I.1969, fl., *G. Hatschbach & C. Koczicki 20870* (HB, MBM). Paranaguá, Serra da Prata, 21.III.1910, fl., *P.K.H. Dusén 9856* (S); 5.III.1911, fl., *P.K.H. Dusén 11584* (S); 28.I.1963, fl., *G. Hatschbach 9880* (B, MBM); Morro do Inglês, 18.II.1976, fl., *G. Hatschbach 38106* (MBM); Ilha do Mel, Praia da

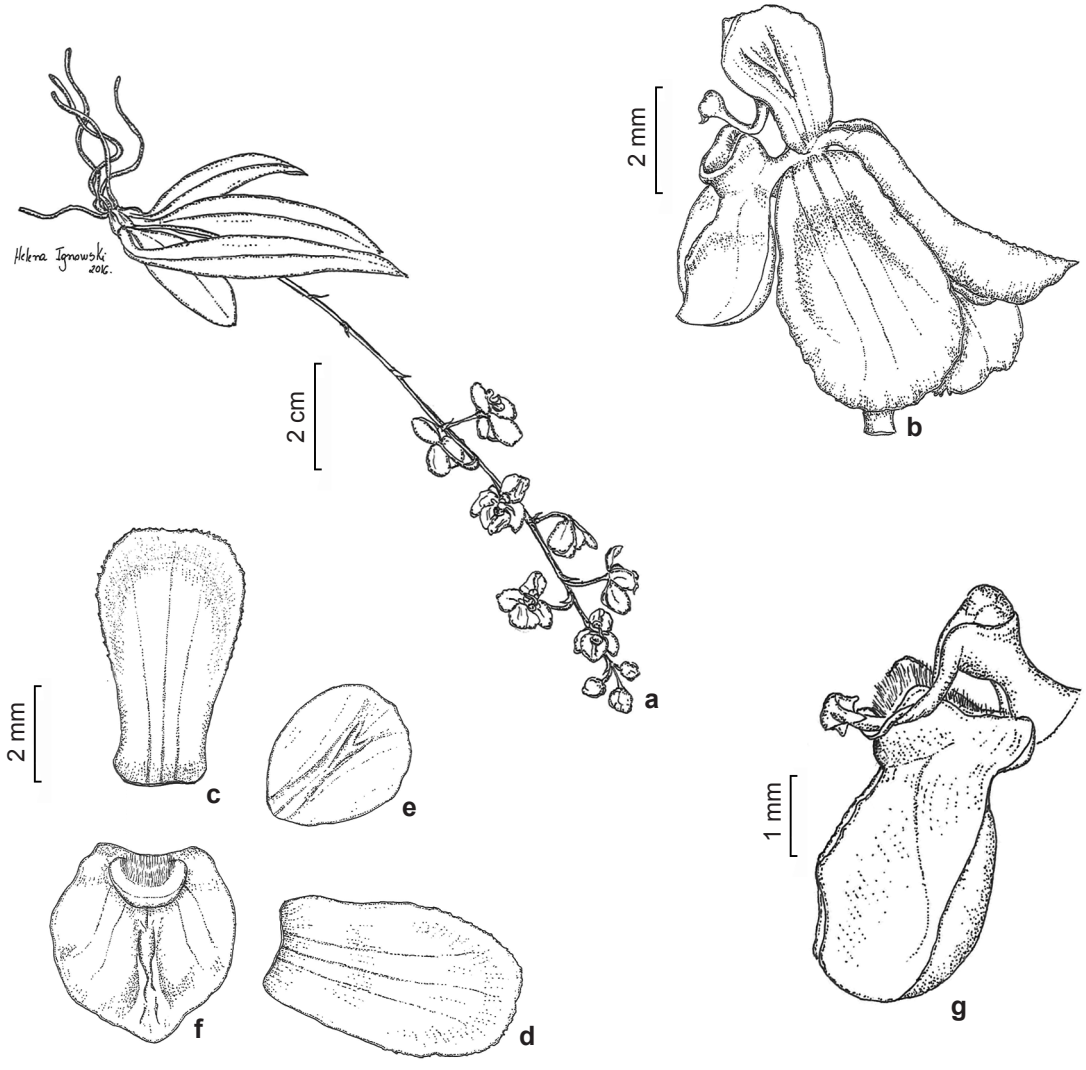


Figura 2 – a-g. *Zygostates bradei* – a. hábito; b. flor; c. sépala dorsal, vista frontal; d. sépala lateral, vista frontal; e. pétala, vista frontal; f. labelo, vista frontal; g. labelo e coluna, vista lateral (*C.A. Royer 58*).

Figure 2 – a-g. *Zygostates bradei* – a. habit; b. flower; c. dorsal sepal, frontal view; d. lateral sepal, frontal view; e. petal, frontal view; f. lip, frontal view; g. lip and column, lateral view (*C.A. Royer 58*).

Fortaleza, 10.XII.1996, fl., *R.B. Singer* (MBM 226960); Estação Biológica da Ilha do Mel, 27.I.1998, fl., *S.M. Silva* (UPCB 49568). São José dos Pinhais, Castelhanos, 7.II.1998, fl., *J.M. Silva et al. 2266* (CESJ, HUEFS, MBM). S. loc., 30.IV.1979, fl., *S. Birk 22* (HB); 1908-1916, fl., *Dusén* (S).

Zygostates cornuta é encontrada no Litoral, Serra do Mar, Primeiro e Segundo Planaltos, habitando as Florestas Ombrófilas Densa e Mista e Estepe Gramíneo Lenhosa. Ocorre ao longo da Mata Atlântica abrangendo além do Paraná, os estados de Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Espírito Santo e Bahia (Royer *et al.* 2017).

Segundo os critérios da IUCN (2001), esta espécie enquadra-se na categoria "Quase Ameaçada" (NT; B1b(i,ii)). A restrita área de ocorrência (EOO) e de ocupação (AOO) indicam uma possível transferência futura deste táxon para a categoria "Vulnerável". Ocorre em dois parques nacionais do estado: PARNA da Ilha do Mel e PARNA Saint Hilaire/Lange, além da área de proteção ambiental de Guaraqueçaba (APA Guaraqueçaba).

Zygostates cornuta e *Z. lunata* são espécies muito próximas e comumente confundidas. Vegetativamente são indistinguíveis, porém *Z. cornuta* difere de *Z. lunata* pela forma do calo do labelo (truncado na base, com o ápice inteiro e abaxialmente sulcado *vs.* apiculado na base e bilobado no ápice) e morfologia da coluna, sobretudo pela ausência de uma membrana na face abaxial do rostelo. Floresce de dezembro a abril.

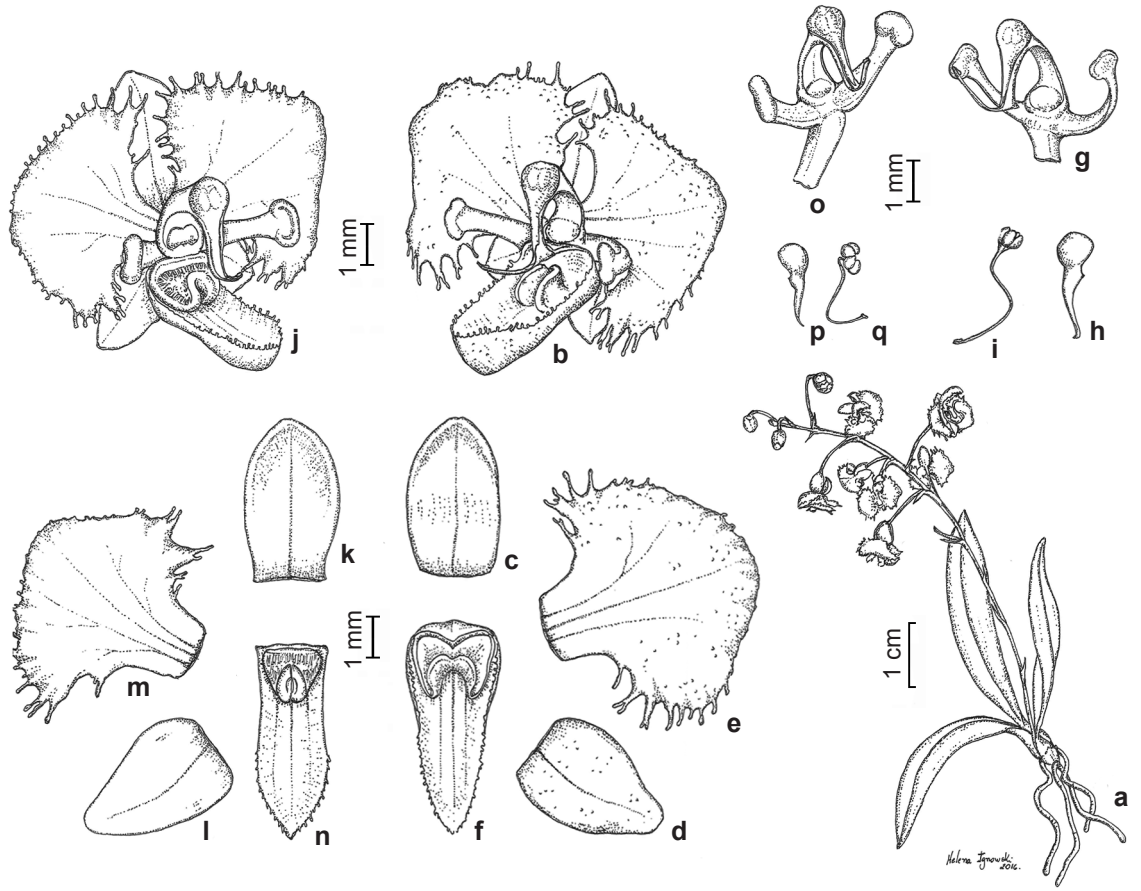


Figura 3 – a-i. *Zygostates lunata* – a. hábito; b. flor; c. sépala dorsal, vista frontal; d. sépala lateral, vista frontal; e. pétala, vista frontal; f. labelo, vista frontal; g. coluna, vista frontal; h. capa da antera, vista lateral; i. polinário, vista lateral. j,k. *Z. cornuta* – j. flor; k. sépala dorsal, vista frontal; l. sépala lateral, vista frontal; m. pétala, vista frontal; n. labelo, vista frontal; o. coluna, vista frontal; p. antera, vista lateral; q. polinário, vista lateral. (a-i. *M. Borgo et al. 590*; q. *E.C. Smidt 972*).

Figure 3 – a-i. *Zygostates lunata* – a. habit; b. flower; c. dorsal sepal, frontal view; d. lateral sepal, frontal view; e. petal, frontal view; f. lip, frontal view; g. column, frontal view; h. anther, lateral view; i. pollinarium, lateral view. j-q. *Z. cornuta* – j. flower; k. dorsal sepal, frontal view; l. lateral sepal, frontal view; m. petal, frontal view; n. lip, frontal view; o. column, frontal view; p. anther, lateral view; q. pollinarium, lateral view. (a-i. *M. Borgo et al. 590*; q. *E.C. Smidt 972*).

1.4. *Zygostates dasyrhiza* (Kräenzl.) Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg 16: 449. 1920.
= *Ornithocephalus dasyrhizus* Kräenzl. Kongl. Svenska Vetensk. Acad. Handl., n.s. 46(10): 77. 1911.
= *Zygostates paranaenses* Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg. 22: 68. 1926. Fig. 4a-j

Planta 26,5–54,4 mm alt., pendente ou ereta. Raízes dispersas, pilosas, distribuídas ao longo de um caule alongado, ramificado, folioso, com até ca. 35 mm de compr. Pseudobulbos 2,6–4,7 × 0,9–1,4 mm, unifoliados, papilosos, fusiformes, lateralmente sulcados, esparsos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 9,2–19,8 × 2,2–4,6 mm, verde-acizentadas, carnosas, lanceoladas, papilosas, abaxialmente quilhadas, sulcadas adaxialmente, torcidas, ápice agudo. Folhas apicais similares às laterais, 10,1–18,6 × 2,6–4,6 mm. Inflorescência 17,4–36 mm compr., ereta ou arqueada; brácteas 0,9–1,7 × 0,4–1 mm, laxas, ovadas a lanceoladas, glabras, côncavas. Flores simétricas, geralmente ressupinadas. Sépala dorsal 2,5–3,6 × 1–1,4 mm, branca, reflexa, oblonga a espatulada, côncava, abaxialmente quilhada, ápice obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 2,5–3 × 1,2–1,5 mm, brancas, patentes, elípticas ou oblongas, falciformes, côncavas, abaxialmente quilhadas, ápice obtuso, margens inteiras. Pétalas 3–3,4 × 2–2,6 mm, brancas, patentes, obovadas a espatuladas, planas, glabras, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Labelo 1,8–4,4 × 2,2–3,8 mm, branco, patente, ovado-lanceolado, côncavo, abaxialmente quilhado, ápice acuminado e inflexo, margens levemente irregulares; disco com calosidade branca, arredondada, convexa, glandular-tricomatosa. Coluna 2–2,5 mm compr., levemente sigmóide, provida de dois apêndices laterais auriculados, patentes, obtusos, brancos; cavidade estigmática conspícua, oblonga à ovada; rostelo curvado para cima; ápice da coluna com margem fortemente dentada ou lacerada; antera com âmbito claviforme, longo-rostrada, acuminada, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio ovado.

Material examinado: Balsa Nova, Serra São Luiz, 6.I.1971, fl., *G. Hatschbach 25945* (HB, K, MBM). Campo Largo, Ferraria, XI.1960, fl., *M. Leinig 224* (HB). Curitiba, Capão Boi, Restinga Seca, 11.XII.1909, fl., *Dusén 9863* (S); 28.XI.1944, fl., *A. Guimarães* (RB 260431); Parque Barigui, 19.XII.1995, fl., *C. Kozera & V.A. Dittrich 29* (UPCB); Bosque Jardim Saturno, 13.I.2001, fl., *M. Borgo 1130* (UPCB). Guaratuba, Estrada Curitiba-Joinville, 20.III.1949, fl., *G. Hatschbach 1251* (MBM). Mandirituba, 2.I.1964, fl., *G. Hatschbach 10872* (HB, MBM). Próximo a Piraí do Sul, 16.X.1972, fl., *A. Seidel 1046* (HB). Piraquara, Rio São Jerônimo, 20.III.2003, fl., *R. Kersten et al. 608* (UPCB); Haras Santo Antônio, 15.I.2004, fl., *R. Kersten 766* (UPCB). Ponta Grossa, Passo do Pupo, 4.XII.1967, fl., *G. Hatschbach 17999* (HB, MBM); Parque Estadual de Vila Velha, Mata da Fortaleza, 3.XII.2014, fl., *J.M. Silva & J.T. Motta 8700* (UPCB). São José dos Pinhais, Rincão, 22.I.1950, fl., *G. Hatschbach 1784* (MBM, SP); cultivado em orquidário, 17.XII.2014, fl., *C.A. Royer 38* (UPCB). Serrinha, 9.XII.1908, *P.K.H. Dusén 7333b* (AMES, HB, NY, S); I.1910, fl., *P.K.H. Dusén 9039* (S). Tijucas do Sul, Matulão, I.I.1964, fl., *G. Hatschbach 10870* (B, HB, MBM); Ambrósios, 10.I.1992, fl., *O.S. Ribas & J. Cordeiro 398* (MBM); Fazenda São Benedito, 4.XII.2015, fl., *C.A. Royer & D.C. Imig 90* (UPCB). Tunas do Paraná, Parque Estadual de Campinhos, 19.II.1999, fl., *J.M. Silva & L.M. Abe 2882* (HRCB, MBM). S. loc., s.d., fl., *F. Lange 9863* (HB, MBM).

Zygostates dasyrhiza é encontrada no Litoral, Serra do Mar, Primeiro e Segundo Planaltos, habitando as Florestas Ombrófilas Densa e Mista e a Estepe Gramíneo Lenhosa. No Brasil ocorre somente nos três estados do Sul (Royer *et al.* 2017).

Segundo os critérios da IUCN (2001), a espécie enquadra-se na categoria "Vulnerável" (VU; B1b(i,ii)) devido à restrita área de ocorrência (EOO) e ocupação (AOO), apesar de ser encontrada em 11 localidades e em dois parques estaduais (PE): PE Campinhos e PE Vila Velha.

Em seu hábito usualmente reptante e pendente, *Zygostates dasyrhiza* assemelha-se à *Z. pustulata*. Distingui-se dessa, porém, pelo labelo marcadamente acuminado, pela coluna simétrica e pela margem dentada ou lacerada do ápice da coluna. Floresce de dezembro a março.

1.5. *Zygostates lunata* Lindl. Edwards's Bot. Reg. 23: *sub* t.1927. 1837.
= *Dactylostylis fimbriata* Scheidw. Allg. Gartenzeitung. 7: 406. 1839.
= *Epidendrum trilabiatum* Vell. Fl. Flum. 9: t. 42. 1831.
= *Ornithocephalus navicularis* Barb.Rodr. Gen. Sp. Orchid. 1: 135. 1877. Fig. 3a-i

Planta 90–162 mm alt., pendente. Raízes cespitosas, glabras. Pseudobulbos 3,8–7,2 × 1,3–2,2 mm, unifoliados, glabros, ovoides a elipsoides, lateralmente sulcados, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 45,2–85,2 × 6,5–13 mm, verdes, coriáceas, lanceoladas, espatuladas ou elípticas, glabras, abaxialmente quilhadas e um pouco torcidas, ápice agudo a obtuso. Folhas apicais similares às laterais, 34,7–85,4 × 4,4–10,1 mm. Inflorescência 67,8–155

mm compr., arqueada; brácteas 1,3–4,7 × 0,7–1,4 mm, laxas, lanceoladas, ovadas a triangulares, glabras, côncavas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 2,4–3,2 × 1,3–2 mm, brancas a esverdeadas, reflexa, elíptica, convexa, abaxialmente quilhada, às vezes levemente conada com as sépalas laterais na base, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Sépalas laterais 2,4–3,3 × 1,5–2,2 mm, brancas a esverdeadas, reflexas, ovadas, falciformes, convexas, abaxialmente quilhadas, conadas na base, ápice obtuso, margens inteiras. Pétalas 2,5–3,7 × 2,9–4,2 mm, alaranjadas, patentes a um pouco

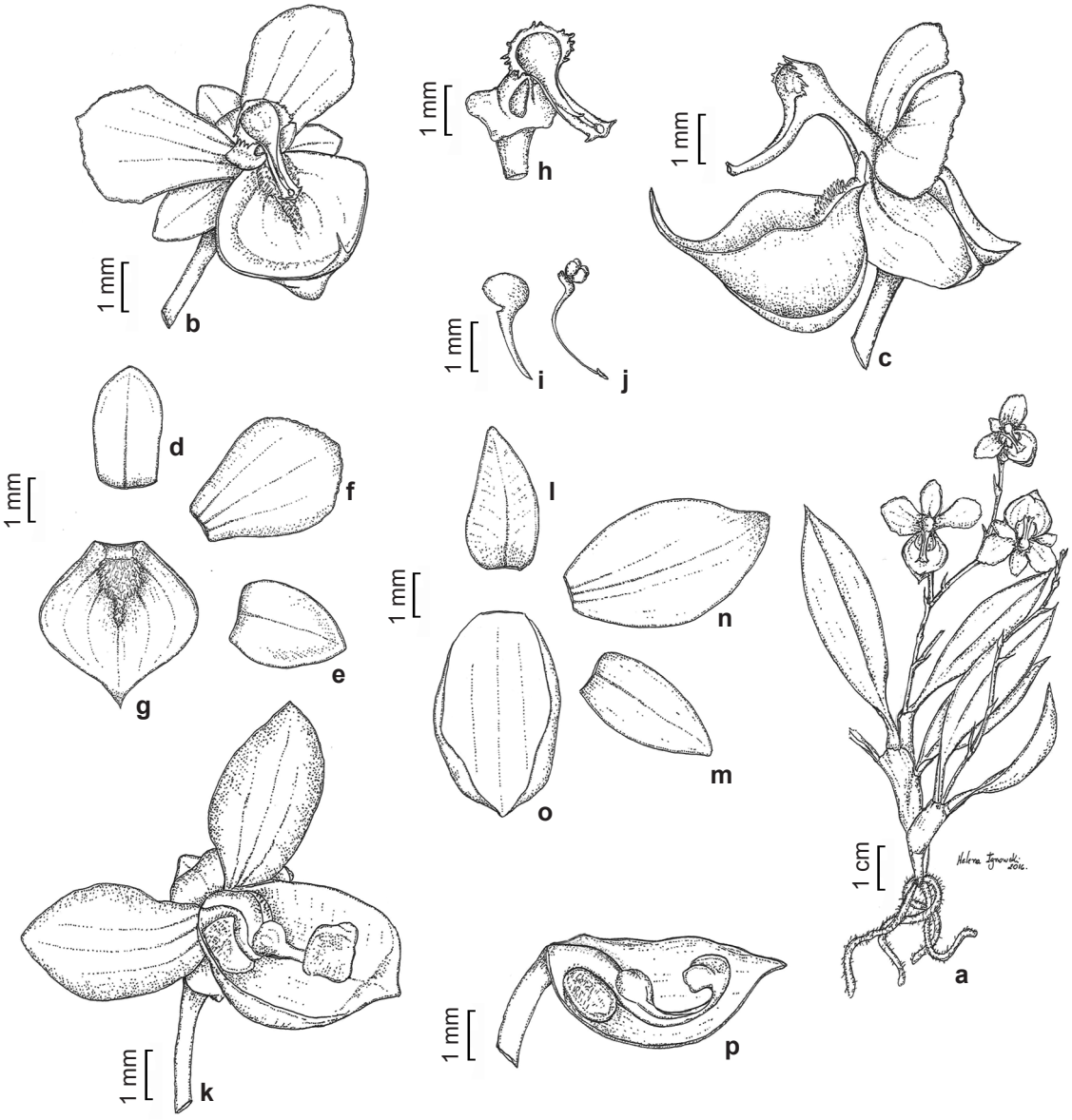


Figura 4 – a-j. *Zygostates dasyrhiza* – a. hábito; b. flor; c. flor, vista lateral; d. sépala dorsal, vista frontal; e. sépala lateral, vista frontal; f. pétala, vista frontal; g. labelo, vista frontal; h. coluna, vista frontal; i. antera, vista lateral; j. polinário, vista lateral. k-p. *Z. pustulata* – k. flor; l. sépala dorsal, vista frontal; m. sépala lateral, vista frontal; n. pétala, vista frontal; o. labelo, vista frontal; p. labelo e coluna em vista lateral, o labelo em secção longitudinal. (a-j. *C.A. Royer & D.C. Imig 90*; k-p. *E.F. Costa et al. 35*).
Figure 4 – a-j. *Zygostates dasyrhiza* – a. habit; b. flower; c. flower, lateral view; d. dorsal sepal, frontal view; e. lateral sepal, frontal view; p. petal, frontal view; g. lip, frontal view; h. column, frontal view; i. anther, lateral view; j. pollinarium, lateral view. k-p. *Z. pustulata* – k. flower; l. dorsal sepal, frontal view; m. lateral sepal, frontal view; n. petal, frontal view; o. lip, frontal view; p. lip and column, lateral view, lip longitudinally sectioned. (a-j. *C.A. Royer & D.C. Imig 90*; k-p. *E.F. Costa et al. 35*).

eretas, unguiculadas, reflexas em direção ao ápice, planas, glabras, ápice obtuso, margens fimbriadas. Labelo 2,8–3,9 × 1,4–2,2 mm, branco, inflexo, ovado, côncavo, ápice agudo, margens dentadas ou fimbriadas; disco com calosidade amarelo-marrom, côncava, glandular-tricomatosa, apiculada na base, bilobada no ápice. Coluna 1,7–2,5 mm compr., sigmóide, provida na base de dois apêndices laterais claviformes, alaranjados; cavidade estigmática conspícua, ovada à elíptica; rostelo reflexo, provido abaxialmente de uma aba ou membrana truncada, às vezes levemente crenada ou bilobada; ápice da coluna com margem inteira; antera operculada, mais curta do que o rostelo, longo-rostratada, acuminada, as margens laterais providas de um dente inconspicuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio elíptico.

Material examinado: Mauá da Serra, 23.XII.2009, fl., *M.A. Guttiere 64* (HUEM). Monte Alegre, XI.1959, fl., *F. Feigl in M. Leinig 161* (HB). Telêmaco Borba, 28.XI.2007, fl., *A. Bonnet 580105* (UPCB); XII.2011, fl., *V. Ariati 567* (MBM); Área de alagamento da UHE Mauá, 2.II.2012, fl., *M.A. Milaneze-Gutierre* (HUEM 22249); 7.XII.2012, fl., *C. Michelon 1603* (MBM); Área de alagamento da UHE Mauá, 23.X.2013, fl., *M.A. Milaneze-Gutierre et al.* (HUEM 24240). Tibagi, Jaguatirica - Fazenda Monte Alegre, 15.XII.1952, fl., *G. Hatschbach 2859* (MBM). Sapopema, Fazenda Guaporé, Rio Tibagi, 9.XII.1995, fl., *L.H. Soares et al.* (FUEL 17003). S. loc., 5.IV.1911, fl., *F. Lange* (MBM 215509).

Zygostates lunata ocorre somente no Segundo Planalto, na Floresta Ombrófila Mista e na Estepe Gramíneo Lenhosa. Ocorre também nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro (Royer *et al.* 2017).

Segundo critérios da IUCN (2001), esta espécie deve ser enquadrada na categoria "Espécie em Perigo" (EN; B1b(i,ii)), pois é encontrada em apenas cinco localidades no estado e sua área de ocorrência (EOO) e ocupação (AOO) são reduzidas. Além disso, não há registro para unidades de conservação e os locais indicados nos materiais testemunhos indicam uma área atualmente alagada pela barragem da Usina Hidrelétrica Mauá da Serra.

Zygostates lunata assemelha-se muito à *Z. cornuta*, mas difere dessa pela morfologia da calosidade do labelo, sobretudo o prolongamento apiculado em sua base e pela presença de uma membrana localizada na face abaxial da coluna, mais ou menos na região mediana do rostelo. Floresce entre outubro e abril.

1.6. *Zygostates multiflora* (Rolfe) Schltr. Arch. Bot. São Paulo. 1: 295. 1926.
= *Ornithocephalus multiflorus* Rolfe Bull. Misc. Inform. Kew. 149. 1901.
= *Dipteranthus multiflorus* (Rolfe) I.Bock & Seehawer. Orchidee (Hamburg). 47: 282. 1996.
Fig. 1i-o

Planta 66–118 mm alt., ereta. Raízes cespitosas, glabras. Caule 7,8–11 mm compr. Pseudobulbos 5,1–5,6 × 2,4–2,6 mm, uni ou bifoliados, glabros, ovoides, lisos, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 25,6–34,4 × 3,3–4 mm, verdes, coriáceas, lanceoladas, espatuladas ou elípticas, glabras, ápice agudo. Folhas apicais similares às laterais, 22,7–36,3 × 4–4,8 mm. Inflorescência 60–107 mm compr., arqueada; brácteas 2–3,4 × 0,6–1,2 mm, congestas, ovadas a triangulares, glabras, côncavas, abaxialmente quilhadas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 1,7–2,1 × 0,5–0,8 mm, branca, reflexa, elíptica, côncava, abaxialmente quilhada, levemente conada na base com as sépalas laterais, ápice agudo a obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 1,5–1,8 × 0,7–1,2 mm, brancas, reflexas, ovadas, falciformes, côncavas, conadas na base, ápice agudo, margens inteiras. Pétalas 2–2,8 × 2,1–2,5 mm, brancas, patentes, unguiculadas, levemente convexas, glabras, ápice obtuso, margens levemente irregulares. Labelo 2,4–4 × 1–1,4 mm, branco, patente, bilobado na base, giboso na região mediana, levemente panduriforme quando explanado, côncavo, ápice agudo, margens inteiras; disco com calosidade branca, carnosa, arredondada, côncava, glandular-tricomatosa, com ápice verde, emarginado e recurvado. Coluna 1,2–2,1 mm compr., levemente sigmoide, geniculada mais ou menos no meio, provida na base por dois apêndices laterais eretos, triangulares, brancos; cavidade estigmática conspícua, ovada; rostelo projetado para frente; ápice da coluna com margem inteira; antera claviforme, as margens laterais providas de um dente insconspícuo em cada lado próximo à região mediana; polinário com viscídio arredondado.

Material examinado: Morretes, Serra Marumbi, 19.I.1971, fl., *G. Hatschbach 25991* (C, HB, MBM, S); Véu da Noiva, 5.V.1986, fl., *J. Cordeiro & J.M. Silva 234* (MBM).

Até o presente, *Zygostates multiflora* é conhecida somente para a Serra do Mar, habitando a Floresta Ombrófila Densa. Ocorre também nos estados de São Paulo e do Rio de Janeiro (Royer *et al.* 2017).

Segundo os critérios da IUCN (2001), a espécie é considerada "Criticamente em Perigo" (CR; B1b(i,ii)), uma vez que possui apenas dois registros de coleta, ambos para o município de Morretes, sendo um deles para o Parque Estadual do Pico Marumbi.

Zygostates multiflora se caracteriza pelo labelo levemente panduriforme e giboso, pela calosidade do labelo arredondada e carnosa, e pela coluna geniculada, provida na base de dois apêndices laterais conspícuos, eretos e triangulares. Floresce de janeiro a maio.

1.7. *Zygostates pellucida* Rchb.f Ann. Bot. Syst. 6: 564 (1863).
= *Dipteranthus pellucidus* (Rchb.f.) Cogn. Fl. Brasil. 3(6): 214. 1905.
= *Ornithocephalus pseudobulbifer* Barb.Rodr. Gen. Spec. Orchid. Nov. 1: 134 (1877).
= *Dipteranthus pseudobulbifer* (Barb.Rodr.) Barb. Rodr. Gen. Spec. Orchid. Nov. 2: 233 (1882). Fig. 5a-g

Planta 38–100 mm alt., pendente ou às vezes ereta. Raízes cespitosas, pilosas. Pseudobulbos 6,3–12 × 2,5–5,7 mm, unifoliados, papilosos, ovoides, lateralmente sulcados, congestos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 25–53× 9,3–11,6 mm, se presentes, verde-escuras, coriáceas, ovadas a elípticas, minimamente papilosas e um pouco torcidas na base, ápice agudo. Folhas apicais similares às laterais, 34,9–89,1 × 9,1–16 mm. Inflorescência 22,4–86,4 mm compr., arqueada; brácteas 1,9–3,9 × 0,9–1,6 mm, laxas, lanceoladas a ovadas, papilosas, côncavas. Flores simétricas, ressupinadas. Sépala dorsal 3,9–4,7 × 1,7–2,2 mm, branca, reflexa, linear ou elíptica, convexa, abaxialmente quilhada, ápice obtuso, margens inteiras. Sépalas laterais 3,9–4,5 × 1,7–2,3 mm, brancas, reflexas, obovadas, falciformes, côncavas, ápice obtuso, margens inteiras. Pétalas 4,8–5,4 × 1,6–2,7 mm, verdes, inflexas, espatuladas, convexas, papilosas, densamente glandular-tricomatosas na face adaxial, fortemente convexas, às vezes quase tubulares, projetadas para a frente e para baixo, ápice agudo ou obtuso, margens inteiras. Labelo 3,4–5,1 × 1,4–1,7 mm, verde, patente, bilobado na base, panduriforme, côncavo, ápice agudo, margens levemente irregulares; disco com calosidade verde, oblonga, côncava, glandular-tricomatosa, com ápice truncado e reflexo. Coluna 2,9–3,1 mm compr., geniculada, bruscamente curvada para frente, provida na base por dois apêndices laterais eretos, espatulados, verdes; cavidade estigmática conspícua, arredondada; rostelo projetado para frente e para cima; ápice da coluna com margem inteira; antera ovada, as margens laterais providas de um dente inconspícuo em cada lado próximo a região mediana; polinário com viscídio ovado.

Material adicional examinado: BRASIL. SANTA CATARINA: Florianópolis, Morro do Ribeirão, 14.II.1967, fl., *R.M. Klein 7173* (FLOR); Morro do Rio Vermelho, 11.II.1969, fl., *R.M. Klein & A. Bresolin 8217* (FLOR); Morro Costa da Lagoa, 13.XI.1969, fl., *R.M. Klein 8213* (FLOR); Morro do Ribeirão, 14.II.1969, fl., *R.M. Klein 8213* (FLOR); Pântano do Sul, 21.I.1971, fl., *A. Bresolin 133* (FLOR); Vargem Grande, 20.II.1974, fl., *A. Bresolin 1121* (FLOR). Joinville, Morro da Tromba, 14.I.2008, fl., *W. Mancinelli 821* (JOI). Palhoça, Morro do Cambirela, 23.II.1972, fl., *R.M. Klein & A. Bresolin 10074* (FLOR); Praia da Ponta do Papagaio, 8.I.2016, fl., *C.A. Royer 95* (UPCB). Paulo Lopes, Bom Retiro, 19.XI.1973, fl., *R.M. Klein & A. Bresolin 10833* (FLOR). SÃO PAULO: Caraguatatuba, 13.I.2016, fl., *C.A. Royer & M. Rodrigues 96* (UPCB).

Zygostates pellucida possui registro somente para o litoral paranaense (Blum *et al.* 2011). Apesar do espécime citado em Blum *et al.* (2011) não ter sido localizado, a espécie é bem distribuída nos demais estados do sul e sudeste do Brasil, ocorrendo no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo (Royer *et al.* 2017). A descrição e ilustração aqui fornecidos baseiam-se em *C.A. Royer 95* (UPCB).

Segundo os critérios da IUCN (2001), *Z. pellucida* deve ser enquadrada na categoria "Criticamente em Perigo" (CR; B1b(i,ii)). Ainda que coletada em unidade de conservação, a espécie possui somente um registro para o estado.

Zygostates pellucida pode ser reconhecida através da forma das pétalas distintamente glandular-tricomatosas, curvadas para frente e fortemente convexas, pelo labelo panduriforme, e pela coluna geniculada e bruscamente curvada para a frente. Floresce de novembro a fevereiro.

1.8. *Zygostates pustulata* (Kräenzl.) Schltr. Repert. Spec. Nov. Regni Veg. 22: 69. 1926.
= *Ornithocephalus pustulatus* Kräenzl. Kongl. Svenska Vetensk. Acad. Handl., n.s. 46(10): 77. 1911.
= *Dipteranthus pustulatus* (Kräenzl.) Pabst, Orquídea (Rio de Janeiro) 28(3): 167. 1966.
= *Ornithocephalus dusenianus* Kräenzl. Ark. Bot. 16(8): 26. 1921.
= *Zygostates duseniana* (Kräenzl.) Pabst Arch. Jard. Bot. Rio de Janeiro. 14: 27. 1956. Fig. 4k-p

Planta 76,1–120 mm alt., pendente ou às vezes ereta. Raízes dispersas, glabras, distribuídas ao longo de um caule alongado, ramificado, folioso, de até ca. 70 mm de compr. Pseudobulbos 2,8–5

× 0,7–1,4 mm, unifoliados, glabros, elipsoides, lisos, esparsos, parcialmente cobertos pelas bainhas das folhas laterais. Folhas laterais 25,6–40,4 × 2,3–2,7 mm, verde-acizentadas, carnosas, lanceoladas a espatuladas, glabras, abaxialmente quilhadas, sulcadas adaxialmente, torcidas, ápice acuminado. Folhas apicais similares às laterais, 21,1–33,2 × 1,9–3,1 mm. Inflorescência 38,3–63 mm compr., ereta ou arqueada; brácteas 1,6–5 × 0,4–1,1 mm, laxas, ovadas a lanceoladas, glabras, côncavas, abaxialmente quilhadas. Flores simétricas, geralmente não-ressupinadas. Sépala dorsal 2,4–2,8 × 1–1,4 mm, branca, reflexa, ovada à elíptica, ligeiramente côncava, abaxialmente quilhada, ápice agudo, margens inteiras. Sépalas laterais 1,9–2,8 × 1,1–1,4 mm, brancas, reflexas, obliquas, ligeiramente côncavas, ápice agudo, margens inteiras. Pétalas 3,8–4,7 × 2,3–2,5 mm, brancas, patentes, elípticas, planas, glabras, abaxialmente quilhadas, ápice agudo a obtuso, margens inteiras. Labelo 3,6–4,6 × 2,3–3,1 mm, branco, patente, ovado, côncavo, abaxialmente quilhado, ápice agudo a obtuso, margens inteiras; disco com calosidade verde, subquadrada, côncava, glandular-tricomatosa, bilobada no ápice. Coluna 2,3–3,4 mm compr., fortemente curvada para frente e fundida com o calo presente na base do labelo, desprovida de apêndices; cavidade estigmática inconspícua; rostelo adaxialmente caniculado, curvado para cima, paralelo à curvatura do labelo, assimétrico, o ápice dilatado, distintamente entumescido e torcido; ápice da coluna com margem inteira; antera ovada,

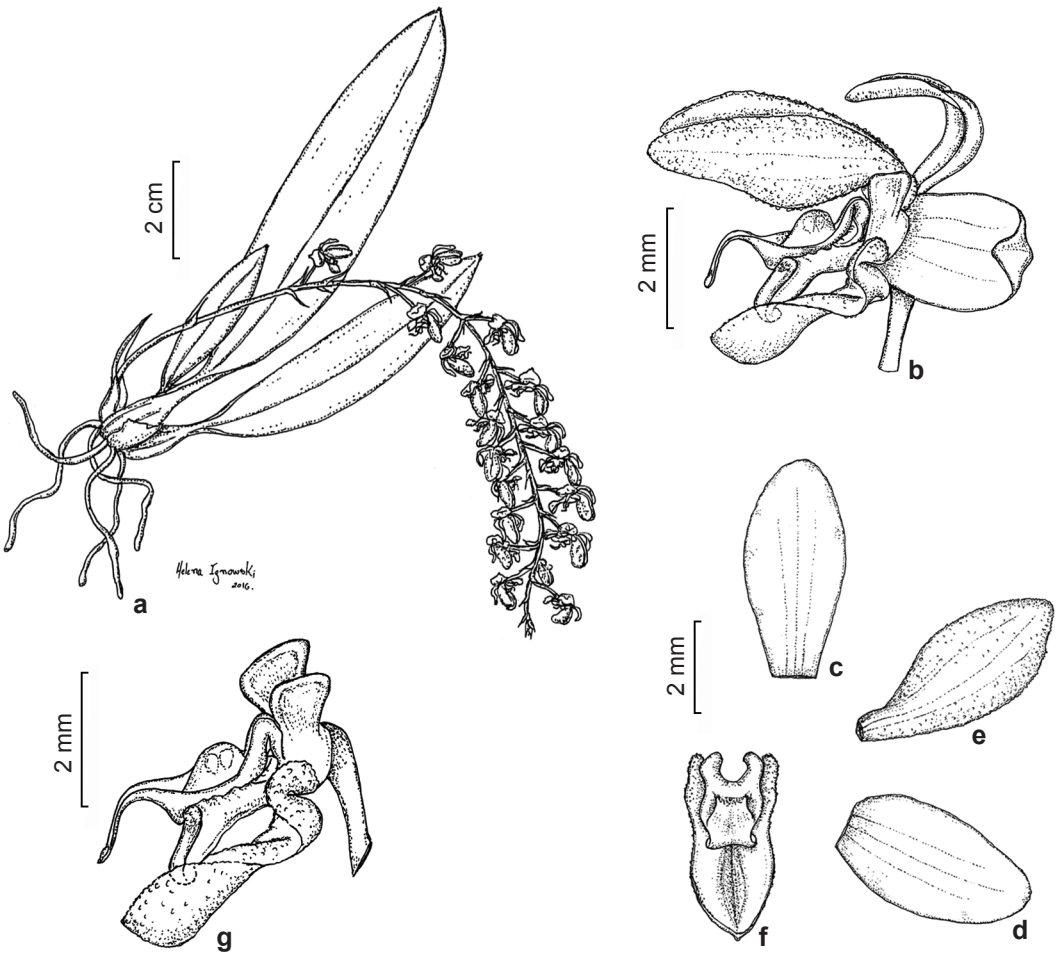


Figura 5 – a-g. *Zygostates pellucida* – a. hábito; b. flor; c. sépala dorsal, vista frontal; d. sépala lateral, vista frontal; e. pétala, vista frontal; f. labelo, vista frontal; g. coluna com labelo, vista lateral (*C.A. Royer 95*).
Figure 5 – a-g. *Zygostates pellucida* – a. habit; b. flower; c. dorsal sepal, frontal view; d. lateral sepal, frontal view; e. petal, frontal view; f. lip, frontal view; g. column with lip, lateral view (*C.A. Royer 95*).

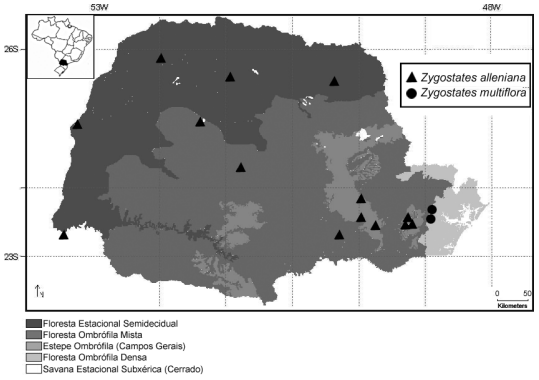


Figura 6 – Distribuição de *Zygostates alleniana* e *Zygostates multiflora* no Paraná.
Figure 6 – Distribution of *Zygostates alleniana* and *Zygostates multiflora* in Paraná.

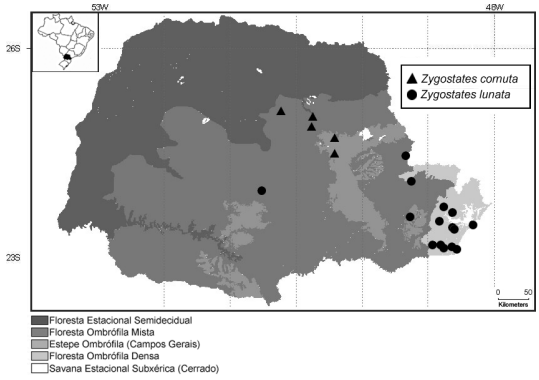


Figura 8 – Distribuição de *Zygostates cornuta* e *Zygostates lunata* no Paraná.
Figure 8 – Distribution of *Zygostates cornuta* and *Zygostates lunata* in Paraná.

brevemente rostrada, as margens inteiras; polinário com víscidio ovado, inserido numa depressão lateral na região apical do rostelo.

Material examinado: Campina Grande do Sul, Serra Ibitiraquire, 10.IV.2006, fl., *O.S. Ribas et al. 7175* (MBM). Corumbataí do Sul, Córrego Palmital, 14.III.2008, fl., *H.C.L. Geraldino 492* (HCF). Morretes, Pico Marumbi, Serra do Mar, 22.II.1962, fl., *M. Leinig 280* (HB); Estrada da Graciosa, Alto da Serra 16.IV.1975, fl., *G. Hatschbach 36642* (HB, MBM); Parque Estadual do Pico Marumbi, 20.IV.1998, fl., *C. Giongo 40* (UPCB); 25.III.1999, fl., *C. Giongo et al. 139* (UPCB); 27.II.2001, fl., *M.P. Petean 162* (UPCB); Serra Marumbi, 22.II.2005, fl., *E.F. Costa et al. 35* (MBM); Serra da Prata, 9.XI.2009, fr., *C.T. Blum & M.L. Brotto 659* (EFC); Serra da Farinha Seca, Morro Mãe Catira, 21.IV.2014, fl., *C.T. Blum 1603* (EFC); 30.III.2015, fl., *T.F. Santos & R. Kersten 76* (UPCB). Piraquara, Roça Nova, Serra do Mar, 18.II.1911, fl., *Dusén 11608* (S); Morro Anhangava, 8.IV.1951, fl., *G. Hatschbach 2212* (HB, MBM, PACA, SP). Quatro Barras, Casa Ypiranga em Silva prim., 2.IV.1910, fl., *F. Lange 9856=1184=11392* (HB); 18.III.1916, fl., *P.K.H. Dusén 18029* (S); Rio do Corvo, 1.IV.1969, fl., *G. Hatschbach 21308* (HB, MBM); Morro Mãe Catira, 9.IV.1986, fl., *J. Cordeiro & A. Manosso 279* (MBM).

Zygostates pustulata é encontrada no Litoral, Serra do Mar e Primeiro Planalto, habitando a Floresta Ombrófila Densa. Ocorre também no estado de Santa Catarina (Royer *et al.* 2017).

Segundo os critérios da IUCN (2001), a espécie é considerada "Vulnerável" (VU; B1b(i,ii)), pois ocorre em apenas seis localidades no estado e possui área de ocorrência (EOO) e ocupação (AOO) reduzidas. Além disso, não é encontrada em Unidades de Conservação no Paraná.

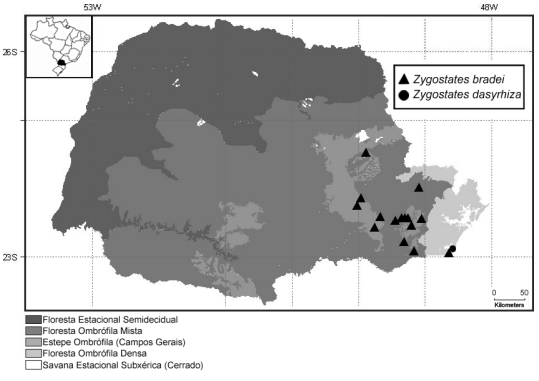


Figura 7 – Distribuição de *Zygostates bradei* e *Zygostates dasyrhiza* no Paraná.
Figure 7 – Distribution of *Zygostates bradei* and *Zygostates dasyrhiza* in Paraná.

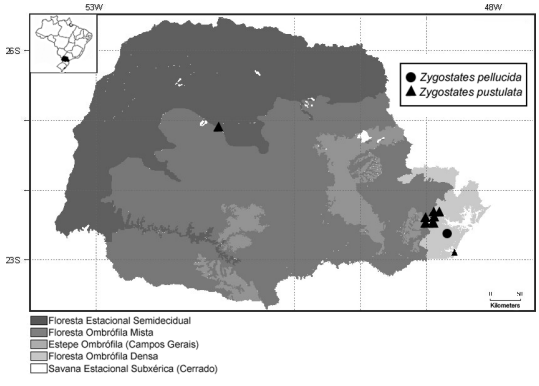


Figura 9 – Distribuição de *Zygostates pellucida* e *Zygostates pustulata* no Paraná.
Figure 9 – Distribution of *Zygostates pellucida* and *Zygostates pustulata* in Paraná.

Zygostates pustulata possui hábito semelhante à *Z. dasyrhiza*, mas difere dessa por possuir raízes glabras. A coloração das flores também é semelhante nas duas espécies, mas *Z. pustulata* é facilmente reconhecida pelas pétalas bem maiores que as sépalas e o rostelo torcido e entumescido no ápice. Floresce de fevereiro a abril.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos curadores dos herbários aqui citados, o empréstimo dos materiais; ao Marie Selby Botanical Gardens, o apoio financeiro para a confecção dos desenhos a nanquin; a Helena Ignowski, a realização das ilustrações. Somos gratos também ao Dr. Wade Collier, a ajuda na montagem das estampas. C.A.R. agradece à CAPES, a bolsa de Doutorado concedida; ao IAP (Nº 32.15) e ao ICMBio (SISBIO - 30642-1), as autorizações de coletas. E.C.S. agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a bolsa de Produtividade em Pesquisa do CNPq-Nível 2 (proc. 311001/2014-9) e ao MCTI/CNPq Nº 14/2013 - Universal (proc. 485396/2013-0). A.L.V.T.B. agradece à CAPES, a bolsa Programa Pesquisador Visitante Especial (PVE), 88881.065009/2014-0.

Referências

Bachman S, Moat J, Hill AW, De La Torre J & Scott B (2011) Supporting red list threat assessments with GeoCAT: geospatial conservation assessment tool. *In*: Smith V & Penev L (eds.) e-Infratructures for data publishing in biodiversity science. Zookeys 150: 117-126.

BFG - The Brazil Flora Group (2015) Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. Rodriguésia 66: 1085-1113.

Blum CT, Roderjan CV & Galvão F (2011) Composição florística e distribuição altitudinal de epífitas vasculares da Floresta Ombrófila Densa na Serra da Prata, Morretes, Paraná, Brasil. Biota Neotropica 11: 141-159.

Chase MW & Toscano de Brito ALV (2009) *Zygostates*. *In*: Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW & Rasmussen F (orgs.) *Genera Orchidacearum*. Epidendroideae (Part 2). Vol. 5. Oxford University Press Inc., New York. Pp. 391-394.

Chase MW, Cameron KM, Freudenstein JV, Pridgeon AM, Salazar G, van den Berg C & Schuiteman A (2015) An uptaded classification of Orchidaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 177: 151-174.

Dallwitz MJ, Paine TA & Zurcher EJ (2011) DELTA Editor: description language for taxonomy. Disponível em <http://delta-intkey.com>. Acesso em 16 fevereiro 2016.

Gonçalves EG & Lorenzi H (2011) Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. 2ª ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, Nova Odessa. 512p.

Harris JG & Harris MW (1994) Plant identification terminology: an illustrated glossary. Spring Lake Publishing, Spring Lake. 206p.

Hatschbach GG & Ziller SR (1995) Lista vermelha de plantas ameaçadas de extinção no estado do Paraná. SEMA/GTZ, Curitiba. 139p.

Hijmans RJ, Guarino L, Bussink C, Mathur P, Cruz M, Barrentes I & Rojas E (2012) DIVA-GIS: A geographic information system for the analysis of species distribution data. Versão 7.5. Disponível em <http://www.diva-gis.org>. Acesso em 7 março 2016.

IUCN Standards and Petitions Subcommittee (2001) Guidelines for using the IUCN red list categories and criteria. Version 8.1. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee in March 2010. Disponível em <http://jr.iucnredlist.org/documents/redlist_cats_crit_en.pdf>. Acesso em 29 agosto 2016.

Johnson AE (2001) Las Orquídeas del Parque Nacional Iguazú. L.O.L.A., Buenos Aires. 296p.

Lange MBR (1997) Programa Guaraqueçaba - seis anos de atuação da Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem (SPVS) na Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba, PR. *In*: Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação. Vol. 2. IAP/UNILIVRE/ Rede Nacional Pró Unidades de Conservação, Curitiba. 911p.

Lindley J (1837) Burlingtónia cándida. Snow-white Burlingtonia. Edwards's Botanical Register 23: t. 1927.

Kräenzlin FWL (1911) Beiträge zur Orchideenflora Südamerikas. Kongliga Svenska Vetenskaps Academiens nya Handlingar 46: 1-105.

Maack R (1968) As zonas das paisagens naturais. *In*: Maack R. Geografia física do Paraná. BADEP, UFPR, Curitiba. 526p.

Pabst GFJ & Dungs F (1977) Orchidaceae Brasilienses, Vol. 2. Brucke-Verlag Kurt Schmersow, Hildesheim. 418p.

Roderjan CV, Kuniyoshi YS & Galvão F (1993) As regiões fitogeográficas do estado do Paraná. Acta Forestalia Brasiliensis 1: 1-7.

Royer CA, Toscano de Brito ALV & Smidt EC (2017) *Zygostates. In*: Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB12391>. Acesso em 6 setembro 2017.

Sambin A & Chiron GR (2015) Premier enregistrement de *Zygostates* Lindley (Orchidaceae) en Guyane française. Richardiana 16: 51-56.

Smidt EC (2014) Orchidaceae. *In*: Kaehler M, Goldenberg R, Labiak PH, Ribas OS, Vieira AOS & Hatschbach GG (eds.) Plantas vasculares do Paraná. Departamento de Botânica, Curitiba. Pp. 156.

Stern WT (2004) Botanical Latin. Timber Press, Portland. 546p.

Thiers B [continuously updated] Index Herbariorum: the herbaria of the world. New York Botanical Garden. Disponível em <http://sweetgum.nybg.org/ih/>. Acesso em 9 março de 2016.

Toscano de Brito ALV (1994) Systematic studies in the subtribe Ornithocephalinae (Orchidaceae). Tese de Doutorado. Universidade de Reading e Royal Botanic Gardens, Kew. 652p.

Toscano de Brito ALV (2001) Systematic review of the *Ornithocephalus* group (Oncidiinae: Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella*. Lindleyana 16: 157-217.

Veloso HP, Rangel Filho ALR & Lima JCA (1991) Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal. IBGE/Projeto Radambrasil, Rio de Janeiro. 123p.

Editora de área: Dra. Tatiana Carrijo
Artigo recebido em 09/09/2016. Aceito para publicação em 08/12/2016.

Hoehnea 44(1): 139-144, 3 fig., 2017 http://dx.doi.org/10.1590/2236-8906-100/2016

Centroglossa tripollinica (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotypification and rediscovery in the State of Paraná, Brazil[1]

Carla Adriane Royer[2,5], Antonio Luiz Vieira Toscano de Brito[3] and Eric de Camargo Smidt[4]

Received: 25.11.2016; accepted: 31.01.2017

ABSTRACT - (*Centroglossa tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotypification and rediscovery in the State of Paraná, Brazil). The genus *Centroglossa* consists of six species, all endemic to the Atlantic Forest in southern and southeastern Brazil. It was known to occur in the State of Paraná based on three specimens of *C. tripollinica* collected by the Swedish botanist Per Karl Hjalmar Dusén at the beginning of last century. During recent fieldwork in Brazil, this species was rediscovered in Paraná. The aim of this article is to confirm the presence of *C. tripollinica* in the State of Paraná, provide a detailed description and illustrations of this species, and discuss its conservation status. A lectotype is designated for *C. tripollinica*.
Keywords: Atlantic Forest, Biodiversity, Flora of Paraná, IUCN

RESUMO - (*Centroglossa tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. (Orchidaceae: Oncidiinae): lectotipificação e redescoberta no Estado do Paraná, Brasil). O gênero *Centroglossa* consiste de seis espécies endêmicas da Mata Atlântica do sul e sudeste brasileiros. No Estado do Paraná, o gênero encontrava-se registrado por três coleções pertencentes à *C. tripollinica*, todas realizadas pelo botânico suéco Per Karl Hjalmar Dusén. Durante a realização de recentes trabalhos de campo no Paraná, a referida espécie foi redescoberta no Estado. O objetivo deste artigo é confirmar a presença de *C. tripollinica* no Paraná, detalhando-a por meio de uma descrição e ilustração, além de discutir o seu presente estado de conservação. Um lectótipo é selecionado para *C. tripollinica*.
Palavras-chave: Biodiversidade, Flora do Paraná, IUCN, Mata Atlântica

Introduction

The genus *Centroglossa* Barb. Rodr. consists of six species of erect to pendulous, small epiphytic orchids restricted to the Atlantic Forest in southern and southeastern Brazil. It is a member of the *Ornithocephalus* clade of subtribe Oncidiinae and apparently related to the genus *Zygostates* Lindl., with which it shares similar vegetative and floral morphology (Toscano de Brito 2001, Chase & Toscano de Brito 2009). However, it is readily distinguished from *Zygostates* by its distinctive spurred lip.

Barbosa Rodrigues (1877) described *Centroglossa* based on two species, *C. macroceras* Barb. Rodr. and *C. tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. The latter species was originally described as *Ornithocephalus tripollinicus* Barb. Rodr. and was selected as the lectotype of the genus (Toscano de Brito 2001).

In this work we describe and illustrate *Centroglossa tripollinica*, the only species so far known to occur in Paraná. We also provide nomenclatural notes and conservation status of this species in the state.

Material e methods

This study was based on review of literature, examination of living fertile plants and specimens

1. Parte da Tese de Doutorado do primeiro Autor
2. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Av. 24-A, 1515, 13506-900 Rio Claro, São Paulo, Brasil
3. Marie Selby Botanical Gardens, 811 South Palm Avenue, Sarasota, FL. 34236, U.S.A. Associate, Oakes Ames Orchid Herbarium, Harvard University Herbarium, U.S.A.
4. Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Av. Cel. Francisco H. dos Santos, s.n., Jardim das Américas 80530-900 Curitiba, PR, Brasil
5. Corresponding author: carladriane@gmail.com

deposited in the herbaria BHCB, BR, HB, P, RB, S, SP and UPCB (acronyms according to Thiers 2016), and supplemented with material collected on fieldwork. Morphological descriptions followed the terminology used by Toscano de Brito (1994, 2001) and Stern (2004). Synonyms accepted in this study followed Toscano de Brito (2001).

The conservation status of the taxon was inferred by following IUCN's recommendations (2010), which considered the number of locations, the area of occupancy, and the extent and quality of the habitat.

The description of the species's habitat was based on Maack (1968) and Veloso *et al.* (1991).

Results and Discussion

Centroglossa tripollinica is the only representative of this genus in Paraná. A new record (*C.A. Royer et al. 134*) confirms the unpublished information provided by one of us (Toscano de Brito 1994), who previously cited the presence of the genus *Centroglossa* in the State. This citation was based on a specimen of *C. tripollinica* collected by the Swedish botanist and explorer Per Karl Hjalmar Dusén (1855-1926), which is deposited in the herbarium of the Swedish Museum of Natural History (S).

Centroglossa tripollinica (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. Gen. Sp. Orchid. 2: 235. 1882. = *Ornithocephalus tripollinicus* Barb. Rodr., Gen. Sp. Orchid. 1: 136. 1877. TYPE: BRAZIL: Minas Gerais: Poços de Caldas, in wet forests, flowered in April, *J. Barbosa Rodrigues s.n.* (Holotype: Lost; lectotype here designated: illustration tab. 312, fig. A, vol. 6, in Iconogr. Orchid. Brésil at the Library of Rio de Janeiro Botanical Garden, cited as tab. 461 (then unpublished) in Barb. Rodr. *loc.cit*; copied and reproduced in black and white in Cogn., Fl. Bras. (Mart.) 3(5), tab.46, fig.1, 1.1904.; reproduced in color in Sprunger *et al.*, 1996, vol. 1: 440, fig. A).

Figures 1-3

Plant sympodial, 32-48 mm tall. Roots caespitose, hairy. Pseudobulbs 3.6-7.5 × 1.4-2.2 mm, unifoliate, oblong, partially covered by the sheaths of the lateral leaves. Lateral leaves 14.8-32.6 × 1.9-3.6 mm, distichous, bifacial, elliptical, fleshy, abaxially keeled, apex acute, articulated with a V-shaped sheath. Apical leaf similar to the lateral ones, sessile and articulated with the pseudobulb. Inflorescence 16-21 mm long, emerging from the base of the pseudobulb, laxly covered by lanceolate bracts. Flowers resupinate or non-resupinate. Sepals 2.2-2.4 × 1.5-2 mm, white, slightly greenish at apex, incurved, obovate, concave, abaxially keeled, margins obscurely crenulate, apex obtuse. Petals 1.9-2.8 × 1.6-1.9 mm, white, incurved, obovate, concave, abaxially keeled, margins obscurely crenulate, apex obtuse. Lip 3.2-4.5 × 1.8-2.4 mm, white, deflexed, distinctly infundibuliform, markedly spurred, obscurely lobed at apex, glandular within, with a fleshy, white callus embedded on the disc near the attachment to column, margins entire, apex obtuse. Column short, straight or slightly curved, with a pair of conspicuous, lateral, arm-like, white appendages at base; stigmatic cavity rounded, occupying a large portion of the abaxial surface of the column; rostellum spreading or projected forwards; anther ca. 1 mm long, acute; pollinia four, arranged in two superposed, subequal pairs, stipe elongate, linear-spatulate, viscidium, dorsal, elliptic. Capsule ca. 10.8 × 6.5 mm, triangular in cross-section with wavy wings at angles.

Material examined: BRAZIL. Paraná: Without Locality, 1908-1916, *P.K.H. Dusén s.n.* (S1644828). Quatro Barras, Morro Mãe Catira, Rodovia da Graciosa, 13-V-2016*, C.A. Royer et al. 134* (UPCB, *spirit*).

Additional material examined: BRAZIL. Without Locality, obtained from a private collector, fl. cult. in Curitiba by M. Klingelfus s.n., 22-VI-2015, *A. Toscano de Brito 3408* (UPCB, spirit); 1-VI-2016, *C.A. Royer* 135 (UPCB, spirit); 1-VI-2016. Espírito Santo: Castelo, s.d., *A.C. Brade 30* (HB). Minas Gerais: Bom Jardim de Minas, 12-V-1961, *J.E. Saléh 60* (HB). Caldas, near Fazenda Capivary, 15-V-1874*, C.W.H. Mosén 1708* (S, spirit). Caldas, s.d., *A.F. Regnell III-1171* (S). Caldas, Pedra Branca, 18-VIII-1857, *A.F. Regnell III-1170* (S; SP; P). Conceição do Mato Dentro, Parque Natural Municipal do Ribeirão do Campo, 8-VIII-2002*, R.C. Mota et al. 2516* (BHCB). Rio De Janeiro: Itatiaia, lote 88, 900 m, II-1942, *A.C. Brade 17336* (RB). Serra dos Orgãos, ?-1887, *J.T. de Moura 49* (BR).

Centroglossa tripollinica was first described in the genus *Ornithocephalus* Hook. based on a specimen from Poços de Caldas, in the State of Minas Gerais, southeastern Brazil. The type specimen of *Ornithocephalus tripollinicus* was lost (Cribb & Toscano de Brito, 1996), and the only extant original material is the illustration which appeared in Barbosa Rodrigues's Iconographie des orchidées du Brésil, which is now deposited in the library of Rio de Janeiro Botanical Garden. This illustration was copied and

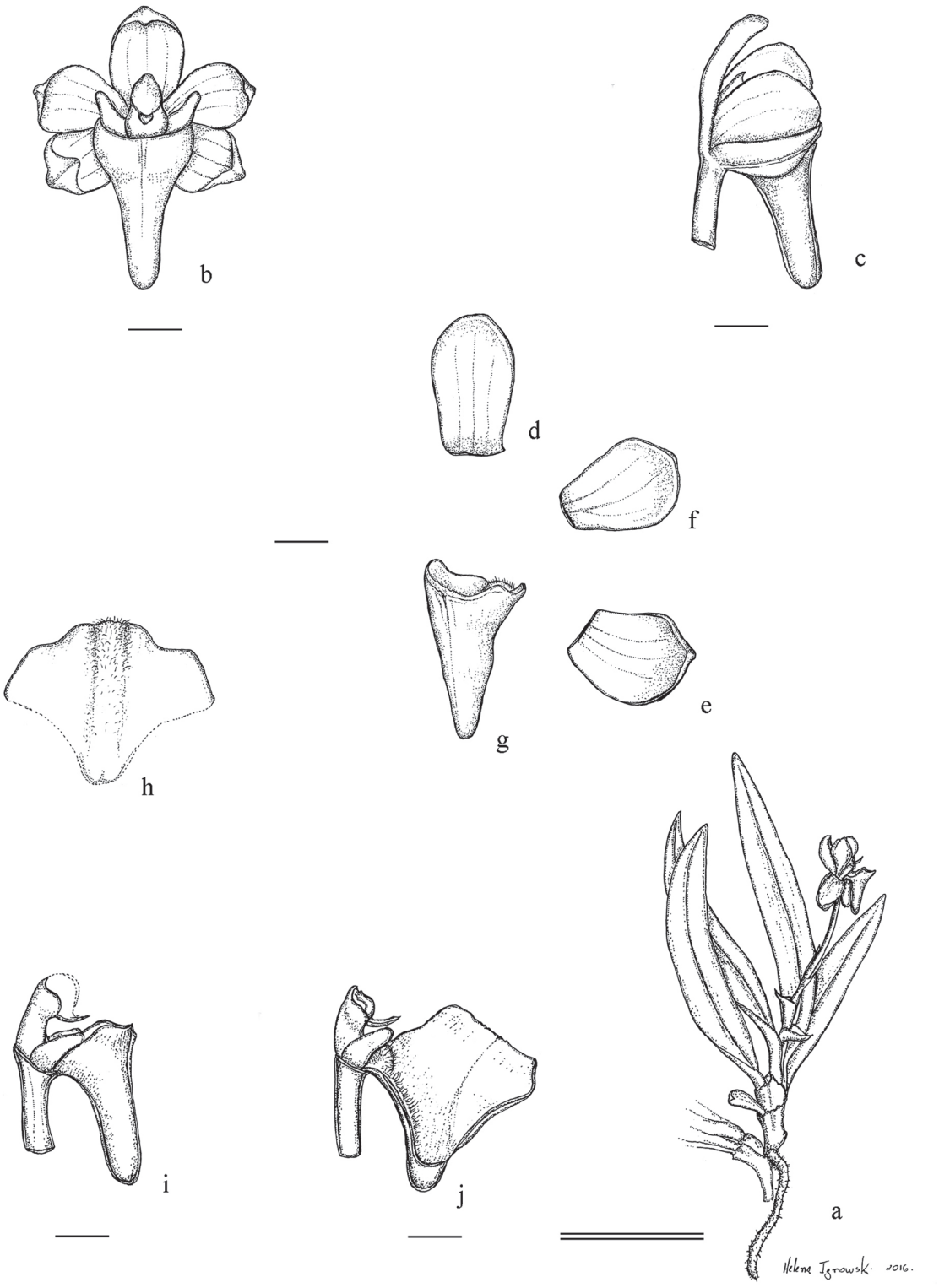


Figure 1. *Centroglossa tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. a. Habit. b. Flower, frontal view. c. Flower, lateral view. d. Dorsal sepal. e. Lateral sepal. f. Petal. g. Lip, lateral view. h. Lip, longitudinal section. i. Ovary, column and lip, lateral view. j. Ovary, column and lip in lateral view, anther removed and lip laterally sectioned (*C.A. Royer 134*). Double-line scale = 1 cm. Single-line scale = 1 mm.

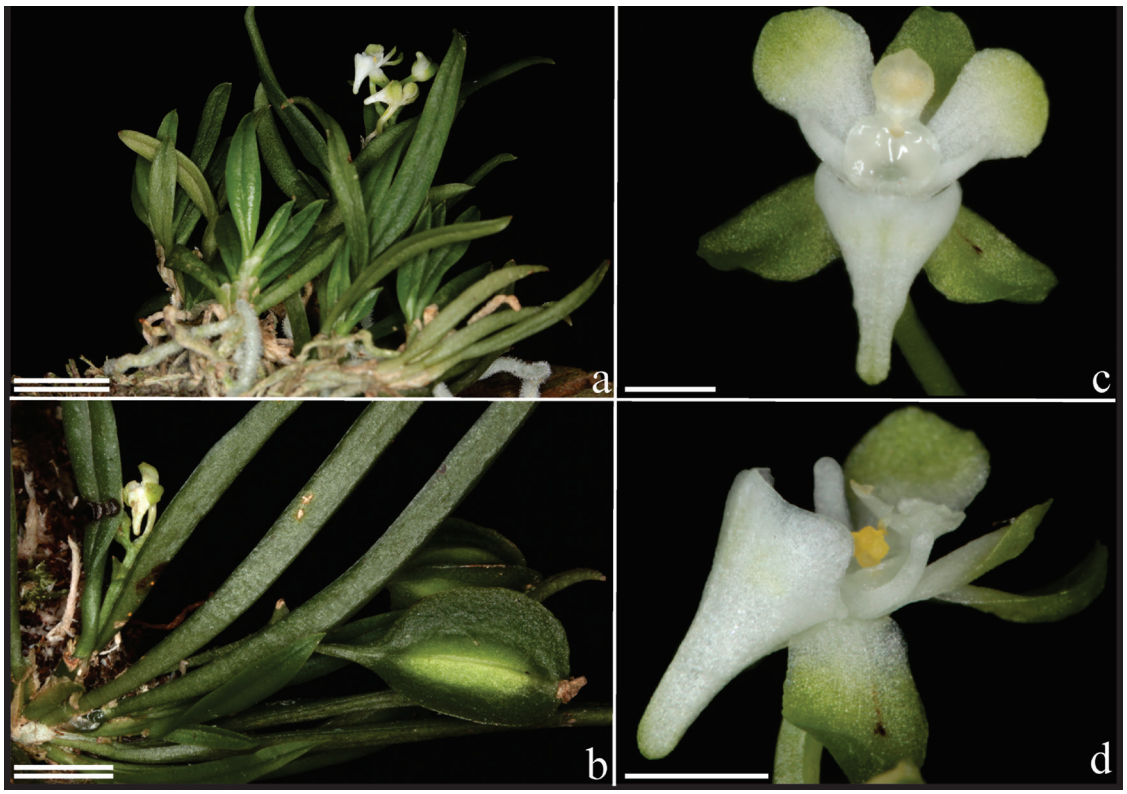


Figure 2. *Centroglossa tripollinica* (Barb. Rodr.) Barb. Rodr. a. Habit (*C.A. Royer et al. 135*). b. Habit showing immature fruit (*C.A. Royer 134)*. c. Flower, frontal view (*C.A. Royer et al. 135*). d. Flower; lateral view (*C.A. Royer et al. 135*). Double-line scale = 5 mm. Single-line scale = 1 mm.

reproduced in black and white in Cogniaux (1904), and later reproduced in color in Sprunger *et al.* (1996). It is here selected as the lectotype.

Centroglossa tripollinica is apparently well distributed in the Atlantic Forest in southeastern Brazil. However, to our current knowledge no specimen has been collected and deposited in a herbarium in over 40 years. It has been reported for the States of Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro and Paraná (Kraenzlin 1911, Pabst & Dungs 1977, BFG 2015). Hoehne (1953), Pabst & Dungs (1977) and BFG (2015) cited this species for the State of São Paulo, but so far we have been unable to confirm this information. In the state of Paraná, *Centroglossa tripollinica* seems to be uncommon, so far only found in the Floresta Ombrófila Densa in Serra do Mar, a region that houses part of the largest remnant of Atlantic Forest in Brazil (PROBIO 2007) and presents great richness and diversity of *Ornithocephalus clade* (Royer *et al.* 2014, Estevinho *et al.* 2016). Apart from the specimen collected in the municipality of Quatro Barras (*C.A. Royer et al. 134*), the authors are aware of three other collections by Dusén. One of them, *Dusén s.n.*, which is deposited at S (figure 3), was studied by one of us (ALVTB). It has no precise locality noted and was collected between 1908 and 1916. The other two specimens, *Dusén 10098* and *Dusén 10287*, were cited by Kraenzlin (1911), but unfortunately we have been unable to locate these collections. It is possible that they were destroyed during the bombing of the Berlin herbarium (B) as Kraenzlin's herbarium is known to have been acquired by B in 1907 (Stafleu & Cowan 1979). Two additional collections without provenance, *A. Toscano de Brito 3408* (UPCB) and *C.A. Royer 135* (UPCB), are based on the same individual. They flowered in cultivation in Curitiba and might have been collected in Paraná. One of them, *C.A. Royer 135*, is illustrated in figure 2a, c-d.

Based on the IUCN criteria (2010), *C. tripollinica* was previously considered "Possibly Extinct" locally, as over 100 years has passed since it was last collected. With present evidence, the species should now be placed in the category "Critically Endangered" (VU D2 CR) in Paraná State, because the area of distribution is very limited, and there is a natural and/or anthropogenic threat.



Figure 3. Dusén's collection deposited at S. It has no precise locality noted and it was collected between 1908 and 1916. By permission of the Keeper, Herbarium of the Swedish Museum of Natural History.

Acknowledgements

The authors are grateful to Wade Collier for helping assemble the images and editing the text, Helena Ignowski for preparing the black and white illustrations, and the Marie Selby Botanical Gardens for providing funds for the artwork. We thank the following herbaria for the privilege of studying their collections: BHCB, BR, HB, P, RB, S, SP and UPCB. We also thank the Keeper of the Herbarium of the Swedish Museum of Natural History (S) for permission to reproduce the image which appears in figure 3. CAR and ALVTB acknowledge Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for a doctoral grant and grant Programa Pesquisador Visitante Especial (PVE), 88881.065009/2014-0, respectively. ECS thanks Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for Bolsa de Produtividade em Pesquisa CNPq-Nível 2 (processo 311001/2014-9) and for grant MCTI/CNPq 14/2013 - Universal (processo 485396/2013-0).

Literature cited

Barbosa Rodrigues, J. 1877. Genera et Species Orchidearum Novarum quas Collecit, Descripsit et Iconibus Illustravit. 1 ed. Typographia Nacional, Rio de Janeiro.

BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. Rodriguésia 66: 1085-1113.

Chase, M.W. & Toscano de Brito, A.L.V. 2009. *Zygostates*. *In*: A.M. Pridgeon, P.J. Cribb, M.W. Chase & F. Rasmussen (orgs.). Genera Orchidacearum: Epidendroideae (Part 2), v. 5, 1 ed. Oxford University Press Inc, New York., pp. 391-394.

Cogniaux, A. 1904. *Centroglossa* Barb. Rodr. *In*: C.F. P. von Martius, A.W. Eichler & I. Urban (eds.). Flora Brasileinsis. v. 3, Part 6. R. Oldenbourg, Monachii et Lipsiae, pp. 188-192.

Cribb, P.J. & Toscano de Brito, A.L.V. 1996. Introduction and History. *In*: S. Sprunger, P.J. Cribb & A.L.V. Toscano de Brito (eds.). João Barbosa Rodrigues: Iconographie des orchidées du Brésil. v. 1. The Illustrations. Friedrich Reinhardt, Basle, pp. 23-30.

Estevinho, T.F., Toscano de Brito, A.L.V. & Smidt, E.C. 2016. O gênero *Ornithocephalus* Hook. (Orchidaceae: Oncidiinae) nos estados do Paraná e Santa Catarina. Acta Biológica Paranaense 45: 1-9.

Hoehne, F.C. 1953. *Centroglossa*. *In*: F.C. Hoehne (ed.). Flora Brasílica, Orchidaceas. v. 12, n. 7. Companhia Brasileira de Impressão e Propaganda, São Paulo, pp. 375-381.

IUCN - Standards and Petitions Subcommittee. 2010. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 8.1. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee in March 2010. Available in http://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf/ (access in 05-VI-2016).

Kraenzlin, F. 1911. Beitrage zur Orchideenflora Südamerikas. Kongl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar 46: 1-115.

Maack, R. 1968. As zonas das paisagens naturais. *In*: R. Maack (ed.). Geografia física do Paraná. BADEP, Curitiba.

Pabst, G.F.J. & Dungs, F. 1977. Orchidaceae Brasilienses. v. 2. Brucke-Verlag Kurt Schmersow, Hildesheim.

PROBIO - Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira. 2007. Levantamento da Cobertura Vegetal Nativa do Bioma Mata Atlântica. Instituto de Estudos Socioambientais do Sul da Bahia (IESB), Rio de Janeiro.

Royer, C.A., Toscano de Brito, A.L.V. & Smidt, E.C. 2014. O gênero *Phymatidium* Lindl. (Orchidaceae: Oncidiinae) no estado do Paraná. Rodriguésia 65: 251-260.

Sprunger, S., Cribb, P. & Toscano de Brito A.L.V. (eds.). 1996. João Barbosa Rodrigues: Iconographie des orchidées du Brésil. v. 1. The Illustrations. Friedrich Reinhardt, Basle.

Stafleu, F.A. & Cowan, R.S. 1979. Taxonomic Literature. A selective guide to botanical publications and collections with dates, commentaries and types. 2 ed. v. 2. H-Le. Bohn, Scheltema & Holkema, Utrecht.

Stern, W.T. 2004. Botanical Latin. Timber Press, Portland.

Thiers, B. 2016. Index Herbariorum. Part I: The herbaria of the world. New York Botanical Garden. Available in http://sweetgum.nybg.org/ih/ (access in 05-VI-2016).

Toscano de Brito, A.L.V. 1994. Systematic studies in the subtribe Ornithocephalinae (Orchidaceae). Tese de Doutorado. Universidade de Reading e Royal Botanic Gardens, Londres.

Toscano de Brito, A.L.V. 2001. Systematic review of the *Ornithocephalus* group (Oncidiinae: Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella*. Lindleyana 16: 157-217.

Veloso, H.P., Rangel Filho, A.L.R. & Lima, J.C.A. 1991. Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal. IBGE/Projeto Radambrasil, Rio de Janeiro.