

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LIGIA DEBONE PIAZZA

EVOLUÇÃO DOS CARACTERES ANATÔMICOS DOS ÓRGÃOS
VEGETATIVOS DE ESPÉCIES DE *Bulbophyllum* THOUARS
(ORCHIDACEAE, EPIDENDROIDEAE) NEOTROPICAIS

CURITIBA

2013

LIGIA DEBONE PIAZZA

EVOLUÇÃO DOS CARACTERES ANATÔMICOS DOS ÓRGÃOS
VEGETATIVOS DE ESPÉCIES DE *Bulbophyllum* THOUARS
(ORCHIDACEAE, EPIDENDROIDEAE) NEOTROPICAIS

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica, Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Cleusa Bona

Co-orientador: Prof. Dr. Eric de Camargo
Smidt

CURITIBA

2013

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas

Piazza, Ligia Debone

Evolução dos caracteres anatômicos dos órgãos vegetativos de espécies de *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae, Epidendroideae) neotropicais. / Ligia Debone Piazza. – Curitiba, 2013.
94 f.: il. ; 30cm.

Orientador: Cleusa Bona

Co-orientador: Eric de Camargo Smidt

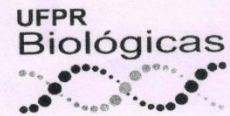
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Botânica.

1. Orquidea 2. Anatomia vegetal I. Título II. Bona, Cleusa III. Smidt, Eric de Carmargo IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Botânica.

CDD (20. ed.) 581.49



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BOTÂNICA



**“EVOLUÇÃO DOS CARACTERES ANATÔMICOS DOS
ÓRGÃOS VEGETATIVOS DE ESPÉCIES DE
Bulbophyllum THOUARS (ORCHIDACEAE,
EPEDENDROIDEAE) NEOTROPICAIS”**

por

LIGIA DEBONE PIAZZA

Dissertação aprovada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Botânica, pela Comissão
formada pelos Professores

Prof^a Dr^a Cleusa Bona (UFPR)- PRESIDENTE

Prof^a Dr^a Juliana Lischka Sampaio Mayer (Unicentro)

Prof^a Dr^a Aline Oriani Maganhato (UNESP)

Curitiba, 25 de abril de 2013.

Dedico este trabalho a toda a
minha família, que me
incentivou e lutou junto comigo
para esta realização.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Rubens Piazza e Marialice D. Piazza, que me ensinaram a persistir nos meus sonhos, a não desistir quando tiver dificuldades e não ter medo de errar e começar de novo.

Ao meu irmão, Rodolfo D. Piazza, meus primos, Daniela Debone, Henrique Debone, Vinícius Debone e Victor Debone, por todo o apoio e conversas nos fins de semana, internet e poucas vezes que conseguimos nos encontrar, sobre dificuldades no meio acadêmico, profissional e sonhos. Ao meu avô e minhas avós que apesar de não entenderem o que eu estudo, por sentirem orgulho.

Aos meus orientadores Cleusa Bona e Eric de Camargo Smidt, pelo acompanhamento, orientação e ensinamentos durante a realização do trabalho.

Aos professores do Curso da Pós-Graduação em Botânica e do departamento de Botânica, que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma com o meu trabalho e amadurecimento profissional.

Ao técnico, Nilson Belém Filho, por toda a ajuda no laboratório e pela amizade e conversas a cerca do mundo e suas transformações. As secretárias, Jislaine Coltro e Lucimara Albuquerque, por todo o auxílio na época em que era representante de turma e amizade.

A todos os colegas do mestrado em especial João, Deni, Carla, Sheila, Paulo, Tiago, Dani, Silvia, Cristina, Manu, Mônica, Jule, Fred, Suelen, Patricia, Patricia, Mathias, Duane, Ana Paula por todas as angústias, momentos de desespero, mas também de alegria e diversão compartilhada.

Aos colegas de laboratório, em especial as iniciações científicas, Carolina Rosa e Jéssica Schafhauser, por ajuda no trabalho prático e por deixar o trabalho mais alegre e divertido.

Aos meus amigos, João, Cassiana, Rodrigo, Deni, Ana Paula, Carla, Sheila, Simone, Barbára, Carol, Carolina Rosa, Sheila, Paulo, Mônica (e outros que possa ter esquecido) que estiveram ao meu lado nos momentos difíceis e de tristeza, não deixando que as lágrimas rolassem. E nos momentos de alegria e diversão que foram sensacionais.

Novamente aos meus amigos mais queridos que não me abandonaram nos meus momentos de crise e de loucuras João, Cassiana, Rodrigo e Deni. Obrigada

por me ouvir, mesmo quando o assunto é repetitivo. Obrigada por me fazerem rir na hora de chorar. Obrigada por terem sempre uma panela de brigadeiro na hora de desabafar. Sem vocês já tinha desistido.

A Poliana Cardoso, pelas dicas na reta final do trabalho, amizade e incentivo a não desistir da pesquisa.

Aos amigos da praia, que por mais que eu esteja longe, não se esquecem de mim e fazem os momentos vividos quando a gente se encontra único e eterno.

Aos amigos de Maringá, Mônica, Caio e Pedro, que pelas conversas, sobre a época de faculdade, presente e futuro profissional e pessoal. Ao Gabriel, por me ouvir nos momentos difíceis em que tive vontade de desistir e pelas conversas sobre a vida e o que nós buscamos durante a nossa passagem pela Terra. A professora Maria Auxiliadora pelos ensinamentos na época de estágio e tcc, amizade e por ter me apresentado ao “maravilhoso e curioso mundo das orquídeas”.

Obrigada a todos aqui citados e aos que eu não me lembrei de citar, vocês foram importantes para realização desse trabalho.

“É melhor tentar e falhar, do que ver a vida passar
É melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo
nada até o final
Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias frios em casa me
esconder
Prefiro ser feliz embora louco, que em conformidade viver.”
Martin Luther King

RESUMO

O gênero *Bulbophyllum* Thou. possui distribuição pantropical; no Neotrópico, é dividido em seis seções *Bulbophyllum* sect. *Bulbophyllaria*, *Furvescens*, *Didactyle*, *Micranthae*, *Napelli* e *Xiphizusa*, baseadas na filogenia molecular. A problemática do trabalho é a incongruência quanto ao posicionamento taxonômico das espécies basais das seções *Didactyle*, *Micranthae* e *Xiphizusa* quando se utiliza análises moleculares, uma vez que as características morfológicas externa não sustentam estes indivíduos nas seções em que estão inseridas. Este trabalho teve por objetivo caracterizar anatomicamente os órgãos vegetativos de *Bulbophyllum* presentes no Neotrópico, utilizando como grupo externo comparativo espécies da África e Ásia e uma espécie do gênero *Dendrobium*; levantar caracteres anatômicos que auxiliem a filogenia do grupo e estudar a evolução desses caracteres. Amostras de raiz, pseudobulbo e lâmina foliar de 35 espécies foram analisadas em microscopia de luz e eletrônica de varredura. Foram levantados 33 caracteres anatômicos, que também auxiliaram na descrição das seções. Desses 33 caracteres, 28 binários e cinco multiestados, onde 30 são qualitativos e três quantitativos. Destes, nove são sinapomórficos e 4 não informativos. Os caracteres anatômicos não resolveram as politomias de *Bulbophyllum*. A evolução dos caracteres permitiu a identificação dos caracteres que agrupam as espécies dentro de quase todas as seções pré-estabelecidas pela filogenia molecular, com exceção de *Napelli*. Sendo o caráter lignificação da parede periclinal externa das células epidérmicas da lâmina foliar diagnóstico para *Micranthae*. Os caracteres que permitiram esse agrupamento foram: cutícula moderadamente espessa e bem espessa (dependendo da seção), mesofilo heterogêneo, cristais de oxalato de cálcio dos tipos ráfides, drusas e prismáticos presentes no mesofilo, número de feixes vasculares na lâmina foliar e cutícula moderadamente espessa a espessa no pseudobulbo. O presente trabalho permitiu concluir que caracteres anatômicos vegetativos com maior valor taxonômico são encontrados nas lâminas foliares; estes caracteres não foram suficientes para resolver as politomias entre as espécies do gênero, porém permitiram avaliar como está a evolução dos mesmos nas seções pré-estabelecidas por filogenia molecular.

Palavras chaves: Orquídeas, lâmina foliar, pseudobulbo, raiz

Abstract

The issue of labor is the inconsistency regarding the taxonomic position of the species basal sections **Didactyle**, **Micranthae** and **Xiphizusa** when using molecular analysis, since the external morphological characteristics do not support these individuals in the sections in which they operate. This study aimed to characterize anatomically vegetative organs *Bulbophyllum* present in the Neotropics, outgroups using comparative species in Africa and Asia and a species of the genus *Dendrobium*; anatomical characters that help raise the phylogeny of the group and study the evolution of these characters. Root samples, pseudobulb and leaf blade of 35 specimens were analyzed by light microscopy and scanning electron microscopy. We surveyed 33 anatomical characters, which also help in the description of the sections. Of these 33 characters, 28 binary-five multiestados, where 30 are qualitative and three quantitative. Of these, nine are sinapomórficos four and uninformative. The anatomical characters have not solved the politomies *Bulbophyllum*. The evolution of characters allowed for the identification of the characters that group species within almost all sections pre-established by molecular phylogeny, except **Napelli**. Being the character lignification external periclinal wall of the epidermal cells of the leaf blade diagnostic **Micranthae**. The characters that allowed this grouping were: moderately thick cuticle and thick (depending on the section), mesophyll heterogeneous crystals of calcium oxalate raphides types, prismatic and druses present in the mesophyll, number of vascular bundles in the leaf blade and moderately thick cuticle in the thick pseudobulbs. This study revealed that the vegetative anatomical characters with greater taxonomic value are found in the leaf blades, these characters were not enough to resolve the politomies among species of the genus, but is allowed to assess how their evolution in the sections pre-established by phylogeny molecular.

Keywords: Orchids, leaf blade, pseudobulb, root.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Orchidaceae: características gerais.....	9
1.2 Epidendroideae e o gênero <i>Bulbophyllum</i> Thouars.....	11
1.3 Anatomia vegetativa como subsídio à sistemática de Epidendroideae.....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS	15
3. RESULTADOS	22
3.1. Aspectos Anatômicos	22
3.1.1 Seção <i>Bulbophyllaria</i>	22
3.1.2 Seção <i>Furvenses</i>	26
3.1.3 Seção <i>Napelli</i>	29
3.1.4 Seção <i>Micranthe</i>	35
3.1.6 Seção <i>Didactyle</i>	41
3.1.7 Seção <i>Xiphizusa</i>	46
3.1.8 Grupo externo	52
3.2 Análise Cladística.....	59
4. DISCUSSÃO	72
4.1 Anatomia	72
4.2 Cladística	79
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
REFERÊNCIAS.....	83
Anexo	91

1. INTRODUÇÃO

1.1 Orchidaceae: características gerais

Orchidaceae é uma das maiores entre as Angiospermas, possuindo aproximadamente 800 gêneros e 20000 espécies (excluindo os híbridos) (DRESSLER, 1993). No Brasil são encontrados cerca de 235 gêneros e 2419 espécies (BARROS *et al.*, 2010). Esta família está inserida na ordem Asparagales (APG III, 2009) e é subdividida em cinco subfamílias: Apostasioideae (Rchb. f.), Cyripedioideae (Lindl.), Vanilloideae (Szlach.), Orchidoideae (Lindl.) e Epidendroideae (Lindl.) (PRIDGEON *et al.*, 1999), sendo esta a que abrange mais espécies. A maioria das orquídeas é epífita, desenvolvendo-se sobre troncos e ramos de árvores e arbustos, o que possibilita a formação de nichos específicos (BARBIERI *et al.*, 2008). Populações de espécies epifíticas apresentam distribuição fragmentada por viverem sobre as árvores, o que pode ser o fator responsável pela diversidade da família, uma vez que são mais suscetíveis à deriva genética (BARBIERI *et al.*, 2008). As demais espécies de orquídeas são litófitas (rupículas) ou terrestres, mas algumas podem viver como macrófitas (POTT e POTT, 2000).

As orquídeas são consideradas cosmopolitas, pois se distribuem desde o norte da Suécia e Alasca até a Terra do Fogo (PABST e DUNGS, 1975). Embora sejam encontradas em regiões temperadas, sua maior abundância, tanto em número como em variedade, é verificada nas regiões tropicais do planeta (ENGLERT, 2000).

Alguns pesquisadores como Benzing e Atwood (1984) e Thorsch e Stern (1997) propõem que as orquídeas surgiram em ambientes terrestres e posteriormente passaram a habitar outros ambientes; enquanto Robinson e Burns-Balogh (1982) supõem que surgiram em ambientes epifíticos. Porém os autores supramencionados são unânimes em sugerir que a família passou por uma grande pressão ambiental, que levou ao desenvolvimento de características específicas para viver em diferentes ambientes.

Morfologicamente, a família pode ser reconhecida por suas raízes fasciculadas envolvidas por velame (espécies epifitas e rupícolas), ou ser tuberóides em algumas espécies terrícolas. O caule pode ser dividido em rizoma, que auxilia na formação de novos brotos, e pseudobulbo; este pode ser homoblástico (formado por vários nós) ou heteroblástico (formado por um único nó), apresentando crescimento simpodial ou monopodial. As lâminas foliares são coriáceas ou carnudas, com nervação paralilinérvica ou reticulada, e lâmina plana ou plicada, com origem no pseudobulbo. As inflorescências são indeterminadas do tipo racemo, panículas, espigas e corimbos, ou flores solitárias. As flores são trímeras, diclamídeas, zigomorfas, sésseis ou pedunculadas; apresentam uma sépala dorsal e duas laterais, semelhantes às pétalas, livres ou unidas formando um sinsépalo. A corola é formada por três pétalas, sendo que a mediana é modificada em labelo. O fruto é descrito como cápsula, formado a partir de três carpelos, cuja deiscência ocorre na linha média de cada carpelo. As sementes são minúsculas e apresentam um

tegumento fino e solto em torno do embrião, que compreende uma massa de células indiferenciadas (DRESSLER, 1981; PRIDGEON *et al.*, 1999).

1.2 Epidendroideae e o gênero *Bulbophyllum* Thouars

A subfamília Epidendroideae apresenta nove tribos e é constituída por 15.000 espécies distribuídas em 576 gêneros (VAN DEN BERG *et al.*, 2005). A maioria das espécies presentes nessa subfamília apresenta hábito epifítico ou rupícola. Nesta subfamília, ocorre a tribo Dendrobieae (Lindl. ex Endl.), agrupando as subtribos Dendrobiinae (Lindl.) (VAN DEN BERG *et al.*, 2005) e Bulbophyllinae (Schltr.) (CAMERON *et al.*, 1999; CHASE *et al.*, 2003; VAN DEN BERG *et al.*, 2005), na qual o gênero *Bulbophyllum* está incluído.

O gênero *Bulbophyllum* é representativo na família, destacando-se como o maior gênero pantropical de Orchidaceae, com cerca de aproximadamente 1700 espécies (VERMEULEN, 1991; DRESSLER, 1993; SIEDER *et al.*, 2007). Espécies desse gênero são encontradas principalmente na Ásia e Oceania, com um número inferior na África e na América (DRESSLER, 1981; 1993; SMIDT *et al.*, 2007, 2011). A provável origem do gênero deu-se no continente asiático, espalhando-se pelos outros continentes, o que levou a concluir que as espécies encontradas no continente americano constituem o grupo irmão das africanas (GRAVENDEEL *et al.*, 2003).

O Brasil destaca-se como o país neotropical mais rico em espécies deste gênero, com cerca de 60 espécies (SMIDT e BORBA, 2007). A maioria é endêmica do sudeste (22°S – 42°W), encontradas principalmente no ecótono do Cerrado e da Mata Atlântica e ocorrem em hábitos epifíticos na região de mata e rupículo em afloramentos rochosos e campos rupestres (SMIDT *et al.*, 2007).

O gênero pode ser dividido em seis seções no continente americano: **Bulbophyllaria** (Rchb. f.) Griseb (três espécies), **Furvescens** E. C. Smidt, Borba & van den Berg (cinco espécies), **Napelli** Rchb. f. (12 espécies), **Micranthae** Barb. Rodr. (12 espécies), **Didactyle** (Lindl.) Cogn. (sete espécies) e **Xiphizusa** Rchb. f. (23 espécies) (SMIDT *et al.*, 2011). Esta divisão foi feita a partir de análises filogenéticas moleculares utilizando marcadores para a região ITS do DNA ribossomal e para duas regiões plastidiais (SMIDT *et al.*, 2007, 2011). Essas análises confirmaram a monofilia do grupo Neotropical e a divisão entre as seções, com exceção da seção *Furvescens* que não apresentou valor significativo nas análises.

Além das análises filogenéticas moleculares, caracteres morfológicos foram combinados para dar suporte e justificar a separação das seções (SMIDT *et al.*, 2011). Segundo esses autores as modificações morfológicas são lentas e graduais entre um clado e outro, dificultando o posicionamento de algumas espécies nas seções.

1.3 Anatomia vegetativa como subsídio à sistemática de Epidendroideae

Caracteres anatômicos constituem uma importante ferramenta para auxiliar a taxonomia e reconstruções filogenéticas de Orquideas em diferentes níveis de classificação (HOLTZMEIER *et al.*, 1998; YUKAWA E STERN, 2002; FIGUEROA *et al.*, 2008; CARLSWARD e STERN, 2009; SMIDT *et al.*, 2012). Para Epidendroideae vários caracteres de raiz, caule e folha são relevantes. Na raiz, o número de camadas do velame e o espessamento das paredes (FIGUEROA *et al.*, 2008), a presença de tilossomos (HOLTZMEIER *et al.*, 1998, STERN E CARLSWARD, 2006; FIGUEROA *et al.*, 2008), células exodérmicas de paredes espessadas (CARLSWARD E STERN (2009) e tipo de espessamento da exoderme e endoderme (HOLTZMEIER *et al.*, 1998) são importantes na caracterização de diferentes grupos taxonômicos.

Para o pseudobulbo os principais caracteres anatômicos utilizados como subsídio à taxonomia de Epidendroideae, foram: espessamento da cutícula (HOLTZMEIER *et al.*, 1998; STERN e JUDD, 2002), estegmatas associados ao esclerênquima dos feixes vasculares (HOLTZMEIER *et al.*, 1998; STERN e JUDD, 2001; 2002), presença de cristais no córtex (YUKAWA e STERN, 2002); células corticais com espessamento de parede em bandas (STERN e JUDD, 2001) e idioblastos mucilaginosos (STERN e JUDD, 2001; 2002).

Os caracteres anatômicos mais comumente levantados para auxiliar na taxonomia de Epidendroideae são os da lâmina foliar. Dentre

eles pode-se citar: a organização dos feixes vasculares, espessura da cutícula, tipos de tricomas, tipos de cristais, organização do mesofilo, distribuição dos feixes de fibras no mesofilo, ocorrência e localização da hipoderme e presença de estegmatas (YUKAWA e STERN, 2002; PIRES *et al.*, 2003; STERN e CARLSWARD, 2006; YAMAGUTI, 2008; CARLSWARD e STERN 2009).

Para *Bulbophyllum* Mohana Rao e Khasim, (1987) utilizaram a presença de um anel de esclerênquima envolvendo o cilindro vascular para distinguir dos gêneros da subtribo Dendrobiinae. Smidt *et al.* (2012) identificaram, para a seção Micranthae, características anatômicas sinapomórficas: como cutícula espessa, epiderme uniestratificada, estômatos tetracíticos com câmaras supraestomáticas e presença de tricomas e feixes vasculares colaterais nas folhas. Os autores indicam que estas características são eficazes na proposição de hipóteses filogenéticas em relação ao uso de sequências moleculares.

O gênero *Bulbophyllum* THOUARS (Orchidaceae), no continente americano, também foi estudado quanto à filogenia molecular e a morfologia externa (Smidt *et al.* 2011). Entretanto, existem incongruências, quanto ao posicionamento taxonômico quando são consideradas as análises moleculares para as espécies *B. mentosum*, *B. ciluliae* e *B. weddellii*. Na análise plastidial essas espécies aparecem em seções diferentes daquelas da análise de ITS, e quando as análises são combinadas, aparecem como basais nas seções Micranthae, Xiphizusa e Didactyle, respectivamente (Smidt *et al.* 2011). Morfologicamente estas espécies também não apresentam todas as características típicas das

seções em que são incluídas na análise molecular. As características vegetativas de *B. ciluliae* são as da seção Xiphisuza, no entanto, as flores assemelham-se as de Micranthae (quanto as características do labelo) e as de Didactyle (quanto as pétalas). *B. weddellii*, embora apresente características vegetativas da seção Didactyle, possuem flores em espiral, tipicamente da seção Micranthae. *B. mentosum* apresenta folhas carnosas, como da seção Micranthae, porém características vegetativas de Didactyle e flores semelhantes as da seção Furvescens (Smidt *et al.* 2011).

Visto que caracteres anatômicos são relevantes na elucidação das relações filogenéticas de *Bulbophyllum* no Neotrópico, este estudo tem como objetivo levantar caracteres anatômicos dos órgãos vegetativos e analisar sua evolução dentro do gênero.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem dos táxons

O levantamento de caracteres anatômicos foi efetuado em 35 espécies (cinco espécimes) (tabela 1). Dessas, 34 do gênero *Bulbophyllum* (29 neotropicais e cinco do Paleotrópico) e *Dendrobium kingianum* (Bidwill ex Lindl.) como grupo externo (Dendrobiae, Dendrobiianae). *D. kingianum* foi utilizada para o enraizamento nas análises filogenéticas, por ser considerada a subtribo mais próxima de

Bulbophyllinae. Na análise da evolução dos caracteres foram incluídas todas as espécies com sequenciamento de DNA já realizado por Smidt *et al.* 2011, para o trabalho de filogenia molecular.

TABELA 1- LISTA DE ESPÉCIES DE *Bulbophyllum* E GRUPO EXTERNO

Seção	Espécie	Habito	Voucher
Bulbophyllaria (Rchb. F.) Griseb	<i>B. bracteolatum</i> Lindl.	Epífito	B. Gravendeel, s.n.;
Bulbophyllaria (Rchb. F.) Griseb	<i>B. cirrhosum</i> L.O. Williams	Epífito	B. Gravendeel, s.n.;
Didactyle (Lindl.) Cogn.	<i>B. exaltatum</i> Lindl.	Rupículo	E.C. Smidt & al., 753
Didactyle (Lindl.) Cogn.	<i>B. involutum</i> Borba, Semir & F. Barr	Rupículo	E.L. Borba
Didactyle (Lindl.) Cogn.	<i>B. perii</i> Schltr.	Epífito	Bento, s.n.
Didactyle (Lindl.) Cogn.	<i>B. perii</i> Schltr.	Epífito	W.S. Mancinelli & M.E. Engels 1143
Didactyle (Lindl.) Cogn.	<i>B. tripetalum</i> Lindl.	Epífito e rupículo	W.S. Mancinelli & M.E. Engels, 1141
Didactyle (Lindl.) Cogn.	<i>B. weddellii</i> (Lindl.) Rchb. F.	rupículo	C. Azevedo, 188
Furvescens E.C. Smidit, Borba & van den Berg	<i>B. nagelli</i> L.O. Williams	Epífito	Salazar, s.n.
Micranthe Barb. Rodr.	<i>B. micranthum</i> Barb. Rodr.	Epífito	G. Hatschbach 20027
Micranthe Barb. Rodr.	<i>B. micranthum</i> Barb. Rodr.	Epífito	E. Saddi, 82
Micranthe Barb. Rodr	<i>B. chloroglossum</i> Rchb. f. & Warm.	Epífito	W.S. Mancinelli et al 1129
Micranthe Barb. Rodr.	<i>B. epiphytum</i> Barb. Rodr.	Epífito	A. Seidel 1220
Micranthe Barb. Rodr	<i>B. rupicolum</i> Barb. Rodr.	Rupículo	E. C. Smidt & al., 766
Micranthe Barb. Rodr	<i>B. rupicolum</i> Barb. Rodr.	Rupículo	
Micranthe Barb. Rodr	<i>B. mucronifolium</i> Rchb. f. & Warm.	Epífito	E.C. Smidt & al., 742
Micranthe Barb. Rodr.	<i>B. mentosum</i> Barb. Rodr.	Rupículo	E.C. Smidt 656
Napelli Rchb. F.	<i>B. regnelli</i> Rchb. F.	Epífito	W.S. Mancinelli 1058
Napelli Rchb. F.	<i>B. atropurpureum</i> Barb. Rodr.	Epífito	Williams & V. Assis 6493 (RB)
Napelli Rchb. F.	<i>B. cantallagense</i> Barb. Rodr.	Epífito	L. Kullman, s.n.
Napelli Rchb. F.	<i>B. glutinosum</i> (Barb. Rodr.) Cogn.	Epífito	W.S. Mancinelli & J. Hellmann 867
Napelli Rchb. F.	<i>B. granulosum</i> (Barb. Rodr.) Cogn.	Epífito	W.S. Mancinelli & I.C. Zattar 1060
Napelli Rchb. F.	<i>B. malachadena</i> (Lindl.) Cogn.	Epífito	G. Hatschbach 7795
Napelli Rchb. F.	<i>B. napelli</i> Lindl.	Epífito	W.S. Mancinelli 1084
Napelli Rchb. F.	<i>B. micropetaliforme</i> Leite	Epífito	E.L. Borba, 2127

Continuação tabela 1.

Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. ciluliae</i> Bianch. & J.A.N.Bat.	Epífito e rupículo	E.C. Smidt & al., 805
Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. chloropterum</i> Rchb. f.	Epífito	M. Campacci, s.n.
Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. dusenii</i> Kraenzl.	Epífito	W.S. Mancinelli 950
Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. filifolium</i> Borba & Smidt	Rupículo	E.C. Smidt & al., 793
Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. gladiatum</i> Lindl.	Epífito	A. Bresolin 259
Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. gladiatum</i> Lindl.	Epífito	Toscana, 1905
Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. plumosum</i> (Barb. Rodr.) Cogn.	Epífito e rupículo	W.S. Mancinelli 861
Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. plumosum</i> (Barb. Rodr.) Cogn.	Epífito e rupículo	E.C. Smidt, 726
Xiphizusa Rchb. F.	<i>B. bidentata</i> (Barb. Rodr.) Cogn.	Rupículo	E.C. Smidt & al., 777
Grupo externo	<i>B. scaberulum</i> (Rolfe) Bolus	Epífito	
Grupo externo	<i>B. saltatorium</i> Lindl.	Epífito	
Grupo externo	<i>B. lobbi</i> Lindl.	Epífito	
Grupo externo	<i>B. crassipes</i> Hook. f.	Epífito	
Grupo externo	<i>B. falcatum</i> (Lindl.) Rchb. f.	Epífito	E.C. Smidt, 772
Grupo externo	<i>D. kingianum</i> Bidwill ex Lindl.	Epífito	

Análises anatômicas

As amostras vivas foram fixadas em FAA com etanol 70% (JOHANSEN, 1940) e armazenadas em etanol 70% até o momento do seccionamento ou processamento para lâminas permanentes.

Amostras de raiz, pseudobulbo e folha foram coletadas na região mediana de cada órgão. As lâminas foliares foram seccionadas no sentido transversal, longitudinal, paradérmico e maceradas. O pseudobulbo foi seccionado transversalmente e macerado. A raiz foi seccionada no sentido transversal e paradérmico longitudinal-tangencial.

Foram confeccionadas lâminas semipermanentes a partir de cortes à mão livre ou amostras incluídas em Polietilenoglicol 1500 U.S.P. (PEG). Para inclusão em PEG, as amostras foram pré-infiltradas em uma solução de PEG e álcool etílico 70% na proporção de 1:1, em estufa a 56 °C por 12h; seguido de infiltração com solução pura de PEG, por 4 horas. As secções foram feitas com 35 µm de espessura em micrótomo de rotação com navalha de aço. As lâminas foram coradas com azul de astra e safranina (BUKATSCH, 1972), montadas em gelatina glicerinada (KAISER, 1880) e vedadas com esmalte incolor.

Lâminas permanentes foram preparadas a partir do material processado e incluído em historresina (Leica®), segundo orientação do fabricante. As secções foram feitas em micrótomo de rotação com navalha de aço, com 5 µm de espessura. As lâminas foram coradas com azul de toluidina (O'BRIEN *et al.*, 1964).

Para a análise dos idioblastos trequeoidais, as amostras foram maceradas segundo a técnica de Franklin (1945), coradas com safranina aquosa a 1% e montadas em lâminas semipermanentes com gelatina glicerinada (KAISER, 1980).

Testes histoquímicos de PAS (MCMANUS, 1948) e azul de metileno (LANGERON, 1949), lugol (JENSEN, 1962), Sudan III (SASS, 1951), cloreto férrico (JOHANSEN, 1940) e floroglucinol acidificado (FOSTER, 1949) foram utilizados para identificação de polissacarídeos totais, amido, compostos lipofílicos, compostos fenólicos e lignina, respectivamente.

As fotomicrografias foram obtidas através de microscópio Olympus BX41, com câmera digital acoplada e programa de captura de imagem Analysis Getit. A cutícula foi mensurada em microscópio Olympus CBB com ocular milimetrada. Os feixes vasculares da lâmina foliar foram contados em estéreo microscópio Olympus WMT.

A superfície abaxial e adaxial da lâmina foliar, do pseudobulbo e do velame foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para essa análise, foram utilizadas amostras fixadas em FAA. O material foi desidratado em série etílica ascendente e seco via ponto crítico com CO₂ no aparelho Bal-Tec CPD 030. Em seguida, o material foi fixado com fita de cobre adesiva, em suportes metálicos e metalizado com ouro no equipamento Balzers union FL 9496 SCD 030. As análises e as eletromicrografias foram feitas em microscópio eletrônico de varredura Jeol e JSM – 6360LV (Jeol Ltd, Tokyo, Japan), no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Análise dos caracteres

Os caracteres levantados (tabela 2) foram estabelecidos a partir de levantamento da literatura e a análise do estado do caráter seguiu a proposta de Sereno (2007). A espessura da cutícula foi classificada conforme proposto por Morris *et al.* (1996): pouco espessa (menor que 3µm); moderadamente espessa (de 3-10µm) e espessa (acima de 10µm). A codificação do caráter número de feixes vasculares foi feito através de Gap-weighting (GW), onde a amplitude total do caráter é standardizado,

convertendo médias em valores padronizados de 0-9. Os resultados anatômicos estão descritos segundo relação filogenética entre as seções neotropicais propostas por Smidt *et al.* 2011.

TABELA 2. CARACTERES ANATÔMICOS DE LÂMINA FOLIAR, PSEUDOBULBO E RAIZ DE *Bulbophyllum*

1.	Número de camadas do velame: (0) uma camada; (1) duas camadas ou mais camadas.
2.	Espessamento na exoderme: (0) do tipo O; (1) do tipo U; (2) do tipo U invertido.
3.	Tilossomos: (0) ausentes; (1) presentes.
4.	Idioblastos traqueoidias na raiz: (0) espessamento helicoidal; (1) espessamento reticulado.
5.	Ráfides na raiz: (0) ausente; (1) presente.
6.	Cristais prismáticos na raiz: (0) ausente; (1) presente.
7.	Drusas na raiz: (0) ausente; (1) presente.
8.	Tipo de espessamento na endoderme: (0) espessamento tipo O; (1) espessamento tipo U.
9.	Tricomatas pseudobulbo: (0) ausente; (1) presente.
10.	Espessura da cutícula no pseudobulbo: (0) < 3µm; (1) 3-10µm; (2) 10 µm>.
11.	Parede periclinal externa da epiderme no pseudobulbo: (0) não lignificada; (1) lignificada.
12.	Hipoderme no pseudobulbo: (0) ausente; (1) presente.
13.	Mucilagem no pseudobulbo: (0) ausente; (1) presente.
14.	Presença de estegmatas no pseudobulbo: (0) ausente; (1) presente.
15.	Cristais prismáticos no pseudobulbo: (0) ausente; (1) presente.
16.	Presença de ráfides no pseudobulbo: (0) ausente; (1) presente.
17.	Drusas no pseudobulbo: (0) ausente; (1) presente.
18.	Idioblastos traqueoidais no pseudobulbo: (0) espessamento helicoidal; (1) espessamento reticulado.
19.	Tricoma na folha: (0) ausente; (1) presente.
20.	Espessura da cutícula na folha: (0) < 3µm; (1) 3-10µm; (2) 10µm>.
21.	Aparência da cutícula na face abaxial: (0) estriada; (1) lisa.
22.	Aparência da cutícula na face adaxial: (0) estriada; (1) lisa.
23.	Espessamento da parede periclinal externa da epiderme na folha: (0) não lignificada; (1) lignificada.
24.	Face-de distribuição do estômato: (0) anfiestomático; (1) hipoestomática.
25.	Tipo de estômato: (0) anomocítico; (1) ciclocítico; (2) tetracítico.
26.	Tipo de mesofilo: (0) homogêneo; (1) fracamente heterogêneo; (2) heterogêneo.
27.	Presença de ráfides na folha: (0) ausente; (1) presente.
28.	Presença de cristais prismáticos na folha: (0) ausente; (1) presente.
29.	Drusas na folha: (0) ausente; (1) presente.
30.	Hipoderme esclerificada: (0) ausente; (1) presente.
31.	Número de feixes vasculares: (0) 6-13; (1) 14-23; (2) 24-34; (3) 35-46; (4) acima de 46.
32.	Idioblastos traqueoidais na folha: (0) espessamento helicoidal; (1) espessamento reticulado.
33.	Elemento traqueoidal com mucilagem: (0) ausente; (1) presente.

A matriz de caracteres com seus respectivos estados foi construída no programa NEXUS Editor (PAGE, 2001) (Anexo 1). Todos os caracteres foram considerados com igual peso e estados não ordenados (parcimônia de Fitch; FITCH, 1971). As análises de máxima parcimônia (MP) foram

realizadas pelo programa TNT (GOLOBOFF *et al.*, 2008), utilizando o comando *aquicke*, que utiliza uma busca heurística através do algoritmo TBR, calculando o consenso estrito e análise de suportes (bootstrap e índice de decaimento), através de uma análise simples. O comprimento da árvore, índice de consistência (IC) e índice de retenção (IR) também foram calculados através do programa TNT utilizando o comando *stats*. A otimização dos comprimentos de ramos foi do tipo ACCTRANA reconstrução dos estados ancestrais foi traçada através do método da parcimônia, com o auxílio do programa MESQUITE versão 2.75 (MADDISON E MADDISON, 2011) utilizando o módulo “Trace Character History”.

3. RESULTADOS

3.1. Aspectos Anatômicos

3.1.1 Seção *Bulbophyllaria*

Raiz

O velame possui uma camada de células com paredes delgadas (FIGURA 1A). A exoderme e endoderme são uniestratificadas e ambas as camadas possuem células com espessamento de parede em “O” (FIGURAS 1A-1B). Entre as células da endoderme ocorrem de 1-3 células de passagem (FIGURA 1B). O cilindro central apresenta seis pólos xilemáticos e medula esclerificada (FIGURA 1B).

Pseudobulbo

Em vista frontal a epiderme apresenta células irregulares (FIGURA 1C). Em seção transversal, a cutícula é moderadamente espessa (8,36 μm em *B. bracteolatum* e 6,22 μm em *B. cirrhosum*) e a epiderme é uniestratificada com parede periclinal externa não lignificada (FIGURA 1D). O córtex apresenta parênquima aquífero com células de mucilagem em todas as espécies (FIGURA 1E); parênquima amilífero pode estar presente (*B. bracteolatum*). Idioblastos com ráfides são comuns a todas as espécies enquanto que cristais prismáticos são incomuns (presente em *B. cirrhosum*). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal (FIGURA 1F) foram encontrados em ambas as espécies analisadas e com espessamento reticulado somente em *B. bracteolatum* (dado não amostrado).

O cilindro vascular é do tipo atactostélico, sem limite nítido em relação ao córtex. Os feixes vasculares são colaterais e envoltos por uma bainha fibrosa contínua ou descontínua (FIGURA 1G).

Lâmina foliar

A lâmina apresenta estômatos apenas na face abaxial. As células epidérmicas, em vista frontal, são poligonais em ambas as faces (FIGURA 1H- 1I). Os estômatos são tetracíticos (FIGURA 1I) e formam câmara supraestomática formada por projeção da cutícula. Tricomas estão presentes em ambas as faces (FIGURAS 1H).

Em seção transversal a cutícula apresenta espessamento moderado (4,46 μm *B. bracteolatum* e 8,36 μm *B. cirrhosum*) e pode ser estriada (*B. bracteolatum*) ou lisa (FIGURA 1J-1K). A epiderme é uniestratificada e apresenta parede periclinal externa não lignificada (FIGURA 1K-1L).

O mesofilo é heterogêneo (FIGURA 1L) com 2-3 camadas de parênquima paliçádico e 2-6 camadas de parênquima esponjoso. Cristais prismáticos, ráfides e drusas estão dispersos no mesofilo. Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal e reticulado estão presentes.

Os feixes vasculares são colaterais (FIGURA 1L-1M), ocorrendo 24, em média, por lâmina foliar, alinhados na região mediana do mesofilo. Estes estão envoltos por uma bainha fibrosa contínua ou descontínua (FIGURA 1M).

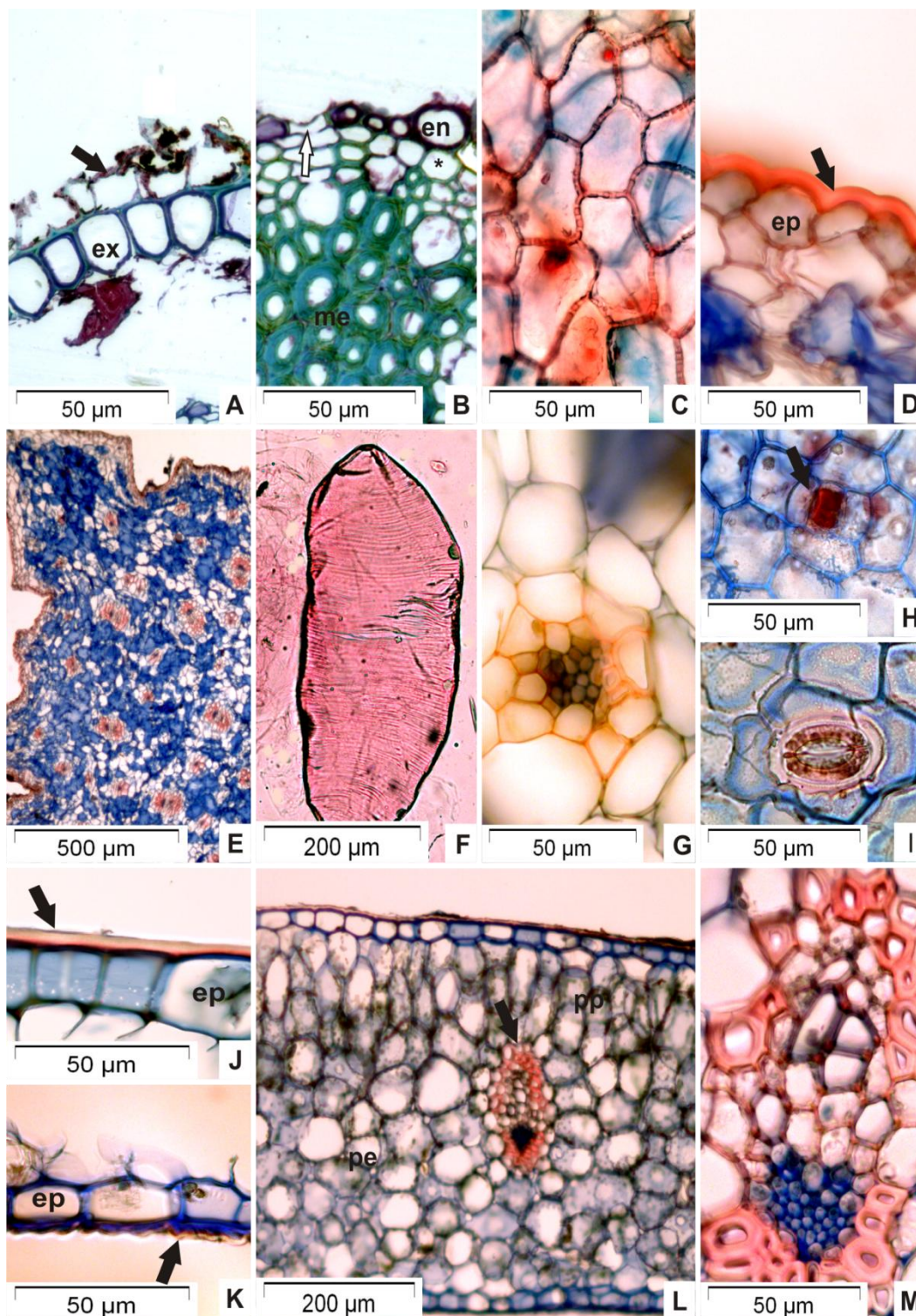


FIGURA 1- Raiz: corte transversal, *Bulbophyllum bracteolatum*- A) velame (seta preta) e exoderme (ex); B) endoderme (en) com célula de passagem (seta branca), periciclo (*) e medula (me) esclerificada. **Pseudobulbo:** C) *B. cirrhosum*, vista frontal epiderme; D) *B. bracteolatum*, corte transversal, epiderme (ep) com cutícula espessa (seta); E) *B. bracteolatum*, corte transversal, parênquima aquífero com células mucilaginosas; F) *B. cirrhosum*, idioblasto traqueoidal com espessamento helicoidal; G) *B. cirrhosum*, detalhe do feixe vascular. **Lâmina foliar:** H) *B. bracteolatum*, vista frontal da epiderme da face adaxial com inserção de tricoma (seta); I) *B. bracteolatum*, vista frontal da epiderme da face abaxial, com estômato tetracítico; J) *B. bracteolatum*, epiderme (ep) da face abaxial

em vista transversal com cutícula estriada (seta); K) *B. cirrhosum*, epiderme (ep) da face adaxial com cutícula lisa (seta); L) *B. bracteolatum*, corte transversal com mesofilo heterogêneo com parênquima paliádico (pp), parênquima esponjoso (pe) e feixe vascular colateral (seta); M) *B. bracteolatum*, detalhe do feixe vascular colateral com bainha fibrosa.

3.1.2 Seção Furvensces

Raiz

O velame de *B. nagelli* apresenta uma camada de células com paredes delgadas (FIGURA 2A-2B). A exoderme é uniestratificada com espessamento em “O” (FIGURA 2B).

O córtex apresenta seis camadas de células parenquimáticas (FIGURA 2A), onde foram registrados idioblastos traqueoidais de espessamento helicoidal e ráfides. A endoderme é uniestratificada com espessamento em “O”, intercaladas com 1-2 células de passagem (FIGURA 2C). O cilindro vascular apresenta 11 pólos xilemáticos e medula esclerificada (FIGURAS 2A-2D).

Pseudobulbo

Em vista frontal a epiderme de *B. nagelli* apresenta células com formato irregulares (FIGURA 2E). A epiderme é uniestratificada e a cutícula é espessa (11,95µm) (FIGURA 2F). A parede periclinal externa é delgada não lignificada (FIGURAS 2F).

O córtex apresenta parênquima aquífero com células mucilaginosas (FIGURAS 2G). Idioblastos cristalíferos (ráfides) e

idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal (FIGURA 2H) ocorrem dispersos no parênquima aquífero.

O cilindro vascular é do tipo atactostélico, sem limite nítido em relação ao córtex (FIGURAS 2G). Os feixes vasculares são colaterais e circundados por bainha fibrosa contínua ou descontínua.

Lâmina foliar

A lâmina foliar de *B. nagelli* apresenta estômatos apenas na face abaxial (hipoestomática). Em vista frontal, as células epidérmicas são poligonais em ambas as faces. O tipo de estômatos predominante é o tetracítico (FIGURA 2I-2J) e, em secção transversal, é visível a câmara supraestomática constituída a partir de prolongamentos da cutícula. Os tricomas estão inseridos em depressão da epiderme e são encontrados em ambas as faces (FIGURAS 2I). A cutícula é espessa (10,03 µm), sendo a face adaxial lisa e abaxial estriada (FIGURA 2K-2L). A epiderme é uniestratificada com parede periclinal externa não lignificada (FIGURAS 2K-2L).

O mesofilo é fracamente heterogêneo com 1-3 camadas de parênquima regular na face adaxial com células um pouco mais alongada do que a com parênquima esponjoso que contém cerca de quatro camadas (FIGURA 2M). Cristais prismáticos e ráfides estão presentes no mesofilo, assim como idioblastos traqueoidais (FIGURA 2M) com espessamento helicoidal e reticulado.

Os feixes vasculares são colaterais e envoltos por bainha fibrosa contínua ou descontínua (FIGURAS 2N). O número médio de feixes por lâmina foliar é de 19, ocorrendo alinhados na região mediana do mesofilo.

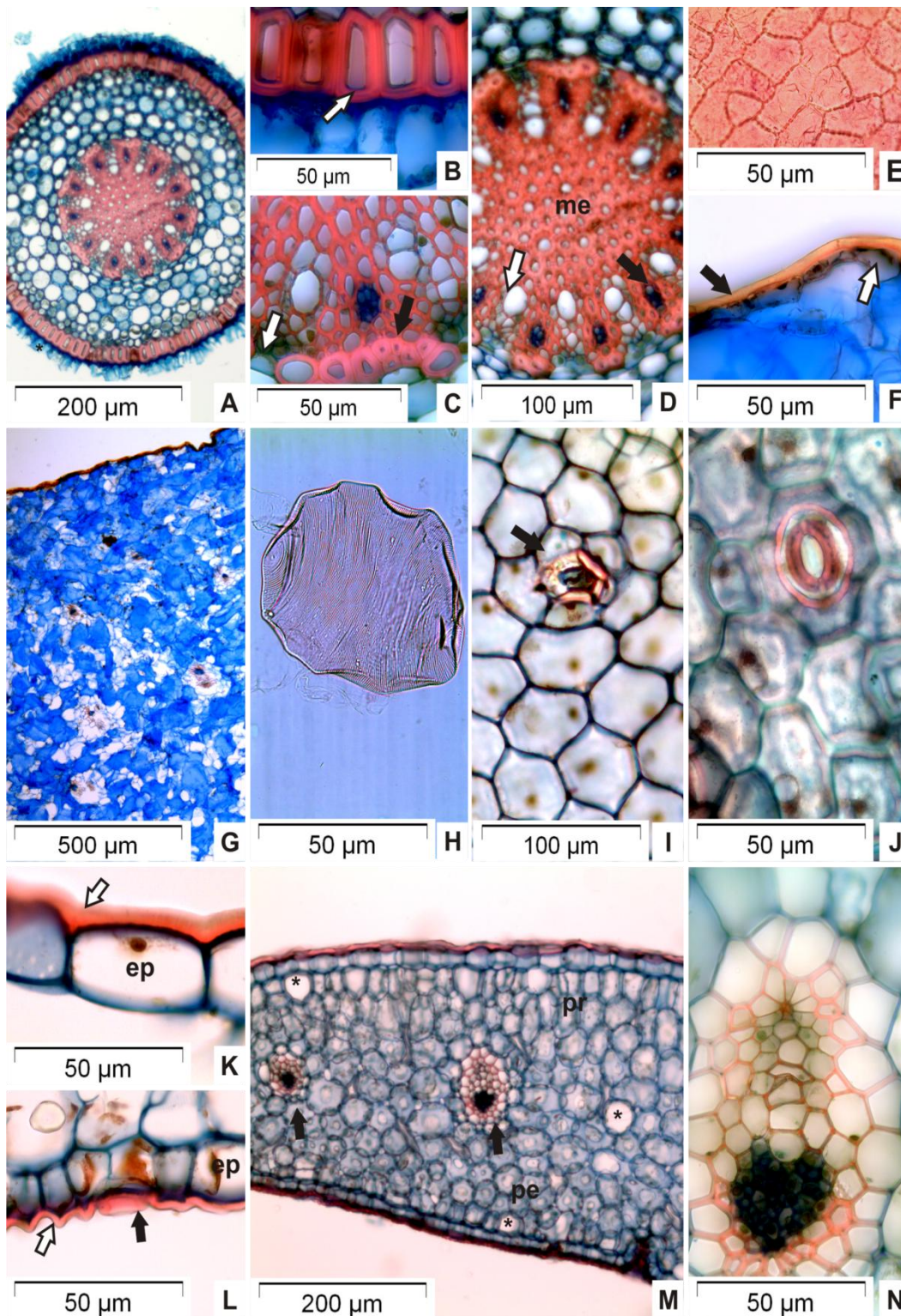


Figura 2- *Bulbophyllum nagelli* – Raiz: cortes transversais. A) vista geral; B) exoderme (seta) e velame (*); C) endoderme (seta preta) com célula de passagem (seta branca); D)

cilindro vascular, floema (seta preta) e xilema (seta branca). **Pseudobulbo:** E) vista frontal da epiderme com células irregulares; F) corte transversal com epiderme uniestratificada (seta branca) e cutícula (seta preta); G) corte transversal evidenciando parênquima aquífero com células mucilaginosas (em azul); H) idioblasto traqueoidal helicoidal. **Lâmina foliar:** I) epiderme da face adaxial com inserção de tricoma (seta); J) epiderme da face abaxial com estômato tetracítico; K) epiderme (ep) em corte transversal com cutícula lisa (seta); L) epiderme (ep) em corte transversal com estômato (seta preta) e cutícula estriada (seta branca); M) corte transversal com mesofilo fracamente heterogêneo, parênquima regular (pr), parênquima esponjoso (pe), feixes vasculares (setas) e idiblastos traquioidais (*); N) feixe vascular em corte transversal, com bainha esclerificada.

3.1.3 Seção Napelli

Raiz

O velame possui uma camada de células com paredes delgadas (FIGURAS 3A). A exoderme é uniestratificada com espessamento em “O” (FIGURA 3B). O córtex apresenta 4-6 camadas de células de parênquima fundamental (FIGURA 3A-3D e TABELA 3). Células parenquimáticas com conteúdo amilífero podem estar presentes (*B. glutinosum*). Cristais prismáticos, drusas e ráfides são encontradas em quase todas as espécies (TABELA 3). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal e com espessamento reticulado são comuns (FIGURA 3C e TABELA 3). A endoderme é uniestratificada com células espessadas em “O” intercaladas com 1-3 células de passagem (FIGURAS 3C-3D). O cilindro vascular apresenta de 6-10 pólos xilemáticos e floemáticos e medula esclerificada (FIGURA 3D e TABELA 3).

TABELA 3- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NA RAIZ DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO Napelli

Espécies	Raiz						
	Nº camadas do córtex	Idioblastos traqueoidais helicoidal	Idioblasto traqueoidal reticulado	Ráfide	Cristais prismáticos	Drusas	Nº de pólos xilemáticos
<i>B. atropurpureum</i>	4-5	-	-	+	+	-	10
<i>B. cantallagens</i>	ni	ni	ni	ni	ni	ni	ni
<i>B. glutinosum</i>	4	-	+	+	-	-	9
<i>B. granulorum</i>	4-5	+	+	+	-	-	9
<i>B. malachadena</i>	6	+	-	+	+	-	12
<i>B. micropetaliforme</i>	5	-	-	+	-	+	9-10
<i>B. napelli</i>	5	-	+	+	-	-	4-7
<i>B. napelli</i>	5	-	-	+	-	-	6
<i>B. regnelli</i>	6	-	-	-	+	-	7-8

(+) presente; (-) ausente; (ni) não identificado

Pseudobulbo

Em vista frontal as células epidérmicas são poligonais ou irregulares (FIGURAS 3E-3F). A cutícula é bem espessa ou moderadamente espessa (TABELA 4) e a epiderme é uniestratificada, com parede periclinal externa lignificada ou não lignificada (FIGURAS 3F-3H e TABELA 4).

O córtex apresenta parênquima aquifero com células mucilaginosas (FIGURA 3H). Parênquima amilífero este presente na maioria das espécies e ausente em *B. glutinosum* e *B. malachadena*. Idioblastos cristalíferos com ráfides são comuns a todas as espécies, cristais prismáticos na maioria (TABELA 4) e drusas somente em *B. micropetaliforme*. Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal

(FIGURA 3I) estão presentes em todas as espécies, bem como com espessamento reticulado, com exceção em *B. glutinosum*.

O cilindro vascular é do tipo atactostélico, sem limite nítido em relação ao córtex (FIGURA 3H). Os feixes vasculares são colaterais, circundados por bainha fibrosa contínua ou descontínua.

TABELA 4- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NO PSEUDOBUÍBO DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO Napelli.

Espécies	Pseudobulbo		
	Espessamento da cutícula	Epiderme - parede periclinal externa lignificada	Cristal prismático
<i>B. atropurpureum</i>	12,82 µm	-	+
<i>B. cantallagense</i>	ni	ni	ni
<i>B. glutinosum</i>	10,59 µm	-	+
<i>B. granulosum</i>	9,66 µm	-	+
<i>B. malachadena</i>	6,67 µm	+	+
<i>B. micropetaliforme</i>	17,82 µm	-	-
<i>B. napelli</i>	8,92 µm	-	-
<i>B. napelli</i>	9,03 µm	-	-
<i>B. regnelli</i>	10,4 µm	-	+

(+) presente; (-) ausente; (ni) não identificados

Lâmina foliar

A lâmina foliar apresenta estômatos apenas na face abaxial. Em vista frontal as células epidérmicas são poligonais (FIGURA 3J), com exceção de *B. malachadena* com formato irregular (FIGURA 3L). O tipo de estômato predominante é o tetracítico. Os estômatos apresentam câmara supraestomática, devido ao prolongamento da cutícula. Os

trícomas estão em depressão nas células epidérmicas, e são encontrados em ambas as faces (FIGURAS 3J; 3K; 3N).

Em secção transversal a cutícula é espessa ou moderadamente espessada (TABELA 5). A cutícula é estriada na face abaxial e lisa na adaxial em quase todas as espécies (FIGURA 3L-3M), com exceção de *B. micropetaliforme* e *B. regnelli* que é lisa em ambas as faces. A epiderme é uniestratificada e apresenta células com parede periclinal externa não lignificada (FIGURAS 3L-3M).

O mesofilo é heterogêneo com parênquima paliçádico nas espécies *B. atropurpureum*, *B. cantallagense*, *B. micropetaliforme*, *B. regnelli* e um espécie de *B. napelli*, nas demais é fracamente heterogêneo, variando de 1-4 camadas de células ligeiramente alongadas e de 1-6 camadas de parênquima esponjoso (FIGURA 3N). Cristais prismáticos estão dispersos no mesofilo, bem como drusas e ráfides (TABELA 5). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal foram registrados em todas as espécies, bem como com espessamento reticulado na maioria delas, com exceção de *B. cantagalense* e em um espécime de *B. napelli*.

Os feixes vasculares são colaterais com bainha fibrosa contínua (FIGURA 3N) ou descontínua. Ocorrem entre 14-29 por lâmina, alinhados na região mediana do mesofilo (TABELA 5).

TABELA 5- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NA LÂMINA FOLIAR DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO Napelli

Espécies	Lâmina foliar						
	Espessura da Cutícula	Parênquima Paliçádico	Parênquima esponjoso	Ráfide	Cristais Prismáticos	Drusa	Nº de feixes vasculares
<i>B.atropurpureum</i>	15,05 µm	2	2-3	-	+	+	40
<i>B. camtalagense</i>	6,69 µm	2-3	4-5	-	-	+	20
<i>B. glutinosum.</i>	14,49 µm	2	2-3	+	-	+	36
<i>B. granulosum</i>	9,66 µm	2	3	-	-	+	26
<i>B. malachadena</i>	5,01 µm	2-3	2-3	+	+	-	32
<i>B.micropetaliforme</i>	18,58 µm	3	5-6	-	-	+	28
<i>B. napelli</i>	9,75 µm	2	3	+	-	-	14
<i>B napelli</i>	9,47 µm	1-3	2-3	-	-	+	28
<i>B. regnelli</i>	7,24 µm	2-4	1-3	+	+	-	20

(+) presente; (-) ausente

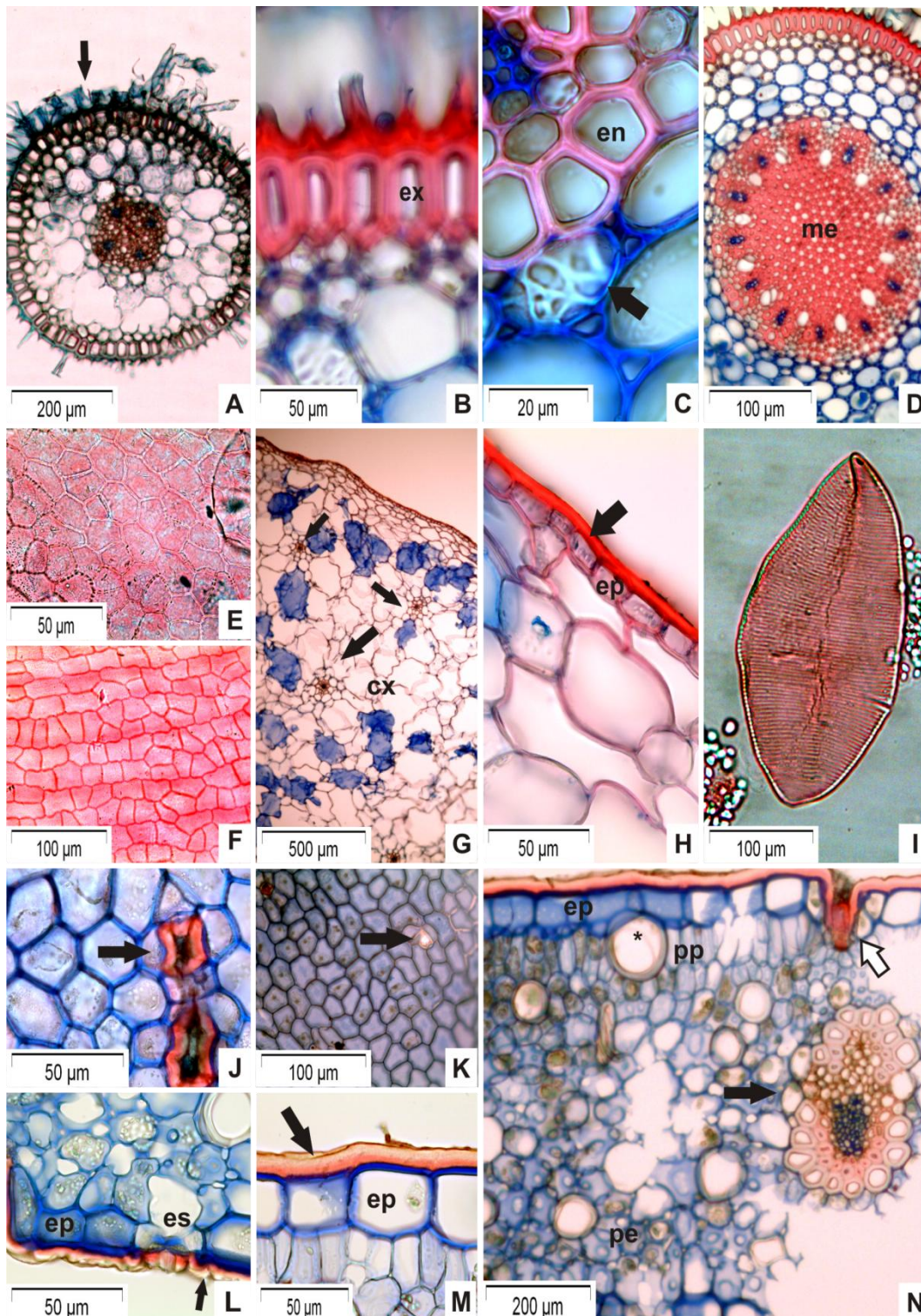


Figura 3- Raiz: cortes transversais. A) *Bulbophyllum napelli*, vista geral evidenciando velame (seta); B-D) *B. malachadena*: B) exoderme (ex); C) endoderme (en) e idioblastos reticulados (seta); D) cilindro vascular com medula esclerificada (me). **Pseudobulbo:** E) *B. regnelli*, vista frontal da epiderme com células poligonais; F) *B. glutinosum*, vista frontal da epiderme com células irregulares; G) *B. malachadena*, corte transversal com detalhe da epiderme (ep) e cutícula (seta); H) *B. malachadena*, corte transversal, evidenciando feixes vasculares dispersos (seta) no parênquima aquífero com células micilaginosas (azul); I) *B. micropetaliforme*, idioblasto traqueoidal helicoidal. **Lâmina foliar:** J) *B. atropurpureum*, epiderme da face adaxial com células poligonais e inserção do tricoma (seta); K) *B. malachadena*, epiderme da face adaxial com células irregulares e

inserção do tricoma (seta); L) *B. atropurpureum*, corte transversal com epiderme (ep) da face abaxial, estômato (es) e cutícula estriada (seta); M) *B. atropurpureum*, corte transversal com epiderme (ep) da face adaxial com cutícula lisa (seta); N) *B. atropurpureum*, corte transversal com mesofilo heterogêneo, inserção de tricoma (seta branca), parênquima paliçádico (pp), parênquima esponjoso (pe), feixe vascular (seta) e idiblastos traqueoidais (*).

3.1.4 Seção *Micranthe*

Raiz

O velame possui uma camada de células com paredes delgadas (FIGURAS 4A-4B). A exoderme é uniestratificada com espessamento em “O” (FIGURA 4B). O córtex possui de 4-8 camadas de células de parênquima fundamental (FIGURA 4A). Cristais prismáticos, drusas e ráfides são comuns à maioria das espécies (TABELA 6). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal ou reticulado foram registrados no córtex (TABELA 6). A endoderme é uniestratificada com células espessadas em “O”, intercaladas com 1-3 células de passagem (FIGURA 4C). O cilindro vascular apresenta de 4-13 pólos xilemáticos e medula esclerificada (FIGURA 4D e TABELA 6).

TABELA 6- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NA RAIZ DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO *Micranthe*.

Espécies	Raiz						
	Nº camadas do córtex	Idioblasto traqueoidal helicoidal	Idioblasto traqueoidal reticulado	Ráfide	Cristais prismáticos	Drusa	Nº polos xilemáticos
	ni	ni	ni	ni	ni	ni	12-13
<i>B. chloroglossum</i>							
<i>B. epiphytum</i>	8	+	-	+	-	+	9-10
<i>B. mentosum</i>	4-5	+	-	+	+	-	4
<i>B. micranthum</i>	5	-	+	-	+	-	8
<i>B. micranthum</i>	4	-	+	+	+	-	6
<i>B. micronifolium</i>	ni	+	-	+	-	-	6
<i>B. rupicolum</i>	ni	ni	+	ni	ni	ni	10-11
<i>B. rupicolum</i>	5	-	+	+	+	-	7-8

(+) presente; (-) ausente; (ni) não identificado

Pseudobulbo

Em vista frontal as células epidérmicas possuem formato irregular ou poligonal (FIGURA 4E, 4F). A cutícula é espessa em todas as espécies (FIGURA 4G e TABELA 7). A epiderme é uniestratificada e a parede periclinal externa é lignificada (FIGURA 4G) ou não lignificada (TABELA 7).

O córtex apresenta células de parênquima aquífero com células mucilaginosas (FIGURA 4H) e parênquima amilífero em todas as espécies. Idioblastos cristalíferos com ráfides ocorrem em todas as espécies, mas também são comuns os cristais prismáticos e mais raramente drusas (TABELA 7). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal estão sempre presentes e com espessamento

reticulados menos comumente (*B. chloroglossum*, *B. epiphytum*, *B. mentosum*).

O cilindro vascular é do tipo atactostélico, sem limite nítido em relação ao córtex. Os feixes vasculares são colaterais e envoltos por bainha fibrosa contínua ou descontínua (FIGURA 4H).

Tabela 7- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NO PSEUDOBULBO DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO *Micranthe*

Espécies	Pseudobulbo				
	Espessura da cutícula	Parede periclianal externa lignificada	Ráfides	Cristais prismáticos	Drusas
<i>B. chloroglossum</i>	23,97µm	+	+	+	-
<i>B. epiphytum</i>	13,93µm	+	+	-	-
<i>B. mentosum</i>	31,77µm	-	+	-	+
<i>B. micranthum</i>	16,72µm	-	+	+	-
<i>B. micranthum</i>	14,26 µm	+	+	+	-
<i>B. mucronifolium</i>	20,04µm	+	-	+	-
<i>B. rupicolum</i>	11,15µm	-	+	+	-
<i>B. rupicolum</i>	33,45µm	-	-	-	-

(+) presente; (-) ausente

Lâmina foliar

A lâmina foliar apresenta estômatos apenas na face abaxial. Em vista frontal as células epidérmicas são poligonais em todas as espécies (FIGURA 4I). O tipo de estômato predominante é o tetracítico (FIGURA 4J). Os estômatos apresentam câmara supraestomática formada pelo prolongamento da cutícula. Os tricomas são encontrados em ambas as faces, inseridos em depressão na epiderme. A cutícula é espessa em todas as espécies, lisa em ambas as faces ou estriada somente na

abaxial (FIGURA 4K-4L). A epiderme é uniestratificada e possui parede periclinal externa lignificada na maioria das espécies (FIGURAS 4K-4M).

O mesofilo é heterogêneo em quase todas as espécies, com exceção de *B. epiphytum*, *B. micronifolium* e *B. rupicolum*, com mesofilo fracamente heterogêneo com 3-7 camadas de parênquima paliçádico e 4-8 de esponjoso, podendo ser bilateral (FIGURA 4M) ou isobilateral, nesse caso com parênquima paliçádico em ambas as faces. As espécies com mesofilo fracamente heterogêneo também apresentam parênquima aquífero. Cristais prismáticos e drusas podem estar presentes e ráfides são comuns a todas as espécies, podendo estar ausente em espécimes de diferentes locais (TABELA 8). Idioblastos traqueoidais de espessamento helicoidal (FIGURA 4N) ou reticulado são comuns à maioria das espécies.

Os feixes vasculares são do tipo colateral, envoltos por bainha fibrosa contínua ou descontínua (FIGURA 4M-4O). Ocorrem 14-38 por lâmina foliar, alinhados na região mediana do mesofilo (TABELA 8).

TABELA 8- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NA FOLHA DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO *Micranthe*

Espécies	Folha							
	Espessura da cutícula	Parede periclinal externa espessa	Parênquima paliçádico	Parênquima esponjoso	Ráfide	Cristal prismático	Drusa	Nº feixes vasculares
<i>B. chloroglossum</i>	33,45µm	+	-	4-8	+	+	+	20
<i>B. epiphytum</i>	13,38µm	+	4-7	5-7	+	+	-	14
<i>B. mentosum</i>	42,37µm	+	-	9-11	+	+	-	38
<i>B. micranthum</i>	13,38µm	+	5	7	+	+	+	20
<i>B. micranthum</i>	12,85µm	+	5	5	+	+	+	16
<i>B. mucronifolium</i>	21,82µm	+	-	7-8	-	-	-	17
<i>B. rupicolum</i>	15,61µm	+	4-6	6-8	+	-	-	23
<i>B. rupicolum</i>	12,26µm	-	3-4	4-5	-	+	-	16

(+) presente; (-) ausente

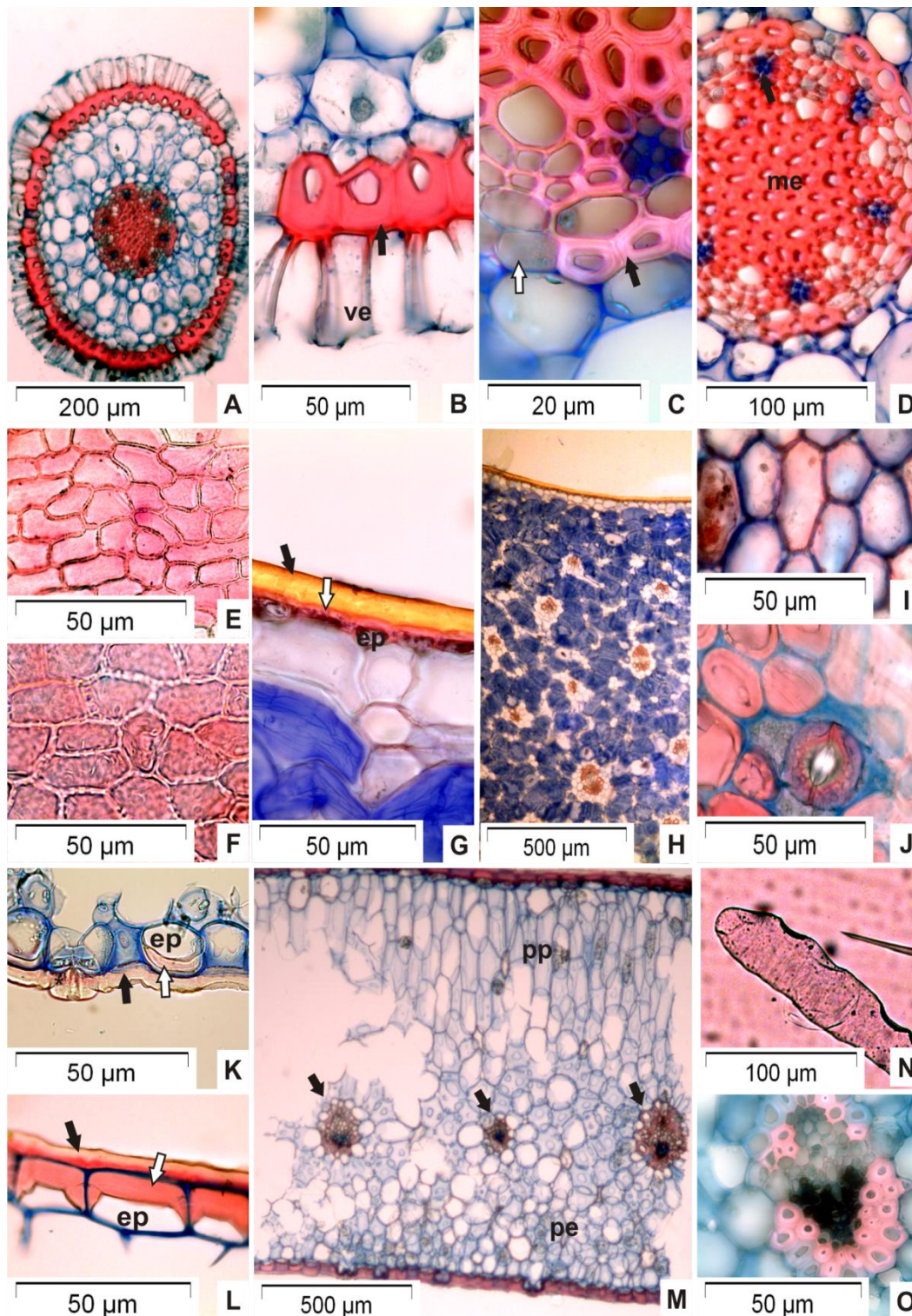


Figura 4- **Raiz:** cortes transversais. A) *Bulbophyllum micranthum*, vista geral; B) *B. micranthum*, detalhe do velame (ve) e exoderme (seta); C) *B. micranthum*, detalhe da endoderme (seta preta) com células de passagem (seta branca); D) *B. micranthum* cilindro vascular com medula esclerificada (me) e pólos floemáticos (setas). **Pseudobulbo:** E) *B. mucronifolium*, epiderme com células irregulares; F) *B. rupicolum*, epiderme com células poligonais; G) *B. chloroglossum*, corte transversal da epiderme (ep) com cutícula espessa (seta preta) e parede periclinal externa lignificada (seta branca); H) *B. chloroglossum*, corte transversal evidenciando parênquima aquífero com células mucilaginosas (azul) e feixes vasculares dispersos; **Lâmina foliar:** I) *B.*

mentosum, vista frontal da epiderme, face adaxial com células poligonais; J) *B. epiphytum*, face abaxial com estômato tetracítico; K) *B. epiphytum*, epiderme (ep) em corte transversal com parede periclinal externa espessa e lignificada (seta branca), cutícula estriada (seta preta) e estômato (*); L) *B. chloroglossum*, epiderme (ep) em corte transversal, com parede periclinal externa espessa e lignificada (seta branca) e cutícula lisa (seta preta); M) *B. chloroglossum*, secção transversal com mesofilo heterogêneo, parênquima paliçádico (PP), parênquima esponjoso (pe) e feixes vasculares (setas); N) *B. epiphytum*, idioblasto traqueoidal espiralado; O) *B. mentosum*, feixe vascular com bainha fibrosa descontínua.

3.1.6 Seção Didactyle

Raiz

O velame possui células com parede delgadas e é constituído de uma camada na maioria das espécies (FIGURA 5A-5C) com excessão de *B. weddelli* com duas camadas (FIGURA 5B). A exoderme é uniestratificada, com espessamento em U invertido (\cap) (FIGURA 5C) ou em “O”. *B. perii* apresentou tanto espessamento em \cap quanto em O (FIGURA 5B).

O córtex apresenta de 4-7 camadas de células parênquimáticas (FIGURAS 5A- 5E, TABELA 9). Cristais prismáticos ocorrem somente em *B. exaltatum*, enquanto ráfides estão presentes em todas as espécies. Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal são frequentes em todas as espécies enquanto que os com espessamento reticulado (FIGURA 5D) foram encontrados em *B. perii*, *B. tripetalum* e *B. weddelli*. A endoderme é uniestratificada e as células possuem espessamento em “O”, intercaladas com 1-3 células de passagem (FIGURA 5D). O cilindro vascular apresenta de 6-19 pólos xilemáticos e medula parenquimática ou esclerificada (FIGURA 5E e TABELA 9).

TABELA 9- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NA RAIZ E PSEUDOBULBO DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO Didactyle

Espécies	Raiz		Pseudobulbo
	Nº camadas do córtex	Nº pólos xilemáticos	Espessura da cutícula
<i>Bulbophyllum exaltatum</i>	5	9-0	12, 61 µm
<i>Bulbophyllum involutum</i>	5	9-19	17, 09 µm
<i>Bulbophyllum perii</i>	5	8-9	10, 03 µm
<i>Bulbophyllum perii</i>	7	6-7	9, 66 µm
<i>Bulbophyllum tripetalum</i>	4-5	11-12	22, 30 µm
<i>Bulbophyllum weddellii</i>	6-7	9-10	20, 05 µm

(+) presente; (-) ausente

Pseudobulbo

Em vista frontal as células epidérmicas são poligonais, retangulares (FIGURA 5F-5G) ou irregulares. Em secção transversal a cutícula é moderadamente espessa ou espessa (FIGURA 5H-5I) na maioria das espécies (TABELA 9). A epiderme é uniestratificada com parede periclinal não lignificada em *B. exaltatum*, *B. involutum*, um espécime de *B. perii* e *B. weddellii* ou delgada nas demais espécies.

Hipoderme esclerificada foi identificada apenas em *B. weddellii* (FIGURAS 5H-5I). O córtex é constituído de parênquima aquífero com células mucilaginosas e amilíferas. Idioblastos cristalíferos com ráfides são comuns a todas as espécies. Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal são comuns a todas as espécies (FIGURA 5J). Idioblastos traqueoidais com espessamento reticulado são menos frequentes, sendo identificado apenas em *B. exaltatum*, um espécime de *B. perii* e *B. weddellii*.

O cilindro vascular é do tipo atactostélico, sem limite nítido em relação ao córtex. Os feixes vasculares são colaterais e envoltos por bainha fibrosa contínua ou descontínua (FIGURAS 5H).

Lâmina foliar

A lâmina apresenta estômatos apenas na face abaxial. As células epidérmicas são poligonais em ambas as faces (FIGURA 5K). O tipo predominante de estômato é o tetracítico (FIGURA 5L). Os estômatos são visualizados no mesmo nível das células epidérmicas formando uma câmara supraestomática através de prolongamentos da cutícula. Os tricomas ocorrem na epiderme de ambas às faces. Estes são bicelulares, com uma célula basal embutida na epiderme e uma célula apical alongada, com ápice obtuso (FIGURA 5M). São caducos e observados somente em lâminas foliares jovens, nas lâminas foliares adultas somente a célula basal é visualizada.

Em secção transversal a cutícula é moderadamente espessa ou espessa (TABELA 10). A cutícula é estriada na face abaxial e lisa na adaxial em todas as espécies (FIGURA 5M-5N). A epiderme é uniestratificada, as células epidérmicas apresentam parede periclinal externa sem lignificação (FIGURA 5M-5N).

O mesofilo é homogêneo com parênquima esponjoso com 4-8 camadas em *B. exaltatum*, *B. involutum* e *B. perii* (FIGURA 5O) e fracamente heterogêneo com 3-6 camadas de parênquima paliçádico e 5-7 de esponjoso em *B. tripetalum* e *B. weddellii* (FIGURA 5P). Ráfides ocorrem em todas as espécies, mas cristais prismáticos e drusas também podem estar presentes (TABELA 10). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal e reticulado foram encontrados em todas as espécies (FIGURA 5O-5P).

Os feixes vasculares, em número de 26-40 por lâmina, são colaterais e alinhados na região mediana do mesofilo. Estes são envoltos por bainha fibrosa contínua ou descontínua (FIGURA 5O-5P). As variações estruturais estão sumarizadas na tabela 10.

TABELA 10- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NAS LÂMINAS FOLIARES DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO *Didactyle*

Espécies	Lâmina foliar					
	Espessura da cutícula	Parênquima paliçádico	Parênquima esponjoso	Cristal prismático	Drusa	Nº de feixe vascular
<i>B. exaltatum</i>	9,46 µm	-	9	+	-	34
<i>B. involutum</i>	20,81 µm	6	7	-	-	40
<i>B. perii</i>	7,24 µm	-	8	+	-	26
<i>B. perii</i>	3,56 µm	-	4-5	-	-	26
<i>B. tripetalum</i>	12,26 µm	-	5-7	-	-	28
<i>B. weddellii</i>	23,93 µm	3-4	5	-	+	32

(+) presente; (-) ausente

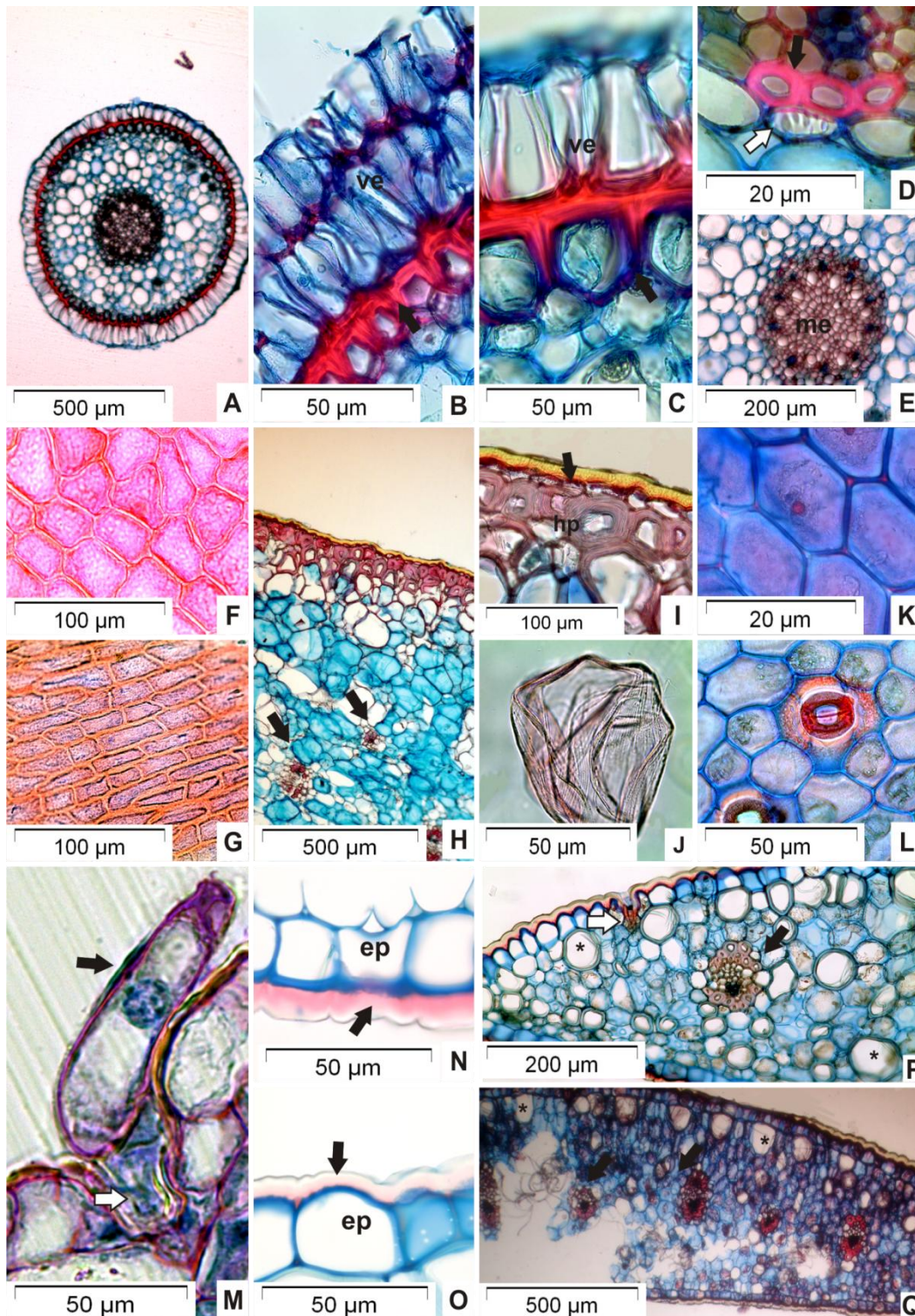


Figura 5- **Raiz:** Secções transversais. A) *Bulbophyllum involutum*, vista geral; B) *B. weddellii*, velame bisseriado (ve); C) *B. involutum*, velame unisseriado (ve) e exoderme com espessamento em “U” invertido; D) *B. exaltatum*, endoderme (seta preta) e idioblasto com espessamento reticulado (seta branca); E) *B. involutum*, cilindro vascular e medula esclerificada (me). **Pseudobulbo:** F) *B. exaltatum*, vista frontal da epiderme com células poligonais; G) *B. perii*, vista frontal da epiderme com células retangulares; H) *B. weddellii*, corte transversal evidenciando células mucilaginosas (azul) e feixes vasculares (setas); I) *B. weddellii*, corte transversal com hipoderme (hp) e cutícula espessa (seta); J) *B. weddellii*, idioblasto traqueoidal helicoidal. **Lâmina foliar:** J) *B.*

exaltatum, epiderme da face adaxial com células poligonais; L) *B. exaltatum*, epiderme da face abaxial com estômato tetracítico; M) *B. perii*, corte transversal com tricoma composto de célula basal (seta branca) e célula apical alongada (seta preta); N) *B. weddellii*, corte transversal da epiderme (ep) com cutícula estriada (seta) na face abaxial; O) *B. exaltatum*, corte transversal da epiderme (ep) com cutícula lisa (seta). P) *B. exaltatum*, corte transversal com mesofilo homogêneo, feixe vascular (seta), idioblasto traqueoidal (*); Q) *B. weddellii*, corte transversal evidenciando mesofilo heterogêneo, idioblasto traqueoidal (*).

3.1.7 Seção Xiphizusa

Raiz

O velame possui uma camada de células com paredes delgadas (FIGURAS 6A-6B). A exoderme é uniestratificada com espessamento em “O” (FIGURA 6B). O córtex apresenta de 4-6 camadas de parênquima (FIGURA 6A TABELA 11). Células parenquimáticas com conteúdo amilífero foram encontradas em *B. ciluliae*. Ráfides estão presentes em quase todas as espécies enquanto que cristais prismáticos são raros (TABELA 11). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal foram identificados apenas em *B. ciluliae*, *B. chloropterum* e *B. dusenii*. A endoderme é uniestratificada com células espessadas em “O”, intercalandas com 1-3 células de passagem (FIGURA 6C). O cilindro vascular apresenta de 5-10 pólos xilemáticos e medula esclerificada (FIGURA 6D e TABELA11).

TABELA 11- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NA RAIZ DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO Xiphizusa.

Espécies	Raiz			
	Nº de camadas do córtex	Ráfides	Cristais prismáticos	Número de pólos xilmáticos
<i>B. bidentata</i>	4	+	-	8-9
<i>B. chloropterum</i>	6	+	-	6-7
<i>B. cilulíae</i>	4-5	+	-	8-9
<i>B. duseñii</i>	4-5	+	-	5-6
<i>B. filifolium</i>	ni	ni	ni	ni
<i>B. gladiatum</i>	4	+	-	7
<i>B. gladiatum</i>	5	+	-	7
<i>B. plumosum</i>	5	+	-	6-7
<i>B. plumosum</i>	5	-	+	6

(+) presente; (-) ausente; (ni) não identificado

Pseudobulbo

Em vista frontal as células epidérmicas são poligonais ou irregulares (FIGURA 6E-6F). Em seção transversal a cutícula pode ser pouco espessa, moderadamente espessa ou espessa dependendo da espécie (FIGURA 6G-6H, TABELA 12). A epiderme é uniestratificada com parede periclinal externa lignificada ou sem lignificação dependendo da espécie (TABELA 12).

O córtex apresenta parênquima aquífero com células mucilaginosas (FIGURA 6I) e amilíferas. Cristais prismáticos, drusas e ráfides estão presentes no córtex das espécies de acordo com a apresentação na tabela 12. Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal estão presentes em quase todas as espécies, com exceção de

B. ciluliae. Idioblasto traqueoidal com espessamento reticulado está presente em *B. bidentatum*, *B. dusenii* e *B. gladiatum* (FIGURAS 6J).

O cilindro vascular é do tipo atactostelo, sem limite em relação ao córtex. Os feixes vasculares são colaterais e envoltos por bainha fibrosa contínua ou descontínua.

TABELA 12- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NO PSEUDOBULBO DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO Xiphizusa

Espécies	Pseudobulbo				
	Espessura da cutícula	Parede periclinal externa lignificada	Ráfides	Cristais Prismáticos	Drusas
<i>B. bidentata</i>	14,49 µm	+	+	-	-
<i>B. chloropterum</i>	7,8 µm	+	+	+	+
<i>B. ciluliae</i>	8,92 µm	+	-	-	-
<i>B. dusenii</i>	2,97 µm	-	+	-	-
<i>B. filifolium</i>	5,59 µm	+	+	+	-
<i>B. gladiatum</i>	5,01 µm	-	+	+	-
<i>B. gladiatum</i>	11,15 µm	-	+	-	-
<i>B. plumosum</i>	8,92 µm	+	+	-	-
<i>B. plumosum</i>	12,26 µm	-	+	+	+

(+) presente; (-) ausente

Lâmina foliar

A lâmina foliar apresenta estômatos na face abaxial. As células epidérmicas apresentam formato poligonal, irregular ou retangular (FIGURA 6K). Os estômatos são predominantemente do tipo tetracítico e visualizados no mesmo nível das células epidérmicas (FIGURA 6K). Os tricomas ocorrem em depressão na epiderme e são encontrados em ambas as faces (FIGURA 6L).

A cutícula é espessa ou moderadamente espessa, estriada na face abaxial lisa na adaxial (FIGURA 6M- 6N). A epiderme é uniestratificada, com parede periclinal externa não lignificada em todas as espécies.

O mesofilo é heterogêneo ou fracamente heterogêneo (FIGURA 6O, TABELA 13) ou raramente homogêneo como em *B. dusenii* (FIGURA 6P). Ráfides foram registradas em todas as espécies, enquanto oscristais prismáticos podem ou não ocorrer, estando ausentes em *B. dusenii*. Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal são comum a todas as espécies, enquanto que os de espessamento reticulado foram identificados para quase todas as espécies, com exceção de *B. ciluliae* e *B. dusenii*.

Os feixes vasculares são do tipo colateral, circundados por bainha fibrosa contínua ou descontínua. Os mesmo estão alinhados na região mediana do mesofilo, podendo apresentar de 6-34 feixes por limbo (FIGURAS 6O-6P).

TABELA 13- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NAS LÂMINAS FOLIARES DAS ESPÉCIES DA SEÇÃO Xiphizusa

Espécies	Lâmina foliar		
	Espessura da cutícula	Parênquima paliçádico	Parênquima esponjoso
<i>B. bidentata</i>	28,99 µm	3	3-5
<i>B. chloropterum</i>	9,47 µm	3-4	5-6
<i>B. cilulíae</i>	7,24 µm	2	2-3
<i>B. duseonii</i>	3,12 µm	-	3-5
<i>B. filifolium</i>	8,92 µm	2-3	2-3
<i>B. gladiatum</i>	6,69 µm	1-2	2-3
<i>B. gladiatum</i>	10,03 µm	1-2	3-4
<i>B. plumosum</i>	11,00 µm	2-3	5-6
<i>B. plumosum</i>	15,05 µm	2-3	4-5

(+) presente; (-) ausente

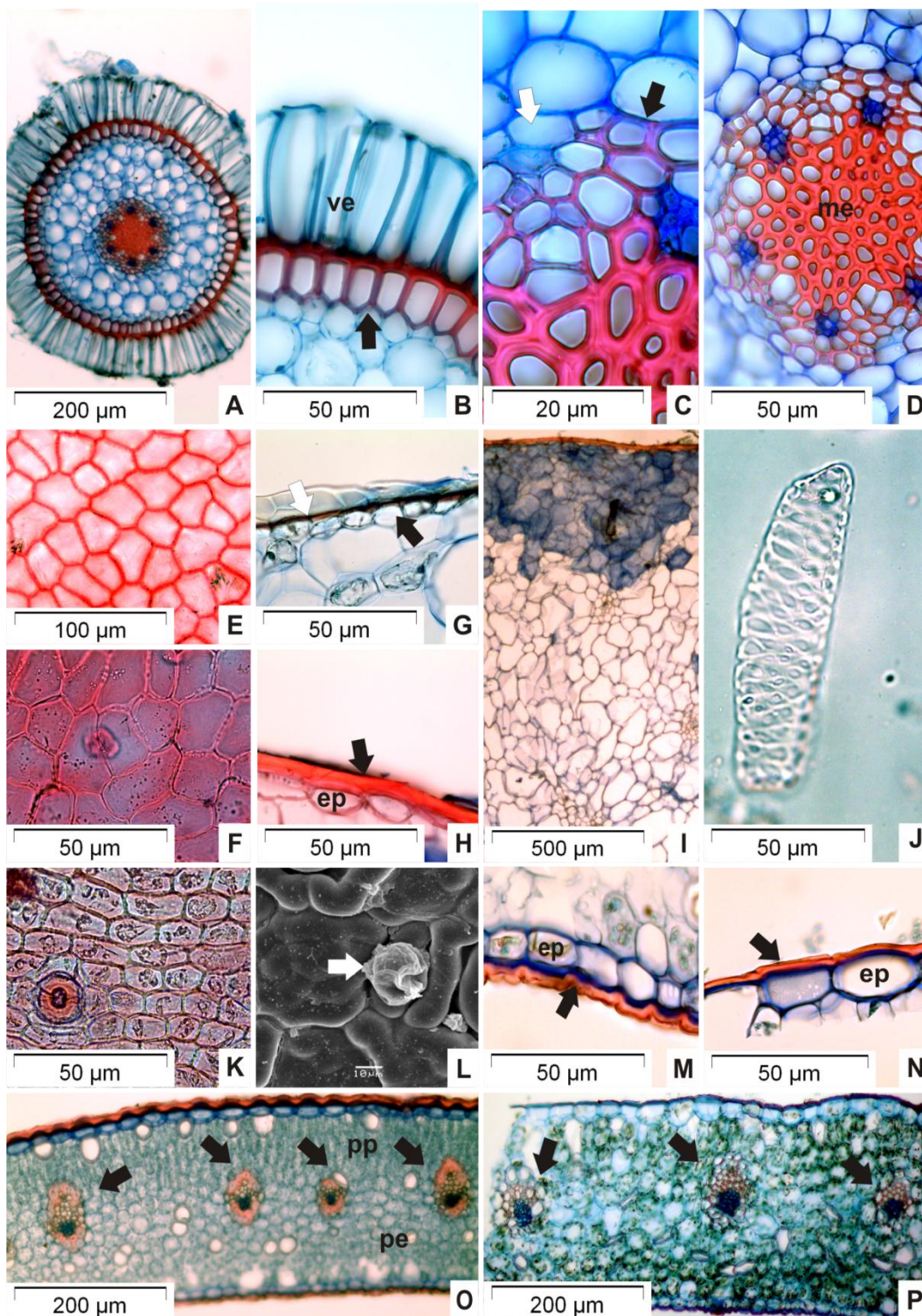


Figura 6- Raiz, seções transversais: A) *Bulbophyllum plumosum*, vista geral, velame (ve); B) *B. chloropterum*, detalhe do velame (ve) e exoderme (seta); C) *B. plumosum*, detalhe da endoderme (seta preta) com célula de passagem (seta branca); D) *B. plumosum*, cilindro vascular com medula (me) esclerificada. **Pseudobulbo:** E) *B. gladiatum*, vista frontal da epiderme com células poligonais; F) *B. filifolium*, vista frontal da epiderme com células irregulares; G) *B. dusenii*, corte transversal com epiderme (seta preta) e cuticula fina (seta branca); H) *B. plumosum* corte transversal com epiderme (ep) uniestratificada e cuticula espessa (seta); I) *B. plumosum*, corte transversal evidenciando

células mucilaginosas (azul); J) *B. bidentata*, idioblasto traqueoidal reticulado. **Lâmina foliar:** K) *B. filifolium*, vista frontal da face abaxial com células retangulares e estômato tetracítico; L) *B. plumosum*, vista frontal da epiderme com inserção de tricoma (seta); M) *B. filifolium*, corte transversal com epiderme (ep) e cutícula estriada (seta); N) *B. chloropterum*, corte transversal com epiderme (ep) e cutícula lisa (seta); O) *B. plumosum*, corte transversal com mesofilo heterogêneo evidenciando feixes vasculares (setas), idioblastos traqueoidais (*), parênquima paliçádico (pp) e parênquima esponjoso (pe); P) *B. dusenii*, corte transversal com mesofilo homogêneo evidenciando feixes vasculares (setas), idioblastos traqueoidais (*).

3.1.8 Grupo externo

A) *Bulbophyllum* (asiáticos e africanos)

Raiz

O velame apresenta uma camada de células com paredes periclinais externas e anticlinais delgada e periclinal interna lignificada (FIGURA 7A). Tilossomos estão presentes nas espécies *B. crassipes*, *B. falcatum*, *B. lobbii* e *B. scaberulum* (FIGURA 7B, TABELA 14). A exoderme é uniestratificada com células espessadas em “O” (FIGURAS 7A e 7B).

O córtex apresenta 5-6 camadas de parênquima (TABELA 14), com ou sem amido. As ráfides estão presentes em todas as espécies e drusas somente em *B. falcatum*. Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal foram registrados em *B. saltatorium*, e com espessamento reticulado em *B. crassipes*, *B. lobbii* e *B. scaberulum*. A endoderme é uniestratificada com células espessadas em “O”, intercaladas com 1-3 células de passagem (FIGURA 7C).

O cilindro vascular apresenta de 8-18 pólo xilemático (TABELA 14) e medula esclerificada.

TABELA 14- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NA RAIZ DAS ESPÉCIES DO GRUPO EXTERNO.

Espécie	Raiz			
	Tilossomos	Nº de camadas do córtex	Drusas	Nº de pólos xilemáticos
<i>B. crassipes</i>	+	5	-	10-11
<i>B. falcatum</i>	+	5	+	13-14
<i>B. lobbii</i>	+	5-6	-	8-9
<i>B. saltatorium</i>	-	5-6	-	17-18
<i>B. scaberulum</i>	+	6	-	14-15

(+) presente; (-) ausente

Pseudobulbo

Em vista frontal as células epidérmicas são poligonais (FIGURA 7D-7E) na maioria das espécies, podendo também ocorrer no formato irregular. Tricoma com extremidade arredondada, inserido em depressão na epiderme, foi registrado em *B. saltatorium* (FIGURAS 7E-7F).

Em secção transversal a cutícula é espessa ou moderadamente espessa (FIGURA 7G, TABELA 15). A epiderme é uniestratificada com parede periclinal externa lignificada em *B. falcatum* e sem lignificação nas demais espécies.

O córtex é composto de parênquima aquifero com células mucilaginosas (FIGURA 7I). Em *B. crassipes* a mucilagem está presente dentro dos idioblastos traqueoidais helicoidais (FIGURA 7H). Ráfides estão presentes em todas as espécies, cristais prismáticos somente em *B. scaberulum* (TABELA 15). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal são comuns a todas as espécies (FIGURA 7H), enquanto os com espessamento reticulado foram registrados apenas em *B. lobbii*.

O cilindro vascular é do tipo atactostélico, sem limite nítido em relação ao córtex. Os feixes vasculares são colaterais, envoltos por bainha fibrosa que pode ser contínua ou descontínua.

TABELA 15- PRESENÇA E ORGANIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS NO PSEUDOBULBO DAS ESPÉCIES DO GRUPO EXTERNO

Espécies	Pseudobulbo		
	Espessura da cutícula	Ráfides	Cristais prismáticos
<i>B. crassipes</i>	6,55 μm	+	-
<i>B. falcatum</i>	5,57 μm	+	-
<i>B. lobbii</i>	8,36 μm	-	-
<i>B. saltatorium</i>	8,92 μm	+	-
<i>B. scaberulum</i>	14,12 μm	+	+

(+) presente; (-) ausente

Lâmina foliar

A lâmina foliar apresenta estômatos somente na face abaxial. As células epidérmicas são poligonais em todas as espécies (FIGURA 7J). Os estômatos são tetracíticos, posicionados no mesmo nível das demais células epidérmicas (FIGURA 7K). Os tricomas ocorrem em ambas as faces da folha, inseridos abaixo do nível das demais células epidérmicas (FIGURA 7L).

A cutícula é espessa ou moderadamente espessa (FIGURA 7L, TABELA 16), e apresenta estriações nas duas faces em *B. saltatorium*. Nas demais espécies a face abaxial é estriada e a adaxial é lisa. A epiderme é uniestratificada, com parede periclinal externa sem lignificação (FIGURA 7L).

Hipoderme esclerificadas é encontrada em ambas as faces apenas em *B. falcatum* e *B. scaberulum* (FIGURA 7N), e ausente nas demais espécies. O mesofilo é heterogêneo nas espécies *B. crassipes* (FIGURA 7M), *B. lobbii* e *B. saltatorium*, com 2-3 camadas de parênquima paliçádico e 4-5 de esponjoso, e homogêneo em *B. falcatum* e *B. scaberulum*, com 2-5 camadas parênquima esponjoso. Ráfides e drusas foram registradas na maioria das espécies (TABELA 16). Idioblastos traqueoidais com espessamento helicoidal estão presentes em todas as espécies, tendo conteúdo mucilaginoso em *B. crassipes* e *B. lobbii*. Idioblastos traqueoidais com espessamento reticulado foram registrados em quase todas as espécies exceto em *B. lobbii*.

Os feixes vasculares são colaterais e circundados por bainha fibrosa contínua ou descontínua. Estes são alinhados na região mediana do mesofilo ocorrendo de 26-52 feixes vasculares por lâmina (TABELA 16).

TABELA 16- PRESENÇA E VARIAÇÃO DAS ESTRUTURAS NA LÂMINA FOLIAR DAS ESPÉCIES DO GRUPO EXTERNO.

Espécies	Lâmina foliar				
	Espessura da cutícula	Parênquima paliçádico	Parênquima esponjoso	Ráfides	Drusas
<i>B. crassipes</i>	6,49 µm	2-3	4	+	-
<i>B. falcatum</i>	8,02 µm	-	2-4	-	+
<i>B. lobbii</i>	5,56 µm	-	5	+	+
<i>B. saltatorium</i>	8,92 µm	3-4	5	-	-
<i>B. scaberulum</i>	12,63 µm	-	5	+	+

(+) presente; (-) ausente

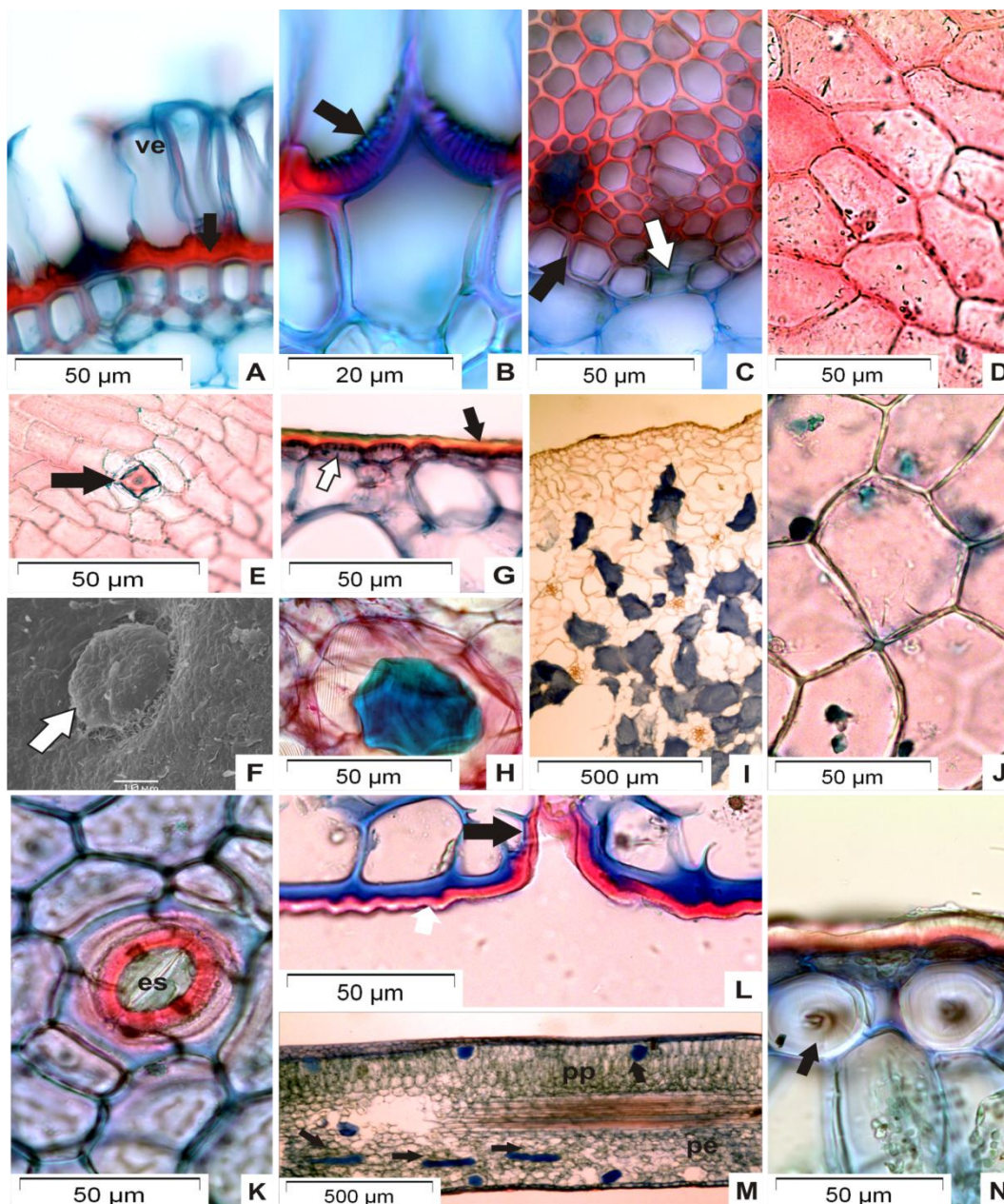


Figura 7- Raiz: Seções transversais A) *Bulbophyllum crassipes*, detalhe do velame unisseriado (ve) e exoderme (seta); B) *B. crassipes*, pormenor do tilossomo (seta); C) *B. lobbii*, endoderme (seta preta) com células de passagem (seta branca) e cilindro vascular. **Pseudobulbo:** D) *B. scaberulum*, vista frontal da epiderme com células poligonais; E) *B. saltatorium*, vista frontal de um tricoma; F) *B. saltatorium*, vista frontal de um tricoma em MEV; G) *B. saltatorium*, corte transversal com epiderme (seta branca) e cutícula espessa (seta preta); H) *B. crassipes*, idioblasto traqueoidal globoso com mucilagem no seu interior. I) *B. lobbii*, córtex e cilindro vascular com células mucilaginosas. **Lâmina foliar:** J) *B. lobbii*, vista frontal da face adaxial com células poligonais; K) *B. crassipes*, vista frontal de um estômato tetracítico; L) *B. crassipes*, corte transversal com cutícula estriada (seta branca) e inserção de tricoma (seta preta) na face abaxial; M) *B. scaberulum*, hipoderme esclerífica (seta) na face adaxial; N) *B. crassipes*, corte transversal com idioblastos traqueoidais alongados e globosos (setas), evidenciando mesofilo heterogêneo.

B) *Dendrobium kingianum*

Raiz

O velame apresenta várias camadas de células cujas paredes possuem espessamentos delgados dispostos helicoidalmente (FIGURA 8A). A exoderme é uniestratificada com células espessadas em “O” (FIGURA 8A).

O córtex apresenta seis camadas de células parênquimáticas com conteúdo amilífero e idioblastos traqueoidais dispersos. A endoderme é uniestratificada com células espessadas em “O”, intercaladas por duas células de passagem.

O cilindro vascular apresenta dez pólos xilemáticos e medula esclerificada.

Pseudobulbo

Em vista frontal as células epidérmicas são poligonais alongadas. Em secção transversal a cutícula é moderadamente espessa (6,69µm). A epiderme é uniestratificada com parede periclinal externa não lignificada.

O córtex é composto de parênquima aquífero com células mucilaginosas e amido. Idioblastos cristíferos (cristais prismáticos e ráfides) e idioblastos traqueoidais com espessamento reticulado integram a região cortical.

O cilindro vascular é do tipo atactostélico, sem limite nítido em relação ao córtex. Os feixes vasculares são colaterais, envoltos por bainha de esclerênquima.

Lâmina foliar

As células epidérmicas são poligonais e os estômatos ocorrem somente na face abaxial. Esses são tetracíticos, posicionados no mesmo nível das demais células epidérmicas. Os tricomas estão embutidos na epiderme e são encontrados em ambas as faces.

A cutícula é moderadamente espessa (3,34 μ m) e lisa. A epiderme é uniestratificada com células com parede periclinal externa sem lignificação.

O mesofilo é homogêneo, com três camadas de parênquima regular. Idioblastos cristalíferos (ráfides e drusas) e idioblastos traqueoidais com espessamento reticulado estão presentes.

Os feixes vasculares colaterais, cerca de 52 por lâmina foliar, distribuem-se em uma única linha na porção central no mesofilo. Estes são envoltos por bainha fibrosa (FIGURA 8B). Estegmatas estão presentes na região dos pólos floemáticos e xilemáticos (FIGURAS 8B - 8C).

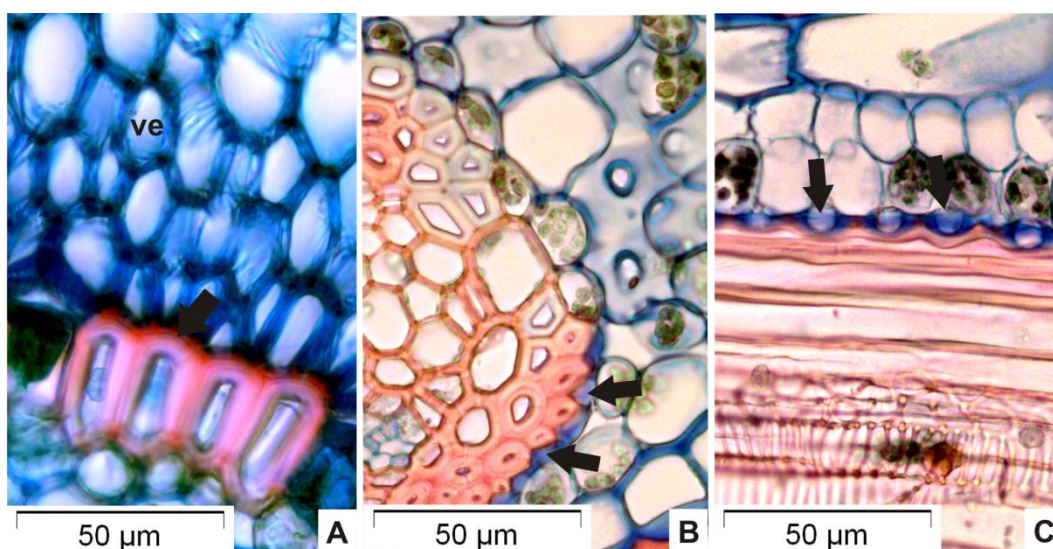


Figura 8- *Dendrobium kingianum* - Seções transversais- **Raiz:** A) detalhe do velame (ve) multisseriado. **Lâmina foliar:** B) corte transversal com estegmatas periféricos ao esclerênquima do feixe vascular (seta); C) corte longitudinal do feixe vascular com estegmatas periféricos (setas).

3.2 Análise Cladística

De acordo com a variação encontrada nos órgãos analisados, foram codificados 33 caracteres (30 qualitativos e 3 quantitativos), sendo 28 binários e cinco multiestados. A matriz de caracteres encontra-se no Anexo 1.

A análise de máxima parcimônia para os dados anatômicos reteve 73 árvores mais parcimoniosas. O consenso estrito destas árvores mais parcimoniosas, porcentagem de bootstrap e índice de Decaimento são apresentados na Figura 9 e as informações sobre a análise filogenética estão presentes na tabela 17. As sinapomorfias ocorrentes na topologia do consenso estrito são apresentadas na figura 10.

O ramo que separa o grupo de *Bulbophyllum* do grupo externo apresentou um alto suporte (porcentagem de bootstrap de 100, índice de decaimento de 100, por outro lado todas as demais espécies foram agrupadas em uma politomia.

Para examinar a evolução dos caracteres anatômicos, uma segunda análise foi necessária. Nesta análise, os caracteres anatômicos foram plotados sobre a topologia proposta para o grupo através de dados de sequências nucleotídicas do genoma nuclear e plastidial combinadas, extraídas de Smidt *et al.* (2011).

Para que esta árvore fosse gerada foi necessária a retirada das seguintes espécies: *B. chloropterum*, *B. crassipes*, *B. duseinii*, *B. glutinosum*, *B. granulosum*, *B. involutum*, *B. saltatorium* e *B. scaberulum*, totalizando ao final 27 espécies e 33 caracteres. Dos caracteres analisados, nove foram constantes, 20 foram parsimoniosamente informativos e quatro não foram parsimoniosamente informativos. Todos os índices dos caracteres diagnósticos estão sumarizados na tabela 18.

TABELA 17- RESULTADO DAS ANÁLISES FILOGENÉTICAS COM A COMBINAÇÃO DE CARACTERES ANATÔMICOS E MOLECULARES

	Anatômica	Combinada
Comprimento da Árvore	168	105
Índice de Consistência (IC)	0,190	0,266
Índice de Retenção (IR)	0,186	0,341
Índice de Homoplasia (IH)	0,810	0,733

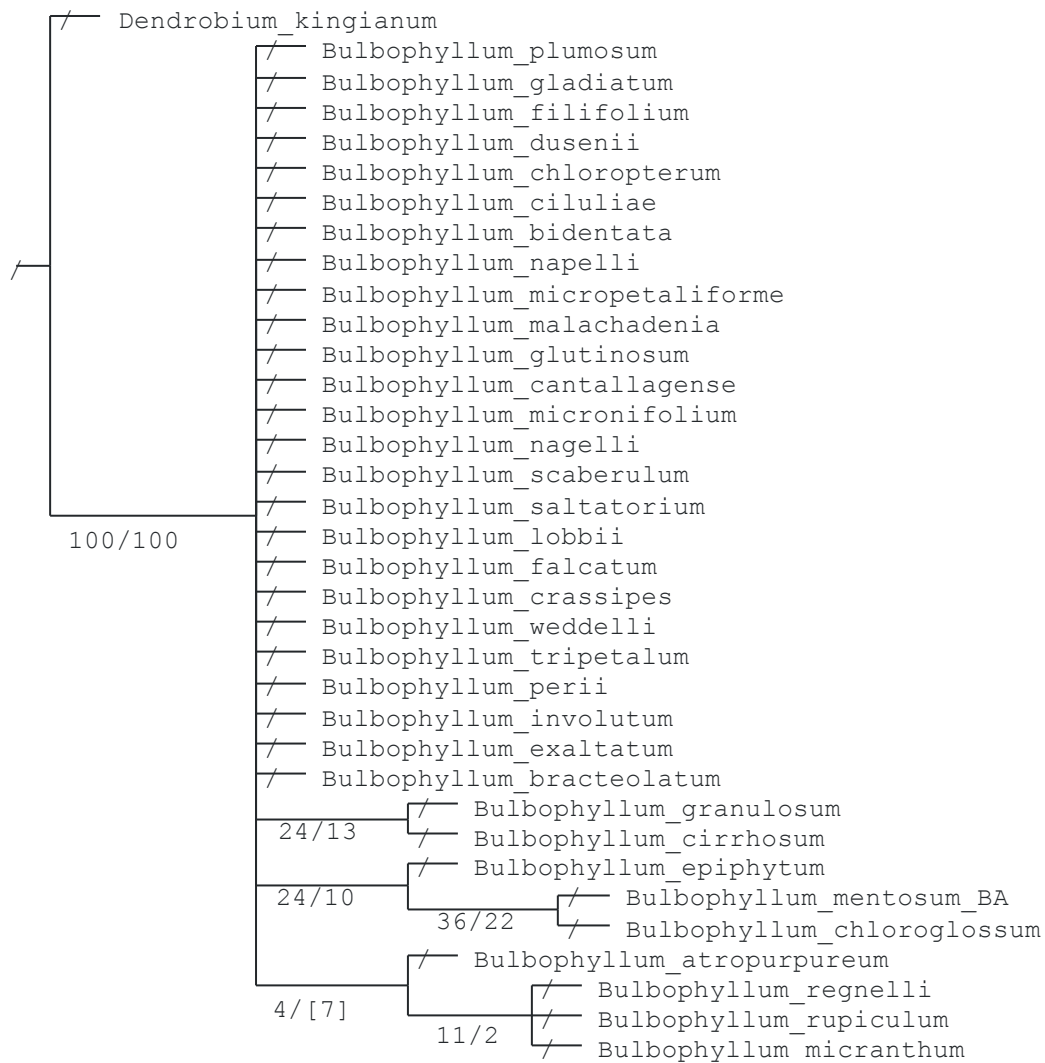


FIGURA 9- Árvore de consenso estrito de 73 árvores retidas pela análise de máxima parsimônia com a inclusão de caracteres anatómicos. A porcentagem de bootstrap e o Índice de decaimento estão indicados abaixo dos ramos.

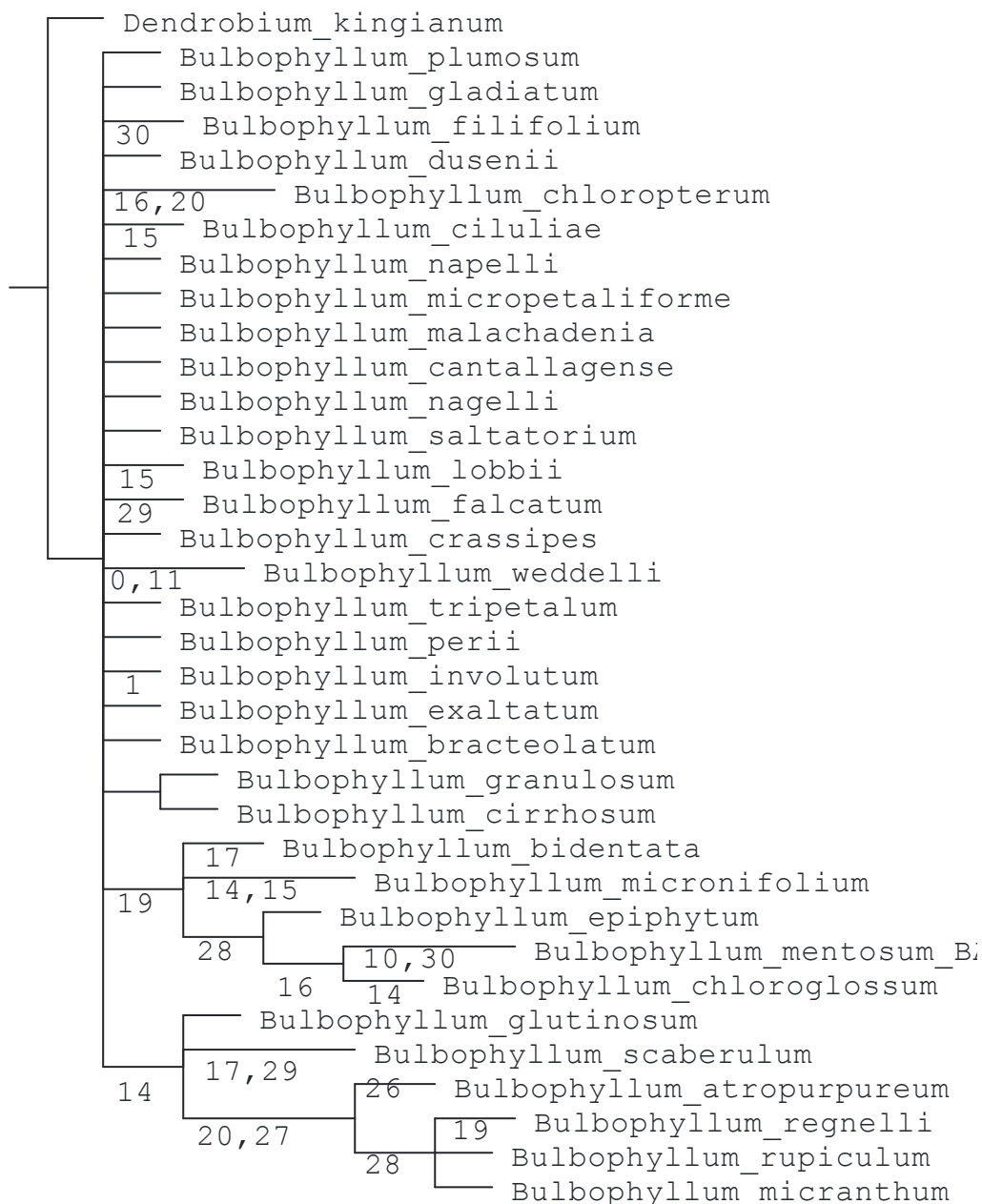


FIGURA 10- Sinapomorfias encontradas na análise filogenética com caracteres anatômicos, comum para as 73 árvores retidas.

TABELA 18- ÍNDICE DAS ÁRVORES MAIS PARCIMONIOSAS DE CADA CÁRATER DIAGNÓSTICO.

Character	Range	Min steps	Tree steps	Max steps	CI	RI	RC	HI	G-fit
1	1	1	2	2	0.500	0.000	0.000	0.500	0.750
3	1	1	4	4	0.250	0.000	0.000	0.750	0.500
4	1	1	6	6	0.167	0.000	0.000	0.833	0.375
5	1	1	2	2	0.500	0.000	0.000	0.500	0.750
6	1	1	5	8	0.200	0.429	0.086	0.800	0.429
7	1	1	2	2	0.500	0.000	0.000	0.500	0.750
10	1	1	6	10	0.167	0.444	0.074	0.833	0.375
11	1	1	5	7	0.200	0.333	0.067	0.800	0.429
12	1	1	1	1	1.000	0/0	0/0	0.000	1.000
15	1	1	7	8	0.143	0.143	0.020	0.857	0.333
16	1	1	3	3	0.333	0.000	0.000	0.667	0.600
17	1	1	3	3	0.333	0.000	0.000	0.667	0.600
18	1	1	2	2	0.500	0.000	0.000	0.500	0.750
20	1	1	6	12	0.167	0.545	0.091	0.833	0.375
21	1	1	8	12	0.125	0.364	0.045	0.875	0.300
23	1	1	1	5	1.000	1.000	1.000	0.000	1.000
26	2	2	10	13	0.200	0.273	0.055	0.800	0.273
27	1	1	5	5	0.200	0.000	0.000	0.800	0.429
28	1	1	8	10	0.125	0.222	0.028	0.875	0.300
29	1	1	7	12	0.143	0.455	0.065	0.857	0.333
30	1	1	1	1	1.000	0/0	0/0	0.000	1.000
31	4	4	9	15	0.444	0.545	0.242	0.556	0.375
32	1	1	1	1	1.000	0/0	0/0	0.000	1.000
33	1	1	1	1	1.000	0/0	0/0	0.000	1.000

(9 constant characters not shown)

Estatística dos caracteres sobre a topologia resultante de análises filogenética molecular (Smidt *et al.* 2011). CI- índice de consistência; RI- índice de retenção; RC- índice de consistência redimensionado; HI- índice de homoplasia

Os caracteres sinapomórficos (constantes) para todas as espécies analisadas (incluindo os grupos externo e basais) foram (8) tipo de espessamento da endoderme, (9) ausência de tricomas no pseudobulbo, (13) mucilagem no pseudobulbo, (14) ausência de estegmata no pseudobulbo, (19) presença de tricomas na folha, (22) cutícula lisa na face adaxial na lâmina foliar, (24) face de distribuição do estômato, (25) tipo de estômato (32) tipo de idioblasto traqueoidal. Os caracteres não informativos foram (2) espessamento da exoderme, (12) hipoderme esclerificada no pseudobulbo, (30) hipoderme esclerificada na lâmina foliar e (33) idioblastos traqueoidais com mucilagem na lâmina foliar.

As espécies *D. kingianum* (grupo externo) e *B. weddellii* apresentam mais que uma camada de velame (1), diferente das espécies das demais seções que apresentam apenas uma camada. Os tilossomos (3) estão presentes nas espécies do grupo basal.

Idioblastos traqueoidais no córtex das raízes (4) ocorrem em todas as espécies. Os que apresentam espessamento helicoidal foram registrados na maioria dos indivíduos, enquanto que os com espessamento reticulado foram observados apenas nas espécies neotropicais. Ráfides na raiz (5) só não estão presentes no grupo externo e em *B. regnelli* da seção **Napelli** (homoplasia reversa, quando um caráter modifica-se retornando do estado derivado para o primitivo). O grupo externo, espécies basais, as seções neotropicais **Bulbophyllaria**, e **Furvensces** não apresentam cristais prismáticos na raiz (6), na seção **Micranthae** a presença dessas estruturas é diagnóstico, enquanto que nas demais seções ocorrem em algumas espécies (homoplasia paralela, quando a partir do mesmo estado primitivo, surgem duas ou mais vezes o mesmo estado primitivo). Drusas na raiz (7) ocorrem em apenas duas espécies *B. falcatum* e *B. micropetaliforme*.

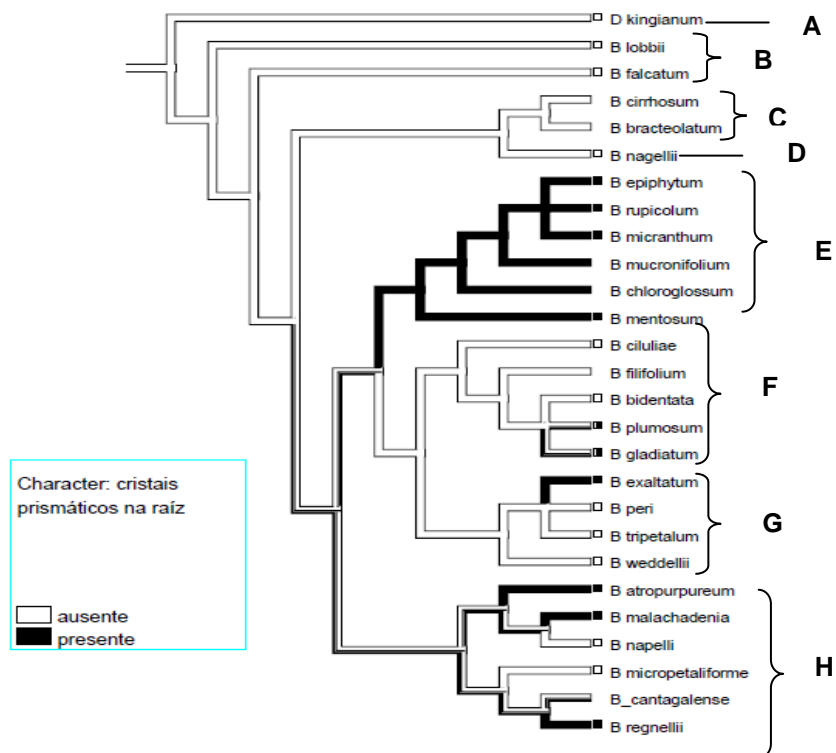


FIGURA 11- Árvore mais parcimoniosa (CI- 0,500; RI- 0,000; HI- 0,500) evidenciando a reconstrução do estado ancestral cristais prismáticos na raiz, sustentando os ramos que agrupam as espécies da seção **Furvescens** e **Didactyle**. As cores nos ramos indicam o estado de caráter evidenciado na legenda. A- Grupo externo; B- *Bulbophyllum* pantropicais; C- seção **Bulbophyllaria**; D- seção **Furvescens**; E- seção **Micranthae**; F- seção **Xiphizusa**; G- seção **Didactyle**; H- seção **Napelli**. CI- índice de consistência; RI- índice de retenção; HI- índice de homoplasia.

O caráter cutícula moderadamente espessa no pseudobulbo (10) é uma sinapomorfia para o grupo externo, espécies basais e a seção **Bulbophyllaria**. As seções **Furvescens** e **Micranthe** apresentam cutícula espessa, enquanto nas demais espécies as duas características são encontradas, caracterizando uma possível homoplasia reversa. A parede periclinal externa das células epidérmicas do pseudobulbo (11) apresenta-se não lignificada no grupo externo, espécies basais e nas seções neotropicais **Bulbophyllaria**, **Furvescens** e **Didactyle**, caracterizando uma sinapomorfia. Na seção **Napelli** ocorre homoplasia paralela, uma vez

que possuem espécies cuja parede periclinal externa do pseudobulbo é lignificada. Por outro lado homoplasias reversas são verificadas nas seções **Micranthe** e **Xiphizusa**, uma vez que a característica predominante é a parede periclinal externa lignificada e, em algumas espécies, delgada.

A ausência de cristais prismáticos no pseudobulbo (15) é verificada no grupo externo, espécies basais e nas seções neotropicais **Furvensces** e **Didactyle**. As espécies das seções **Bulbophyllaria** e **Xiphizusa** podem ou não apresentar esses cristais, evidenciando uma homoplasia paralela. Por outro lado, a presença de cristais na seção **Micranthe** é comum, só ocorrendo possível homoplasia reversa apenas em uma espécie. Por sua vez, na seção **Napelli** pode ou não ocorrer cristais prismáticos. A presença de ráfides no pseudobulbo (16) é constante em quase todos os grupos, exceto em uma espécie do grupo basal (*B. lobbii*) e nas seções **Micranthe** e **Xiphizusa**. Drusas no pseudobulbo (17) são registradas em duas espécies, *B. chloroglossum* (seção **Micranthe**) e *B. micropetaliforme* (seção **Napelli**) evidenciando outro caso de homoplasia paralela; nos demais grupos e seções estas estruturas não foram encontradas.

A presença de idioblastos traqueoidais no pseudobulbo (18) é constante. Os idioblastos traquoidais que apresentam espessamento helicoidal ocorrem em quase todas as espécies com exceção do grupo externo que foi registrado o do tipo reticulado. Homoplasia paralela, para o idioblastos reticulado, só não é observada na seções **Furvensces**.

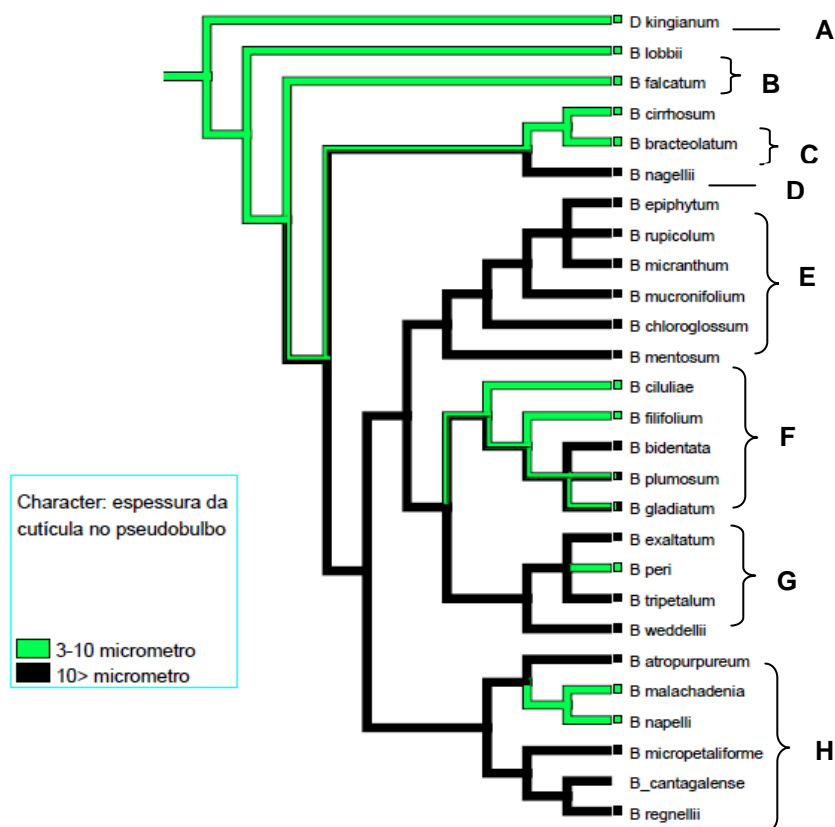


FIGURA 12- Árvore mais parcimoniosa (CI- 0,167; RI- 0,444; HI- 0,833) evidenciando a reconstrução do estado ancestral espessura da cutícula no pseudobulbo. Onde foi possível agrupar as espécies das seções **Didactyle**, **Furvescens** e **Xiphizusa**. As cores nos ramos indicam o estado de caráter evidenciando na legenda. A- Grupo externo; B- *Bulbophyllum* pantropicais; C- seção **Bulbophyllaria**; D- seção **Furvescens**; E- seção **Micranthae**; F- seção **Xiphizusa**; G- seção **Didactyle**; H- seção **Napelli**. CI- índice de consistência; RI- índice de retenção; HI- índice de homoplasia.

O caráter espessura da cutícula na lâmina foliar (20) (FIGURA 16) foi sinapomórfico quando caracterizada como moderadamente espessa para o grupo externo, duas espécies basais de *Bulbophyllum* (*B. falcatum* e *B. lobii*) e as duas seções mais basais de *Bulbophyllum* do Neotrópico (**Bulbophyllaria** e **Furvescens**). A cutícula bem espessa foi sinapomórfica para a seção **Micranthe**, enquanto mostra-se como homoplasias paralelas nas outras seções A aparência lisa da cutícula na face abaxial (21) é uma homoplasia paralela para as seções

Bulbophyllaria, Micranthe, Xiphizusa e Didactyle. Na seção **Napelli**, a caracterização estriada é uma homoplasia reversa e sinapomórfica para os grupos basais e seção **Furvensces**.

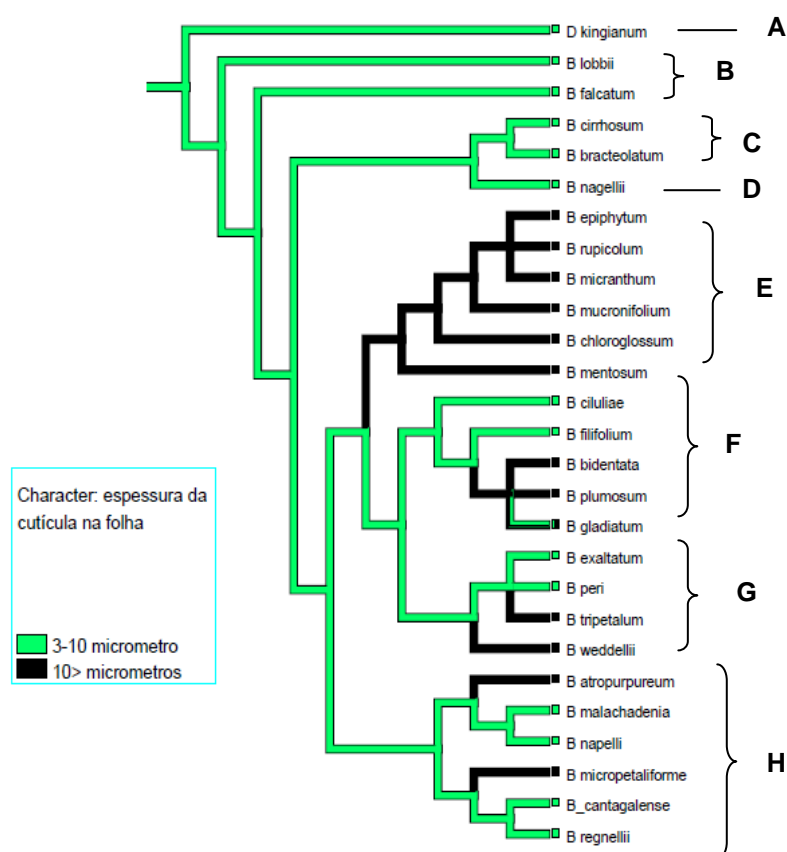


FIGURA 13- Árvore mais parcimoniosa (CI- 0,167; RI- 0,545; HI- 0,833) evidenciando a reconstrução do estado ancestral espessura da cutícula na lâmina foliar. Onde foi possível agrupar as espécies das seções **Bulbophyllaria**, **Furvensces**, Grupos externos e **Micranthe**. As cores nos ramos indicam o estado de caráter evidenciando na legenda. A- Grupo externo; B- *Bulbophyllum* pantropicais; C- seção **Bulbophyllaria**; D- seção **Furvensces**; E- seção **Micranthae**; F- seção **Xiphizusa**; G- seção **Didactyle**; H- seção **Napelli**. CI- índice de consistência; RI- índice de retenção; HI- índice de homoplasia.

A parede periclinal externa (23) bem espessa na lâmina foliar representa uma sinapomorfia apenas para a seção **Micranthe** (FIGURA17).

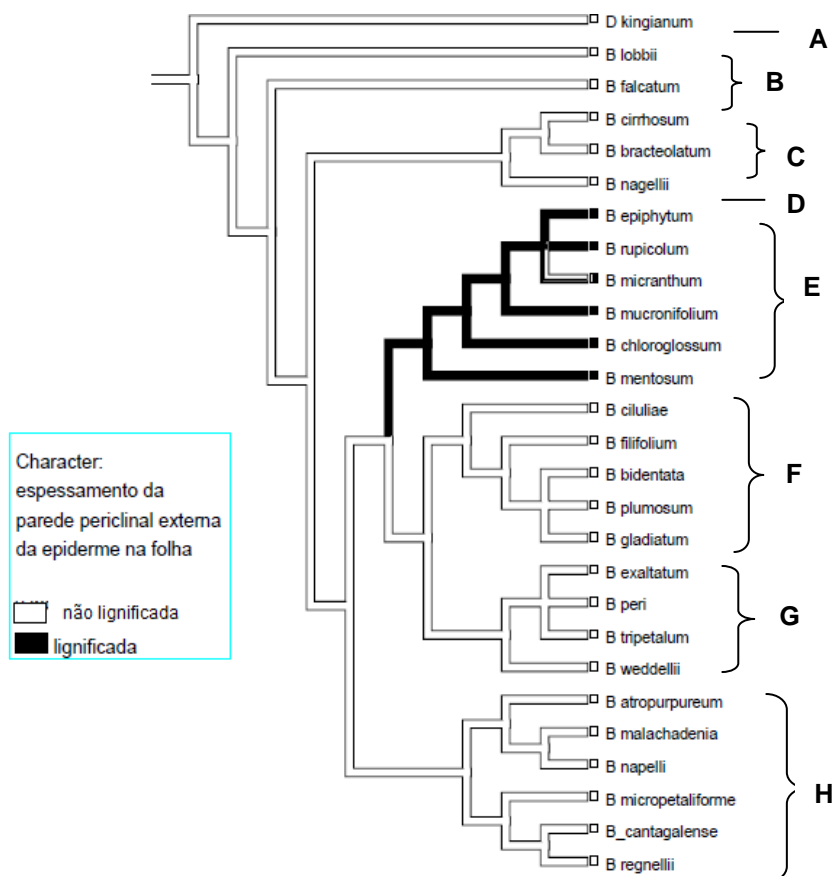


FIGURA 14- Árvore mais parcimoniosa (CI- 1,000; RI- 1,000; HI- 0,000) evidenciando a reconstrução do estado ancestral espessamento da parede periclinal externa da epiderme foliar. Onde foi possível agrupar as espécies das seções **Micranthe**. As cores nos ramos indicam o estado de caráter evidenciando na legenda. A- Grupo externo; B- *Bulbophyllum* pantropicais; C- seção **Bulbophyllaria**; D- seção **Furvescens**; E- seção **Micranthae**; F- seção **Xiphizusa**; G- seção **Didactyle**; H- seção **Napelli**. CI- índice de consistência; RI- índice de retenção; HI- índice de homoplasia.

Mesofilo (26) homogêneo ocorre no grupo externo e espécies basais. Para as seções do Neotrópico, mesofilo heterogêneo pode ser considerado um caráter sinapomórfico. Em algumas seções o mesofilo foi considerado fracamente heterogêneo devido o parênquima paliçádico não ser típico (com células ligeiramente alongadas). No entanto, homoplasia reversa desse caractere (mesofilo homogêneo) ocorreu em duas espécies da seção **Didactyle**.

A presença de ráfides nas lâminas foliares (27) é uma característica sinapomórfica no grupo externo e nas seções do Neotrópico **Furvensces**, **Micranthe**, **Xiphizusa** e **Didactyle**. Sua ausência é registrada como homoplasia paralela em uma espécie do grupo basal (*B. falcatum*) e nas seções **Bulbophyllaria** e **Napelli**. Cristais prismáticos nas lâminas foliares (28) estão ausentes no grupo externo e grupos basais. Nas seções do Neotrópico a presença é uma sinapomorfia para as seções **Furvensces** e **Micranthe**, nas outras seções ocorrem homoplasias reversas. Drusas nas lâminas foliares (29) estão presentes (sinapomórficas) no grupo externo, basais e na seção **Bulbophyllaria** do Neotrópico. Sua ausência é uma homoplasia paralela nas seções **Furvensces**, **Micranthe**, **Didactyle** e **Napelli** e uma sinapomorfia na seção **Xiphizusa**.

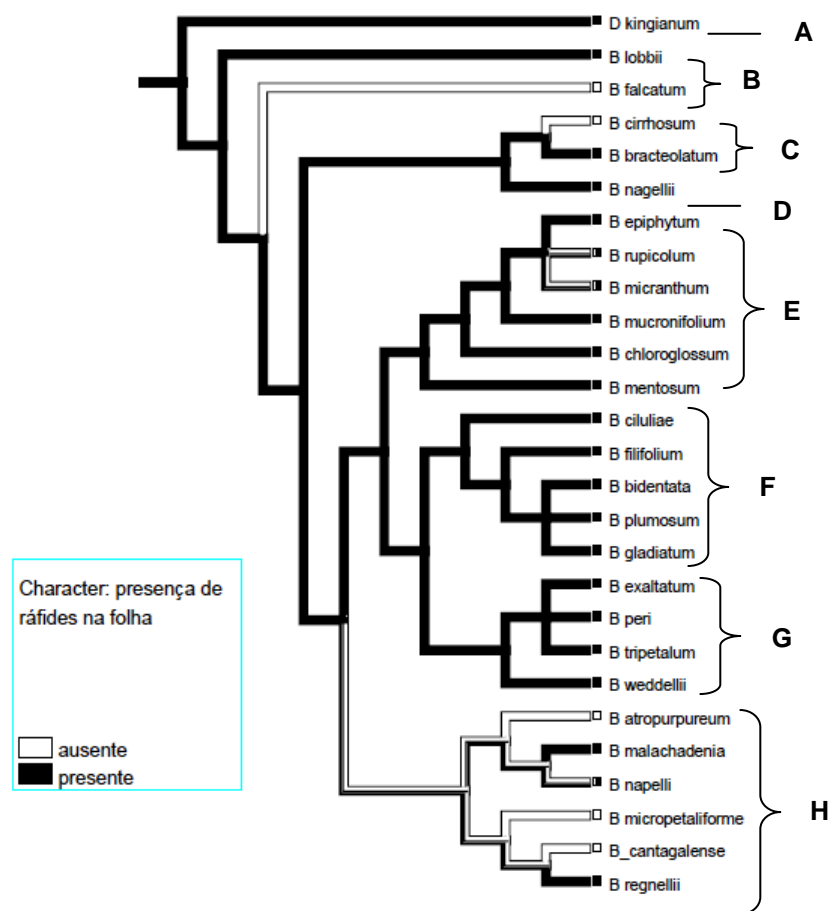


FIGURA 15- Árvore mais parcimoniosa (CI- 0,200; RI- 0,000; HI- 0,800) evidenciando a reconstrução do estado ancestral presença de ráfides no mesófilo foliar. Onde sua presença foi capaz de agrupar as seções **Didactyle** e **Micranthe**. As cores nos ramos indicam o estado de caráter evidenciando na legenda. A- Grupo externo; B- *Bulbophyllum* pantropicais; C- seção **Bulbophyllaria**; D- seção **Furvescens**; E- seção **Micranthae**; F- seção **Xiphizusa**; G- seção **Didactyle**; H- seção **Napelli**. CI- índice de consistência; RI- índice de retenção; HI- índice de homoplasia.

O número de feixes vasculares nas lâminas foliares (31) é acima de 46 no grupo externo, nas espécies basais esse número cai para 35-46 caracterizando um novo estado. Nas seções do Neotrópico os números são constantes (sinapomórficos) para as espécies das seções **Bulbophyllaria** e **Didactyle** (24-34) e **Furvensces**. Na seção **Xiphizusa** ocorrem duas homoplasias paralelas *B. filifolium* (6-13) e *B. bidentata* (14-23), enquanto na seção **Napelli** ocorre uma homoplasia reversa e uma paralela *B. atropurpureum* (35-46) e *B. cantagalense*, *B. regnellii* (14-23).

Na seção **Micranthae** ocorre uma homoplasia paralela em *B. mentosum* (35-46) feixes.

4. DISCUSSÃO

4.1 Anatomia

De acordo com Porembski e Barthlott (1988), o gênero *Bulbophyllum* possui velame uniestratificado com células altas. No entanto, foi identificado velame biestratificado em *B. weddellii*. Dado este, igualmente encontrados por Mohana Rao e Khasim (1987) em três espécies pantropicais desse gênero.

Fatores ambientais poderiam influenciar o número de camadas de velame (SILVA *et al.*, 2010), onde velame pluriestratificado é encontrado em espécies de regiões mais secas, e velame uni ou biestratificado em espécies de solos encharcados. Entretanto, as espécies do presente estudo habitam lugares epifíticos e rupícolas (perenes) e não apresentam velame pluriestratificado, supondo-se que o número de camadas seja regulado geneticamente.

Tilossomos, que tem função de facilitar a absorção de água, não foram encontrados nas espécies Neotropicais de *Bulbophyllum*. Confirmando o estudo de Pridgeon *et al.* (1983) onde os tilossomos são geralmente encontrados em espécies do Neotrópico, com exceção dos gênero *Bulbophyllum* e *Polystachya*, onde apenas espécies do Velho Mundo possuem essa estrutura.

O padrão de espessamento da parede da exoderme é variável. Espécies epífitas exibem um padrão de espessamento da exoderme que varia de “U”, “O” (MOREIRA e ISAÍAS, 2008) ou “∩” (HOLTZMEIER *et al.*, 1998). Espessamento em “∩” foi registrado em apenas um espécime de *B. perii* e em *B. involutum*, enquanto o espessamento em “O” é encontrado nas demais espécies. Possivelmente, o espessamento em “O” seja a fase final de desenvolvimento do padrão em “∩”, uma vez que os dois padrões foram identificados numa mesma espécie (*B. perii*), indicando o espessamento em “O” como uma possível característica para o grupo. Estudos ontogenéticos são necessários para confirmação dessa hipótese.

Endoderme uniestratificada com espessamento em “O”, também é característico para *Bulbophyllum*. Esse padrão é comum em Orchidaceae (PRIDGEON, 1982; STERN e JUDD, 1999; STERN e JUDD, 2000; STERN e JUDD, 2001; STERN e JUDD, 2002; MOREIRA e ISAÍAS, 2008; SILVA *et al.*, 2010; AYBEKE *et al.*, 2010; AYBEKE, 2012), embora ocorra registro de endoderme biestratificada em *Vanda tricolor* (tribo Epidendroideae) (OLIVEIRA e SAJO 1999b). Segundo Pridgeon (1982) essas estruturas são incertas para sistemática a níveis genéricos.

Epiderme uniestratificada no pseudobulbo é uma característica comum a todas as espécies de Orchidaceae (PRIDGEON, 1982; KURZWEIL *et al.*, 1995; HOLTZMEIR *et al.*, 1998; OLIVEIRA e SAJO, 2001 e AYBEKE, 2010, 2012). A cutícula moderadamente espessa e espessa está relacionada às condições xeromorfas (ARDITTI, 1992), padrões esses encontrados nas espécies estudadas. A lignificação da

parede periclinal externa da epiderme pode ser um caráter que auxilie na taxonomia, uma vez que algumas espécies possuem essas paredes sem lignificação e outras com lignificação conspícua. Células mucilaginosas com paredes finas no córtex do pseudobulbo são comuns a quase todas as espécies de *Bulbophyllum* e em outras subfamílias de Orchidaceae (Orchidoideae e Epidendroideae) (MOHANA RAO e KASHIM, 1987, AYBEKE, 2012). *B. crassipes* apresenta conteúdo mucilaginoso também no interior dos idioblastos traqueoidais do pseudobulbo. Segundo Gbson e Nobel (1986), a presença de mucilagem facilita o armazenamento de água e está relacionada a uma adaptação a ambientes xéricos.

No presente trabalho não foi possível estabelecer um limite nítido entre o córtex e o cilindro vascular do pseudobulbo. Ao contrário, periciclo evidente e espessado no caule foi registrado por Aybeke *et al.* (2010) em *Orchis* e *Dactylorhiza*, que indicaram esse caractere importante para distinguir taxóns de determinados grupos. A falta de nitidez entre o córtex e o estelo parece ser típica de Epidendroideae (MOHANA RAO e KHASIM, 1987; HOLTZMEIER ET AL. 1998; STERN e JUDD, 1999, 2001).

Epiderme uniestratificada na folha, como registrada em *Bulbophyllum*, é uma característica constante nas espécies de Orchidaceae (ARDITTI, 1992; KURZWEIL *et al.*, 1995; MORIS e JUDD, 1996; HOLTZMEIER *et al.*, 1998; OLIVEIRA e SAJO, 1999a; STERN e JUDD, 1999; STERN e WHITTEN, 1999; STERN *et al.* 2000; COLLETA e SILVA, 2008; CARLSWARD e STERN, 2009; AYBEKE *et al.* 2010; AYBEKE 2012). A lignificação da parede periclinal externa é exclusiva

para a seção **Micranthae**, podendo ser apontado como um caráter sinapomórfico para a seção. Smidt *et al.* (2012), ao estudarem esta mesma seção afirmam que algumas características xeromórficas são convergência adaptativa devido à sua exposição a condições ambientais similares, especialmente em relação ao estresse hídrico.

Estudos recentes indicam que a cutícula é uma estrutura dinâmica, capaz de regular sua espessura de acordo com diferentes fatores ambientais (SCHREIBER, 2006). Cutícula espessa foi considerada um caráter constante entre todas as espécies da seção **Micranthe**, ocorrentes em ambiente quente e seco. Assim como para as seções **Bulbophyllaria** e **Furvescens** (epífitas) a cutícula foi considerada moderadamente espessa.

O padrão de estriação cuticular em *Bulbophyllum* foi constante na face abaxial (estriada) e adaxial (lisa). No entanto padrões diferentes podem ocorrer na mesma espécie, como registrado em *Ophrys*, *Orchis* e *Dactylorhiza* (AYBEKE *et al.* 2010).

A presença de tricomas nas lâminas foliares é facultativa nos diferentes gêneros de Orchidaceae. Estas estruturas foram encontradas em Pleurothallidinae (PRIDGEON, 1981; PRIDGEON, 1982; SCATENA e NUNES, 1996; SILVA *et al.*, 2006), *Maxillaria* (HOLTZMEIER *et al.* 1998); *Stanhopea* (STERN e WHITTEN, 1999) e *Bulbophyllum* (MOHANA RAO e KHASIM, 1987; SMIDT *et al.*, 2012). Embora a maioria desses autores refira sua presença, ilustrando uma depressão em secção transversal, não há descrição clara do tipo do tricoma. Pridgeon (1981) descreveu a ontogênese desses tricomas com duas células, sendo a apical globosa ou

elíptica, com um conteúdo marrom opaco. Stern e Whitten (1999) descreveram esse tricoma com três células, sendo a apical caduca durante o desenvolvimento foliar.

Neste trabalho foram analisadas lâminas foliares jovens apenas da espécie *B. perii*, onde foi observado tricomas semelhantes aos descritos por Stern e Whitten (1999), com célula apical alongada, caduca durante o desenvolvimento da lâmina foliar. Nas lâminas foliares adultas de todas as espécies analisadas, incluindo grupo externo, foi identificada a inserção destes tricomas, semelhante ao encontrado por Pridgeon (1981). Devido à célula apical dos tricomas de *Bulbophyllum* serem caducas, a identificação dessa estrutura pela morfologia externa é dificultada, levando taxonomistas a descrever as lâminas foliares como glabras.

O mesofilo pode variar entre homogêneo e heterogêneo entre os diferentes gêneros de Orchidaceae (KURZWEIL *et al.*, 1995; MORRIS e JUDD, 1996; OLIVEIRA e SAJO, 1999a; Pires *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2006; STERN e CARLSWARD, 2006; CARLSWARD e STERN, 2009; AYBEKE *et al.*, 2010; AYBEKE, 2012), e esta variação foi observada nas espécies estudadas. A presença de mesofilo heterogêneo é comum a espécies de orquídeas mais expostas ao sol e a ambientes secos. As camadas de parênquima paliçádico toleram maior a exposição ao sol e protegem o parênquima esponjoso subjacente contra insolação (YUKAWA e STERN, 2002). Essa adaptação fica evidente na nossa análise, onde as espécies do grupo externo, que são pantropicais, apresentam constância de mesofilo homogêneo enquanto o surgimento de mesofilo heterogêneo com parênquima paliçádico é frequente nas neotropicais.

A presença de hipoderme nas lâminas foliares é incomum em orquídeas, porém foi registrado por Oliveira e Sajo (1999a) em duas espécies de *Epidendrum* e uma de *Encyclia*, Stern e Carlswald (2006) em Oncidiinae e Stern e Judd (1999) em *Vanilla*. No presente trabalho, apenas *B. scaberulum* e *B. falcatum* (espécies do grupo externo) apresentaram hipoderme nas lâminas foliares. A lignificação da parede dessas células pode não só estar relacionada ao ambiente árido como também a deficiência de nutrientes e longevidade das lâminas foliares, podendo ainda dificultar a predação (DIKSON, 2000).

Em algumas Orchidaceae há corpos silicosos denominados estegmatas. Os corpos silicosos são formados quando o ambiente apresenta abundância em água e aumento da decomposição da matéria orgânica (PRYCHID *et al.*, 2003). Segundo Prychid *et al.* (2003), orquídeas epífitas apresentam corpos silicosos, mesmo não tendo acesso à sílica solúvel presente em solos alagados, enquanto as terrestres muitas vezes não apresentam esta estrutura.

Estegmatas esféricos foram identificados associados ao esclerênquima dos feixes vasculares de *Dendrobium kingianum*, indo de acordo com o que foi apresentado por Møller e Rasmussen (1984) e Morris e Judd (1996). Nas espécies de *Bulbophyllum*, aqui analisadas, não foram registrados estegmata, corroborando os resultados de Møller e Rasmussen (1984) quanto à ausência de estegmatas na subtribo Bulbophyllinae. Segundo este autor a ausência de estegmatas nesta subtribo pode ser uma autopomorfia. Ao analisar as lâminas foliares da seção **Micranthe** de *Bulbophyllum* do Neotrópico Smidt *et al.* (2012)

registraram a presença de estegmatas na epiderme. Segundo Prychid *et al.* (2003), células epidérmicas com sílica, não devem ser denominadas estegmatas, este termo só deve ser utilizado quando os corpos silicosos estão associados ao esclerênquima dos feixes vasculares e feixes de fibra.

Cristais de oxalato de cálcio (cristais prismáticos, drusas e ráfides) foram registrados em todos os órgãos de *Bulbophyllum*, sendo os cristais do tipo ráfides comuns entre as espécies. Estes cristais foram registrados por diversos pesquisadores em diferentes gêneros de Orchidaceae, (SILVA *et al.*, 2006; CARLSWARD e STERN, 2009; STERN e CARLSWARD, 2009; SILVA *et al.*, 2010; AYBEKE *et al.*, 2010), não sendo utilizados como caráter diagnóstico. Os cristais de oxalato de cálcio são estruturas importantes para auxiliar a taxonomia, pois sua síntese e morfologia são reguladas geneticamente (FRANCESCHI e NAKATA, 2005).

Idioblastos traqueoidais são estruturas de diferentes formatos que ocorrem nos órgãos vegetativos de orquídeas epífitas com espessamento de parede (anelar, helicoidal ou reticulado), que pode ou não ser lignificada (FOSTER, 1956; OLATUNJI e NENGIM, 1980; PRIDGEON 1982). A origem desses idioblastos ainda não foi bem investigada, porém Foster (1956) acredita que surgiram durante a histogênese inicial da lâmina foliar, de alguma célula específica do meristema fundamental. Segundo Olantunji e Nengim (1980) estas células são intimamente ligadas às células do parênquima e podem assumir morfologia diferente entre os idioblastos traqueoidais, não tendo protoplasto no seu interior (FOSTER,

1956). Porém, algumas espécies aqui analisadas apresentaram mucilagem e ráfides no interior dessas células. Isto evidencia a presença de protoplasto, podendo este ser perdido durante o desenvolvimento celular. A possível função dos idioblastos traqueoidas é o armazenamento de água, suporte mecânico e evitar o colapso celular na época de seca extrema (FOSTER, 1956; OLATUNJI e NENGIM, 1980; PRIDGEON 1982). A presença de mucilagem nessas células reforça a função de armazenamento de água (OLATUNJI e NENGIM, 1980), enquanto a de ráfides sugere a possibilidade de prevenir herbívora.

Neste trabalho todos os idioblastos traqueoidas foram classificados como helicoidal (OLATUNJI e NENGIM, 1980) ou reticulado (com espessamento de parede contínuo, interrompido pelas pontuações, com aspecto de retículo). Ambos os tipos foram constantes nas seções neotropicais. Em algumas espécies os dois tipos estiveram presentes, enquanto que em outras apenas um. Para *Bulbophyllum* a utilização dessas células como caracter taxonômico não foi eficiente.

4.2 Cladística

D. kingianum é separado de *Bulbophyllum* por apresentar caracteres como idioblastos somente do tipo reticulado no mesofilo e córtex do pseudobulbo, velame múltiplo e presença de ráfides no córtex das raízes. Esses caracteres pertencem à espécie do grupo externo e não são constantes em *Bulbophyllum*.

As politomias do gênero *Bulbophyllum* não foram resolvidas devido aos caracteres anatômicos serem homoplásticos. Stern e Carlsward

(2009) afirmam que a anatomia vegetativa sozinha é insuficiente para unir os taxóns de Laelinae. Para Vanilleae (STERN *et al.*, 2000), os caracteres anatômicos tem algum valor filogenético, embora não sejam suficientes para resolver as polimorfias do gênero, a mesma justificativa ocorreu para Oncidiinae (STERN e CARLSWARD, 2006).

Embora a análise filogenética com dados anatômicos de órgão vegetativos seja comumente usada para comparar gêneros próximos (KURZWEIL *et al.*, 1995), estes caracteres geralmente são homoplásticos dificultando a seleção de caracteres adequados à filogenia. Para tanto, é necessário a análise de sua evolução nas diferentes seções, previamente predefinidas em análise filogenética molecular e de morfologia externa.

As seções de *Bulbophyllum* do Neotrópico são agrupadas por terem idioblastos traqueoidais em todos os órgãos, mesofilo heterogêneo e presença de cristais prismáticos nas lâminas foliares.

Bulbophyllum seção **Bulbophyllaria** foi sustentada por apresentar cutícula foliar moderadamente espessa, presença de drusas no mesofilo, número de feixes vasculares variando entre 24-34 e presença de cutícula moderadamente espessa no pseudobulbo.

Os caracteres cutícula foliar moderadamente espessa; cutícula estriada na face abaxial; presença de ráfides no mesofilo; cristais prismáticos; feixes vasculares variando entre 14-23; idioblastos traqueoidais irregulares e alongados; cutícula espessa no pseudobulbo e idioblastos traqueoidais com espessamento reticulado na raiz agrupam *Bulbophyllum* seção **Furvescens**.

Bulbophyllum seção **Micranthe** é suportada por apresentar cutícula foliar bem espessa, lignificação da parede periclinal externa da epiderme, presença de ráfides e cristais prismáticos no mesofilo, cutícula do pseudobulbo bem espessa e cristais prismáticos na raiz.

Bulbophyllum seção **Didactyle** tem suas espécies agrupadas por apresentarem ráfides no mesofilo, número de feixes vasculares variando entre 24-34 e raiz com idioblastos traqueoidais reticulados.

Bulbophyllum seção **Xiphizusa** é sustentada pela presença de ráfides no mesofilo. A seção Napelli não foi agrupada por característica alguma, com exceção dos caracteres sinapomórficos comuns a todas as espécies estudadas. Essas duas seções foram as que apresentaram espécies com mais plasticidade fenotípica em seus caracteres.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As estruturas anatômicas vegetativas, estudadas neste trabalho, evidenciam a adaptação dessas espécies ao ambiente xeromórfico.

A lâmina foliar foi o órgão que apresentou maior quantidade de caracteres que podem ser utilizados para a taxonomia, posteriormente o pseudobulbo e a raiz. O maior número de caracteres variáveis na folha (espessamento da cutícula, lignificação da parede epidérmica, tipos de cristais, mesofilo e número de feixes vasculares) deve-se à maior exposição dessa à fatores externos, além de ser um local onde ocorre maior número de processos metabólicos, necessitando de estruturas especializadas.

A análise cladística utilizando somente os caracteres anatômicos não foi bem sucedida quanto à organização das seções propostas para o gênero na região neotropical. Isto se deve a pouca diferença de estruturas, presença de homoplasias para a maioria dos estados de caráter e de características das próprias espécies que ocupam ambientes semelhantes.

Entretanto, a análise da evolução dos caracteres combinada com a análise filogenética molecular permitiu a identificação dos caracteres que sustentam as espécies dentro de quase todas as seções pré-estabelecidas, com exceção de **Napelli**. Sobressaindo-se o caráter da parede periclinal externa lignificada das células epidérmicas foliares, que foi diagnóstico para a seção **Micranthae**. Além de indicar que ainda está ocorrendo mudança nestes caracteres para adaptação ao ambiente ou formação de novas seções.

Das espécies que apresentavam incongruências em relação as suas seções pode-se afirmar que apresentam alguns caracteres que as inserem nas seções pré-estabelecidas.

Os caracteres anatômicos vegetativos foram eficazes para caracterizar o gênero *Bulbophyllum* e dar suporte para estudos futuros para o gênero e família.

REFERÊNCIAS

APG III (The Angiosperm Phylogeny Group). 2009. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/>>. Acesso e: 08 de março, 2013

ARDITTI, J. **Fundamentals of Orchid Biology**. Wiley, New York. 1992.

AYBEKE, M.; SEZIK, E.; OLGUN, G. Vegetative anatomy of some *Ophrys*, *Orchis* and *Dactylorhiza* (Orchidaceae) taxa in Trakya region of Turkey. **Flora**, v. 205, p. 73–89, 2010.

AYBEKE, M. Comparative anatomy of selected rhizomatous and tuberous taxa of subfamilies Orchidoideae and Epidendroideae (Orchidaceae) as an aid to identification. **Plant Systematic Evolution**, v. 298, p. 1643–1658, 2012.

BARBIERI, R.L.; STUMPF, E.R.T. **A origem e evolução de plantas cultivadas**. EMBRAPA. 909 p. 2008.

BARROS, F. de, VINHOS, F., RODRIGUES, V. T., BARBERENA, F. F. V. A., FRAGA, C. N. *Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB000179>). 2010

BENZING, D.H.; ATWOOD JR., J.T. Orchidaceae: ancestral habitats and current status in forest canopies. **Systematic Botany**. v. 9, n. 2. p. 155–165, 1984.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau – Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, n. 8, p. 255, 1972.

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

CARLSWARD, B. S.; STERN, W. L. Vegetative anatomy and systematics of Triphorinae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, n. 159, p. 203–210, 2009.

CHASE, M. W.; BARRET, R. L.; CAMERON, K. M.; FREUDSTEIN, J. V. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. In: Dixon, K. M. (Ed): **Orchid conservation**, p. 69-89. Natural History Publications, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia, 2003.

COLLETA, R. C. L. D.; SILVA, I. V. Morfoanatomia foliar de *Ornithocephalus* Hook. e *Psychmorchis* Dodson e Dressler. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 4, p. 1068-1076, 2008.

DRESSLER, R. L. **The orchids: natural history and classification**. Harvard University Press, Cambridge, 332p. 1981

DRESSLER, R. L. **Phylogeny and classification of the orchid family**. Portland: Dioscorides, 314p. 1993.

DICKSON, W. C. **Integrative Plant Anatomy**. Harcourt Academic Press, 533p. 2000.

ENGLERT, S. I. **Orquídeas e Bromélias: manual prático de cultivo**. Guaíba, Agropecuária. 2000.

FITCH, W. M. Toward defining the course of evolution: Minimum change for a specific tree topology. **Systematic Zoology**, Oxford, v. 20, p. 406-416. 1971.

FIGUEROA, C.; SALAZAR, G. A.; ZAVALETA, H. A.; ENGLEMAN, E. M. Root Character Evolution and Systematics in Cranichidinae, Prescottiinae and Spiranthinae (Orchidaceae, Cranichideae). **Annals of Botany**, v. 101, p. 509-520, 2008.

FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. Princeton, D. Van Nostrand Company Inc, p. 228, 1949.

FRANCESCHI, V. R.; NAKATA, P. A. Calcium oxalate in plants: formation e function. **Annuals Reviews Plant Biology**, v. 71, p. 41-71, 2005.

FRANKLIN, G. L. Preparation of thin sections of synthetic resins and Wood-resin composites, and a new macerating method for wood. **Nature**, v. 155, n. 3924, p. 51, janeiro de 1945.

GIBSON, A.C.; NOBEL, P.S. **The Cactus primer**. Harvard University Press, Cambridge, 1986.

GOLOBOFF, P.A.; FARRIS, J.S.; NIXON, K.C. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistic*, v. 24, p. 774-786. 2008.

GRAVENDEEL, B.; VERMULEN, J. J.; FISHER, G.; SIEDER, A.; VOGEL, E. D. F.; SCHUITEMAN, A. **Centre of origin of the orchids genus *Bulbophyllum*: out of Africa or out of Asia?** The fourth biennial meeting of The Systematics Association. Trinity College, Dublin, 2003.

HOLTZMEIER, M. A.; STERN, W. L.; JUDD, W. S. Comparative anatomy and systematics of Senghas's cushion species of *Maxillaria* (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**. London, v. 127, p. 43-82. 1998.

JENSE, W.A. **Botanical histochemistry, principles and practice**. San Francisco, W.H. Freeman, p. 408, 1962.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York, Mc Graw Hill Book, 1940.

KAISER, E. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. **Bot. Zentralb.**, v. 1880, p. 25-26, 1880.

KURZWEIL, H.; LINDER, H. P.; STERN, W.L.; PRIDGEON, A.M. Comparative vegetative anatomy and classification of *Diseae* (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.117, p. 171–220, 1995.

LANGERON, M. **Précis de microscopie**. Paris, Masson et Cie. Editeurs, p. 1430, 1949.

MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. <http://mesquiteproject.org/mesquite/mesquite.html>, 2011.

MCMANUS, J. F. A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technology** v. 23, p. 99-108, 1948.

MOHANA RAO, P. R.; KHASIM, S.M. Anatomy of three species of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) with comments on their ecological adaptability

and taxonomy. **Proceedings Indian Academy Sciences (Plant Science)**, v. 97, n. 5 p. 391-397, October, 1987.

MOREIRA, A.S.F.P.; ISAIAS, R.M.S. Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 51, n. 1, p. 83-93, 2008.

MORRIS, M.W.; STERN, W.L.; JUDD, W.S. Vegetative anatomy and systematic of subtribe Dendrobiinae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**. London, v. 120, p. 89-114, 1996.

MØLLER J. D.; RASMUSSEN, H. Stegmata in Orchidales: character state distribution and polarity. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 89, n. 53-76. 1984.

O'Brien, T.P.; Feder, N. & McCully, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373.1964.

OLATUNJI, O. A., NENGIN, R.O. Occurrence and distribution of tracheoidal elements in the Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 80, p. 357-370, 1980.

OLIVEIRA, V. D. C.; SAJO, M. G. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 22, n. 3, p. 365-374. 1999a.

OLIVEIRA, V. D. C.; SAJO, M. G. Root anatomy of nine Orchidaceae species. **Brazilian Archives and Technology**, v.42, n, 4, p. 405-413, 1999b.

OLIVEIRA, V.D.C.; SAJO, M.G. Morfo-anatomia caulinar de nove espécies de Orchidaceae. **Acta Botanica Brasilica**, v.15, n. 2, p. 177-188, 2001.

PABST, G.F.J.; DUNGS, F. **Orchidaceae brasiliensis. Vol. I**, Hildesheim: Brucke-Verlag, 1975.

PAGE, R. D. M. Nexus Data Editor for Windows. <<http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/NDE/nde.html>>. Acesso em: 14 de março de 2011.

PIRES, M. F. O.; SEMIR, J.; PINNA, G. F. A. M.; FÉLIX, L. P. Taxonomic separation of the genera *Prosthechea* and *Encyclia* (Laeliinae: Orchidaceae) using leaf and root anatomical features. **Botanical Journal of the Linnean Society**, n. 143, p. 293–303, 2003.

POREMBSK, S.; BARTHLOTT, W. Velamen radicum micromorphology and classification of Orchidaceae. **Nordic Journal of Botany**. v. 8, n.2, p. 117-137, 1988.

POTT, V.J.; POTT, A. **Plantas Aquáticas do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA-CPAP. 2000.

PRYCHID, C., J.; RUDALL, P., J.; GREGORY, M. Systematic and biology of silica bodies in monocotyledons. **The Botanical Review**, v. 69, n. 4, p. 377-440. 2003.

PRIDGEON, A. M. Absorbing trichomes in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). **American Journal of Botany**, v. 68, n.1, p. 64-71, 1981.

PRIDGEON, A.M. Diagnostic anatomical characters in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). **American Journal Botany**, v. 69, n. 6, p. 921-938, 1982.

PRIDGEON, A.M.; STERN, W.L.; BENZING, D.H. Tilossomes in Roots of Orchidaceae: Morphology and Systematic Occurrence. **American Journal Botany**. v. 70, n. 9, p. 1365-1377. 1983.

PRIDGEON, A.M., CRIBB, P., CHASE, M. & RASMUSSEN, F.N. **Genera Orchidacearum**. vol. 1. General Introduction, Apostasioideae, Cyripedioideae. Oxford University Press, New York. 1999.

ROBINSON, H.; BURNS-BALOGH, P. Evidence for a Primitively Epiphytic Habit in Orchidaceae. **Systematic Botany**. v. 7, n. 4, p. 353-358, 1982.

SCATENA, V. L.; NUNES, A. C. Anatomia de *Pleurothallis rupestris* Lindl. (Orchidaceae) dos campos rupestres do Brasil. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, v. 15, p. 35-43, 1996.

SCHREIBER, L. Review of sorption and diffusion of lipophilic molecules in cuticular waxes and the effects of accelerators on solute mobilities. **Journal of Experimental Botany**, vol. 57, n. 11, p. 2515–2523, 2006.

SERENO, P. C. Logical basis for morphological characters in phylogenetics. **Cladistics**, Columbia, v. 23, p. 565-587. Disponível em: <<http://filogevolanimal.files.wordpress.com/2010/03/sereno-2007-characters-morphological2.pdf>>. Março de 2007.

SIEDER A.; RAINER H.; KIEHN, M.: CITES checklist for *Bulbophyllum* and allied taxa (Orchidaceae). **Botanical Garden**, University of Vienna. http://www.cites.org/common/com/NC/tax_ref/Bulbophyllum.pdf (acessado em Fevereiro de 2012). 2007.

SILVA, I.V.; MEIRA, R.M.S.A.; AZEVEDO, A.A.; EUCLYDES, R.M.A. Estratégias anatômicas foliares de treze espécies de Orchidaceae ocorrentes em um campo de altitude no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro (PESB)-MG, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 20, n. 3, p. 741-750. 2006.

SILVA, I.V, MEIRA, R.M.S.A, AZEVEDO,A.A. Anatomia de raízes de espécies de Ochidaceae do Parque Estadual da Sera do Brigadeiro, Minas Gerais. **Hoehnea**, v. 37, n. 1 p. 147-161, 2010

SMIDT, E. C. **Filogenia e revisão taxonômica de *Bulbophyllum* Thou. (Orchidaceae) neotropicais**. Tese de doutorado apresentado a Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil. 2007.

SMIDT, E. C. & BORBA, E. L. *Bulbophyllums* in Brazil: collection history and distribution. **Orchids** v. 76, p.130-133. 2007.

SMIDT E. C.; BORBA, E. L.; GRAVENDEEL, B.; FISHER, G. A.; VAN DEN BERG, C. Molecular phylogeny of the Neotropical sections of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) using nuclear and plastid spacers. **Taxon**, v. 60, n. 4, p. 1050-1064, 2011.

SMIDT, E. C.; GALLO, L. W.; SCATENNA, V. L. Leaf anatomical and molecular studies of ***Bulbophyllum*** section Micranthae (Orchidaceae) and their implications for systematic. **Brasilian Journal of Botany**, 2012.

STERN, W.L.; CARLSWARD, B.S. Comparative vegetative anatomy and systematics of the Oncidiinae (Maxillarieae, Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society** . London, v. 152, p. 91–107, 2006.

STERN, W. L.; CARLSWARD, B. S. Comparative vegetative anatomy and systematics of Laeliinae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.160, p. 21–41, 2009.

STERN, W. L.; JUDD, W. Comparative vegetative anatomy and systematics of Vanilla (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 131, p. 353–382, 1999.

STERN, W. L.; JUDD, W. Comparative anatomy and systematics of the orchid tribe Vanilleae excluding *Vanilla*. **Botanical Journal Linnean Society**, v. 134, p. 179-202, 2000.

STERN, W. L.; JUDD, W. Comparative anatomy and systematics of Catasetinae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 136, p. 153–178, 2001.

STERN, W. L.; JUDD, W. Systematic and comparative anatomy of Cymbidieae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 139, p. 1–27, 2002.

STERN, W,L.; MORRIS, M.W. Vegetative anatomy of *Stanhopea* (Orchidaceae) with special reference to pseudobulb water-storage cells. **Lindleyana**, v. 7, n. 1, p. 34-53, 1992.

STERN, W. L.; WHITTEN, W. M. Comparative vegetative anatomy of Stanhopeinae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 129, p. 87-103, 1999.

VAN DEN BERG, C.; GOLDMAN, D. H.; FREUDENSTEIN, J. V., PRIDGEON, A. M.; CAMERON, K. M.; CHASE, M. W. An overview of the phylogenetic relationship within Epidendroideae inferred from multiple DNA regions and recircumscription of Epidendreae and Arethuseae (Orchidaceae). **American Journal of Botany**, New York, v. 92, p. 613-624, 2005.

VERMEULEN, J. J. Orchids of Borneo: volume 2. Bulbophyllum. Royal Botanic Gardens, Kew. 1991.

YAMAGUTI, D. R. **Estudos foliares de 12 espécies do de Orchidaceae (Subtribo Pleurothallidinae – Gêneros *Brachionidium* Lndl., *Echnosepala* Pridgeon & M. W. Chase, *Myoxanthus* Poepp. & Endl., *Octomeria* R. Br., *Pleurothallopsis* Porto & Brade)**. Dissertação - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente de São Paulo. São Paulo, 2008.

YUKAWA, T.; STERN, W. L. Comparative vegetative anatomy and systematics of *Cymbidium* (Cymbidieae: Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 138, p. 383-419, 2002.

ZANEGA-GODOY, R.; COSTA, C.G Anatomia foliar de quatro espécies do gênero *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) do Planalto Central brasileiro. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, n. 1, p. 101-118, 2003.

Anexo

MATRIZ

<i>Dendrobium kingianum</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	2	0	1	0	1	0	4	1	0		
<i>Bulbophyllum bracteolatum</i>	0	0	0	-	-	-	-	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0 ⁺ ₁	1	1	0	1	0	1	2	2	1	0	1	0	2	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum cirrhosum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	2	2	0	1	1	0	2	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum exaltatum</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	1	0	1	0	0	1	0	0 ⁺ ₁	1	1	0	1	0	1	2	0	1	1	0	0	2	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum involutum</i>	0	2	0	0	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	1	0	0 ⁺ ₁	1	2	0	1	0	1	2	0	1	0	0	0	3	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum perii</i>	0	0 ⁺ ₁	0	0 ⁺ ₁	1	0	0	0	0	1	0 ⁺ ₁	0	1	0	0	1	0	0 ⁺ ₁	1	1	0	1	0	1	2	0	1	1	0	0	2	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum tripetalum</i>	0	0	1	0 ⁺ ₁	1	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	0	0 ⁺ ₁	1	2	1	1	0	1	2	0	1	0	0	0	2	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum weddellii</i>	1	0	0	0 ⁺ ₁	1	0	0	0	0	2	0	1	1	0	0	1	0	0 ⁺ ₁	1	2	0	1	0	1	2	1	1	0	1	0	2	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum crassipes</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	2	2	1	0	0	0	4	0 ⁺ ₁	1
<i>Bulbophyllum falcatum</i>	0	0	-	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	2	0	0	0	1	1	3	0 ⁺ ₁	0

<i>Bulbophyllum lobbiai</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0 ⁺ ₁	1	1	0	1	0	1	2	0	1	0	1	0	3	0 ⁺ ₁	1	
<i>Bulbophyllum saltatorium</i>	0	0	0 ⁺ ₁	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	2	2	0	0	0	0	3	0 ⁺ ₁	0		
<i>Bulbophyllum scaberulum</i>	0	0	-	0	1	1	0	0	0	2	0	0	1	0	1	1	0	1	1	2	0	1	0	1	2	2	1	0	1	1	2	0 ⁺ ₁	0	
<i>Bulbophyllum nagelli</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	2	1	1	1	1	0	0	1	0 ⁺ ₁	0		
<i>Bulbophyllum chloroglossum</i>	0	0	-	-	-	-	-	0	0	2	1	0	1	0	1	1	1	0	1	2	0	1	1	1	2	2	1	1	1	1	0	1	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum epiphytum</i>	0	0	0	1	1	1	0	0	0	2	1	0	1	0	0	1	0	0	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	0	1	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum mentosum</i> BA	0	0	0	1	1	1	0	0	0	2	0	0	1	0	0	1	1	0	1	2	0	1	1	1	2	2	1	1	1	1	0	3	0 ⁺ ₁	0
<i>Bulbophyllum micranthum</i>	0	0	1	0	0 ⁺ ₁	1	0	0	0	2	0 ⁺ ₁	0	1	0	1	1	0	0 ⁺ ₁	1	2	0 ⁺ ₁	1	0 ⁺ ₁	1	2	2	0 ⁺ ₁	1	0	0	1	0 ⁺ ₁	0	
<i>Bulbophyllum micronifolium</i>	0	0	0	1	1	-	-	0	0	2	1	0	1	0	1	0	0	0	1	2	0	1	1	1	2	1	1	1	0	0	1	0 ⁺ ₁	0	
<i>Bulbophyllum rupiculum</i>	0	0	1	0	1	1	0	0	0	2	0	0	1	0	0 ⁺ ₁	0 ⁺ ₁	0	0	1	2	1	1	1	1	2	0 ⁺ ₁	0 ⁺ ₁	0 ⁺ ₁	0	0	1	0 ⁺ ₁	0	
<i>Bulbophyllum atropurpureum</i>	0	0	-	0	1	1	0	0	0	2	0	0	1	0	1	1	0	0 ⁺ ₁	1	2	1	1	0	1	2	2	0	1	1	0	3	0 ⁺ ₁	0	
<i>Bulbophyllum cantallagense</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	0	1	0	1	2	2	0	0	1	0	1	0	0	

<i>Bulbophyllum glutinosum</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	0	0	1	0	1	1	0	0	1	2	0	1	0	1	2	1	1	0	1	0	3	0+	1	1
<i>Bulbophyllum granulatum</i>	0	0	0+	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0+	1	1	1	1	0	1	2	1	0	0	1	0	2	0+	1	0
<i>Bulbophyllum malachadenia</i>	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0+	1	1	1	1	0	1	2	1	1	1	0	0	2	0+	1	0
<i>Bulbophyllum micropetaliforme</i>	0	0	-	0	1	0	1	0	0	2	0	0	1	0	0	1	1	0+	1	2	1	1	0	1	2	2	0	0	1	0	2	0+	1	0
<i>Bulbophyllum napelli</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0+	1	1	0	1	0	1	2	1+	0+	0	0+	0	1+	0+	1	0
<i>Bulbophyllum regnelli</i>	0	0	-	0	0	1	0	0	0	2	0	0	1	0	1	1	0	0+	1	1	1	1	0	1	2	2	1	1	0	0	1	0+	1	0
<i>Bulbophyllum bidentata</i>	0	0	0	-	1	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	1	0	1	1	2	1	1	0	1	2	2	1	1	0	0	1	0+	1	0
<i>Bulbophyllum ciluliae</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	2	2	1	1	0	0	2	0+	1	0
<i>Bulbophyllum chloropterum</i>	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	2	1	1	1	0	0	1	0+	1	0
<i>Bulbophyllum dusenii</i>	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0+	1	1	0	0	0	1	2	0	1	0	0	0	1	0	0	
<i>Bulbophyllum filifolium</i>	0	0	-	-	-	-	-	-	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	2	1	1	1	0	0	0	-	0	
<i>Bulbophyllum</i>	0	0	0	-	1	0+	0	0	0	1+	0	0	1	0	0+	1	0	0+	1	1+	1	1	0	1	2	1	1	1	0	0	2	0+	0	

<i>gladiatum</i>						1				2				1			1		2														1	
<i>Bulbophyllum plumosum</i>	0	0	0	-	0 ⁺ 1	0 ⁺ 1	0	0	0	1 ⁺ 2	0 ⁺ 1	0	1	0	0 ⁺ 1	1	0 ⁺ 1	0	1	2	1	1	0	1	2	2	1	0	0	0		1 ⁺ 2	0 ⁺ 1	0
