

**Sinopse, Filogenia e Citotaxonomia de
Acianthera sect. *Pleurobotryae* (Barb.
Rodr.) Chiron & van den Berg
(Orchidaceae)**

Vinícius Trettel Rodrigues

SÃO PAULO

2013

VINÍCIUS TRETTEL RODRIGUES

**Sinopse, filogenia e citotaxonomia de *Acianthera*
sect. *Pleurobotryae* (Barb. Rodr.) Chiron & van
den Berg (Orchidaceae).**

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL
E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração
de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2013

VINÍCIUS TRETTEL RODRIGUES

**Sinopse, filogenia e citotaxonomia de *Acianthera*
sect. *Pleurobotryae* (Barb. Rodr.) Chiron & van
den Berg (Orchidaceae).**

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da
Secretaria do Meio Ambiente, como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de
DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL
E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração
de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADOR: DR. FÁBIO DE BARROS

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECA E MEMÓRIA**

Rodrigues, Vinícius Trettel

R696s Sinopse, filogenia e citotaxonomia de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*
(Barb.Rodr.) Chiron & van den Berg (Orchidaceae) / Vinícius Trettel Rodrigues --
São Paulo, 2013.

81 p. il.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio
Ambiente, 2013
Bibliografia.

1. Orchidaceae. 2. Taxonomia. 3. Pleurobotryum. I. Título

CDU: 582.594.2

Agradecimentos

Este trabalho só foi possível, pelo apoio do Dr. Fábio de Barros, que me aceitou como estagiário Núcleo de pesquisa Orquidário do Estado em meados de 2001 e desde então vem me orientando na Monografia de Conclusão de Curso, no Mestrado, e agora no Doutorado. A elaboração desta tese não seria possível sem a ajuda do Dr. Eric Camargo Smidt, meu co-orientador e da Dr. Andréa Macêdo Corrêa que auxiliaram muito nas análises filogenética e citotaxonômica, respectivamente.

Minha profunda gratidão aos amigos e familiares que compreenderam a razão da minha ausência neste longo período de trabalho, me apoiaram e acreditaram em mim quando eu mesmo não acreditava. Meus sinceros agradecimentos aos amigos Dalton Holland Baptista, Luiz Filipe Varella e Carlos Roberto Martins da Silva, que cederam imagens ou plantas para a conclusão deste trabalho. Não poderia deixar de citar o ilustrador botânico e amigo Klei Sousa, que provavelmente, nunca havia feito uma prancha em um prazo tão curto quanto a que está inserida neste trabalho.

A realização deste projeto não seria possível sem o apoio da CAPES, que me concedeu uma bolsa de Doutorado por 3 anos.

*A Vanda Trettel e
Franklin Vinhos dedico.*

Sumário:

Resumo	4
Abstract	5
Índice de figuras	7
Índice de Tabelas	9
Apresentação.....	11
Capítulo 1: Posicionamento filogenético e filogenia interna de <i>Acianthera</i> sect. <i>Pleurobotryae</i> Chiron & van den Berg	20
Capítulo 2: Revisão de <i>Acianthera</i> sect. <i>Pleurobotryae</i> (Orchidaceae)	44
Capítulo 3: Contribuição à citotaxonomia de <i>Acianthera</i> Scheidw.	70

Resumo:

Acianthera sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg engloba seis espécies: *Acianthera albopurpurea* (Kraenzl.) Chiron & van den Berg, *A. atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *A. crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg, *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg, *A. rhabdosepala* (Schltr.) Chiron & van den Berg e *A. subulifolia* (Kraenzl.) Chiron & van den Berg, as quais encontram-se distribuídas preferencialmente no Sul e Sudeste do Brasil e nordeste da Argentina, e distinguem-se das demais *Acianthera* por possuírem flores com labelo de articulação móvel, longamente unguiculado, aliado as folhas teretiformes ou lateralmente compressas unidas a um cauloma filiforme. O real posicionamento filogenético da seção ainda é discutível uma vez que o tipo do gênero *Pleurobotryum* (*P. atropurpureum* Barb. Rodr.) não fez parte da mais recente análise filogenética proposta para algumas Pleurothallidinae brasileiras, e o relacionamento filogenético entre as espécies transferidas para a seção *Pleurobotryae* também é desconhecido uma vez que somente uma espécie pertencente a este gênero foi incluída na análise filogenética realizada em 2012 por Chiron *et al.* Este trabalho está dividido em três capítulos, no primeiro é apresentada a análise filogenética interna de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* e de alguns grupos relacionadas, com base nos marcadores ITS (ITS 1, gene 5.8S e ITS2) e cpDNA matK. na qual foi possível observar o monofiletismo dessa seção com alto suporte (95/5), desde que se exclua *Pleurobotryum unguiculatum*. No segundo capítulo é apresentado um estudo taxonômico da seção *Pleurobotryae* na qual, entre outras conclusões, são apresentadas novas sinonímias para o grupo. Das seis espécies atribuídas a esta seção, somente quatro são aceitas: *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *A. crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg, *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg e *A. mantiquyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros. As demais espécies anteriormente atribuídas à seção constituem sinônimos das espécies reconhecidas. No terceiro capítulo deste trabalho são apresentando números cromossômicos inéditos para o gênero *Acianthera*, objetivando relacionar a

variabilidade do número cromossômico ao novo tratamento taxonômico para *Acianthera* que divide o gênero em dez seções.

Abstract.

Acianthera sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg was considered as comprising six species: *Acianthera albopurpurea* (Kraenzl.) Chiron & van den Berg, *A. atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *A. crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg, *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg, *A. rhabdosepala* (Schltr.) Chiron & van den Berg and *A. subulifolia* (Kraenzl.) Chiron & van den Berg, which are found mainly in South and Southeast of Brazil and Northeast of Argentina, and can be recognized, among the remaining *Acianthera* by the flowers with an articulate and long-clawed lip, combined with cylindrical to laterally flattened leaves and a filiform cauloma. The real phylogenetic position of the section is still doubtful since the type species of the genus *Pleurobotryum* (*P. atropurpureum* Barb. Rodr.) were not analysed in the last phylogenetic trees proposed for the Brazilian Plehjothallidinae, and the phylogenetic relationship among the related species are also obscure since only one species of *Pleurobotryum* was included in the phylogenetic analysis presented in 2012 by Chiron et al. The present work is organized in three chapters. The first one is a phylogenetic analysis of the members of *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* and some related groups, based on ITS markers (ITS 1, gene 5.8S e ITS2) which shows that the section is monophyletic with high significance (95/5), provided the exclusion of *Pleurobotryum unguiculatum*. This result strengthens the proposition of *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* by Chiron & van den Berg in 2012. In the second chapter a taxonomic study of *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* is presented, where some new synonyms are proposed. From the seven species attributed to the section only four are clearly defined: *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *A. crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg, *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg and *A. mantiquyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros. The remaining three species were treated here as synonyms of recognized species. In

the third chapter of this work are presenting unpublished chromosome numbers for the genus *Acianthera*, aiming to relate the variability of chromosome number to the new taxonomic treatment for *Acianthera* that divides the genus into ten sections.

Índice de figuras

Capítulo 1

- Figura 1:** Árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parcimônia dos dados de nrITS. Suporte de *bootstrap* acima de 50 e índice de decaimento até 10 são apresentados abaixo dos ramos. As barras laterais indicam as seções propostas por Chiron & Van den Berg (2012): A: *Acianthera* sect. *Crinitae* Chiron & van den Berg; B: *A.* sect. *Cryptophoranthae* (Luer) Chiron & van den Berg; C: *A.* sect. *Tomentosae*; D: *A.* sect. *Arthrosiae* Chiron & van den Berg; E: *A.* sect. *Acianthera*; F: *A.* *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg; G: *A.* sect. *Sicariae* Lindl.; H: *A.* sect. *Tricarinatae* (Luer) Chiron & van den Berg..... 37
- Figura 2:** Árvore de consenso estrito da análise Bayesiana dos dados de nrITS. Os valores de probabilidade posterior estão indicados abaixo dos ramos. As barras laterais indicam as seções propostas por Chiron & Van den Berg (2012): A: *Acianthera* sect. *Crinitae* Chiron & van den Berg; B: *A.* sect. *Cryptophoranthae* (Luer) Chiron & van den Berg; C: *A.* sect. *Tomentosae*; D: *A.* sect. *Arthrosiae* Chiron & van den Berg; E: *A.* sect. *Acianthera*; F: *A.* *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg; G: *A.* sect. *Sicariae* Lindl.; H: *A.* sect. *Tricarinatae* (Luer) Chiron & van den Berg..... 38
- Figura 3:** Árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parcimônia obtida da análise de sequências da região matK do DNA de cloroplastos. Suporte de *bootstrap* acima de 50 e índice de decaimento até 10 são apresentados abaixo dos ramos 39
- Figura 4:** Árvore de consenso estrito da análise Bayesiana obtida da análise de sequências da região matK do DNA de cloroplastos. Os valores de probabilidade posterior estão indicados abaixo dos ramos..... 40
- Figura 5:** Árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parcimônia obtida da análise de sequências das regiões matK do DNA de cloroplastos e ITS do DNA ribossômico nuclear. Suporte de *bootstrap* acima de 50 e índice de decaimento até 10 são apresentados abaixo dos ramos..... 41

Figura 6: Árvore de consenso estrito da análise Bayesiana obtida da análise sequências das regiões matK do DNA de cloroplastos e ITS do DNA ribossômico nuclear. Os valores de probabilidade posterior estão indicados abaixo dos ramos..... 42

Capítulo 2

Figura 1: Fotografias de espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg: detalhe da inflorescência e folhas lateralmente compressas. B. *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg: detalhe da inflorescência. C. *Acianthera crepiniana*: flor em vista lateral evidenciando a face externa das sépalas pubescentes e a face interna glabra. D. *A. crepiniana*: detalhe da flor evidenciando o labelo com margem denticulada..... 64

Figura 2: Fotografias de espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg: Detalhe da inflorescência e das folhas cilíndricas. B. *Acianthera hatschbachii*: vista frontal das flores. C. *Acianthera mantiquyrana* (Barb Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros: vista lateral da inflorescência. D. *A. mantiquyrana*: flor em vista frontal..... 65

Figura 3: Ilustração das espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg: segmentos do perianto distendidos. B. *A. crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg: segmentos do perianto distendidos. C. *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg: hábito. D. *A. hatschbachii*: segmentos do perianto distendidos. E. *A. crepiniana*: hábito. F. *A. mantiquyrana* (Barb Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros: segmentos do perianto distendidos..... 66

Figura 4: Distribuição geográfica de *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg baseada exclusivamente no levantamento de espécies depositadas nos herbários consultados..... 68

Figura 5: Distribuição geográfica de *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg baseada exclusivamente no levantamento de espécies

depositadas nos herbários consultados..... 68

Figura 6: Distribuição geográfica de *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg A. baseada exclusivamente no levantamento de espécies depositadas nos herbários consultados..... 69

Figura 7: Distribuição geográfica de *Acianthera mantiquyrana* (Barb Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros baseada exclusivamente no levantamento de espécies depositadas nos herbários consultados..... 69

Capítulo 3

Figura 1: Metáfases mitóticas de *Acianthera*. A. *A. fenestrata* (Barb. Rodr.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 34$). B. *A. fenestrata* (Barb. Rodr.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 34$). C. *A. jordanensis* (Brade) F. Barros ($2n = 34$). D. *A. punctatiflora* (Luer) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 34$). E. *A. recurva* ($2n = 38$). F. *A. prolifera* (Herbert ex Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 30$). G. *A. plathystachys* (Regel) Chiron & van den Berg. ($2n = 26$). H. *A. prolifera* (Herbert ex Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 30$). I. *A. recurva* ($2n = 38$). J. *A. ochreatea* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 34$). K. *Acianthera saurocephala* (Lodd.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 44$). L. *A. pubescens* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 36$). A barra em I corresponde a 10 μm 77

Índice de Tabelas

Capítulo 1

Tabela 1: Relação dos táxons utilizados neste estudo para obtenção das sequências de ITS e matK..... 25

Tabela 2: Relação de táxons cujas sequências de ITS foram obtidas no

GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/).....	26
--	----

Capítulo 3

Tabela 1: Levantamento bibliográfico do número cromossômico das espécies de Pleurothallidinae pertencentes ao gênero <i>Acianthera sensu</i> Chiron & van den Berg (2012).....	76
---	----

Tabela 2: Pleurothallidinae pertencentes ao gênero <i>Acianthera sensu</i> Chiron & van den Berg (2012) obtidos neste estudo	76
---	----

Tabela 3: Número cromossômico das seções e subseções de <i>Acianthera sensu</i> Chiron & van den Berg (2012), com base nos números já conhecidos para as espécies das respectivas seções.....	76
--	----

Apresentação

A subtribo Pleurothallidinae

Pleurothallidinae compreende um número estimado de 4.100 espécies distribuídas em 36 gêneros (Pridgeon *et al.* 2005), mais de 2.000 epítetos específicos são atribuídos somente a *Pleurothallis* R.Br. (Chiron *et al.* 2012). A subtribo é responsável por cerca de 20% das espécies de toda a família Orchidaceae; De distribuição Neotropical, Pleurothallidinae apresenta a maior diversidade de espécies registrada nas florestas úmidas dos Andes Colombianos, Equador e Peru (Pridgeon 1982 a, b, Pridgeon *et al.* 2005). Nas revisões taxonômicas realizadas por Luer (1986a, b, c, 1991, 2004) são atribuídos cerca de 100 gêneros à subtribo, número muito diferente do proposto por Pridgeon *et al.* (2005), o que demonstra o grau de desacordo entre os sistemas atualmente propostos para classificação da subtribo Pleurothallidinae.

Pridgeon *et al.* (2001) estudaram a filogenia da subtribo com o auxílio de seqüências de DNA nuclear e de plastídio, usando os marcadores ITS, *trnL-F* e *matK* e constataram que *Octomeria* R. Br. e *Brachionidium* Lindl. são gêneros irmãos e os gêneros *Barbosella* Schltr., *Dresslerella* Luer, *Myoxanthus* Poepp. & Endl., *Pleurothallopsis* Porto & Brade, *Restrepia* Kunth. e *Restrepiella* Garay & Dunst., estavam posicionados em outro clado, próximo ao clado *Octomeria* – *Brachionidium*; além disso, os autores constataram que *Pleurothallis* R.Br. *s.l.* é polifilético.

Segundo Luer (2002) o trabalho de Pridgeon & Chase (2001), que atribuiu 131 epítetos de *Pleurothallis* ao gênero *Acianthera*, deve ser reavaliado, pois somente 17 espécies foram seqüenciadas dentre as quais não está incluída a espécie-tipo do gênero [*Acianthera recurva* (Lindl.) Pridgeon & Chase]. Para Luer (2002), o gênero *Specklinia* Lindl., que também foi restabelecido por Pridgeon & Chase (2001), é polifilético e muito variável, sendo necessários ainda mais estudos para avaliar a real circunscrição deste gênero. Hammel *et al.* (2002) e Jost & Endara (2007) detectaram problemas na metodologia do estudo filogenético de Pridgeon & Chase (2001) e questionaram a adoção do novo sistema em

trabalhos florísticos, entendendo que as novas identidades taxonômicas em Pleurothallidinae ainda carecem de mais informações.

A identificação das sinapomorfias morfológicas na subtribo é complicada devido à homoplasia nas funções vegetativas e florais (Pridgeon 1982b), evidenciadas no estudo de Neyland *et al.* (1995). Características morfológicas como a folha cilíndrica ou carnosa, diversos níveis de coalescência entre as sépalas, pétalas com osmóforo apical, labelo ativamente móvel e ornamentação no ovário, evoluíram independentemente nas espécies (Luer 1986a). O mesmo fenômeno ocorre com as características anatômicas, como o espessamento na hipoderme foliar, a diferenciação do clorênquima foliar e o espessamento espiralado dos idioblastos (Pridgeon 1982b, Neyland *et al.* 1995).

Em sua maioria, as adaptações das estruturas vegetativas são xeromórficas, em resposta à seleção fenotípica enquanto que as características reprodutivas sofrem pressões impostas pelos polinizadores florais (Borba & Semir 2001). Assim, na falta de confiabilidade na interpretação de caracteres morfológicos e anatômicos homólogos para interpretar como sinapomorfias, os estudos filogenéticos não são, ainda, conclusivos (Pridgeon *et al.* 2001).

Quando da reestruturação da subtribo Pleurothallidinae, proposta por Pridgeon & Chase (2001) e Pridgeon *et al.* (2001), várias espécies brasileiras foram transferidas para gêneros criados ou restabelecidos. No que concerne à flora brasileira, em que somente no domínio Mata Atlântica a subtribo é representada por cerca de 16 gêneros e 379 espécies (Barros *et al.*, 2009), a grande maioria destas espécies não foi incluída nas análises daqueles autores, entre elas, todos os representantes do gênero *Pleurobotryum* Barb. Rodr., e muitas espécies do gênero *Anathallis* Barb. Rodr. e do complexo *Pleurothallis hypnicola* Lindl. As espécies desse último complexo ficaram posicionadas dentro do gênero *Stelis* Sw. no trabalho de Pridgeon & Chase (2001), embora possuam características morfológicas bastante distintas. As características florais, por exemplo, não são típicas de *Stelis*, pois no complexo *P. hypnicola* as sépalas são suberetas, as laterais coalescentes até metade do comprimento, o ginostêmio é ereto, provido de estigma inteiro dorsal, alado, e não há uma glândula unindo as

duas polínias enquanto em *Stelis* s. s. a antera e o estigma são apicais, o stigma é nitidamente bilobado e as três sépalas são unidas em um sinsépalo pateliforme.

Recentemente, Chiron *et al.* (2012), com o auxílio de seqüências ITS de DNA nuclear, acrescentaram 170 espécies de Pleurothallidinae brasileiras ao trabalho pioneiro de Pridgeon *et al.* (2001), dentre elas, 59 representantes de *Acianthera* Scheidw., incluindo *Acianthera recurva* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase (tipo do gênero *Acianthera*), um representante do gênero *Pleurobotryum* Barb. Rodr., além de várias espécies do complexo *Pleurothallis hypnicola* que haviam ficado posicionadas dentro do gênero *Stelis* Sw. no trabalho de Pridgeon & Chase (2001). Os resultados obtidos demonstram que a maioria das espécies brasileiras de *Pleurothallis* s.l. recentemente transferidas para o gênero *Stelis* deve ser posicionada entre os representantes de *Pabstiella* Brieger & Senghas; parte das espécies alocadas no gênero *Specklinia* Lindl. também estão relacionadas a *Pabstiella*. O tratamento taxonômico proposto por Luer (1986c) para *Pleurothallis* subgênero *Acianthera* é parcialmente suportado nesta análise. Com a adição de mais espécies brasileiras de *Pleurothallis* R.Br. s.l., boa parte dos problemas taxonômicos relacionados a estes complexos de espécies foi elucidada.

Concomitantemente à nova proposta filogenética para as Pleurothallidinae brasileiras, Chiron & van den Berg (2012) apresentaram uma revisão da sistemática de *Acianthera*, propondo a divisão do gênero em dez seções, além de proporem novas combinações para algumas espécies pertencentes ao gênero *Pleurobotryum*, incluindo-as em *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg.

O real posicionamento do gênero ainda é discutível uma vez que o tipo do gênero *Pleurobotryum* (*P. atropurpureum* Barb. Rodr.) não fez parte da análise filogenética, e o relacionamento filogenético entre as espécies transferidas para a seção *Pleurobotryae* também é desconhecido uma vez que somente uma espécie pertencente a este gênero foi incluída na análise filogenética de Chiron *et al.* (2012).

Acianthera sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg

O gênero *Pleurobotryum* Barb. Rodr. foi estabelecido por J. Barbosa Rodrigues em 1877, sendo inicialmente tratado como um gênero monoespecífico, tendo como espécie tipo *P. atropurpureum* Barb. Rodr. Posteriormente, Hoehne (1936) transferiu algumas outras espécies para o gênero, dentre elas: *P. crepinianum* (Cogn.) Hoehne, *P. hatschbachii* (Schltr.) Hoehne, *P. mantiquyranum* (Barb. Rodr.) Hoehne, *P. rhabdosepalum* (Schltr.) Hoehne e *P. unguiculatum* (Hoehne) Hoehne. Morfologicamente, o gênero é caracterizado por apresentar flores com labelo longamente unguiculado, folhas cilíndricas ou lateralmente achatadas, raramente planas (*P. unguiculatum*).

Após as adições promovidas por Hoehne (1936), outras espécies foram alocadas em *Pleurobotryum* por diversos autores. Garay (1952) transferiu *Pleurothallis albo-purpurea* Kraenzl. para *Pleurobotryum* e, Pabst & Dungs (1975) transferiu *Pleurothallis subulifolia* Kraenzl. para o mesmo gênero e, excluiu dele *P. unguiculatum* (Hoehne) Hoehne sinonimizando-o a *Pleurothallis octophrys* Rchb. f.

Luer (1986c) propôs um novo sistema de classificação para *Pleurothallis* R. Br. s.l. e considerou *Pleurobotryum* um subgênero de *Pleurothallis* R.Br.; nesta nova proposta o autor indicou sete espécies para o subgênero: *Pleurothallis albo-purpurea* Kraenzl., *P. crepiniana* Cogn., *P. hatschbachii* Schltr., *P. mantiquyrana* Barb. Rodr., *P. rhabdosepala* Schltr., *P. subulifolia* Kraenzl. e *P. teretifolia* Rolfe, sendo este último um antigo sinônimo de *Pleurobotryum atropurpureum* utilizado pelo autor pois o epíteto *atropurpurea* já havia sido utilizado por Lindley dentro do gênero *Pleurothallis*, ao descrever *Pleurothallis atropurpurea* (= *Zootrophion atropurpureum*).

Como já mencionado, na mais recente revisão taxonômica de *Acianthera*, Chiron & van den Berg (2012), foi proposto *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*, sugerindo novas combinações e indicando as espécies que compoariam esta seção: *Acianthera albopurpurea* (Kraenzl.) Chiron & van den Berg; *A. atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg; *A. crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg, *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg, *A. rhabdosepala* (Schltr.)

Chiron & van den Berg e *A. subulifolia* (Kraenzl.) Chiron & van den Berg. Os autores sugeriram, ainda, que *A. gracilispala* (Brade) Luer poderia pertencer a esta seção uma vez que na análise filogenética (Chiron *et al.* 2012) ela surgiu como espécie irmã de *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg, embora esta posição contradiga as características morfológicas utilizada pelos autores para descrição da seção *Pleurobotryae*.

Dado o exposto, fica clara a necessidade de maiores estudos filogenéticos da circunscrição da sect. *Pleurobotryae* bem como uma revisão taxonômica mais abrangente da mesma seção. O primeiro e o segundo capítulos deste trabalho têm por objetivo elucidar estes problemas.

Citotaxonomia em Pleurothallidinae

É notório que a compreensão do relacionamento evolutivo e da classificação das orquídeas teve um grande impulso nos últimos anos, a partir de avanços na análise do DNA e do poder crescente dos computadores que agora conseguem analisar enormes conjuntos de dados (Toscano-de-Brito & Cribb 2005), porém dados morfológicos, anatômicos, fitoquímicos, citológicos, entre outros, ficaram relegados ao segundo plano. De acordo com Guerra (1988), a análise comparativa dos dados citogenéticos em espécies aparentadas muitas vezes permite distinguir as características de cada espécie, e aquelas que são comuns a todas ou à maioria delas, portanto a citogenética pode ser uma ferramenta taxonômica.

De acordo com Oliveira (2010) alterações cromossômicas são importantes para o destino do indivíduo e para o rumo evolutivo das espécies. As alterações cromossômicas podem afetar a adaptação do indivíduo, alterando sua expressão gênica, além de ajustar a adaptação da sua descendência, podendo ainda transformar uma população em subpopulações cromossomicamente incompatíveis, contribuindo assim para a especiação.

Embora a Citogenética venha sendo amplamente utilizada em trabalhos que envolvem caracterização taxonômica, estudos de evolução e filogenia desde o

início do século XX, pouco se sabe sobre os números cromossômicos da subtribo Pleurothallidinae. Com relação ao gênero *Acianthera*, embora ele envolva cerca de 200 espécies, até 2005 possuía dados citogenéticos apenas para quatro espécies: *Acianthera coffeicola* (Schltr.) Pridgeon & M.W. Chase, *Acianthera aurantiolateritia* (Speg.) Pridgeon & M.W. Chase, *Acianthera luteola* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase e *Acianthera rupestris* (Lindl.) F. Barros, todas com $2n = 40$. (Stuessy 1990, Pridgeon 2005). A escassez de informações sugere que o gênero seja homogêneo em termos de números cromossômicos, no entanto, Oliveira (2010) apresentou novos números cromossômicos para *Acianthera* (*A. modestissima* (Rchb. f. & Warm.) Pridgeon & M.W. Chase, $2n = 46$; *A. ochreatea* (Lindl.) Pridgeon & M. W. Chase, $2n = 40$; *Acianthera* aff. *Pubescens* (Lindl.) Pridgeon & Chase, $2n = 28$; *A. recurva* (Lindl.) Pridgeon & M. W. Chase, $2n = 40$; e *A. strupifolia* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase, $2n = 44$.), evidenciando a variação numérica no gênero. No terceiro capítulo deste trabalho serão apresentando números cromossômicos inéditos para o gênero *Acianthera*, procurando-se correlacioná-los com a análise filogenética apresentada no primeiro capítulo, a fim de trazer subsídios para o entendimento das relações filogenéticas em *Acianthera*.

Literatura citada

- BARROS, F., RODRIGUES, V.T. & BATISTA, J.A.N. 2009. Orchidaceae. In: J.R. Stehmann, R.C. Forzza, A. Salino, M. Sobral, D.P. Costa & L.H.Y. Kamino (eds.). Plantas da Floresta Atlântica. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, pp. 372-403.
- BORBA, E.L. & SEMIR, J. 2001. Pollinator specificity and convergence in fly pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: A multiple population approach. *Annals of Botany* 88(1): 75-88.
- CHIRON, G.R. & VAN DEN BERG, C. 2012. Révision taxonomique du genre *Acianthera* (Orchidacea, Pleurothallidinae). *Richardiana* 12(2): 59-77.

- CHIRON, G.R., GUIARD, J. & VAN DEN BERG, C. 2012. Phylogenetic relations in Brazilian *Pleurothallis sensu lato* (Pleurothallidinae, Orchidaceae): evidence from nuclear ITS rDNA sequences. *Phytotaxa* 46: 34-58
- GARAY, L.A. 1952. Notatio Orchidologica II. *Archivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 12: 169-186 + pl. 1-4.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à Citogenética Geral*. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- HAMMEL, B.E., ZAMORA, N. & GRAYUM, M.H. 2002. Revision of Pridgeon *et al.* (2001) & Pridgeon & Chase (2001). The cutting edge (Germane Literature) - a quarterly newsletter in anticipation of *Manual de Plantas da Costa Rica*. Missouri Botanical Garden Press, Saint Louis.
- HOEHNE, F.C. 1936. Orchidaceas dos Herbarios de Alexandre Curt Brade e do Museu Nacional. *Boletim do Museu Nacional* 12: 1-37.
- JOST, L. & ENDARA, L. 2007. Analysis of the DNA- based reclassification of Pleurothallidinae. Disponível em: <www.loujost.com/DNAFrameset/DNAanalysisDocument.html>. (acesso em 20.03.2007).
- LUER, C.A. 1986a. *Icones Pleurothallidarum I. Systematics of the Pleurothallidinae (Orchidaceae)*. Monographs in Systematic Botany v. 15. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.
- LUER, C.A. 1986b. *Icones Pleurothallidarum II. Systematics of Masdevallia (Orchidaceae)*. Monographs in Systematic Botany v. 16. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.
- LUER, C.A. 1986c. *Icones Pleurothallidarum III. Systematics of Pleurothallis (Orchidaceae)*. Monographs in Systematic Botany v. 20. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.
- LUER, C.A. 1991. *Icones Pleurothallidarum VIII. Systematics of Lepanthopsis, Octomeria subgenus Pleurothalliopsis, Restrepiella, Restrepiopsis, Salpistele and Teagueia (Orchidaceae)*. Monographs in Systematic Botany v. 31. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.
- LUER, C.A. 2002. A systematic method of classification of the Pleurothallidinae versus a strictly phylogenetic method. *Selbyana* 23: 57-110.

- LUER, C.A. 2004. Icones Pleurothallidianum XXVI. Systematics of *Pleurothallis* subgenus *Acianthera* and three allied subgenera. A second century of new species of *Stelis* of Equador; *Epilabor*, *Ophidion*, *Zootrophion*. Monographs in Systematic Botany v. 95. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.
- NEYLAND, R., URBATSCH, L.E & PRIDGEON, A.M. 1995. A phylogenetic analysis of subtribe Pleurothallidinae (Orchidaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 117: 13-28.
- OLIVEIRA, I.G. 2010. Citogenética de espécies brasileiras da subtribo Pleurothallidinae (Orchidaceae). Universidade Federal da Paraíba-UFPB/Areia.
- PABST, G.F.J. & DUNGS, F. 1975. Orchidaceae Brasilienses v.1. Kurt Schmiersow, Hildesheim.
- PRIDGEON, A.M. & CHASE, M.W. 2001. A phylogenetic reclassification of Pleurothallidinae (Orchidaceae). Lindleyana 16: 235-271.
- PRIDGEON, A.M. 1982a. Numerical analyses in the classification of the Pleurothallidinae (Orchidaceae). Botanical Journal of Linnean Society 85: 103-131.
- PRIDGEON, A.M. 1982b. Diagnostic anatomical characters in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). American Journal of Botany 69: 921-938
- PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J., CHASE, M.W. & RASMUSSEN, F.N. (eds.). 2005. Genera Orchidacearum, v. 4. Oxford University Press, New York
- PRIDGEON, A.M., SOLANO, R. & CHASE, M.W. 2001. Phylogenetic relationships in Pleurothallidinae (Orchidaceae): combined evidence from nuclear and plastid DNA sequences. American Journal of Botany 88: 2286-2308.
- RODRIGUES, J.B. 1877. Genera et Species Orchidearum Novarum, v. 1. Typographia Nacional, Rio de Janeiro.
- STUESSY, F.O.D.F. 1990. Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press, New York.
- TOSCANO-DE-BRITO, A.L.V. & CRIBB, P. 2005. Orquídeas da Chapada Diamantina. Nova Fronteira, São Paulo.

Capítulo 1

Posicionamento filogenético de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg (Orchidaceae).

**Posicionamento filogenético e filogenia interna de *Acianthera* sect.
Pleurobotryae Chiron & van den Berg**

Resumo: Entre os representantes da subtribo *Pleurothallidinae* Lindl. ex G. Don, *Acianthera* Scheidw. é um dos gêneros de grande representatividade no Brasil, com cerca de 107 espécies endêmicas. Chiron & van den Berg., em 2012, apresentaram uma revisão da sistemática de *Acianthera*, propondo a divisão do gênero em nove seções, além de proporem novas combinações para algumas espécies pertencentes ao gênero *Pleurobotryum*, incluindo-as em *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg. O real posicionamento desta seção é discutível, uma vez que o tipo do gênero *Pleurobotryum* (*P. atropurpureum* Barb. Rodr.) não fez parte da análise filogenética de Chiron & van den Berg. Além disso, o relacionamento filogenético entre as espécies transferidas para a seção *Pleurobotryae* também é desconhecido, pois somente uma espécie pertencente a este gênero foi incluída na hipótese filogenética daqueles autores. Este trabalho tem por objetivo o estudo das relações filogenéticas entre as espécies da seção *Pleurobotryae*, incluindo nesta análise o maior número de representantes possível, utilizando o marcador nuclear ITS (ITS 1, gene 5.8S e ITS2) e o cpDNA matK. Os resultados mostram que *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* é monofilética e sugerem que mais estudos devem ser realizados a fim de verificar o posicionamento filogenético e a real circunscrição de algumas outras seções criadas por Chiron & van den Berg.

Abstract: Among the representatives of the subtribe *Pleurothallidinae* Lindl. ex G. Don, *Acianthera* Scheidw. is a genus widely represented in Brazil, with about 107 endemic species. In 2012, Chiron & van den Berg presented a review of the systematic of *Acianthera* proposing the division of the genus into nine sections, as well as presenting new combinations for some species belonging to the genus *Pleurobotryum*, which the authors included in *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg. The actual position of this section is debatable since the type of the genus *Pleurobotryum* (*P. atropurpureum* Barb. Rodr.) was not included in the phylogenetic analysis of Chiron & van den Berg. Nevertheless the phylogenetic relationships among species transferred to section

Pleurobotryae is still unknown, since only one species belonging to this genus was included in the study of those authors. This work aims to study the phylogenetic relationships among species of section *Pleurobotryae*, including in this analysis a number of representatives as large as possible, using the nuclear marker ITS (ITS 1, 5.8S gene and ITS2) and cpDNA matK. The results show that *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* is monophyletic and suggest that further studies should be conducted to verify the phylogenetic position and the real circumscription of some other sections created by Chiron & van den Berg.

1. Introdução

O gênero *Acianthera* Scheidw. foi restabelecido por Pridgeon & Chase (2001) dada a constatação do polifiletismo de *Pleurothallis* R.Br. *s.l.* *Acianthera* engloba cerca de 200 espécies (a definição do número exato depende da consideração ou não de alguns sinônimos), dentre as quais 107 são endêmicas do Brasil (Barros *et al.* 2010). Na mais recente revisão taxonômica deste gênero, Chiron & van den Berg (2012) apresentam um novo sistema de classificação para *Acianthera* subdividindo-o em diversas seções e subseções, dentre elas *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg, que engloba as espécies tradicionalmente alocadas no gênero *Pleurobotryum* Barb. Rodr.

Pleurobotryum Barb. Rodr. foi proposto em 1877, para acomodar *Pleurobotryum atropurpureum* Barb. Rodr., Posteriormente, novas inclusões foram feitas (Hoehne 1936, Pabst & Dungs 1975, Garay 1952) de modo que, a circunscrição atual do gênero englobaria oito espécies: *Pleurobotryum albopurpureum* (Kraenzl.) Garay, *Pleurobotryum atropurpureum* Barb. Rodr., *Pleurobotryum crepinianum* (Barb. Rodr.) Hoehne, *Pleurobotryum hatschbachii* (Schltr.) Hoehne, *Pleurobotryum mantiqyranum* (Barb. Rodr.) Hoehne, *Pleurobotryum rhabdosepalum* (Schltr.) Hoehne, *Pleurobotryum subulifolium* (Kraenzl.) Pabst e *Pleurobotryum unguiculatum* (Hoehne) Hoehne. Com exceção de *Pleurobotryum mantiqyranum* (Barb. Rodr.) Hoehne e *P. hatschbachii* (Schltr.) Hoehne, que ocorrem também na Argentina, o restante do gênero é endêmico do Brasil, sendo endêmico da Mata Atlântica e ocorrendo preferencialmente em Florestas Ombrófilas Mistas e Florestas Estacionais Semidecíduais do Sudeste e Sul do país, sobretudo no Estado do Paraná onde é possível encontrar pelo menos três espécies distintas do gênero. Todas têm hábito preferencialmente epifítico, raro rupícola, ocorrendo em altitudes que variam entre 500 e 2.000 metros. *Pleurobotryum mantiqyranum* (Barb. Rodr.) Hoehne é a espécie que apresenta a mais ampla distribuição geográfica, sendo encontrada na Argentina, Sul e Sudeste do Brasil ao longo dos contrafortes ocidentais da Serra do Mar e por toda a Serra da Mantiqueira; *Pleurobotryum crepinianum* (Barb. Rodr.) Hoehne e *Pleurobotryum atropurpureum* Barb. Rodr. também não são raros nessa região

embora sejam mais abundantes no interior dos Estados de São Paulo e Minas Gerais.

Luer (1986) propôs que *Pleurobotryum* fosse considerado subgênero de *Pleurothallis*, aceitando sete das oito espécies propostas para o gênero até então, à exceção de *Pleurothallis octophrys* Kraenzl., que Luer (1986) considerou como sinônimo de *Pleurothallis unguiculata* Hoehne, e como membro de *Pleurothallis* subgen. *Acianthera* seção *Tomentosae* Luer. Desde então, o autor vem publicando detalhamentos sobre muitos desses grupos.

Pridgeon *et al.* (2001) estudaram a filogenia da subtribo *Pleurothallidinae* com o auxílio de seqüências de DNA nuclear e de plastídio, usando os marcadores ITS, *trnL-F* e *matK* e constataram que *Octomeria* e *Brachionidium* são gêneros irmãos e os gêneros *Barbosella*, *Dresslerella*, *Myoxanthus*, *Pleurothalliopsis*, *Restrepia* e *Restrepiella*, estavam posicionados em outro clado, próximo ao clado *Octomeria – Brachionidium*; Posteriormente Pridgeon & Chase (2001) propuseram reestruturação da subtribo onde várias espécies brasileiras foram transferidas para gêneros criados ou restabelecidos, porém, poucas delas fizeram parte do estudo filogenético levado a efeito por Pridgeon *et al.* (2001), dentre estas aquelas pertencentes ao gênero *Pleurobotryum* Barb. Rodr.

Recentemente, Chiron & Van den Berg (2012) propuseram modificações na circunscrição do gênero *Pleurobotryum*. Com base no posicionamento filogenético de uma única espécie incluída em suas análises filogenéticas (*P. hatschbachii*), os autores acomodaram em *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg a maioria das espécies tradicionalmente tratadas como *Pleurobotryum*; além disso, propuseram as novas combinações correspondentes, além de apresentarem uma nova proposta de classificação sistemática infragenérica para *Acianthera*. Dentro dessa proposta, *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* passou a conter seis espécies: *Acianthera albopurpurea* (Kraenzl.) Chiron & van den Berg, *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg, *Acianthera crepiniana* (Cong.) Chiron & van den Berg, *Acianthera rhabdosepala* (Schltr.) Chiron & van den Berg, e *Acianthera subulifolia* (Krzl.) Chiron & van den Berg. Chiron & Van den Berg (2012) ainda sugeriram que *Acianthera gracilisepala* (Brade) Luer poderia pertencer à mesma seção uma vez que

aparece como grupo irmão de *A. hatschbachii* na proposta filogenética, mas não fizeram qualquer referência a *Pleurobotryum mantiquyratum* (Barb. Rodr.) Hoehne.

Não há outros trabalhos posteriores que tenham proposto alguma modificação acerca da circunscrição do gênero *Pleurobotryum*, devendo-se ressaltar apenas que Chiron & Van den Berg (2012) sugeriram que *Pleurothallis octophrys* deveria ser subordinada a *Acianthera* sect. *Tomentosae* (Luer) Chiron & van den Berg; esta alteração, no entanto, deve ter sido baseada somente na literatura visto que esta espécie também não foi inserida na análise filogenética.

Das seis espécies atribuídas a *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*, até o momento, somente quatro podem ser claramente determinadas: *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *Acianthera crepiniana* (Cong.) Chiron & van den Berg, *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg e *Acianthera mantiquyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros. Os demais nomes são sinônimos de outros membros da seção, como será apresentado em um trabalho posterior que aborda a revisão desta seção (Cap. 2 da tese).

Este trabalho tem por objetivo o estudo das relações entre as espécies da de *Acianthera* seção *Pleurobotryae*, incluindo nesta análise todos os representantes alocados nesta seção, utilizando os marcadores ITS (ITS 1, gene 5.8S e ITS2) uma vez que os trabalhos de Pridgeon *et al.* (2001) e Chiron *et al.* (2012) mostraram que este marcador é suficiente para produzir bons resultados em análises filogenéticas de representantes da subtribo Pleurothallidinae e os resultados obtidos com ITS são, geralmente, congruentes com os resultados obtidos em análises com marcadores de plastídios. Visando colaborar na verificação das relações infra-específicas desta seção será utilizada nesta análise o marcador plastidial matK, uma vez que os resultados obtidos por Karremans *et al.* (2013) demonstram que a análise combinada do marcador nuclear ITS e do cpDNA matK apresentam bons resultados para análises filogenéticas de Pleurothallidinae.

2. Material & Métodos

2.1. Coleta das amostras

As espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* (Chiron & van den Berg 2012), para fins de extração de DNA, foram coletadas ao entre janeiro de 2009 e dezembro de 2012, em localidades previamente identificadas em herbários como áreas potenciais de ocorrência das espécies, bem como em coleções particulares (tabela 1). Além de espécies pertencentes a *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*, foram também coletadas amostras de representantes de outras seções de *Acianthera* a fim de se verificar o monofiletismo do gênero em estudo. Plantas não floridas durante o período de elaboração deste trabalho estão mantidas em cultivo objetivando obter, oportunamente, florações para elaboração dos *vouchers* que serão depositados no herbário SP. Como grupo externo das análises foram utilizados os gêneros *Restrepia* e *Pleurothallopsis* considerados como pertencentes ao clado Brachionidium - Octomeria da subtribo (Pridgeon *et al.* 2001).

Do total de 44 amostras incluídas na análise, 34 foram obtidas do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e estão relacionadas na tabela 2.

Tabela 1. Relação dos táxons utilizados neste estudo para obtenção das sequências de ITS e matK.

Taxon	Voucher	Sequências obtidas
<i>A. atropurpurea</i> (Barb. Rodr.) Chiron & Van den Berg	<i>I. Zampin s.n.</i> (SP)	ITS, matK
<i>A. crepiniana</i> (Barb. Rodr.) Chiron & Van den Berg	<i>V.T. Rodrigues 501</i> (SP)	ITS, matK
<i>A. crepiniana</i> (Barb. Rodr.) Chiron & Van den Berg	<i>V.T. Rodrigues 502</i> (SP)	ITS, matK
<i>A. fenestrata</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase	<i>V.T. Rodrigues 506</i> (SP)	matK
<i>A. gracilisepala</i> (Brade) Luer	<i>W.S. Mancinelli 1149</i> (UPCB)	matK
<i>A. hamosa</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase	<i>V.T. Rodrigues 508</i> (SP)	matK
<i>A. hatschbachii</i> (Barb. Rodr.) Chiron & Van den Berg	<i>V.T. Rodrigues 503</i> (SP)	ITS, matK
<i>A. hatschbachii</i> (Barb. Rodr.) Chiron & Van den Berg	<i>V.T. Rodrigues 504</i> (SP)	ITS, matK
<i>A. hystrix</i> (Krzl.) F. Barros	<i>V.T. Rodrigues 507</i> (SP)	ITS, matK
<i>A. luteola</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	<i>V.T. Rodrigues 509</i> (SP)	matK
<i>A. mantiquyrana</i> (Barb. Rodr.) Rodrigues & Barros ined.	<i>V.T. Rodrigues 520</i> (SP)	ITS, matK
<i>A. ochreatea</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	<i>V.T. Rodrigues 505</i> (SP)	matK
<i>A. octophrys</i> (Rchb.f.) Pridgeon & Chase	<i>V.T. Rodrigues 521</i> (SP)	ITS, matK
<i>A. prolifera</i> (Herb ex Lindl.) Pridgeon & Chase	<i>V.T. Rodrigues 513</i> (SP)	matK

Taxon	Voucher	Sequências obtidas
<i>A. pubescens</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	V.T. Rodrigues 510 (SP)	matK
<i>A. punctatiflora</i> (Luer) Pridgeon & Chase	V.T. Rodrigues 515 (SP)	ITS, matK
<i>A. saundersiana</i> (Rchb.f.) Pridgeon & Chase	V.T. Rodrigues 511 (SP)	matK
<i>A. saurocephala</i> (Rchb.f.) Pridgeon & Chase	V.T. Rodrigues 514 (SP)	MatK
<i>A. strupifolia</i> (Lodd.) Pridgeon & Chase	V.T. Rodrigues 517 (SP)	ITS, matK
<i>A. teres</i> (Lindl.) Borba	V.T. Rodrigues 519 (SP)	matK
<i>Pleurothallopsis nemorosa</i> (Barb. Rodr.) Porto & Brade	V.T. Rodrigues 516 (SP)	ITS, matK
<i>P. striata</i> (Luer & R. Escobar) Pridgeon & Chase	V.T. Rodrigues 518 (SP)	ITS,
<i>Restrepia muscifera</i> (Lindl.) Rchb. f. ex Lindl.	V. T. Rodrigues 512 (SP)	matK

Tabela 2. Relação de táxons cujas sequências de ITS foram obtidas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Taxon	GenBank
<i>Acianthera adamantinensis</i> (Brade) F. Barros	AF366936.1
<i>A. aphthosa</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	JQ306355.1
<i>A. compressiflora</i> (Barb. Rodr.) Chiron & Van den Berg	JQ306436.1
<i>A. crinita</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & M.W. Chase	JQ306434.1
<i>A. cryptantha</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & M.W. Chase	JQ306433.1
<i>A. fabiobarrosii</i> (Borba & Semir) F. Barros & F. Pinheiro	JQ306426.1
<i>A. fenestrata</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase	AF262857.1
<i>A. glanduligera</i> (Lindl.) Luer	JQ306369.1
<i>A. gracilispala</i> (Brade) Luer	JQ306404.1
<i>A. hamosa</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase	JQ306374.1
<i>A. hatschbachii</i> (Barb. Rodr.) Chiron & Van den Berg	JQ306406.1
<i>A. Johannensis</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & M.W. Chase	AF366939.1
<i>A. jordanensis</i> (Brade) F. Barros	JQ306378.1
<i>A. leptotifolia</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase	AF262854.1
<i>A. luteola</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	JQ306364.1
<i>A. macropoda</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase	JQ306449.1
<i>A. micrantha</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase	JQ306373.1
<i>A. mínima</i> (Cogn.) F. Barros	JQ306382.1
<i>A. nemorosa</i> (Barb. Rodr.) F. Barros	JQ306466
<i>A. ochreatea</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	JQ306354.1
<i>A. pectinata</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	AF262849.1
<i>A. pubescens</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	JQ306366.1
<i>A. pubescens</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	JQ306365.1
<i>A. recurva</i> (Lindl.) Pridgeon & Chase	JQ306375.1
<i>A. saundersiana</i> (Rchb.f.) Pridgeon & Chase	JQ306452
<i>A. saurocephala</i> (Lodd.) Pridgeon & Chase	JQ306356.1
<i>A. sonderana</i> (Lodd.) Pridgeon & Chase	JQ306496.1
<i>A. sonderana</i> (Rchb.f.) Pridgeon & Chase	JQ306377.1
<i>A. strupifolia</i> (Rchb.f.) Pridgeon & Chase	JQ306440.1
<i>A. teres</i> (Lindl.) Borba	AF366937.1
<i>A. tricarinata</i> (Poepp. & Endl.) Pridgeon & M.W. Chase	JQ306495.1
<i>Pleurothallopsis nemorosa</i> (Barb. Rodr.) Porto & Brade	AF291099.1
<i>P. striata</i> (Luer & R. Escobar) Pridgeon & Chase	AF262910.1
<i>Restrepia muscifera</i> (Lindl.) Rchb. f. ex Lindl.	AF262908.1

2.2. Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

As amostras de tecido foliar foram armazenadas em freezer a -20 °C ou em sílica-gel (Chase & Hills 1991). O DNA total extraído foi armazenado em ultrafreezer (-80 °C) no Banco de DNA Total do Laboratório de Filogenia e Genética da Conservação de Plantas da Universidade Federal do Paraná, vinculado aos *vouchers* a serem depositados no herbário SP, listados na tabela 1. Para a extração de amostras de DNA utilizou-se a metodologia baseada no protocolo de CTAB 2X de Doyle & Doyle (1987).

As amplificações de PCR dos fragmentos utilizados foram realizadas em reações de 30 µl constituídas de tampão 1X, 2,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 0,5 mM de cada *primer*, 10 ng de BSA, 2,0 unidades de Taq DNA polimerase e 20-50 ng de DNA genômico.

A região *nrITS* foi amplificada com os *primers ITS92* (5' AAG GTT TCC GTA GGT GAA 3') e *ITS75* (5' TAT GCT TAA ACT CCA CGG G 3') (Desfeaux *et al.* 1996), ou os *primers ITS18_F* (Kass & Wink 1997, modificado por Beyra-Matos & Lavin 1999) e *ITS26_R* (Kass & Wink 1997). Para a amplificação destes *primers* utilizou-se o seguinte protocolo de PCR: 1 min. de pré-melt a 94 °C e 40 ciclos de 30 segundos de desnaturação a 94 °C, 40 segundos de anelamento a 51 °C, 40 segundos de extensão a 72 °C, seguido por extensão final a 72 °C por 5 min.

A região *matK* foi amplificada com os *primers 19F* (CGT TCT CAT TGC ACT ATG) (Whitten *et al.* 2000), *881R* (TMT TCA TCA GAA TAA GAG T) (Pridgeon *et al.* 2001), *731F* (TCT GGA GTC TTT CTT GAG CGA) (Pridgeon *et al.* 2001) e *trnK 2R* (AAC TAG TCG GAT GGA GTA G) (Jhonson & Soltis 1995). Para a amplificação destes *primers* utilizou-se o seguinte protocolo de PCR: 1 min. de pré-melt a 94 °C e 30 ciclos de 30 segundos de desnaturação a 94 °C, 30 segundos de anelamento a 51 °C, 1 min. de extensão a 72 °C, seguido por extensão final a 72 °C por 7 min.

Os produtos de todas as amplificações foram precipitados em solução de polietileno-glicol (PEG) a 20% e verificados em eletroforese horizontal em gel de agarose 1% e corados com brometo de etídio. A reação de sequenciamento foi feita com o kit Big Dye Terminator version 3.1 (Applied Biosystems, California, USA) através da empresa Macrogen Inc. (Seoul, Coreia do Sul -

<http://dna.macrogen.com>). Os mesmos *primers* utilizados para amplificação foram utilizados para a reação de sequenciamento. Todas as sequências obtidas neste estudo serão submetidas ao *GenBank* através do programa Sequin (National Center Biotechnology Information 2011), seguindo todas as recomendações deste banco público de sequências.

2.3. Alinhamento das sequências e análises

As sequências *forward* e *reverse* foram editadas e as fitas consenso obtidas utilizando-se o pacote de programas Staden Package (Staden *et al.* 2003). O alinhamento múltiplo e a matriz das sequências foram editados a partir do programa Clustal W (Thompson *et al.* 1994) implementado no programa MEGA5 (Tamura *et al.* 2011), com os parâmetros usuais, sendo as matrizes posteriormente conferidas e/ou alteradas manualmente, quando necessário.

2.4. Análises filogenéticas

Foram realizadas análises de Parcimônia através do software TNT (Goloboff *et al.* 2011) com auxílio do script “aquickie”, que utiliza uma combinação de algoritmos (TBR, Ratchet, Fuze), gerando uma árvore de consenso estrito e, posteriormente, calcula o suporte dos ramos com 100 pseudo-replicações de *bootstrap* (Felsenstein 1985) e calcula o Índice de Decaimento (Bremer 1988) limitando a 10 passos mais longo que as árvores mais parcimoniosas. A otimização dos comprimentos de ramos utilizou ACCTRAN e os “indels” foram tratados como dados faltantes.

A análise filogenética do cpDNA, visou exclusivamente verificar o posicionamento filogenético das espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*, e para tal, apenas 14 espécies de *Acianthera* provenientes de outras seções foram utilizadas o que inviabiliza uma discussão taxonômica acerca do

posicionamento filogenético das demais seções, porém justifica o estudo filogenético de *A. sect. Pleurobotryae*, objeto deste estudo.

A análise Bayesiana da região nuclear ITS e plastidial matK seguiu o modelo de substituição de nucleotídeos escolhido com base em testes hierárquicos de razões de probabilidade (hLRTs) realizados com MrModeltest v.2.2 (Nylander 2004). Análises bayesianas foram iniciadas a partir de árvores aleatórias e empregou-se cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC) executando mais de dois milhões de gerações, com amostragem de árvores a cada 100 gerações. Foram descartadas 25% das gerações iniciais como período de “burn-in”, após inspeção visual da estabilização da probabilidade logarítmica das árvores, tal como medido pelo Stdev (s) e os valores de PSRF (Gelman & Rubin 1992). As restantes 15.000 árvores foram usadas para produzir uma árvore de consenso com 50% de maioria com probabilidade posterior dos cladogramas visualizada com TreeView (Page 1996).

3. Resultados e Discussão

A matriz resultante do sequenciamento da região nuclear ITS (ITS 1, gene 5.8S e ITS2) é composta por 709 pares de bases nucleotídicas. Destes, 467 são constantes e 142 parcimoniosamente informativos.

A análise de Parcimônia gerou 24 árvores igualmente parcimoniosas com comprimento (L) igual a 538 passos, Índice de Consistência (IC) de 0,6059 e Índice de retenção (IR) de 0,7515. Na figura 1 é apresentada a árvore de consenso estrito com as porcentagens de *bootstrap* acima de 50 e índice de decaimento até 10.

Nesta análise é possível observar o monofiletismo de *Acianthera sect. Pleurobotryae* com alto suporte (95/5), excluindo-se *Acianthera octophrys* O relacionamento do gênero com as demais Pleurothallidinae amostradas demanda mais estudos. Entre as espécies deste clado, *A. hatchbachii* pode ser considerada espécie irmã das demais, seguida pelas espécies *A. atropurpurea*, *A. mantyquyrana* e *A. crepiniana*.

A matriz resultante do sequenciamento da região matK é composta por 819 pares de bases nucleotídicas. Destes, 730 são constantes e 53 parcimoniosamente informativos.

A análise de Parcimônia gerou uma árvore parcimoniosa com comprimento (L) igual a 538 passos, Índice de Consistência (IC) de 0,8609 e Índice de retenção (IR) de 0,7576. Na figura 3 é apresentada a árvore de consenso estrito com as porcentagens de *bootstrap* acima de 50 e índice de decaimento até 10.

Nesta análise é possível observar, novamente, o monofiletismo de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* com suporte de 70/2, excluindo-se *Acianthera octophrys*. e *Acianthera gracilispala* (Brade) Luer surge nesta análise como espécie irmã de *A. pubescens* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase, ambas possuindo diversas características morfológicas em comum (como por exemplo, flores carnosas providas de sépalas laterais totalmente concrecidas, labelo provido de calosidade longitudinal e folhas planas e coriáceas) o que sugere que esta espécie pertence, de fato, a *Acianthera* sect. *Acianthera* Chiron & van den Berg e não à seção *Pleurobotryae* como indicado por Chiron & van den Berg (2012). Entre as espécies deste clado, *A. hatchbachii* e *A. atropurpurea* formam um clado com suporte de 70/1, seguido pelo clado *A. mantyquyrana* e *A. crepiniana* com alto suporte (100/5)

A análise filogenética de Máxima Parcimônia e Bayesiana da região nuclear ITS (ITS 1, gene 5.8S e ITS2) corrobora a proposta de Chiron & van den Berg (2012) de que o gênero *Pleurobotryum* deve ser tratado como parte de *Acianthera*, como *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. Além disso, confirma que essa seção é monofilética.

Ao criar a seção *Pleurobotryae*, Chiron & van den Berg (2012) afirmaram que sua característica morfológica mais notável é o labelo espatulado, fazendo referência ao labelo longamente unguiculado comum aos representantes de *Pleurobotryum* Barb. Rodr. O posicionamento *Acianthera octophrys* fora da seção demonstra que esta característica, sozinha, não é suficiente para delimitar tal agrupamento taxonômico. Porém, de acordo com esta análise filogenética, a combinação de folhas cilíndricas ou lateralmente comprimidas com a um cauloma filiforme, dentro de *Acianthera*, é exclusiva da sect. *Pleurobotryae*. Folhas cilíndricas também ocorrem em *Acianthera* sect.

Tricarinatae Chiron & van den Berg, porém, estas possuem cauloma muito reduzido, morfologicamente muito distinto das espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. Um estudo de anatomia foliar poderia facilitar a caracterização desta seção bem como colaborar na compreensão das relações filogenéticas deste grupo uma vez que em *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* as folhas lateralmente compressas de *Acianthera. crepiniana* parecem ter derivado de folhas cilíndricas. Ainda com relação às folhas, uma redução no comprimento destas também é observada no grupo ao se analisar o cladograma (figuras 1 e 2, Clado F).

A maioria das seções propostas por Chiron & van den Berg (2012) está representada nesta análise, (Figuras 1 e 2) exceção feita apenas a *Acianthera* sect. *Sarracenellae* Chiron & van den Berg, que não fez parte deste estudo.

Acianthera crinita e *A. hystrix* representam a seção *Crinitae* Chiron & van den Berg (Clado A, Figuras 1 e 2) a qual é caracterizada por plantas de pequeno porte, reptantes, cauloma diminuto, folhas carnosas, suberetas ou prostadas, flores externamente pubescentes, sépalas com diferentes graus de coalescência e ovário pubescente. Ao criar o gênero *Apoda-Proparentia*, composto por oito espécies [*Apoda-Proparentia calypso* (Luer) Luer, *A. dodsonii* (Luer) Luer, *A. hystrix* (Kraenzl.) Luer, *A. karlii* (Pabst) Luer, *A. kateora* (Garay) Luer, *A. melanochthoda* (Luer & Hirtz) Luer, *A. portilloi* (Luer & Escobar) Luer e *A. testifolia* (Sw.) Luer], Luer (2004) inclui nele *Acianthera hystrix* com base exclusivamente em características morfológicas. Embora *A. karlii* (Pabst) C.N. Gonç. & Waechter tenha sido incluída na análise filogenética de Chiron *et al.* (2012) na qual ela surge entre as espécies que compõem *Acianthera* sect *Acianthera*, a morfologia das demais espécies alocadas em *Apoda-Proparentia* Luer é, em muitos aspectos, semelhante à das demais espécies da seção *Crinitae* Chiron & van den Berg, portanto maiores estudos devem ser feitos a fim de averiguar a real circunscrição desta seção, incluindo neste os demais representantes de *Apoda-Proparentia* Luer.

O clado B (figura 1 e 2), representa a seção *Cryptophoranthae* (Luer) Chiron & van den Berg, na qual está alocada a maioria das espécies que tradicionalmente compunham o gênero *Cryptophoranthus* Barb. Rodr. exceto os representantes que foram removidos para os gêneros *Ophidion* Luer e *Zootrophion* Luer. A seção é composta por espécies de pequeno porte, de

hábito cespitoso ou reptante, inflorescência uniflora ou multiflora e, neste caso, em racemo e congesta, emergindo do cauloma desprovido de ânulo; a característica mais marcante neste grupo reside na morfologia floral: a sépala dorsal é coalescente com o sinsépalo somente na base e no ápice, deixando a região central livre, formando dois orifícios laterais por onde o polinizador acessa o interior da flor. Foi incluída neste estudo *A. punctatiflora* (Luer) Pridgeon & Chase que surge na análise como espécie irmã de *A. jordanensis* (Brade) Barros, ambas inseridas no clado B.

Os cladogramas C e D (figuras 1, 2), representam, respectivamente, as seções *Sulcatae* Chiron & van den Berg e *Arthrosiae* Chiron & van den Berg; embora neste estudo, apenas um representante de cada uma delas tenha sido amostrado os resultados divergem muito do estudo apresentado por Chiron & van den Berg (2012) que também não incluiu muitos representantes dessas seções. Na análise filogenética apresentada por Chiron *et al.* (2012) foram amostradas duas espécies da seção *Sulcatae* [*A. luteola* (Lindl.) Pridgeon & Chase, *A. heringeri* (Hoehne) F. Barros] e cinco espécies pertencente à seção *Arthrosiae* [*A. barbacenensis* (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase, *A. auriculata* (Lindl.) Pridgeon & Chase, *A. compressiflora* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *A. montana* (Barb. Rodr.) F. Barros & L. Guimarães e *A. aff. freyi* (Luer) F. Barros & V.T. Rodrigues], nesse estudo a sect. *Sulcatae* surge num clado irmão da sect. *Crinitae*, enquanto os representantes da sect. *Arthrosiae* aparentemente tenham divergido antes.

Nas análises filogenéticas deste estudo, *A. compressiflora* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg surge como espécie irmã de *A. luteola* (Lindl.) Pridgeon & Chase, (figuras 1 e 2). Luer (1986) inclui *A. luteola* entre os representantes de *Pleurothallis* subgênero *Acianthera* sect. *Sicariae* Lindl. subsect. *Sicarie* (Lindl.) Luer; a subseção, criada pelo autor, é caracterizada por apresentar espécies cujo cauloma é tríquetos, e com alas bem desenvolvidas, por vezes contínuas com a margem das folhas. Luer (1986) ainda aponta a semelhança desses caulomas tríquetos com alas bem desenvolvidas com o que ocorrem em algumas espécies incluídas por ele no subgênero *Arthrosia* Luer, agora alocadas em *Acianthera* sect. *Arthrosiae*. Embora o escasso número de espécies utilizadas neste estudo pertencentes às seções *Arthrosiae* e *Sulcatae* possam ter interferido nos resultados, há sinapomorfias morfológicas para o

resultado encontrado, no entanto, novos estudos devem ser realizados a fim de esclarecer o relacionamento filogenético entre essas seções.

Embora nenhum representante de *Acianthera* sect. *Tomentosae* Chiron & van den Berg tenha sido amostrado no estudo filogenético de Chiron *et al.* (2012), os autores criaram essa seção provavelmente com base na proposta de Luer (1986) que engloba algumas espécies em *Pleurothallis* subgen. *Acianthera* sect. *Tomentosae* Luer, o autor caracteriza a seção indicando que seus representantes apresentam caulomas envoltos por bainhas com tricomas curtos. A morfologia floral dos representantes alocados nessa seção, bem como o hábito, é muito variável. Dentre os representantes indicados por Luer (1986) e Chiron & van den Berg (2012) como pertencentes a essa seção, destaca-se *A. octophrys* (Rchb.f.) Pridgeon & Chase que no presente estudo surge próxima ao clado *Sulcate/Arthrosiae* (figuras 1, 2 C e D). A delimitação desta seção é fraca e a falta de mais representantes na análise não favorece sua delimitação. Os tricomas presentes nas bainhas do cauloma podem ter surgido diversas vezes durante a evolução de *Acianthera*, portanto o real posicionamento de *A. octophrys* bem como o monofiletismo da seção *Tomentosae* carecem de maiores estudos.

Acianthera sect. *Acianthera* é altamente suportado nesta análise e está representada pelo clado E (figuras 1 e 2), Embora apresentem hábito variável, com plantas cespitosas, reptantes ou pendentes, a morfologia floral desta seção é, basicamente, semelhante, com inflorescências em racemo emergindo do ápice dos caulomas desprovidos de ânulo, flores carnosas providas de sépalas laterais totalmente concrecidas, labelo trilobado com lobos laterais diminutos e lobo central provido de um par de carenas dispostas longitudinalmente no disco.

O clado G (figuras 1 e 2), representa *Acianthera* sect. *Sicariae* (Lindl.) Chiron & van den Berg. Na revisão da sistemática de *Acianthera*, Chiron & van den Berg (2012) subdividem esta seção em três subseções: *Acianthera* sect. *Sicariae* subsect. *Sicariae* Chiron & van den Berg, *Acianthera* sect. *Sicariae* subsect. *Pectinatae* (Luer) Chiron & van den Berg e *Acianthera* sect. *Sicariae* subsect. *Auritae* Chiron & van den Berg. No presente estudo, a seção *Sicariae* é fortemente suportada, porém há divergências entre as relações filogenéticas das subseções e aspectos morfológicos dos seus representantes, às vezes

difíceis de explicar. Por exemplo: *Acianthera macropoda* (Barb. Rodr.) Pridgeon & Chase surge como espécie irmã de *A. glanduligera* (Lindl.) Luer ambas incluídas na subseção *Auritae*, resultado semelhante ao estudo filogenético de Chiron *et al.* (2012). No entanto, *A. macropoda*, como o próprio epíteto indica, é uma planta grande, com até 30 cm de altura, rizoma curto, inflorescência racemo, multiflora, sépalas carnosas, com morfologia floral semelhante aos representantes de *A. sect. Acianthera*. Já *A. glanduligera* (Lindl.) Luer, bem como os demais representantes de *Acianthera sect. Sicariae* subsect. *Auritae* são plantas de pequeno porte, com até 10 cm de altura, reptantes, providas de rizoma longo e articulado, inflorescência em racemos congestos, muito curtos e paucifloros, e segmentos do perianto frequentemente membranáceos. Portanto, é difícil caracterizar a subsect. *Auritae* com base em suas características morfológicas.

Acianthera sect. Tricarinatae (Luer) Chiron & van den Berg, representada no clado H (figuras 1 e 2), é fortemente sustentada neste estudo, e a morfologia floral, neste caso, pode ser utilizada na caracterização da seção, uma vez que todos os representantes apresentam sépalas carenadas, a maioria das espécies apresenta folhas cilíndricas ou tríquetras, e o hábito rupícola também é frequente nesta seção.

O estudo filogenético utilizando cpDNA, bem como a análise combinada entre marcador molecular *matK* e o a região nuclear ITS, visou exclusivamente verificar o monofiletismo de *Acianthera sect. Pleurobotryae* Chiron & van den Berg, objeto deste estudo. A árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parcimônia, obtida da análise de sequências da região *matK* do DNA de cloroplastos, bem como a árvore de consenso estrito da análise Bayesiana do mesmo marcador molecular (figuras 4 e 5) apresentam grande suporte para o monofiletismo, porém, a relação entre as espécies desta seção ainda carece de maiores estudos, o mesmo ocorrendo na análise combinada (figura 6) que mostra dois cladogramas irmãos em *A. sect. Pleurobotryae*: *A. atropurpurea* e *A. hatschbachii*; estas, são as maiores espécies da seção, com hábito tão semelhante que inviabiliza sua identificação quando estéreis, porém são facilmente diferenciadas pela morfologia floral bem como pela distribuição geográfica que será abordada num trabalho posterior (Capítulo 2 da Tese). Em outro clado encontram-se *A. mantiquyrana* e *A. crepiniana*, espécies de

pequeno porte e eretas, bastante diferentes dos representantes do clado anterior que têm hábito pendente. Neste clado, a morfologia das folhas permite o reconhecimento dos táxons mesmo quando estéreis, pois *A. crepiniana* é a única espécie da seção que apresenta folhas lateralmente compressas.

Como já exposto, o número de espécies utilizadas na análise filogenética de cpDNA, bem como a análise combinada entre marcador molecular matK e o a região nuclear ITS visou exclusivamente verificar o monofiletismo de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* porém, alguns resultados acerca do posicionamento filogenético das demais espécies mostram a necessidade de estudos mais abrangentes que procurem esclarecer o posicionamento e o monofiletismo de algumas seções propostas por Chiron & van den Berg (2012). Por exemplo, *A. luteola* que surge nesta análise como espécie basal do clado *Acianthera* (Figura 6). Em contrapartida, os representantes das seções *Acianthera* e *Sicariae* são fortemente suportados nesta análise.

Os trabalhos de Pridgeon *et al.* (2001) e Chiron *et al.* (2012) sugerem que o marcador molecular ITS (ITS 1, gene 5.8S e ITS2) é suficiente para produzir bons resultados em análises filogenéticas de Pleurothallidinae, uma vez que e os resultados obtidos com ITS são geralmente congruentes com os resultados obtidos em análises com marcadores de plastídios. Por sua vez, Karremans *et al.* (2013) obtiveram bons resultados na análise combinada do cpDNA matK e com o marcador molecular ITS para o estudo filogenético de *Stelis* Sw. e gêneros relacionados, também pertencentes à subtribo Pleurothallidinae. No caso de *Acianthera* Scheidw a análise Bayesiana dos marcadores matK e ITS (figura 6) recupera a maioria das seções propostas por Chiron & van den Berg (2012) como por exemplo, as seções *Acianthera*, *Cryptophoranthae*, *Tricarinatae* e *Pleurobotryae*, e seu reconhecimento encontra respaldo na morfologia, o que é importante para sustentar um tratamento taxonômico que formalize seções e subseções, como o proposto pelos autores. Maiores estudos, no entanto, devem ser feitos a fim de verificar o monofiletismo das demais seções propostas, bem como sua caracterização morfológica.

O objetivo de verificar o posicionamento filogenético de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* foi alcançado no presente estudo, no qual as hipóteses filogenéticas obtidas mostram o monofiletismo da seção, e indicam ainda que

Acianthera atropurpurea e *A. hatschbachii* são espécies irmãs e *Acianthera crepiniana* e *A. mantiquyrana* surgem em outro clado também como espécies irmãs, os dois clados irmãos observados apresentam respaldo na morfologia e poderiam ser interpretados como subseções de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*, porém tal solução é desnecessária em um grupo que engloba um número tão reduzido de espécies.

4. Literatura citada

- BARROS, F., RODRIGUES, V. T., VINHOS, F., BARBERENA, F.F.V.A. & FRAGA, C.N. 2010. Orchidaceae. In: R.C. Forzza *et al.* (orgs.). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 2, pp. 1344-1426.
- BEYRA-MATOS, A. & LAVIN, M. 1999. A monograph of *Pictetia* (Leguminosae: Papilionoideae) and review of *Aeschynomene*. Systematic Botany Monographs 46: 1-93.
- BREMER, K.. 1988. The limits of amino-acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstructions. Evolution 42: 795–803
- CHASE, M.W. & HILLS, H.H. 1991. Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. Taxon 40: 215–220.
- CHIRON, G.R. & VAN DEN BERG, C. 2012. Révision taxonomique du genre *Acianthera* (Orchidaceae, Pleurothallidinae). Richardiana 12: 59-77.
- CHIRON, G.R., GUIARD, J. & VAN DEN BERG, C. 2012. Phylogenetic relations in Brazilian *Pleurothallis sensu lato* (Pleurothallidinae, Orchidaceae): evidence from nuclear ITS rDNA sequences. Phytotaxa 46: 34-58
- DESFEUX, C.S., MAURICE, J.P., HENRY, B. & LEJEUNE, P.H.G. 1996. Evolution of reproductive systems in the genus *Silene*. Proceedings of the Royal Society. B: Biological Sciences 263(1359): 409-414.

- DOYLE, J.J. & DOYLE, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies with a molecular clock. *Systematic Zoology* 34: 152-161.
- GARAY, L.A. 1952. *Notatio Orchidologica II*. *Archivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 12: 169-186 + pl. 1-4.
- GELMAN, A. & RUBIN, D.B. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Statistical Science* 7: 457-72.
- GOLOBOFF, P., FARRIS, S. & NIXON, K.. 2000. TNT (Tree analysis using New Technology) (BETA) ver. 1.1. Published by the authors, Tucumán.
- HOEHNE, F.C. 1936. *Orchidaceas dos Herbarios de Alexandre Curt Brade e do Museu Nacional*. *Boletim do Museu Nacional* 12(2): 1-37.
- KARREMANS, A.P.; BAKKER, F.T.; PUPULIN, F.; SOLANO-GÓMEZ, R.; SMULDERS, J.M. 2013. Phylogenetic of *Stelis* and closely related genera (Orchidaceae: Pleurothallidinae). *Plant Systematics and Evolution* 299: 151-176.
- KÄSS, E. & WINK, M. 1997. Molecular phylogeny and phylogeography of the genus *Lupinus* (family Leguminosae) inferred from nucleotide sequences of the *rbcl* and ITS 1 + 2 rDNA. *Plant Systematics and Evolution* 208: 139-167.
- LUER, C.A. 1986. *Icones Pleurothallidarum III. Systematics of Pleurothallis (Orchidaceae)*. *Monographs in Systematic Botany* 20. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.
- LUER, C.A. 2004. *Icones Pleurothallidarum XXIX. A third century of Stelis of Ecuador. Systematics of Apoda-Propertentia. Systematics of miscellaneous small genera addenda: New Genera, Species and Combinations (Orchidaceae)*. *Monographs in Systematic Botany*. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.
- NYLANDER, J.A.A. 2004. MrModeltest, version 2. Program distributed by the author. Uppsala: Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- PABST, G.F.J. & DUNGS, F. 1975. *Orchidaceae Brasilienses v.1*. Kurt Schmiersow, Hildesheim.
- PRIDGEON, A.M. & CHASE, M.W. 2001. A phylogenetic reclassification of Pleurothallidinae (Orchidaceae). *Lindleyana* 16: 235-271.

- PRIDGEON, A.M., SOLANO, R. & CHASE, M.W. 2001. Phylogenetic relationships in Pleurothallidinae (Orchidaceae): combined evidence from nuclear and plastid DNA sequences. *American Journal of Botany* 88: 2286-2308.
- RODRIGUES, J.B. 1877. *Genera et Species Orchidearum Novarum*, v. 1. Typographia Nacional, Rio de Janeiro.
- STADEN, R., JUDGE, D.P. & BONFIELD, J.K. 2003. Analysing sequences using the Staden Package and EMBOSS. *In*: S.A. Krawetz & D.D. Womble (eds.). *Introduction to Bioinformatics. A Theoretical and Practical Approach*. Human Press Inc., Totawa.
- TAMURA, K., PETERSON, D., PETERSON, N., STECHER, G., NEI, M., & KUMAR, S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739
- THOMPSON, J.D., HIGGINS, D.G. & GIBSON, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.

Figura 1. Árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parcimônia dos dados de nrITS. Suporte de *bootstrap* acima de 50 e índice de decaimento até 10 são apresentados abaixo dos ramos. As barras laterais indicam as seções propostas por Chiron & Van den Berg (2012): A: *Acianthera* sect. *Crinitae* Chiron & van den Berg; B: *A.* sect. *Cryptophoranthae* (Luer) Chiron & van den Berg; C: *A.* sect. *Tomentosae*; D: *A.* sect. *Arthrosiae* Chiron & van den Berg; E: *A.* sect. *Acianthera*; F: *A.* *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg; G: *A.* sect. *Sicariae* Lindl.; H: *A.* sect. *Tricarinatae* (Luer) Chiron & van den Berg.

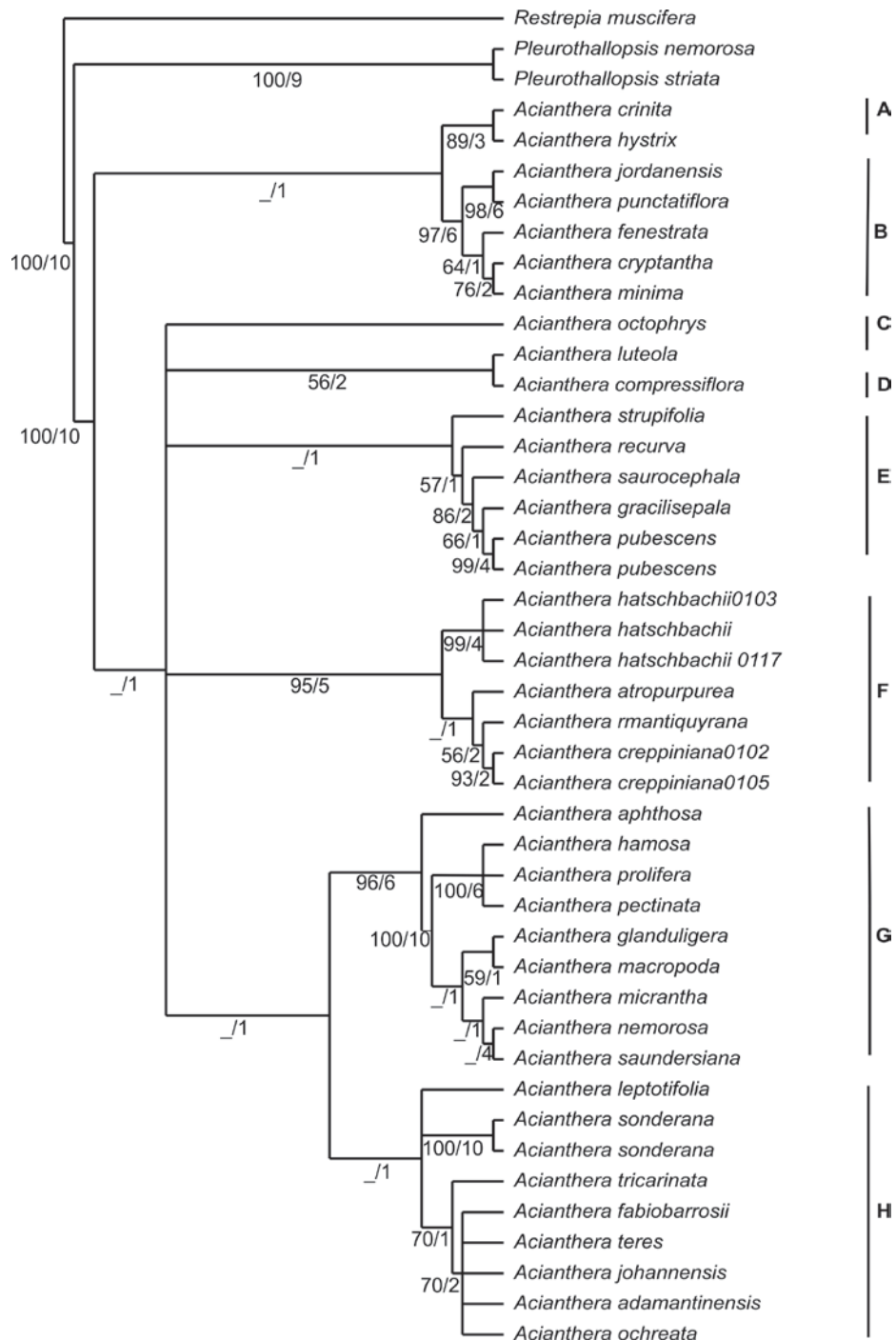


Figura 2. Árvore de consenso estrito da análise Bayesiana dos dados de nrITS. Os valores de probabilidade posterior estão indicados abaixo dos ramos. As barras laterais indicam as seções propostas por Chiron & Van den Berg (2012): A: *Acianthera* sect. *Crinitae* Chiron & van den Berg; B: *A.* sect. *Cryptophoranthae* (Luer) Chiron & van den Berg; C: *A.* sect. *Tomentosae*; D: *A.* sect. *Arthrosiae* Chiron & van den Berg; E: *A.* sect. *Acianthera*; F: *A.* *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg; G: *A.* sect. *Sicariae* Lindl.; H: *A.* sect. *Tricarinatae* (Luer) Chiron & van den Berg.

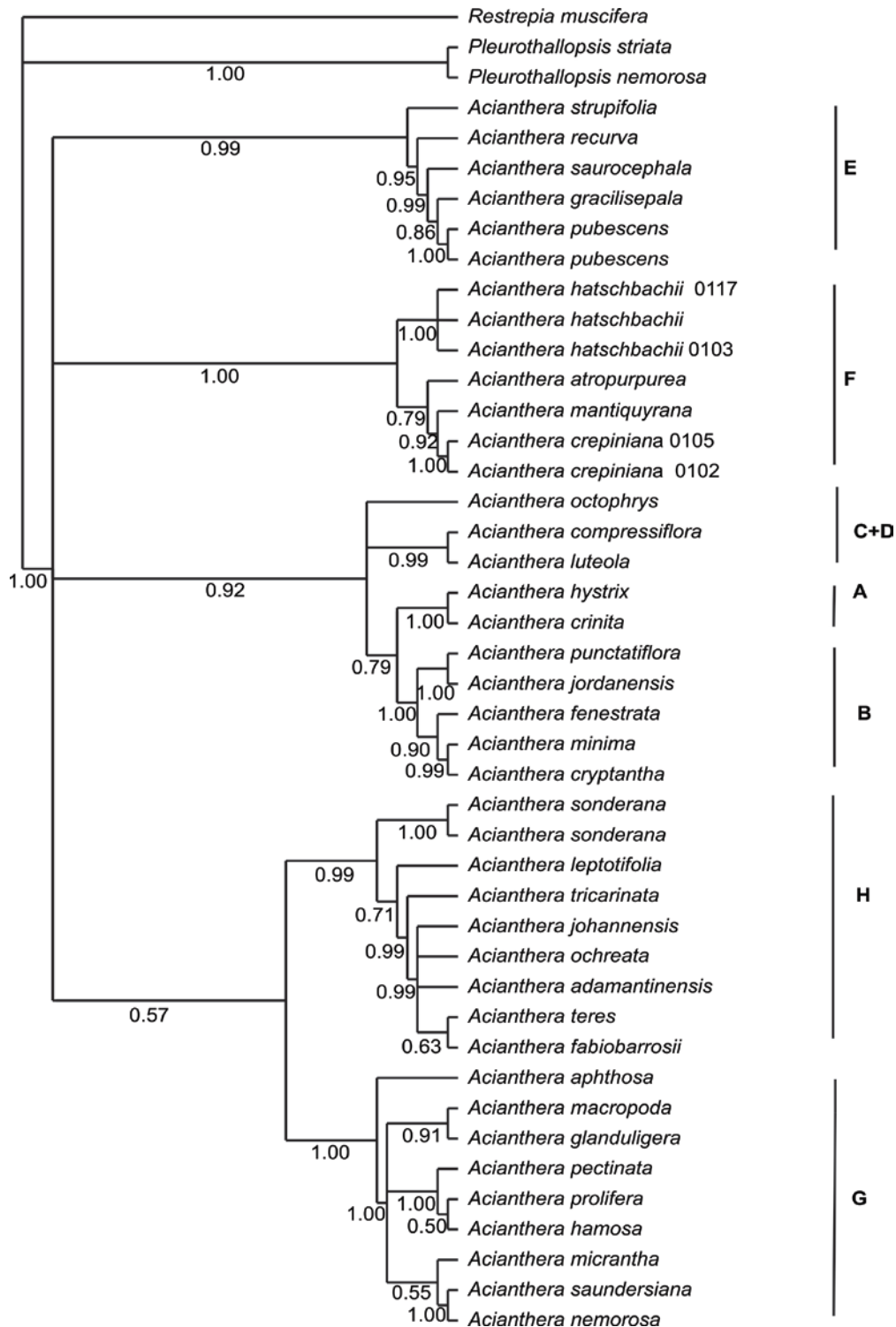


Figura 3. Árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parcimônia obtida da análise de sequências da região matK do DNA de cloroplastos. Suporte de *bootstrap* acima de 50 e índice de decaimento até 10 são apresentados abaixo dos ramos.

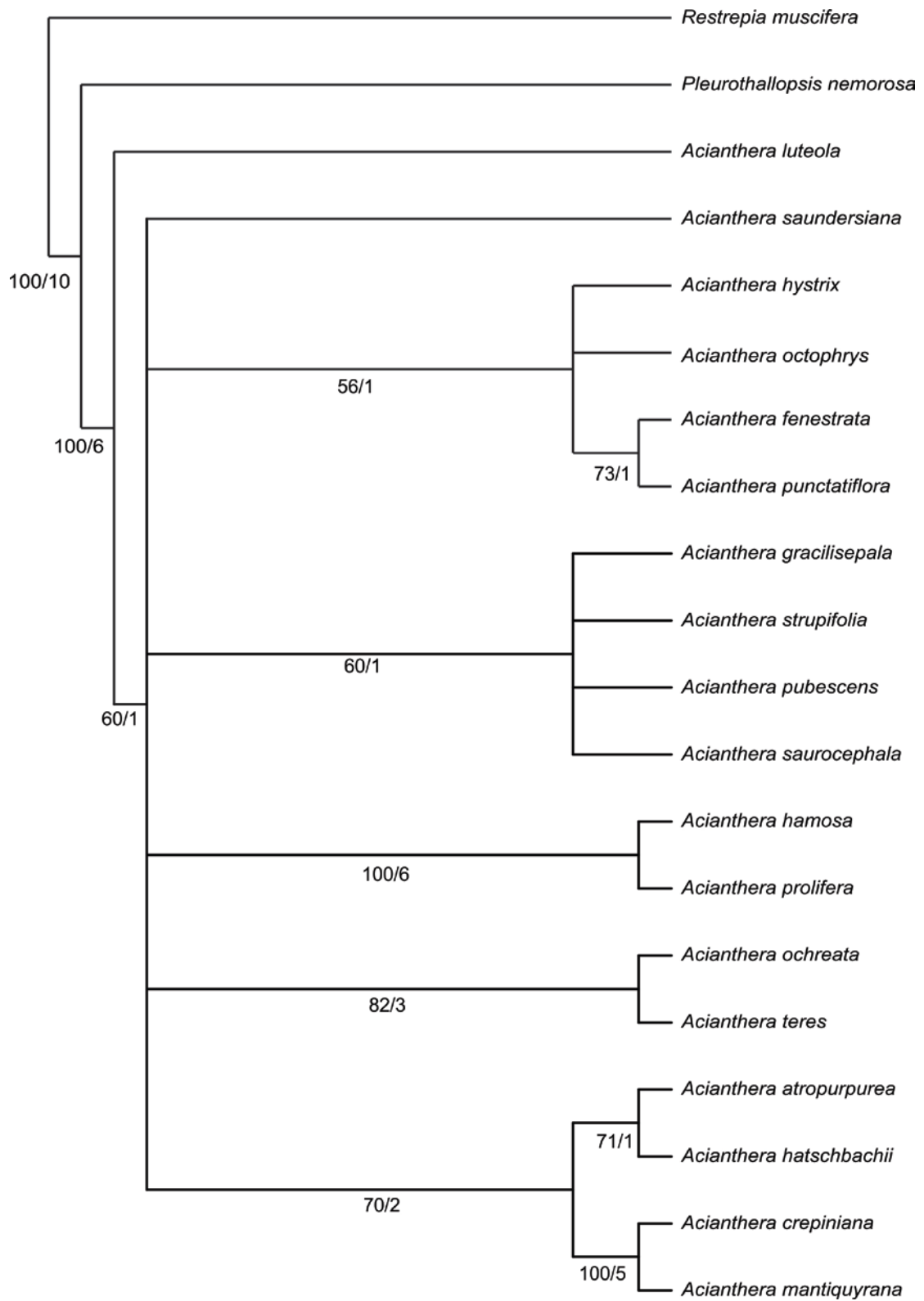


Figura 4. Árvore de consenso estrito da análise Bayesiana obtida da análise de sequências da região matK do DNA de cloroplastos. Os valores de probabilidade posterior estão indicados abaixo dos ramos.

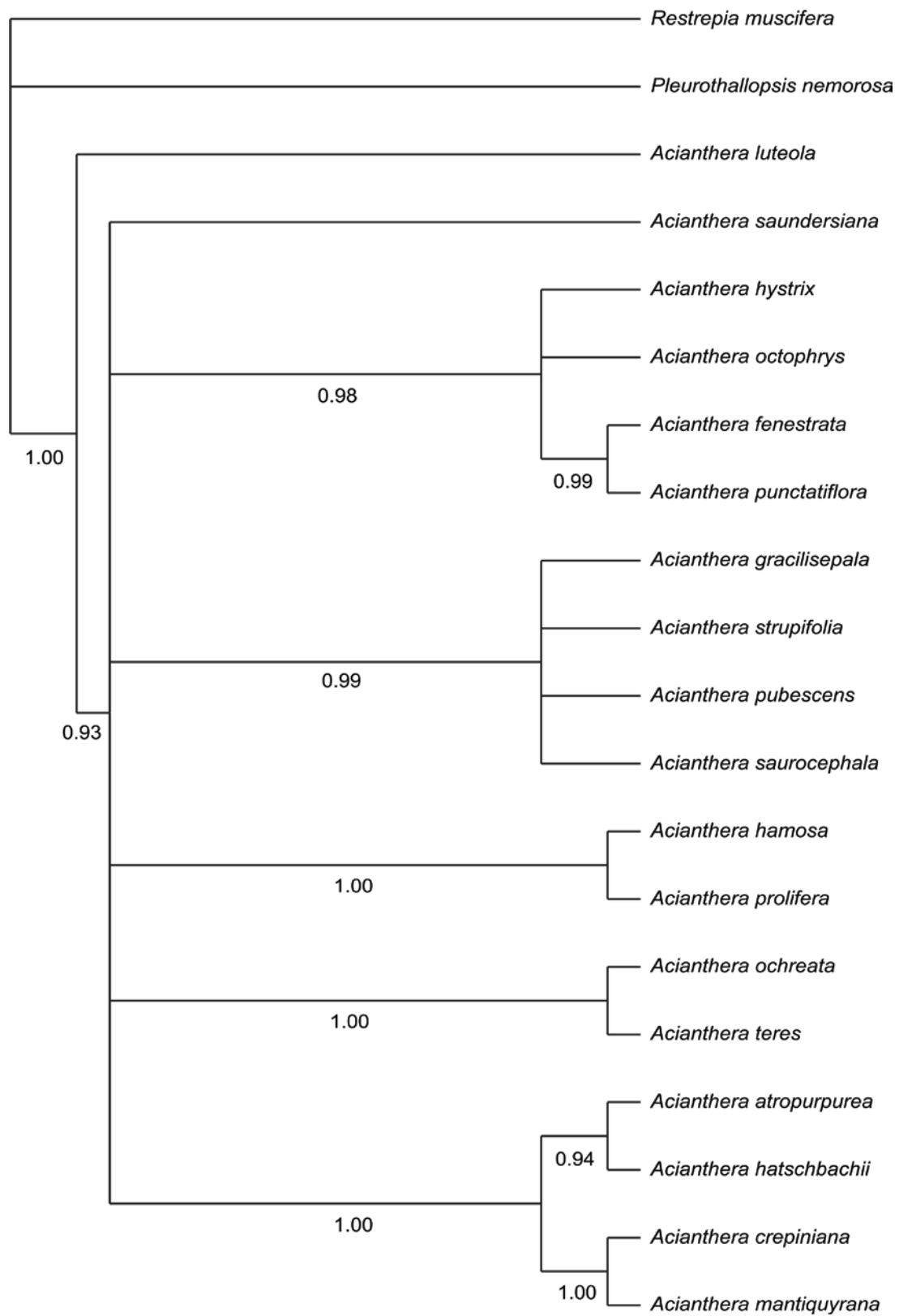


Figura 5. Árvore de consenso estrito da análise de Máxima Parcimônia obtida da análise de sequências das regiões matK do DNA de cloroplastos e ITS do DNA ribossômico nuclear. Suporte de *bootstrap* acima de 50 e índice de decaimento até 10 são apresentados abaixo dos ramos.

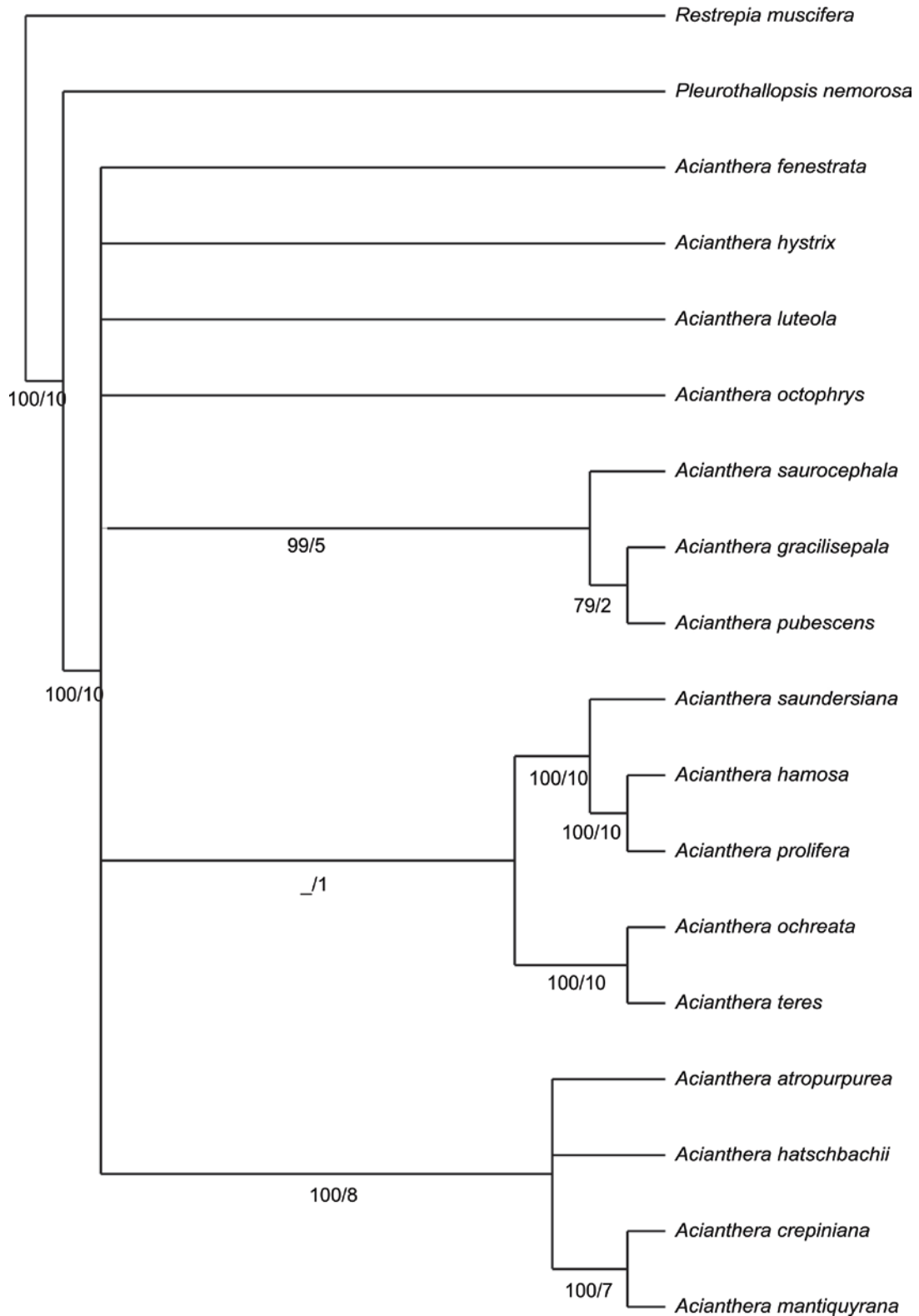
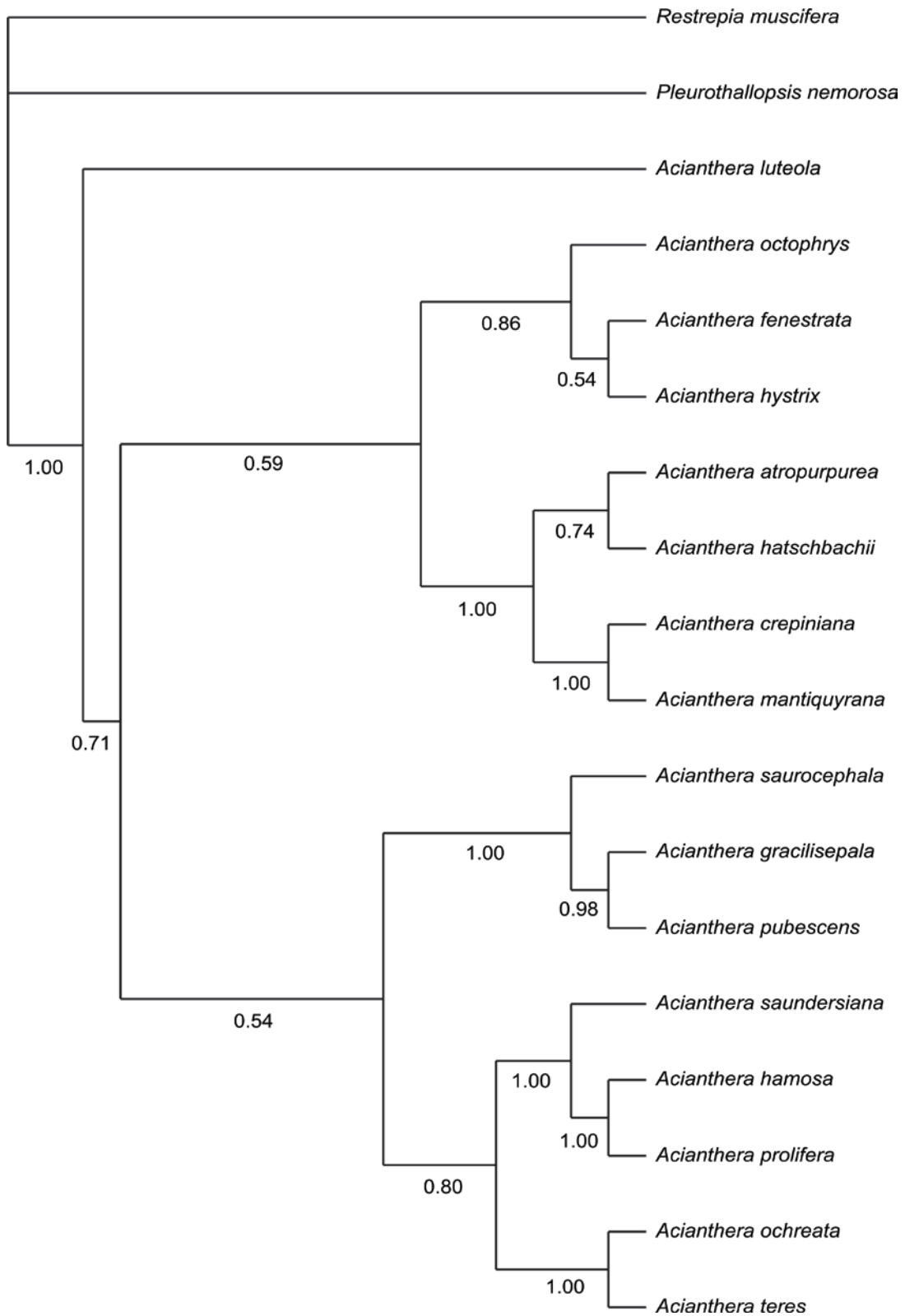


Figura 6. Árvore de consenso estrito da análise Bayesiana obtida da análise sequências das regiões matK do DNA de cloroplastos e ITS do DNA ribossômico nuclear. Os valores de probabilidade posterior estão indicados abaixo dos ramos.



Capítulo 2

Revisão de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg (Orchidaceae).

(Capítulo encaminhado para publicação na revista Hoehnea)

Revisão de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* (Orchidaceae)¹

Vinícius Trettel Rodrigues^{2,5}, Fábio de Barros³ e Eric de Camargo Smidt⁴

Título resumido: Revisão de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* (Orchidaceae)

1. Parte da tese de doutorado do primeiro autor, no Instituto de Botânica, São Paulo

2. Universidade Braz Cubas, Av. Francisco Rodrigues Filho 1233, 08773-380 Vila Mogilar, Mogi das Cruzes, SP, Brasil

3. Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa Orquidário do Estado, Av. Miguel Estéfano 3687, 04301-902 São Paulo, SP, Brasil

4. Universidade Federal do Paraná, Centro Politécnico, Setor de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Caixa Postal 19031, 81531-990 Curitiba, PR, Brasil

5. Autor para correspondência: rodriguesvt@yahoo.com.br

ABSTRACT – (Revision of *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* (Orchidaceae)). *Acianthera* Scheidew. involves about 200 species with Neotropical distribution; in the most recent proposal of taxonomic revision for the genus, Chiron & van den Berg created ten sections among them *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* subject of this study. The section *Pleurobotryae* can be distinguished from other *Acianthera* sections by the long unguiculate lip with a mobile articulation, and the cylindrical to laterally flattened leaves, attached to a threadlike cauloma. Their representatives are rather distributed in Southern and Southeastern Brazil and Northeastern Argentina. In this work a taxonomic study of the section *Pleurobotryae* is presented. New synonyms and a new combination are proposed for the group. Of the six species previously assigned to this section, only four are accepted here: *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *A. crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg, *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg, and *A. mantiquyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros.

Key words: *Pleurobotryum*, Pleurothallidinae, *Pleurothallis*, taxonomic revision

RESUMO – (Revisão de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* (Orchidaceae)). *Acianthera* Scheidew. envolve cerca de 200 espécies de distribuição Neotropical; na mais recente revisão taxonômica proposta para o gênero, Chiron & van den Berg criaram dez seções dentre elas a *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*, objeto deste estudo. A seção *Pleurobotryae* distingue-se das demais seções de *Acianthera* por possuírem flores com labelo de articulação móvel, longamente unguiculado, aliado às folhas teretiformes ou lateralmente compressas, unidas a um cauloma filiforme; seus representantes encontram-se distribuídos preferencialmente no Sul e Sudeste do Brasil e Nordeste da Argentina. Neste trabalho é apresentado um estudo taxonômico da seção *Pleurobotryae* no qual são propostas novas sinonímias para o grupo e uma nova combinação. Das seis espécies anteriormente atribuídas a esta seção, somente quatro são aqui aceitas: *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *A. crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg, *A.*

hatschbachii (Schltr.) Chiron & van den Berg e *A. mantiqyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros.

Palavras-chave: *Pleurobotryum*, Pleurothallidinae, *Pleurothallis*, revisão taxonômica

Introdução

O gênero *Acianthera* Scheidw. foi restabelecido por Pridgeon & Chase (2001) dada a constatação do polifiletismo de *Pleurothallis* R.Br. *s.l.* *Acianthera* engloba cerca de 200 espécies, dentre as quais 107 são endêmicas do Brasil (Barros *et al.* 2010). Na mais recente sinopse deste gênero, Chiron & van den Berg (2012) apresentam um novo sistema de classificação para *Acianthera* subdividindo-o em diversas seções e subseções, dentre elas *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg, que inclui as espécies tradicionalmente alocadas no gênero *Pleurobotryum* Barb. Rodr. Essa proposta de Chiron & Van den Berg (2012) teve como base uma hipótese filogenética para *Pleurothallis sensu lato* apresentada por Chiron *et al.* (2012).

Ao propor o gênero *Pleurobotryum*, Barbosa-Rodrigues (1877) afirmou que este apresentava grande afinidade com o que, na época, entendia-se como gênero *Pleurothallis*, tanto pelo número, como pela posição das polínias, mas distinguia-se facilmente pelas flores com labelo de articulação móvel e pelo hábito das plantas muito diferente, fazendo alusão às folhas teretiformes. Cogniaux (1893-1896) reduziu esse gênero ao nível de seção, como *Pleurothallis* sect. *Pleurobotryum* (Barb. Rodr.) Cogn. e, sem ter ciência de que o epíteto “atropurpurea” já estava ocupado por *Pleurothallis atropurpurea* Lindl. [= *Zootrophion atropurpureum* (Lindl.) Luer] descrita por John Lindley em 1842, transferiu a espécie de Barbosa Rodrigues para o gênero *Pleurothallis*, com o nome *Pleurothallis atropurpurea* (Barb. Rodr.) Cogn., criando, assim, um nome ilegítimo. Cogniaux (1893-1896) também incluiu nessa seção *Pleurothallis teretifolia*, espécie descrita pouco antes por Rolfe (1892), cujo epíteto faz referência às folhas cilíndricas do exemplar por ele examinado. Na mesma obra, foi descrita outra espécie - *Pleurothallis crepiniana* Cogn. - posicionada em *Pleurothallis* sect. *Sarcodanthae* Cogn., mas posteriormente acomodada em *Pleurobotryum* por Hoehne (1936).

O gênero *Pleurobotryum* Barb. Rodr. foi restabelecido por Hoehne (1936) com o acréscimo de *Pleurobotryum hatschbachii* (Schltr.) Hoehne (= *Pleurothallis hatschbachii* Schltr.), e para tanto

o autor justificou: “*Indubitavelmente as duas plantas pertencem a este gênero criado por Barbosa Rodrigues, cujo característico mais evidente não é o labello unguiculado, mas sim o porte brassavoliforme da planta...*” (sic.). Ainda no mesmo artigo, Hoehne (1936) apresentou uma chave de identificação para algumas Pleurothallidinae que apresentam labello unguiculado e teceu os seguintes comentários acerca delas: “*No caso que quizessemos agrupar as espécies referidas por Schlechter, pela forma do labello unguiculado, teríamos que incluir as seguintes espécies: Pleurothallis mantiquyrana Barb Rodr., P. rhabdosepala Schtr., P. crepiniana Cogn. e P. unguiculata Hoehne.... Mas é claro que estas não são todas as espécies que apresentam limbo largo e mais ou menos oblongo ou orbicular, sustido por uma parte liguliforme, bem longa. Para incluí-las no gênero Pleurobotryum que aqui restabelecemos com as duas espécies: P. atropurpureum Barb. Rodr. e P. hatschbachii Schtr., seria necessário, portanto que se procurasse separar todas para que com os seus caracteres erigir um gênero com outra diagnose em que estes fossem respeitados.*” (sic.).

Embora fique claro que o restabelecimento do gênero *Pleurobotryum* proposto por Hoehne (1936) tenha visado à circunscrição de apenas duas espécies (*Pleurobotryum atropurpureum* Barb. Rodr. e *P. hatschbachii* Schtr.) o autor apresentou uma chave de identificação na qual as novas combinações são feitas ampliando a circunscrição do gênero independentemente da intenção e demais considerações do autor. Fato que contradiz o artigo 34.1 do Código Internacional de Nomenclatura Botânica que afirma: “*Um nome não é validamente publicado quando não é aceito pelo autor na publicação original...*”.

Após a adição de novas espécies em *Pleurobotryum* proposta por Hoehne (1936) outras espécies foram alocadas nesse gênero por diversos outros autores. Garay (1952) transferiu *Pleurothallis albopurpurea* Kraenzl. para *Pleurobotryum* e Pabst (1975), transferiu *Pleurothallis subulifolia* Kraenzl. para o mesmo gênero e excluiu dele *P. unguiculatum* (Hoehne) Hoehne sinonimizando-a com *Pleurothallis octophrys* Rchb. f.

A partir de 1978, Carlyle August Luer, deu início a uma série de publicações que apresentam sua proposta sistemática para Pleurothallidinae, na qual dividiu *Pleurothallis* em diversos subgêneros, seções e subseções, algumas destas similares às publicadas por Pabst & Dungs (1975). Luer (1986) propôs que *Pleurobotryum* fosse considerado subgênero de *Pleurothallis*, aceitando sete das oito espécies propostas para o gênero até então, à exceção de *Pleurothallis octophrys* Kraenzl. (sinônimo de *Pleurothallis unguiculata* Hoehne) que Luer (1986) considerou membro de *Pleurothallis* subgen. *Acianthera* sect. *Tomentosae* Luer. Desde então, Luer vem publicando novos tratamentos taxonômicos baseados na morfologia e/ou combinando a morfologia às mais recentes propostas filogenéticas para muitos desses grupos.

A partir de 2004 Luer vem elevando à categoria de gênero todos os subgêneros de *Pleurothallis* criados anteriormente por ele próprio, bem como restabelecendo todos aqueles que havia subordinado a gêneros anteriormente existentes (e.g. Luer 2004, 2006).

Chiron & Van den Berg (2012) ao proporem a inclusão de *Pleurobotryum* em *Acianthera* consideraram a seção composta por sete espécies.

Este trabalho teve por objetivo a revisão taxonômica de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. O trabalho consta de chaves de identificação para as espécies ocorrentes, que serão acompanhadas de descrições dos táxons, informações sobre material examinado, distribuição geográfica das espécies, características taxonômicas, bibliografia correspondente e ilustração de parte do material.

Material e métodos

O trabalho teve início com o levantamento da coleção de exsicatas depositadas nos seguintes herbários: Herbário do Museu Botânico Municipal (MBM), Herbário do Estado “Maria Eneyda P. Kauffmann Fidalgo” (SP), Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UPCB), Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC), Herbário Dimitri Sucre Benjamim (RB), Herbarium Bradeanum (HB), Herbário da Universidade Federal de Minas Gerais

(BHCB), Herbário do Museu Nacional (R), Herbário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (HCF), Herbário do Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (BAB), Herbário do Instituto de Botânica Darwinion (SI), além da análise de fototipos de materiais depositados nos seguintes herbários: Herbarium Biozentrum Klein-Flottbek (HBG), Herbário do Royal Botanical Gardens, Kew (K), Herbário do Jardim Botânico Nacional da Bélgica (BR) e Herbário do Swedish Museum of Natural History (S) (acrônimos de acordo com Thiers 2012).

A padronização morfológica das descrições seguiu os trabalhos de Radford *et al.* (1974) para estruturas em geral e de Dressler (1981) para estruturas específicas da família Orchidaceae.

As identificações das espécies foram feitas com base na bibliografia especializada e, quando possível, na análise de fotótipos de holótipos e isótipos. Eventualmente, foram utilizadas fotografias de outros autores, objetivando ilustrar os espécimes que não apresentaram flores no período deste trabalho; nestes casos, os créditos foram indicados por meio das seguintes legendas nas próprias fotos: L.F.V. = Luiz Filipe Varella; D.H.B. = Dalton Holland Baptista; C.R.M.S. = Carlos Roberto Martins da Silva.

Resultados e Discussão

Acianthera sect. *Pleurobotryae* Chiron & van den Berg \equiv *Pleurobotryum* Barb. Rodr., Genera et Species Orchidearum Novarum 1: 20. 1877 \equiv *Pleurothallis* sect. *Pleurobotryum* (Barb. Rodr.) Cogn., Flora Brasiliensis 3(4): 588. 1896 \equiv *Pleurothallis* subgen. *Pleurobotryum* (Barb. Rodr.) Luer, Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 20: 53. 1986. Tipo: *Pleurobotryum atropurpureum* Barb. Rodr.

Plantas epífitas, pendentes ou eretas. Cauloma filiforme, articulado. Folhas cilíndricas ou lateralmente compressas. Inflorescência em racemo. Sépalas laterais com base adnada ao pé do ginostêmio; labelo longamente unguiculado, articulado ao pé do ginostêmio; clinândrio com

margem ciliada; antera apical, unilocular; cavidade estigmática ventral; polínias 2, piriformes, lateralmente compressas.

Chave de identificação para as espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*

1. Folhas lateralmente compressas 2. *A. crepiniana*

1. Folhas cilíndricas.

2. Plantas eretas, com até 12 cm alt.; flores amarelas a alaranjadas estriadas de castanho-vinoso 4. *A. mantiquyrana*

2. Plantas pendentes, com mais de 12 cm alt.; flores predominantemente verdes, castanhas ou vinosas.

3. Flores verdes ou castanhas pontilhadas de vinoso; sépalas suberetas com ápice tenuemente reflexo; sépala dorsal aderente às sépalas laterais 3. *A. hatschbachii*

3. Flores vinosas; sépalas eretas com ápice tenuemente inflexo; sépala dorsal livre das sépalas laterais 1. *A. atropurpurea*

1. *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg, *Richardiana* 12(2): 72. 2012 ≡

Pleurobotryum atropurpureum Barb. Rodr., *Genera et Species Orchidearum Novarum* 1: 27.

1877 ≡ *Pleurothallis atropurpurea* (Barb. Rodr.) Cogn., *Flora Brasiliensis* 3(4): 588. 1896. Tipo:

BRASIL. MINAS GERAIS: Poços de Caldas, *J. Barbosa Rodrigues s.n.* (holótipo RB, perdido;

lectótipo aqui designado: tab. 154 do vol. 3 da *Iconographie des Orchidées du Brésil*, depositada em RB e reproduzida por Springer (1996, p. 201).

= *Pleurothallis teretifolia* Rolfe, *The Gardeners' Chronicle & Agricultural Gazette* series 3, 12:

521. 1892. Tipo: BRASIL. PERNAMBUCO (?): Caldas, *Charlesworth s.n.*, X-1882 (holótipo

K000294042, foto K!).

Figuras 1 B, 3 A.

Planta epífita, pendente, cespitosa, 25,0-34,0 cm alt. Rizoma cilíndrico, articulado, ca. 0,9 cm compr., 0,2 cm diâm. Cauloma 8,2-13,1 cm compr., ca. 0,2 cm diâm., pendente, ligeiramente arqueado, 4-5-articulado, parcialmente revestido por 4-5 bainhas tubulosas que se fragmentam na maturidade. Folha 8,4-11,4 cm compr., 0,1-0,3 cm larg. Verde-escuro, ereta ou subereta, cilíndrica, coriácea, séssil, ápice agudo, base atenuada. Inflorescência arqueada, com 3-6 flores sucessivas, ca. 6,0 cm compr.; pedúnculo ca. 1,6 cm compr., filiforme, bráctea floral ca. 0,3 cm compr., estramínea, tubulosa, ápice obliquamente truncado. Flores vinosas; pedicelo ca. 0,2 cm compr., filiforme; ovário ca. 0,2 cm compr., articulado ao pedicelo, piriforme, pubescente, 6-costado; sépala dorsal 0,9-1,0 cm compr., 0,3-0,4 cm larg., carnosa, ereta, estreitamente elíptica, 3-nervada, pubescente, aderente às sépalas laterais quase até o ápice, ápice agudo, tenuemente inflexo; sépalas laterais coalescentes na base até 1/3 do comprimento, carnosas, eretas, estreitamente elípticas, 3-nervadas, pubescentes, ápice agudo, inflexo; pétalas ca. 0,4 cm compr., 0,1 cm larg., carnosas, eretas, espatuladas, 1-nervadas, ápice apiculado; labelo longamente unguiculado, ca. 0,5 cm compr., 0,2 cm larg., vinoso, membranáceo, subereto, unguículo ca. 0,2 cm compr., base 2-auriculada, lâmina ca. 0,3 cm compr., 0,2 cm larg., estreitamente elíptica, 3-nervada, ápice arredondado, base truncada, margem inteira. Ginostêmio ca. 0,4 cm compr., subclaviforme, delgado, encurvado, pubescente.

Material examinado: BRASIL. MINAS GERAIS: Caldas, 20-IV-1929, *A.J. Sampaio s.n.* (R20344); Carangola, 16-III-1997, *L.S. Leoni & A. Toscano de Brito 3653* (HB); Caxambú, 22-IV-1948, *E. Dantas 8* (RB); Oliveira, 5-VI-2003, *E. Tameirão Neto 3579* (BHCB); Paraisópolis, 23-IV-1927, *F.C. Hoehne s.n.* (SP19167); São Tomé das Letras, VII-1950, *A.C. Brade 20590* (RB). SÃO PAULO: Botucatu, 29-I-1973, *A. Amaral Jr. 782* (SP); Campos do Jordão, X-1937, *P.C. Porto 3399* (RB).

Acianthera atropurpurea é a única espécie da sect. *Pleurobotryae* que apresenta flores purpúreas que não se abrem completamente. Embora seja uma espécie de fácil identificação e de pouca variação na morfologia floral e no colorido de suas flores, alguns equívocos na identificação desta espécie foram encontrados. Correa (1975) cita a espécie para a Argentina, porém o exame da

descrição bem como dos materiais citados mostra que os táxons pertencem a *A. hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg, embora a autora faça, posteriormente, a retificação deste equívoco (Correa 1975), o erro se perpetuou até os dias de hoje como observado na identificação de alguns materiais depositados nos herbários da Argentina. Outro provável equívoco ocorre com *P. teretifolia* Rolfe, em que o autor indica o Estado de Pernambuco, município de Caldas, local que com esta designação, não foi localizado, porém há materiais coletados por A. J. Sampaio no município de Caldas no estado de Minas Gerais. É interessante lembrar que neste período era comum os coletores indicarem outras regiões de coleta a fim de preservar a espécie para possíveis coletas futuras. Como nenhum outro material foi encontrado com indicação de coleta no Estado de Pernambuco, esta localização foi descartada da distribuição geográfica da espécie.

A espécie ocorre preferencialmente em regiões serranas de Mata Atlântica no Sudoeste e Sul do Estado de Minas Gerais e Nordeste e Centro Sul do Estado de São Paulo entre 950 e 1.600 m de altitude (figura 4).

2. *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg, Richardiana 12(2): 73. 2012 ≡ *Pleurothallis crepiniana* Cogn., Flora Brasiliensis 3(4): 542. 1896 ≡ *Pleurobotryum crepinianum* (Cogn.) Hoehne, Boletim do Museu Nacional de Rio de Janeiro, Botânica 12(2): 28. 1936. Tipo: BRASIL. MINAS GERAIS: Caldas, Ribeirão dos Bugres, *Lindberg 516* (BR6585013, foto BR!). = *Pleurothallis albopurpurea* Kraenzl., Arkiv för Botanik 16(8): 11. 1920. Tipo: BRASIL.

PARANÁ: Serrinha, *Dusén 8516*. (holótipo S, foto S!; isótipos HBG 500467, HBG 501874, fotos HBG!, K000584051, foto K!) ≡ *Pleurobotryum albopurpureum* (Kraenzl.) Garay. Arch. do Jardim Bot. Rio de Janeiro 12: 170. 1952 ≡ *Acianthera albopurpurea* (Kraenzl.) Chiron & van den Berg, Richardiana 12(2): 73. 2012. **synon. nov.**

Figuras 1 A, C, D; 3 B, E.

Planta epífita, ereta, cespitosa, 5,5-15 cm alt. Rizoma cilíndrico, articulado, ca. 1,1 cm compr., 0,2 cm diâm. Cauloma 2,5-8,8 cm compr., ca. 0,1 cm diâm., ereto ou subereto, ligeiramente

arqueado, 3-4-articulado, totalmente revestido por 3-4 bainhas tubulosas que se fragmentam na maturidade. Folha 2,7-6,5 cm compr. 0,5-0,9 cm larg., verde-escura, ereta ou subereta, lateralmente compressa, carnosa, séssil, sulcada na base, ápice agudo, base atenuada. Inflorescência ereta, com 5-10 flores simultâneas; pedúnculo 0,6-0,9 cm compr., filiforme, bráctea floral ca. 0,3 cm compr., estramínea, tubulosa, ápice obliquamente truncado. Flores rosadas, verdes ou castanhas, estriadas ou pontilhadas de vinoso; pedicelo ca. 0,1 cm compr., filiforme; ovário ca. 0,3 cm compr., articulado ao pedicelo, obcônico, pubérulo, 6-costado; sépala dorsal 0,5-0,7 cm compr., ca. 0,2 cm larg., carnosa, subpatente, estreitamente elíptica, 3-nervada, pubescente na face externa, ápice agudo, nervuras vinosas; sépalas laterais coalescentes por todo o comprimento, carnosas, subpatentes, estreitamente elípticas, 3-nervadas, pubescentes na face externa, ápice agudo, nervuras vinosas; pétalas ca. 0,4 cm compr., 0,1 cm larg., membranáceas, eretas, estreitamente espatuladas, 1-nervadas, ápice agudo, nervuras vinosas; labelo longamente unguiculado, ca. 0,4 cm compr., 0,2 cm larg., vinoso, carnoso, subereto, unguículo ca. 0,2 cm compr., base provida de 2 projeções triangulares, lâmina ca. 0,2 cm compr., 0,2 cm larg., lunulada, 2-carenada, ápice arredondado, margem denticulada. Ginostêmio ca. 0,4 cm compr., subcilíndrico, delgado, encurvado, glabro.

Material examinado: BRASIL. PARANÁ: Bocaiúva do Sul, 17-IX-1969, *C. Zoozicki s.n.*

(MBM12528); Campina Grande do Sul, 18-VIII-1966, *G. Hatscbach 14609* (MBM); idem, 7-IX-1966, *J.M. Silva et al. 1962* (MBM); Campo Largo, 18-IX-1949, *G. Hatscbach 1559* (MBM); Carneiro, 18-X-1966, *G. Hatscbach 14978* (MBM); Curitiba, 5-X-1909, *R. Lange 8516* (MBM); Itaperussú, 28-VII-1909, *P. Dusén s.n.* (MBM136709); Lapa, 10-X-2010, *E.C. Smidt 994* (UPCB); Piraquara, 8-X-1946, *G. Hatscbach 502* (MBM, RB); São José dos Pinhais, 12-X-1966, *G. Hatscbach 14835* (MBM, UP CB); Tijucas do Sul, 21-X-1977, *G. Hatscbach 40252* (MBM); Tunas do Paraná, 5-I-2006, *J.M.Silva et al. 4570* (MBM); Turvo, 18-X-2009; *M.G. Caxambu s.n.* (HCF8342); *sine loco*, 5-X-1910, *R. Lange 8517* (MBM). SÃO PAULO: Apiaí, 25-VIII-1939, *M. Kuhlmann s.n.* (SP41462); Campos do Jordão, 18-X-1923, *F.C. Hoehne s.n.* (SP14595); Itararé, 5-IX-2006, *F. Barros s.n.* (SP401805).

As flores de *Acianthera crepiniana* são muito variáveis no colorido o que provavelmente levou Kraenzlin (1920) a descrever *Pleurothallis albopurpurea* como espécie autônoma. No entanto, a análise do holótipo e da coleção de isótipos de *P. albopurpurea* não deixa dúvidas de que este nome seja sinônimo de *A. crepiniana* Cogn. Apesar dessa variação, é possível distinguir três padrões de colorido nas flores de *A. crepiniana*, flores castanhas com máculas vinosas que se enquadram na descrição de Cogniaux (1893-1896), flores róseas com máculas purpúreas, que se enquadram na descrição de *Pleurothallis albopurpurea* Kraenzl., e flores totalmente verdes, desprovidas de máculas, estas últimas presente em plantas só encontradas, até o momento, no Estado do Paraná. Embora a variação de colorido não seja suficiente para delimitação de espécies autônomas, seria possível estabelecer aqui três formas distintas.

A espécie ocorre na Mata Atlântica da região Sul do Estado de Minas Gerais, extremo Nordeste e Sul do Estado de São Paulo, nos municípios de Campos do Jordão, Apiaí e Itararé e Sudoeste do Estado do Paraná onde, aparentemente, é mais abundante. Espécie preferencialmente encontrada em regiões serranas em altitudes variando de 760 a 1.600 m (Figura 5). Há relatos da ocorrência desta espécie no Rio Grande do Sul (Giehl 2012), porém nenhum material dessa região foi encontrado nos herbários consultados.

3. *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg, Richardiana 12(2): 73. 2012 ≡ *Pleurothallis hatschbachii* Schltr., Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis 23: 38. 1926 ≡ *Pleurobotryum hatschbachii* (Schltr.) Hoehne, Boletim do Museu Nacional de Rio de Janeiro, Botânica 12(2): 28. 1936. Tipo: BRASIL. PARANÁ: próximo a Curitiba, *A. Hatschbach* 5 (B, destruído).

Figuras 2 A, B; 3 C, D.

Planta epífita, pendente, cespitosa, 25-34 cm alt. Rizoma cilíndrico, articulado, ca. 1,2 cm compr., 0,3 cm diâm. Cauloma 11,2-21,8 cm compr., 0,1-0,2 cm diâm., ligeiramente arqueado, 3-5-articulado, parcialmente revestido por 3-5 bainhas tubulosas que se fragmentam na maturidade.

Folha 9,1-15,4 cm compr., 0,2-0,3 cm larg., verde-escuro, ereta ou subereta, cilíndrica, séssil, ápice agudo, base atenuada. Inflorescência arqueada, com 3-7 flores sucessivas, 8,5-13,0 cm compr.; pedúnculo 0,6-1,9 cm compr., filiforme; bráctea floral ca. 0,3 cm compr., estamínea, tubulosa, ápice obliquamente truncado. Flores verdes ou castanhas, pontilhadas de vinoso; pedicelo ca. 0,2 cm compr., filiforme; ovário ca. 0,2 cm compr., articulado ao pedicelo, cilíndrico, glabro; sépala dorsal 0,9-1,0 cm compr., 0,3-0,4 cm larg., carnosa, subereta, estreitamente elíptica, 3-nervada, glabra, ápice agudo, tenuemente reflexo; sépalas laterais coalescentes por todo o comprimento, carnosas, suberetas, estreitamente elípticas, 3-nervadas, glabras, ápice agudo, tenuemente reflexo; pétalas ca. 0,4 cm compr., 0,1 cm larg., carnosas, eretas, estreitamente espatuladas, ligeiramente assimétricas, 1-nervadas, ápice agudo; labelo longamente unguiculado, ca. 0,4 cm compr., 0,1 cm larg., verde, carnoso, subereto, unguículo ca. 0,2 cm compr., base 2-auriculada, lâmina ca. 0,2 cm compr., 0,2 cm larg., hemi-elíptica, 3-nervada, ápice arredondado, base truncada, margem inteira. Ginostêmio ca. 0,4 cm compr., subclaviforme, delgado, encurvado, glabro.

Material examinado: ARGENTINA. FORMOSA: General Manoel Belgrano, 15-X-1996, *O.N.*

Degiani et al. 1459 (SI); idem, 15-X-1996, *O. Morrone 1459* (SI). MISIONES: Cainguás, 19-IX-1990, *A.E. Johnson 109* (SI); Guarani, 22-VIII-1972, *B. Piccinini & R. Cirino 2296* (SI); San Pedro, 9-IV-1995, *A.E. Johnson 549* (SI). BRASIL. PARANÁ: Curitiba, 23-IX-1935, *G. Hatschbach s.n.* (SP33360); idem, 5-X-1929, *F.C. Hoehne s.n.* (SP24367); idem, 11-X-1952, *G. Hatschbach 2768* (MBM); idem, 9-X-1903, *P. Dusén 2263* (R); Guarapuava, 26-IX-1968, *G. Hatschbach 19856* (MBM); Ipiranga, 8-X-1969, *G. Hatschbach 22395* (MBM); Irati, 30-IX-1972, *P. Carvalho 38* (MBM); Mangueirinha, 14-XII-1966, *G. Hatschbach 15470* (MBM); Ponta Grossa, 25-IX-2006, *A. Bonnet 94095* (UPCB); São João do Triunfo, 7-XI-1967, *G. Hatschbach 17720* (MBM); São Mateus do Sul, 30-IX-1969 *G. Hatschbach 22279* (MBM); Palmas, 10-XI-2005, *J.M. Silva & C.B. Poliquesi 4455* (MBM); Rio Negro, 23-X-1928, *F.C. Hoehne s.n.* (SP23150); idem, IX-1945, *M. Witte s.n.* (SP53082); Turvo, 27-XI-2009, *M.G. Caxambu & L. Siqueira 2812* (MBM); sine loco, 16-X-1909, *R. Lange 4043* (MBM)

Acianthera hatschbachii assemelha-se a *A. atropurpurea* no hábito, mas pode ser facilmente distinguida desta por apresentar flores glabras, verdes ou acastanhadas pontilhadas de vinoso, que se abrem completamente; já *A. atropurpurea* apresenta flores pubescentes, purpúreas, que nunca se abrem completamente. Estas espécies também podem ser distinguidas pela distribuição geográfica uma vez que *A. atropurpurea* ocorre nos Estados de Minas Gerais e São Paulo enquanto *Acianthera hatschbachii* ocorre no Estado do Paraná e na Argentina.

A espécie ocorre em regiões serranas e em planícies, entre 100 e 920 m de altitude, na Mata Atlântica do centro-sul e sudoeste do Estado do Paraná, alcançando o extremo nordeste da Argentina, sendo encontrada, neste último país, em fragmentos de Mata Atlântica na Província de Misiones e Formosa (figura 6).

4. *Acianthera mantiquyrana* (Barb Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros, *comb. nov.*

Basiônimo: *Pleurothallis mantiquyrana* Barb. Rodr., *Genera et Species Orchidearum Novarum* 2: 14. 1881. Tipo: BRASIL. MINAS GERAIS: Rio das Mortes, *J. Barbosa-Rodrigues s.n.* (holótipo RB, perdido; lectótipo aqui designado: tab.143, fig. B do v. 3 da *Iconographie des Orchidées du Brésil*, depositada em RB e reproduzida por Sprunger (1996, p. 201) ≡ *Pleurobotryum mantiquyrinum* (Barb. Rodr.) Hoehne, *Boletim do Museu Nacional do Rio de Janeiro, Botânica* 12(2): 28. 1936.

= *Pleurothallis subulifolia* Kraenzl., *Orchis* 2(8): 91. 1908. Tipo: BRASIL. RIO DE JANEIRO:

Petrópolis, *Ida Brandt s.n.* (holótipo HBG, foto HBG!) ≡ *Pleurobotryum subulifolium* (Krzl.)

Pabst, *Orchidaceae Brasiliensis* 1: 166. 1975 ≡ *Acianthera subulifolia* (Krzl.) Chiron & van den Berg, *Richardiana* 12(2): 73. 2012. **synon. nov.**

= *Pleurothallis rhabdosepala* Schltr., *Notizblatt des Botanischen Gartens und Museums zu Berlin-*

Dahlem 7: 276. 1918 ≡ *Pleurobotryum rhabdosepalum* (Schltr.) Hoehne, *Boletim do Museu*

Nacional de Rio de Janeiro, *Botânica* 12(2): 28. 1936 ≡ *Acianthera rhabdosepala* (Schltr.)

Chiron & van den Berg, *Richardiana* 12(2): 73. 2012. Tipo: [BRASIL]. Sul do Brasil.

Grossmann s.n. (holótipo RB, perdido; lectótipo aqui designado: tab 35, fig. Nr. 140 *In*: R. Mansfeld (ed.) Blütenanalysen neuer Orchideen von R. Schlechter. I. Südamerikanische Orchideen, Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis 58 (Beihefte): tab. 35, fig. 140. 1930). *synon. nov.*

Figuras 2 C-D; 3 F.

Planta epífita, ereta, cespitosa, (4,0-)6,5-12 cm alt. Rizoma cilíndrico, articulado, 0,8-1,2 cm compr., ca. 0,2 cm diâm. Cauloma (1,0-)2,2-5,0 cm compr., ca. 0,1 cm diâm., ereto ou subereto, ligeiramente arqueado, 3-articulado, parcialmente revestido por 3 bainhas tubulosas. Folha (1,8-)3,4-5,2 cm compr. 0,1-0,2 cm larg., verde-escura, raro avermelhada, ereta ou subereta, cilíndrica, sulcada na nervura central, séssil, ápice agudo, base atenuada. Inflorescência ereta, com 2-5 flores simultâneas; pedúnculo 1,3-2,9 cm compr., filiforme, bráctea floral ca. 0,2 cm compr., estramínea, tubulosa, ápice obliquamente truncado. Flores amarelas ou alaranjadas com estrias castanho-vinosas; pedicelo ca. 0,3 cm compr., filiforme; ovário ca. 0,2 cm compr., articulado ao pedicelo, obcônico, glabro, 6-costado; sépala dorsal 0,5-0,7 cm compr., ca. 0,2 cm larg., membranácea, subereta, estreitamente elíptica, 3-nervada, ápice agudo, tenuemente reflexo, nervuras primárias castanho-vinosas; sépalas laterais coalescentes por 1/2 do comprimento ou até por toda a extensão, membranáceas, suberetas, estreitamente elípticas, 3-nervadas, ápice agudo, tenuemente reflexo, nervuras castanho-vinosas; pétalas 0,3-0,4 cm compr., ca. 0,1 cm larg., membranáceas, suberetas, estreitamente oblanceoladas, 1-nervadas, ápice agudo, nervuras castanho-vinosas; labelo longamente unguiculado, ca. 0,4 cm compr., 0,1 cm larg., amarelado, membranáceo, ereto, unguículo ca. 0,2 cm compr., base 2-auriculada, lâmina ca. 0,2 cm compr., 0,1 cm larg., hemielíptica, 3-nervada, ápice arredondado, base truncada, margem inteira. Ginostêmio 0,3-0,4 cm compr., subcilíndrico, delgado, encurvado, glabro.

Material examinado: ARGENTINA. MISIONES: Apóstoles, 29-XI-1943, A. *Burkart* 14343 (SI).

SALTA: Santa Victória, 2-IX-1997, A.E. *Jhonson* 773 (SI). BRASIL. MINAS GERAIS: Monte Verde, 15-VIII-1963, A. *Ghillany* 142 (HB). PARANÁ: Castro, 29-VII-1966, G. *Hatschbach* 14548 (MBM,

UEC, UPCB); Ponta Grossa, 28-VIII-1939, *M. Kuhlmann s.n.* (SP41552). SÃO PAULO: Bragança Paulista, 18-VII-1910, *A.P. Duarte s.n.* (SP22495); Campos do Jordão, 14-IX-1923, *F.C. Hoehne s.n.* (SP8670); Cotia, 9-IX-1926, *F.C. Hoehne s.n.* (SP17273); São João da Boa Vista, s.d., *A. Loefgren CGGSP2600* (SP); São Paulo, 28-XIII-1921, *A. Gehrt s.n.* (SP5774); idem, 1-IX-1937, *O. Handro s.n.* (SP47571), Pilar, 24-VIII-1939, *M. Kuhlmann s.n.* (SP41510).

Ao descrever *Pleurothallis subulifolia*, Kraenzlin (1908) comparou-a com *Pleurothallis teretifolia* Rolfe e *Pleurothallis atropurpurea* (Barb. Rodr.) Cogn., fazendo alusão ao labelo longamente unguiculado, característica comum entre as três. Além das características morfológicas o autor distinguiu *P. subulifolia* Kraenzl. por sua distribuição geográfica, afirmando que esta ocorreria em Petrópolis (Rio de Janeiro) enquanto as demais, nos Estados de Pernambuco e Minas Gerais. A análise do fototipo [*Ida Brandt s.n.* (HBG501911)] e da descrição taxonômica indicam que este nome é sinônimo de *Acianthera mantiquyrana*. Ambas possuem flores morfológicamente semelhantes tanto no tamanho e colorido quanto na forma dos segmentos do perianto. *Acianthera mantiquyrana* é a espécie de maior distribuição geográfica na seção *Pleurobotryae*, ocorrendo preferencialmente em áreas a 500 - 2.000 m de altitude, não sendo incomum, portanto, que seja encontrada na região serrana do Estado do Rio de Janeiro como afirmou Kraenzlin (1908) para *Pleurothallis subulifolia*.

Hoehne (1929) comentou que *Pleurothallis rhabdosepala* Schltr. parece ser apenas uma forma de locais mais expostos ao sol, enquanto *P. mantiquyrana* prefere áreas de mata sombria. Schlechter (1918) distinguiu *P. rhabdosepala* de *P. mantiquyrana* pelo tamanho das plantas, pois a primeira seria bem menor (até 7 cm alt.). As características florais são frágeis para delimitação de *P. rhabdosepala* como espécie autônoma, assim como a distribuição geográfica, pois embora de acordo com Schlechter (1918), *P. rhabdosepala* seria endêmica do Sul do Brasil, plantas com o mesmo porte são encontradas em regiões da Serra da Mantiqueira, em Campos do Jordão (SP) e no sul do Estado de Minas Gerais, área de ocorrência de *P. mantiquyrana*. Os materiais analisados provenientes do Sul do Brasil frequentemente excedem o tamanho indicado por Schlechter (1918),

o que parece indicar que a espécie apresenta variação no tamanho das plantas em resposta a pressões ambientais, o que impossibilita o uso do tamanho como base para separação dessas duas espécies.

Dentre as espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*, esta é a que apresenta maior distribuição geográfica, ocorrendo na Mata Atlântica no Sudoeste do Estado do Rio de Janeiro, Sudeste e Sul do Estado de Minas Gerais, Nordeste, Leste e Sudoeste do Estado de São Paulo, Leste do Estado do Paraná e extremo Nordeste da Argentina. Há relatos da ocorrência desta espécie no Município de Santa Maria no Estado do Rio Grande do Sul (Giehl 2012), porém nenhum material de herbário foi encontrado para esta localidade (figura7).

Das nove espécies atribuídas ao gênero *Pleurobotryum* ou relacionadas a ele, hoje parcialmente alocadas em *Acianthera* sect. *Pleurobotryae* [*Pleurobotryum atropurpureum* Barb. Rodr., *P. mantiquyranum* (Brab. Rodr.) Hoehne, *P. rhabdosepalum* (Schltr.) Hoehne, *P. subulifolium* (Kraenzl.) Pabst, *P. crepinianum* (Cogn.) Hoehne, *P. albopurpureum* (Kraenzl.) Garay., *P. hatschbachii* (Schltr.) Hoehne, *P. unguiculatum* (Hoehne) Hoehne e *Pleurothallis teretifolia* Rolfe] apenas quatro podem ser claramente diferenciadas sendo os demais nomes sinônimos de espécies já conhecidas, ou não pertencem a esta seção como é o caso de *P. unguiculatum*. O levantamento dos exemplares nos herbários consultados mostra que essa seção não é endêmica do Brasil como apontado anteriormente por diversos autores (Barros *et al.* 2009, 2010, Pabst & Dungs 1975), bem como amplia o conhecimento sobre sua distribuição no território nacional. A escassez de materiais depositados nos herbários sugere que as espécies do gênero são raras na natureza e maiores estudos devem ser feitos a fim de averiguar seus reais status de conservação, uma vez que nenhuma delas está relacionada em listas de espécies vegetais ameaçadas e, no entanto, entre todos os materiais examinados apenas um exemplar foi coletado no séc XXI.

Literatura citada

- Barbosa-Rodrigues, J.** 1877. Genera et Species Orchidearum Novarum, v. 1. C. et H. Fleiuss, Rio de Janeiro.
- Barros, F., Rodrigues, V.T. & Batista, J.A.N.** 2009. Orchidaceae. *In*: J.R. Stehmann, R.C. Forzza, A. Salino, M. Sobral, D.P. Costa & L.H.Y. Kamino (orgs.). Plantas da Floresta Atlântica. Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, pp. 372-403.
- Barros, F., Rodrigues, V.T., Vinhos, F., Barberena, F.F.V.A. & Fraga, C.N.** 2010. Orchidaceae. *In*: R.C. Forzza *et al.* (orgs.). Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 2, pp. 1344-1426.
- Chiron, G.R. & van den Berg, C.** 2012. Révision taxonomique du genre *Acianthera* (Orchidaceae, Pleurothallidinae). *Richardiana* 12: 59-77.
- Chiron, G.R., Guiard, J. & van den Berg, C.** 2012. Phylogenetic relations in Brazilian *Pleurothallis sensu lato* (Pleurothallidinae, Orchidaceae): evidence from nuclear ITS rDNA sequences. *Phytotaxa* 46: 34-58.
- Correa, M.N.** 1975. Notas orquidológicas II. Cuatro géneros de Orchidaceae nuevos para la Flora Argentina. *Darwiniana* 19: 345-356.
- Cogniaux, A.** 1893-1896. Orchidaceae. *In*: C.F.P. Martius, A.G. Eichler & I. Urban (eds.). Flora Brasiliensis. Fried. Fleischer, Monachii, v. 3, pars 4, pp. 1-672.
- Giehl, E.L.M.** 2012. Flora digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina.
<http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/>. (acesso em: 30.03.2013).
- Hoehne, F.C.** 1929. Contribuição para a flora orquidológica brasílica. *Archivos do Instituto Biológico de Defesa Agrícola e Animal* 2: 5-52.
- Hoehne, F.C.** 1936. Orchidaceas dos Herbarios de Alexandre Curt Brade e do Museu Nacional. *Boletim do Museu Nacional* 12: 1-37.
- Kraenzlin, F.** 1908. Neue und kritische Arten. *Orchis* 7: 89-92.
- Kraenzlin, F.** 1920. Orchidaceae Dusenianae Novae. *Arkiv för Botanik* 16: 1-30.

- Luer, C.A.** 1986. *Icones Pleurothallidarum I. Systematics of the Pleurothallidinae (Orchidaceae)*. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, v. 15. Missouri Botanical Garden, Saint Louis.
- Luer, C.A.** 2004. *Icones Pleurothallidarum XXVI. Pleurothallis subgenus *Acianthera* and three allied subgenera. A second century of new species of *Stelis* of Ecuador. *Epibator*, *Ophidion*, *Zootrophion**. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, v. 95. Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- Luer, C.A.** 2006. *Icones Pleurothallidarum XXVIII. A reconsideration of *Masdevallia*. Systematics of *Specklinia* and vegetatively similar taxa (Orchidaceae)*. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, v. 105. Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- Pabst, G.F.J. & Dungs, F.** 1975. *Orchidaceae Brasilienses v. 1*. Kurt Schmiersow, Hildesheim.
- Pridgeon, A.M. & Chase, M.W.** 2001. A phylogenetic reclassification of the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *Lindleyana* 16: 235-271.
- Radford, E.A., Dickison, W.C., Massey, J.R. & Bell, C.** 1974. *Vascular plant systematics*. Haper & Row, New York.
- Rolfe, R.A.** 1892. New and noteworthy plants. *The Gardener's Chronicle*, series 3, 12: 521.
- Schlechter, R.** 1918. *Orchidaceae novae, in caldaris Horti Dahlemensis cultae*. *Notizblatt des Botanischen Gartens und Museums zu Berlin-Dahlem* 7: 268-280.
- Sprunger, S.** (ed.) 1996. *João Barbosa Rodrigues - Iconographie des orchidées du Brésil. v. 1: The illustrations*. Friedrich Reinhardt, Basle.
- Thiers, B.** 2012 [continuously updated]. *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/>. (acesso em 25.03.2013).

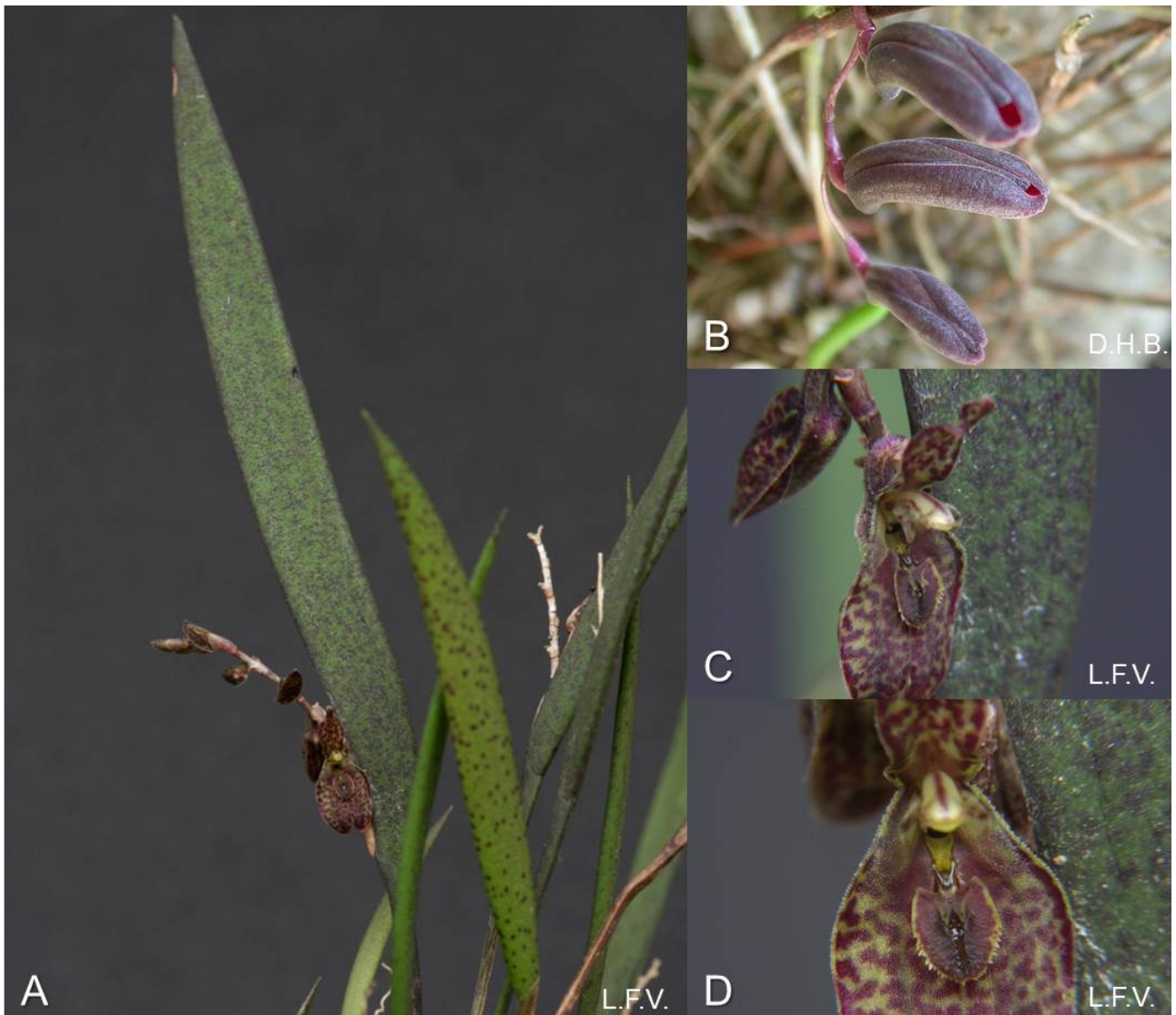


Figura 1. Fotografias de espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg: detalhe da inflorescência e folhas lateralmente compressas. B. *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg: detalhe da inflorescência. C. *Acianthera crepiniana*: flor em vista lateral evidenciando a face externa das sépalas pubescentes e a face interna glabra. D. *A. crepiniana*: detalhe da flor evidenciando o labelo com margem denticulada.

Figure 1. Photos of species of *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg: details from the inflorescence and the laterally flattened leaves. B. *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg: detail of the inflorescence. C. *Acianthera crepiniana*: flower, side view showing the pubescent external surface and the glabrous internal face. D. *A. crepiniana*: detail of the flower showing the lip with denticulate margin.



Figura 2. Fotografias de espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg: detalhe da inflorescência e das folhas cilíndricas. B. *Acianthera hatschbachii*: vista diagonal das flores. C. *Acianthera mantiqyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros: vista lateral da inflorescência. D. *Acianthera mantiqyrana*: flor em vista frontal.

Figure 2. Photos of species of *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg: details from the inflorescence and the cylindrical leaves. B. *Acianthera hatschbachii*: flowers oblique view. C. *Acianthera mantiqyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros: side view of the inflorescence. D. *Acianthera mantiqyrana*: flower frontal view.

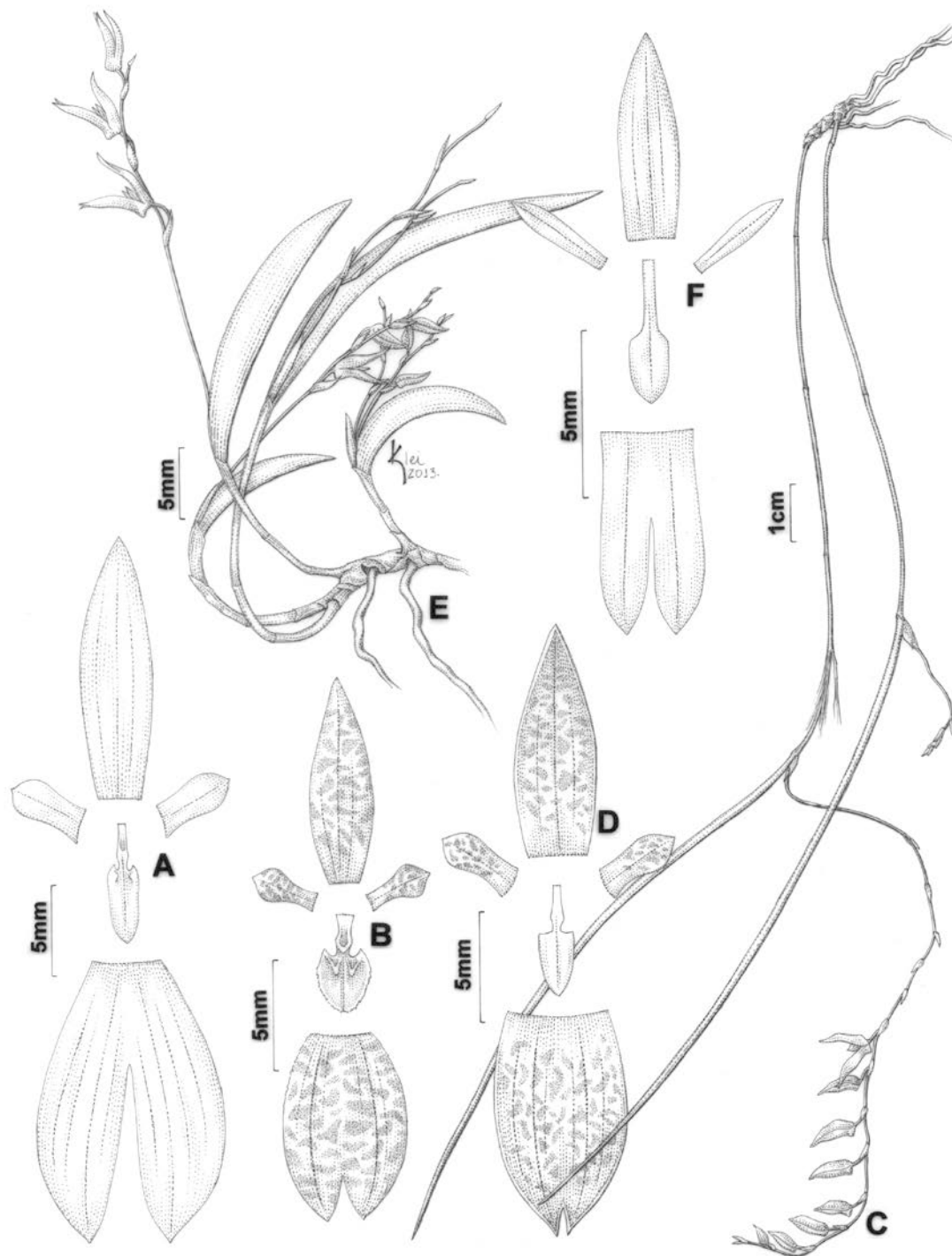


Figura 3. Ilustração das espécies de *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg: segmentos do perianto distendidos. B. *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg: segmentos do perianto distendidos. C. *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg: hábito. D. *Acianthera hatschbachii*: segmentos do perianto distendidos. E. *Acianthera crepiniana*: hábito. F. *Acianthera mantiquyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros: segmentos do perianto distendidos.

Figure 3. Illustrations of species of *Acianthera* sect. *Pleurobotryae*. A. *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg: distended perianth parts. B. *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg: distended perianth parts. C. *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg: general appearance. D. *Acianthera hatschbachii*: distended perianth parts. E. *Acianthera crepiniana*: general appearance. F. *Acianthera mantiquyrana* (Barb. Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros: distended perianth parts.

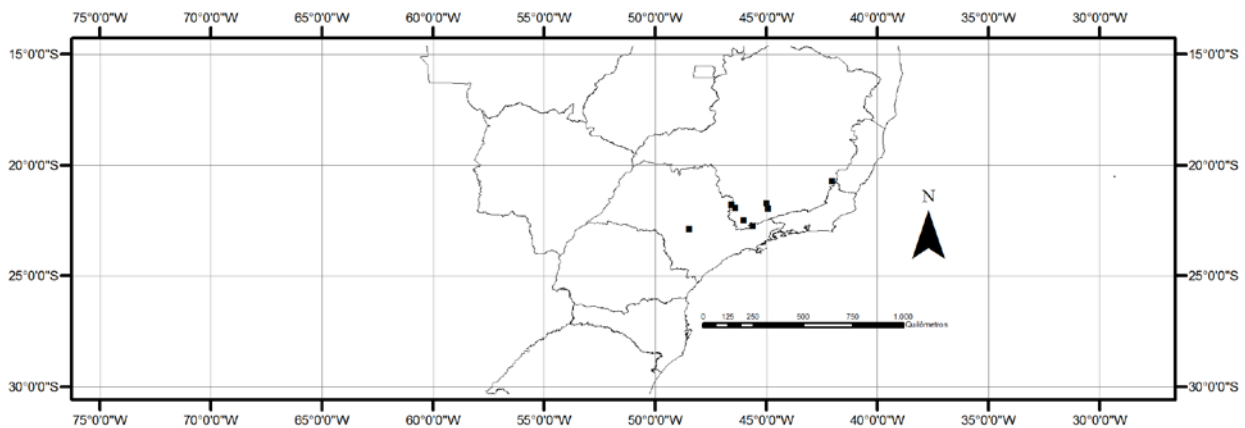


Figura 4. Distribuição geográfica de *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg baseada exclusivamente no levantamento de espécies depositadas nos herbários consultados.

Figure 4. Geographical distribution of *Acianthera atropurpurea* (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg based only in the examined herbarium plants.

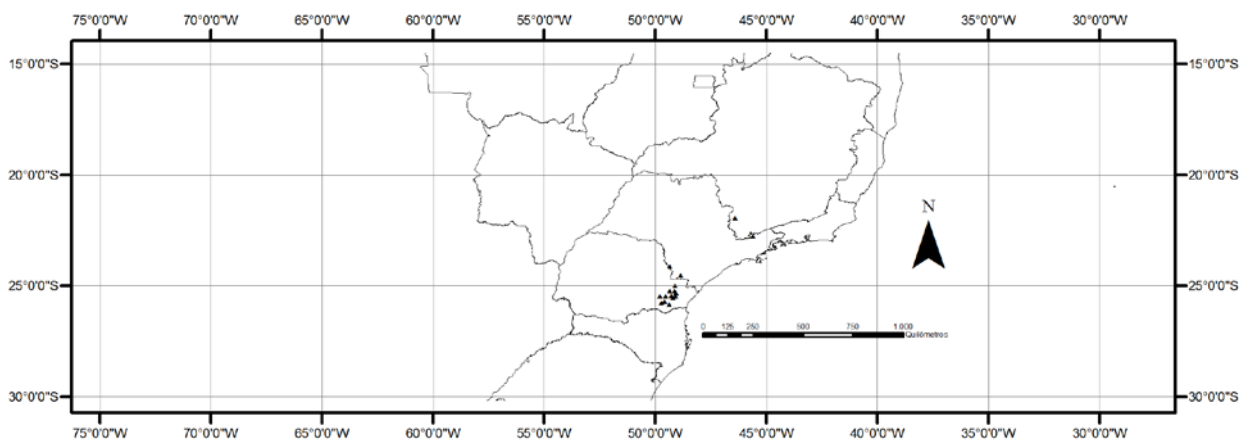


Figura 5. Distribuição geográfica de *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg baseada exclusivamente no levantamento de espécies depositadas nos herbários consultados.

Figure 5. Geographical distribution of *Acianthera crepiniana* (Cogn.) Chiron & van den Berg based only in the examined herbarium plants.

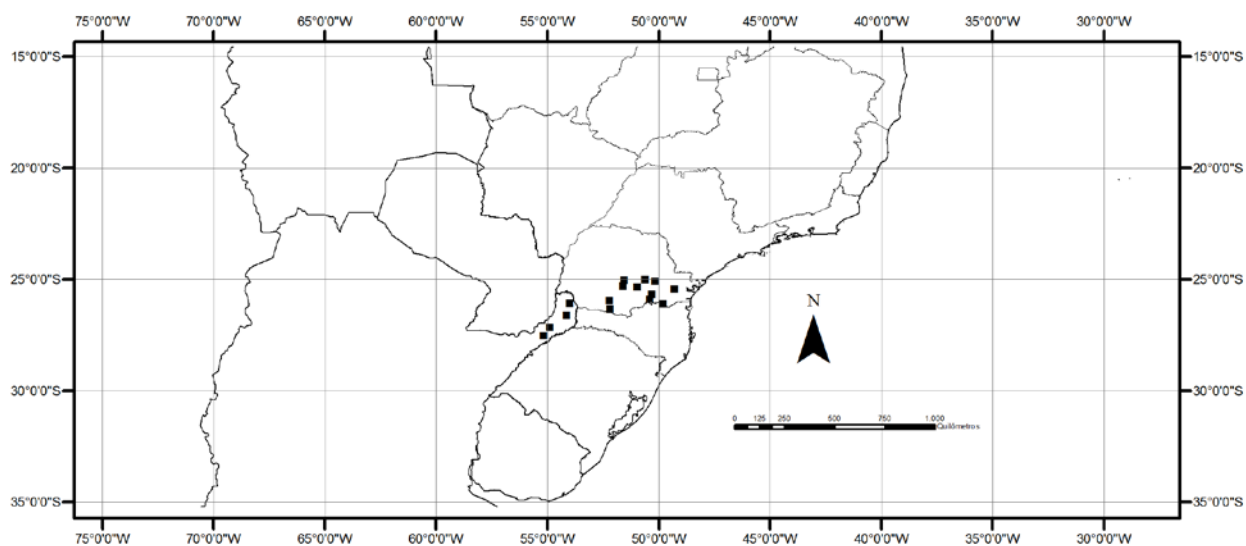


Figura 6. Distribuição geográfica de *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg baseada exclusivamente no levantamento de espécies depositadas nos herbários consultados.

Figure 6. Geographical distribution of *Acianthera hatschbachii* (Schltr.) Chiron & van den Berg based only in the examined herbarium plants.

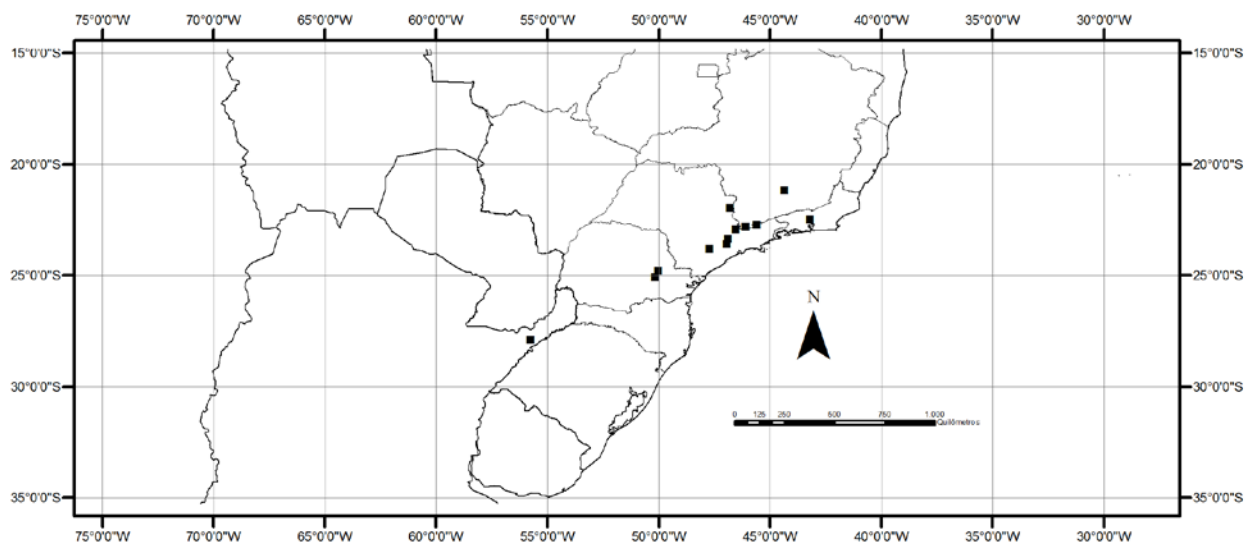


Figura 7. Distribuição geográfica de *Acianthera mantiquyrana* (Barb Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros baseada exclusivamente no levantamento de espécies depositadas nos herbários consultados.

Figure 7. Geographical distribution of *Acianthera mantiquyrana* (Barb Rodr.) V.T. Rodrigues & F. Barros based only in the examined herbarium plants.

Capítulo 3

Contribuição à citotaxonomia de *Acianthera* Scheidw.

Contribuição à citotaxonomia de *Acianthera* Scheidw.

Resumo: Pleurothallidinae compreende um número estimado de 4.100 espécies distribuídas em 36 gêneros, porém menos de 1% das suas espécies são cariologicamente conhecidas o que tem dificultado a interpretação das relações taxonômicas e filogenéticas entre diferentes gêneros e entre espécies de grandes gêneros da subtribo. Com relação ao gênero *Acianthera*, embora envolva cerca de 200 espécies, até 2005 possuía dados citogenéticos apenas para quatro espécies, todas com $2n = 40$. A escassez de informações sugeria, então, que não havia variação no número cromossômico em *Acianthera*, no entanto, em 2010, Oliveira apresentou novos números cromossômicos para o gênero evidenciando certa variação numérica. O presente trabalho consiste no levantamento bibliográfico de números cromossômicos conhecidos e na determinação do número cromossômico de 11 espécies de *Acianthera* objetivando relacionar a variabilidade do número cromossômico ao novo tratamento taxonômico para *Acianthera* que divide o gênero em dez seções.

Abstract: Pleurothallidinae comprises about 4,100 species in 36 genera, but less than 1% of the thier species are known regarding the number of chromosomes what has hampered the interpretation of the taxonomic and phylogenetic relationships among different genera and among species of large genera in the subtribe. Regarding *Acianthera*, although it involves about 200 species, by 2005 cytogenetic data are known for only four species, all of them with $2n = 40$. The scarcity of information suggested that there is little variation in chromosome number within *Acianthera*, however, in 2010, Oliveira presented new chromosome counts for the genus revealing some variation in number. This paper presents a literature survey of known chromosome numbers for *Acianthera*, and chromosome counts for 11 species of the genus, aiming to relate these numbers to the new taxonomic treatment for *Acianthera* that proposes the divison of the genus into ten sections

1. Introdução

Pleurothallidinae compreende um número estimado de 4.100 espécies distribuídas em 36 gêneros (Pridgeon *et al.* 2005), embora a subtribo seja responsável por cerca de 20% das espécies de toda a família Orchidaceae, menos de 1% das espécies de Pleurothallidinae são cariológicamente conhecidas o que tem dificultado a interpretação das relações taxonômicas e filogenéticas entre diferentes gêneros e entre espécies de grandes gêneros da subtribo, como *Pleurothallis* R. Br. e *Octomeria* R. Br., por exemplo. Com relação ao gênero *Acianthera*, embora ele envolva cerca de 200 espécies, até 2005 possuía dados citogenéticos apenas para quatro espécies: *Acianthera coffeicola* (Schltr.) Pridgeon & M.W. Chase, *Acianthera aurantiolateritia* (Speg.) Pridgeon & M.W. Chase, *Acianthera luteola* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase e *Acianthera teres* (Lindl.) Borba (identificada como *Pleurothallis teres* Lindl.), todas com $2n = 40$. (Stuessy 1990, Pridgeon *et al.* 2005). A escassez de informações sugeria que há pouca variação no número cromossômico em *Acianthera*, no entanto, Oliveira (2010) apresentou novos números cromossômicos para *Acianthera* (*A. modestissima* (Rchb. f. & Warm.) Pridgeon & M.W. Chase, $2n = 46$; *A. ochreatea* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase, $2n = 40$; *Acianthera* aff. *pubescens*, $2n = 28$; *A. recurva* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase, $2n = 40$; e *A. strupifolia* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase, $2n = 44$), evidenciando certa variação numérica no gênero.

O presente trabalho consiste na determinação do número cromossômico de 11 espécies de *Acianthera* objetivando relacionar a variabilidade cromossômica ao novo tratamento taxonômico para *Acianthera* que divide o gênero em dez seções (Chiron & van den Berg 2012) a fim de trazer subsídios para o entendimento das relações filogenéticas em *Acianthera*.

2. Material e métodos

O trabalho teve início com o levantamento bibliográfico dos números cromossômicos disponíveis na literatura, das espécies de *Pleurothallidinae* pertencentes a *Acianthera sensu* Chiron & van den Berg (2012); os resultados correspondentes são apresentados na tabela 1.

Exemplares de *Acianthera* foram coletados no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2012, em localidades previamente inventariadas em herbários como áreas potenciais de ocorrência das espécies, bem como através de coleções particulares, e mantidos em cultivo a fim de obter raízes para a análise citogenética. Estas espécies e seus respectivos números cromossômicos estão relacionados na tabela 2. Plantas não floridas durante o período de elaboração deste trabalho continuam sendo mantidas em cultivo objetivando obter, oportunamente, florações para elaboração dos *vouchers* que serão depositados no herbário SP. Foi organizada uma terceira tabela (tabela 3), com base em nossos próprios resultados e em dados compilados da literatura, correlacionando às seções de *Acianthera sensu* Chiron & van den Berg (2012). Quando possível, foi indicado o número cromossômico básico para a seção, que em geral correspondeu ao número mais freqüente.

Para as análises citogenéticas, foram coletadas raízes com cerca de três centímetros e submetidas ao pré-tratamento com 8-hidroxiquinoleína (0,002M) em geladeira durante 20-24 horas, sendo em seguida fixadas em Carnoy (3 etanol : 1ácido acético) por 24 a 48 horas e estocadas em freezer a -20 °C no próprio fixador, para posterior análise. Para o preparo das lâminas, as raízes foram lavadas três vezes em água destilada por cinco minutos, hidrolisadas em ácido clorídrico 5N por 20 a 30 minutos, novamente lavadas em água destilada por cinco minutos e o meristema esmagado em ácido acético 45%. As lâminas foram congeladas em nitrogênio líquido, para remoção da lamínula e, em seguida, coradas convencionalmente com Giemsa a 2% e montadas em Entellan.

Para a determinação ou confirmação do número cromossômico foram analisadas um mínimo de cinco metáfases por espécie. As melhores células

foram fotografadas com uma câmera digital Olympus® D-54 adaptada a um microscópio Olympus BX41.

3. Resultados e Discussão

O gênero *Acianthera* mostrou-se bastante variável em relação aos números cromossômicos, apresentando espécies com $2n = 26$ como *Acianthera plathystachys* (Regel) Chiron & van den Berg. até $2n = 44$ em *A. saurocephala* (Lodd.) Pridgeon & M.W. Chase e *A. strupifolia* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase, os dados estão resumidos nas tabelas 1 e 2.

Em *Acianthera* sect. *Acianthera* foi encontrada grande variação numérica ($2n = 30, 36, 38, 40, 44$), não sendo possível indicar um número básico para a seção, os resultados sugerem que o cariótipo nesta seção evoluiu independentemente em cada espécie. Na análise filogenética apresentada no primeiro capítulo deste trabalho, *A. strupifolia* ($2n = 44$) surge como espécie basal do clado *A. sect. Acianthera* seguida de *A. recurva* ($2n = 38, 40$), *A. saurocephala* ($2n = 44$) e *A. pubescens* ($2n = 30, 36$).

A divergência entre os dados apresentados por Oliveira (2010) e os dados obtidos neste trabalho para *A. recurva* e *A. pubescens* sugerem que a ocorrência de variações numéricas intraespecíficas em *Acianthera* é relativamente frequente. Nakata & Hashimoto (1983) também observaram diferentes números entre diferentes indivíduos de uma mesma espécie sobretudo no gênero *Pleurothallis* R. Br. (*Pleurothallis revoluta* (R. & P.) Garay $2n = 40, 80$; *P. matudiana* C.Schweinf., $2n = 68, 72$). Variações numéricas em populações naturais constituem um eficiente mecanismo de isolamento reprodutivo, com destacado papel na especiação (Levin 2002). No caso específico de *A. recurva* também foi observada grande variação morfológica entre indivíduos de diferentes populações, sobretudo nas características vegetativas (por exemplo, folhas de 2,5 cm compr. até 8 cm compr.), portanto é possível que *A. recurva* represente um complexo de espécies afins.

Contrariamente ao caso de *Acianthera* sect. *Acianthera*, as seções *Cryptophorantae* e *Pleurobotryae* não apresentaram variações numéricas, ambas tiveram cerca de 50 % do indivíduos alocados nas respectivas seções

analisados neste trabalho pois tratam-se de seções com poucas espécies. Em ambos os casos não verificamos variação numérica nas seções (*Cryptophorantae* 2n = 34 e *Pleurobotryae* 2n = 36)

Em *Acianthera* sect. *Sicariae* também foi observada grande variação numérica, sobretudo na subseção *Pectinatae* com *A. prolifera* (Herbert ex Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase (2n = 30) e *A. modestissima* (Rchb. f. & Warm.) Pridgeon & M.W. Chase (2n = 46). Ambas são espécies filogeneticamente próximas, no entanto, apresentam números bastante distintos. Assim como em *Acianthera* sect. *Acianthera*, os dados sugerem que cariótipo nesta seção evoluiu independentemente em cada espécie, porém, como a subseção é composta por sete espécies, um maior número de espécies deve ser analisado a fim de indicar a variação numérica desta e das demais subseções de *Acianthera* sect. *Sicariae* que, juntas, englobam cerca de 37 espécies

A seção *Tricarinatae* é composta por cerca de 10 espécies, muitas com hábito rupícola, adaptadas a ambientes xéricos. Além da variação numérica observada na seção (tabela 3) há divergência entre os dados apresentados por Oliveira, (2010) e os dados obtidos neste trabalho para *A. ochreatea*, o que reafirma a frequente variação numérica intraespecífica em *Acianthera*.

O gênero *Acianthera*, portanto, possui grande variação numérica (2n = 26, 30, 34, 36, 38, 40, 44 e 46) mesmo quando se considera a família Orchidaceae como um todo, táxon reconhecidamente variável em termos de números cromossômicos. De um total de 22 espécies analisadas, foram encontrado quatro novos números cromossômicos para o gênero, o dobro do era conhecido até então. *Acianthera* abarca cerca de 210 espécies (Chiron & van den Berg 2012) e somente cerca de 10 % delas têm o número cromossômico conhecido. Os dados obtidos sugerem que o cariótipo evoluiu independentemente em cada espécie pois embora o número cromossômico varie consideravelmente dentro do gênero, este constitui um grupo monofilético (Pridgeon *et al.* 2001, Chiron *et al.* 2012). Mais estudos devem ser realizados a fim de buscar o reconhecimento do número cromossômico das seções propostas para gênero *Acianthera*, uma vez que os dados disponíveis até o presente ainda não são suficientes para uma análise definitiva.

Tabela 1. Levantamento bibliográfico do número cromossômico das espécies de Pleurothallidinae pertencentes ao gênero *Acianthera sensu* Chiron & van den Berg (2012).

Taxon	2n	Fonte
<i>A. aurantiolateritia</i> (Speg.) Pridgeon & M.W. Chase	40	Nakata & Hashimoto 1983
<i>A. brevipes</i> (H.Focke) Pridgeon & M.W. Chase	40	Nakata & Hashimoto 1983
<i>A. coffeicola</i> (Schltr.) Pridgeon & M.W. Chase	40	Nakata & Hashimoto 1983
<i>A. luteola</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	40	Nakata & Hashimoto 1983
<i>A. modestissima</i> (Rchb. f. & Warm.) Pridgeon & M.W. Chase	46	Oliveira 2010
<i>A. ochreatea</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	40	Oliveira 2010
<i>A. pubescens</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	30	Oliveira 2010
<i>A. recurva</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	40	Oliveira 2010
<i>A. rupestris</i> (Lindl.) F. Barros	40	Nakata & Hashimoto 1983
<i>A. strupifolia</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	44	Oliveira 2010
<i>A. teres</i> (Lindl.) Borba	40	Oliveira 2010

Tabela 2. Número cromossômico das espécies de Pleurothallidinae pertencentes ao gênero *Acianthera sensu* Chiron & van den Berg (2012) obtidos neste estudo.

Taxon	2n	Figura
<i>A. atropurpurea</i> (Barb. Rodr.) Chiron & van den Berg	36	
<i>A. fenestrata</i> (Barb. Rodr.) Pridgeon & M.W. Chase	34	1.A; 1.B
<i>A. hatschbachii</i> (Schltr.) Pridgeon & M.W. Chase	36	
<i>A. jordanensis</i> (Brade) F. Barros	34	1.C
<i>A. ochreatea</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	34	1.J
<i>A. plathystachys</i> (Regel) Chiron & van den Berg.	26	1.G
<i>A. prolifera</i> (Herbert ex Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	30	1.F; 1.H
<i>A. pubescens</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	36	1.L
<i>A. punctatiflora</i> (Luer) Pridgeon & M.W. Chase	34	1.D
<i>A. recurva</i> (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase	38	1.E; 1.I
<i>Acianthera saurocephala</i> (Lodd.) Pridgeon & M.W. Chase	44	1.K

Tabela 3. Número cromossômico das seções e subseções de *Acianthera sensu* Chiron & van den Berg (2012), com base nos números já conhecidos para as espécies das respectivas seções.

Taxon	2n
<i>Acianthera</i> sect. <i>Acianthera</i>	30, 36, 38, 40, 44
<i>Acianthera</i> sect. <i>Arthrosiae</i> Chiron & van den Berg	?
<i>Acianthera</i> sect. <i>Crinitae</i> Chiron & van den Berg	?
<i>Acianthera</i> sect. <i>Cryptophorantae</i> Chiron & van den Berg	34
<i>Acianthera</i> sect. <i>Pleurobotryae</i> Chiron & van den Berg	36
<i>Acianthera</i> sect. <i>Sarracenellae</i> Chiron & van den Berg	?
<i>Acianthera</i> sect. <i>Sicariae</i> subsect. <i>Sicariae</i> Chiron & van den Berg	40
<i>Acianthera</i> sect. <i>Sicariae</i> subsect. <i>Pectinatae</i> Chiron & van den Berg	30, 46
<i>Acianthera</i> sect. <i>Sicariae</i> subsect. <i>Auritae</i> Chiron & van den Berg	?
<i>Acianthera</i> sect. <i>Sulcate</i> Chiron & van den Berg	40
<i>Acianthera</i> sect. <i>Tomentosae</i> Chiron & van den Berg	40
<i>Acianthera</i> sect. <i>Tricarinatae</i> Chiron & van den Berg	26, 34, 40

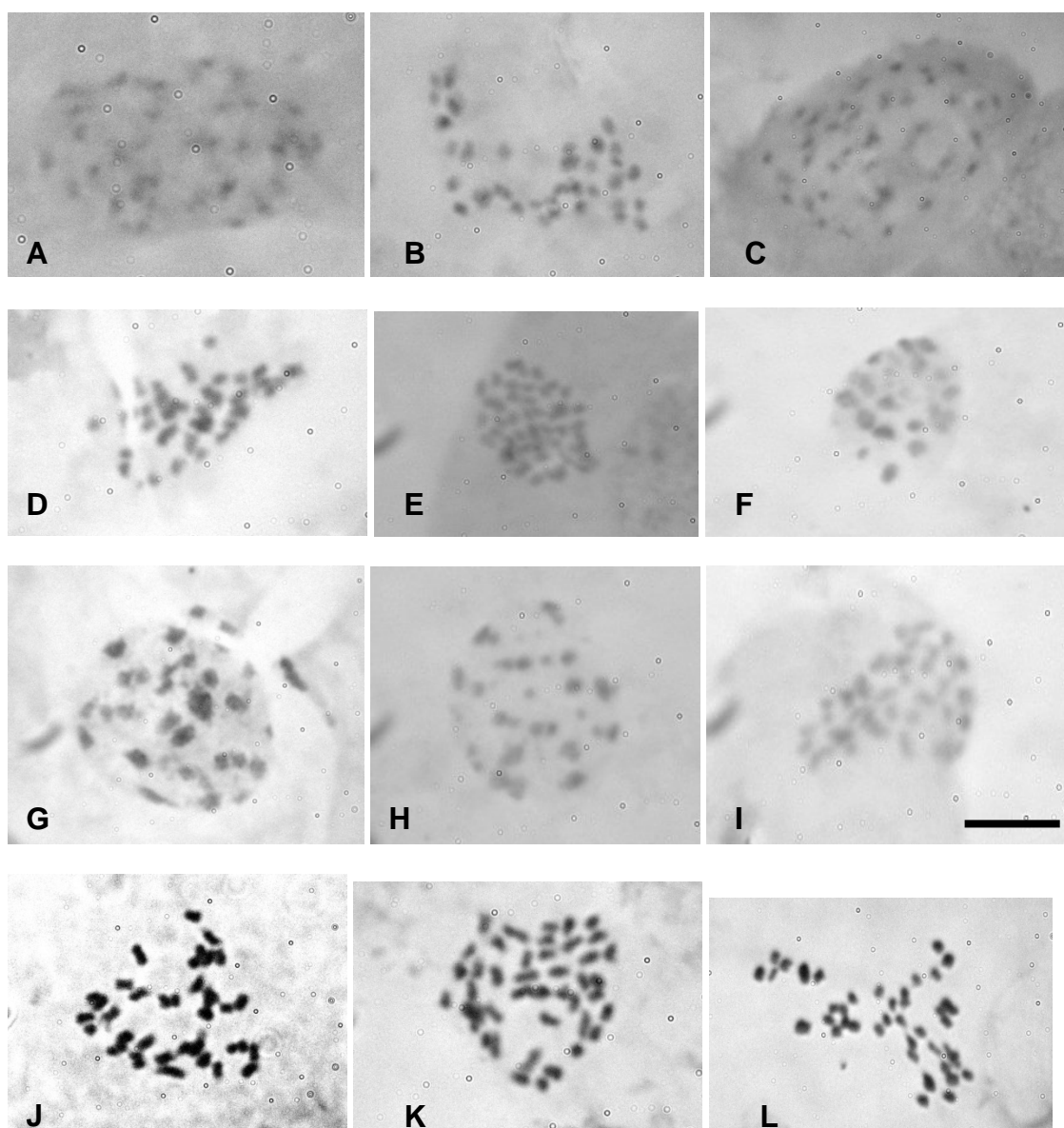


Figura 1. Metáfases mitóticas de *Acianthera*. A. *A. fenestrata* (Barb. Rodr.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 34$). B. *A. fenestrata* (Barb. Rodr.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 34$). C. *A. jordanensis* (Brade) F. Barros ($2n = 34$). D. *A. punctatiflora* (Luer) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 34$). E. *A. recurva* ($2n = 38$). F. *A. prolifera* (Herbert ex Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 30$). G. *A. plathystachys* (Regel) Chiron & van den Berg. ($2n = 26$). H. *A. prolifera* (Herbert ex Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 30$). I. *A. recurva* ($2n = 38$). J. *A. ochreatea* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 34$). K. *Acianthera saurocephala* (Lodd.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 44$). L. *A. pubescens* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase ($2n = 36$). A barra em I corresponde a 10 μm .

4. Literatura citada

- CHIRON, G.R. & VAN DEN BERG, C. 2012. Révision taxonomique du genre *Acianthera* (Orchidacea, Pleurothallidinae). *Richardiana* 12 59-77.
- CHIRON, G.R., GUIARD, J. & VAN DEN BERG, C. 2012. Phylogenetic relations in Brazilian *Pleurothallis sensu lato* (Pleurothallidinae, Orchidaceae): evidence from nuclear ITS rDNA sequences. *Phytotaxa* 46: 34-58
- LEVIN, D. A., 2002. The role of chromosomal change in plant evolution, Oxford Series in Ecology and Evolution. Oxford University Press, New York.
- NAKATA, M. & HASHIMOTO, T. 1983. Karyomorphological studies on species of *Pleurothallis*, Orchidaceae. *Annals of the Tsukuba Botanical Garden* 2: 11-32.
- OLIVEIRA, I.G. 2010. Citogenética de espécies brasileiras da subtribo Pleurothallidinae (Orchidaceae). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- PRIDGEON, A.M., SOLANO, R. & CHASE, M.W. 2001. Phylogenetic relationships in Pleurothallidinae (Orchidaceae): combined evidence from nuclear and plastid DNA sequences. *American Journal of Botany* 88: 2286-2308.
- PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J., CHASE, M.W. & RASMUSSEN, F.N. (eds.). 2005. *Genera Orchidacearum*, v. 4. Oxford University Press, New York.
- STUESSY, F.O.D.F. 1990. *Plant taxonomy: the sistematic evaluaton of comparative data*. Columbia University Press, New York.

