



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

SIGNIFICANCIA FILOGENÉTICA Y
EVOLUCIÓN DE LOS CARACTERES
ANATÓMICO FOLIARES
EN LA SUBTRIBU ONCIDIINAE
(ORCHIDACEAE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR(A) EN CIENCIAS

P R E S E N T A

ESTELA SANDOVAL ZAPOTITLA

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ LUÍS VILLASEÑOR RÍOS
COMITÉ TUTOR: DRA. VICTORIA SOSA ORTEGA
DRA. TERESA TERRAZAS SALGADO

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE, 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

SIGNIFICANCIA FILOGENÉTICA Y
EVOLUCIÓN DE LOS CARACTERES
ANATÓMICO FOLIARES
EN LA SUBTRIBU ONCIDIINAE
(ORCHIDACEAE)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR(A) EN CIENCIAS

P R E S E N T A

ESTELA SANDOVAL ZAPOTITLA

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ LUÍS VILLASEÑOR RÍOS
COMITÉ TUTOR: DRA. VICTORIA SOSA ORTEGA
DRA. TERESA TERRAZAS SALGADO

MÉXICO, D.F.

OCTUBRE, 2010

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM

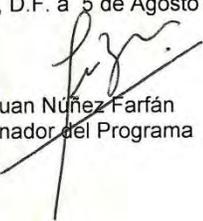
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 22 de marzo de 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** del la alumna **ESTELA SANDOVAL ZAPOTITLA** con número de cuenta **72317819** con la tesis titulada: "**Significancia filogenética y evolución de los caracteres anatómico foliares en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae)**", realizada bajo la dirección del **DR. JOSÉ LUIS VILLASEÑOR RÍOS:**

Presidente:	DRA. VICTORIA SOSA ORTEGA
Vocal:	DR. JAVIER GARCÍA CRUZ
Vocal:	DRA. MARÍA HILDA FLORES OLVERA
Vocal:	DR. EDUARDO MORALES GUILLAUMIN
Secretario:	DR. JOSÉ LUIS VILLASEÑOR RÍOS
Suplente:	DR. GUILLERMO PEDRO ANGELES ÁLVAREZ
Suplente:	DRA. TERESA TERRAZAS SALGADO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 5 de Agosto de 2010.


Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

AGRADECIMIENTOS OFICIALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por aceptarme y apoyar mis estudios de doctorado.

Al CONACYT por la beca otorgada (No. 199595) durante la realización de mis estudios.

Al Instituto de Biología de la UNAM, particularmente al Jardín Botánico, Laboratorio de Apoyo a la Investigación, por todas las facilidades brindadas para la ejecución de mi trabajo de tesis.

A los miembros de mi Comité Tutorial:

Dr. José Luís Villaseñor Ríos

Dra. Victoria Sosa Ortega

Dra. Teresa Terrazas Salgado



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

La presente investigación es parte de los estudios de posgrado de la autora, quien agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por su aceptación y apoyo durante sus estudios de posgrado y al CONACYT por la beca otorgada (No. 199595). La autora agradece a Philip J. Brewster y Martín Mata del Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero de Xalapa, Veracruz, México, Eric Hágsater, Luis Sánchez y Rolando Jiménez del Herbario de la Asociación Mexicana de Orquideología, México, Jorge Warner, Robert L. Dressler, Franco Pupulin, Diego Bogarín y Alejandro Rojas del Jardín Botánico Lankester, Costa Rica aportaron material biológico y respaldo en la determinación de los taxa utilizados para la presente investigación. Laura Márquez del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología, UNAM apoyó en el manejo de las secuencias nucleares. Se agradece igualmente a Alejandro Vallejo y Julio Cesar Montero, del Instituto de Biología, UNAM por su apoyo en la edición de las imágenes y a Concepción Guzmán y Patricia Zendejas del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM, que brindaron apoyo técnico para el procesamiento histológico de las muestras.



AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Al Dr. José Luís Villaseñor, a quien reconozco como un ser dispuesto a brindar con paciencia y calidez sus conocimientos, experiencia y apoyo a la formación de los estudiantes que como yo se acercan a él. Gracias por las incontables veces que toque a tu puerta y siempre estuviste dispuesto a escucharme, alentarme y asesorarme.

A la Dra. Teresa Terrazas que por segunda ocasión me acompaña en este camino de mi formación profesional. Gracias por tus comentarios atinados, tu serenidad y paciencia en mis momentos de duda y persistencia a mi avance. Gracias por las charlas amenas que mantuvimos, por tu confianza y por tu acercamiento amigable hacia mi persona.

A la Dra. Vitoria Sosa, a quien reconozco como una gran profesionista, gracias por tu apoyo y tus conocimientos transmitidos durante mi formación profesional.

Al Dr. Fernando Cervantes R. y Dr. Fausto Méndez quienes me alentaron y apoyaron para ingresar al Doctorado manifestando su confianza en mi persona y en mi capacidad profesional.

Al Dr. Javier Caballero Nieto quien creyó en mi capacidad profesional dándome un voto de confianza para realizar mis estudios de doctorado, gracias eternamente querido maestro y amigo Javier.

A mis profesores de posgrado Dra. Helga Ochoterena, Dra. Hilda Flores, Dr. Gerardo Pérez Ponce de León, Dr. Javier García, Dr. Gerardo Salazar, Dr. Eduardo Pérez, Dra. Mariana Hernández, Dra. Simoneta Negrete, Dr. Robert L. Dressler, Franco Pupulin que me instruyeron en el conocimiento de sus especialidades y contribuyeron con su experiencia a mi formación profesional.

A los doctores miembros del jurado del examen de candidatura Hilda Flores, Raquel Galván, Rosaura Grether, Teresa Terrazas y Gerardo Salazar. Gracias por sus acertados comentarios y aportaciones que enriquecieron significativamente la presente investigación. A los doctores miembros

del jurado del examen de grado Dra. Victoria Sosa Ortega, Dr. Javier García Cruz, Dra. Ma. Hilda Flores Olvera, Dr. Eduardo Morales Guillaumin, Dr. José Luis Villaseñor Ríos, Dr. Guillermo Pedro Angeles Álvarez y Dra. Teresa Terrazas Salgado gracias por sus observaciones y sugerencias.

A mis maestros de luz, Pablo Ramírez y Leo Farías (Los “boludos luminosos”). Que con su amor infinito e incondicional me enseñaron que existe el sendero de la verdad, el amor y la luz, que me han alentado para llegar a mi esencia y me enseñaron a tocar otras dimensiones, a comprender la razón de mi vida en esta tercera dimensión. Doy gracias al universo por coincidir con ustedes, los amo infinita y eternamente y vivo agradecida por todos los hermosos momentos compartidos y por compartir mi vida a su lado en servicio y amor.

Al personal del Posgrado en Ciencias Biológicas del Instituto de Biología, Dr. Fausto Méndez, Dra. Ma. de los Ángeles Herrera C., de forma particular a Rocío González quien siempre me recibió y dio respuesta a mis eternas dudas con una hermosa sonrisa dibujada en su rostro, gracias infinitas Chio. Al personal de la Coordinación de Posgrado en Ciencias Biológicas, Dr. Juan José Morrone, Dr. Juan Núñez, Lilia Espinosa, Lilia Jiménez y Ma. de Jesús Márquez S., por su apoyo, amabilidad y paciencia en los trámites escolares y su aliento para mi permanencia en el posgrado. Al Dr. David Gernandt por su revisión a la versión en inglés del resumen.

A todo el personal de la Biblioteca del IBUNAM, que pusieron a mi disposición el acervo bibliográfico para contribuir y facilitar mis conocimientos y aprendizaje, especialmente a Gina, muchas gracias por tu apoyo incondicional.

A Eduardo Pérez, Gerardo Salazar, Ignacio Aguirre, Miguel A. Soto Arenas, Oscar Francke, Sandro Cusi, Teodoro Platas por proporcionarme muestras de hojas de sus colecciones particulares; a Philip J. Brewster y Martín Mata del Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero de Xalapa, Veracruz, México; a Eric Hágsater, Rolando Jiménez y Luis Sánchez del Herbario de la Asociación Mexicana de Orquideología, México; a Jorge Wagner, Robert Dressler, Franco Pupulin, Diego Bogarín, Alejandro Rojas del Jardín Botánico Lankester, Costa Rica por proporcionarme material biológico y bibliográfico para la presente investigación.

A Concepción Guzmán y Patricia Zendejas del Jardín Botánico, UNAM que además de brindarme apoyo técnico para el procesamiento histológico de las muestras, en todo momento me brindaron su amistad, entusiasmo y tiempo como un cálido aliento en mi camino profesional. A Bárbara Estrada quien me ha acompañado en mis momentos de duda, de confusión, de alegría, de felicidad de trabajo arduo, gracias querida Barbarita. A Laura Márquez del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología, UNAM por su apoyo en el manejo de las secuencias nucleares, a Alejandro Vallejo del Jardín Botánico, UNAM y Julio Cesar Montero del Instituto de Biología, UNAM, por su apoyo en la edición de las imágenes.

Con especial cariño agradezco al Dr. J. Hermilo Quero Rico quien en algún momento de mi vida me tendió su mano y me abrió su corazón creyendo en mi persona, quien a los inicios de mi formación profesional vio en mí un potencial aún desconocido para mí. Gracias Hermilo por tu amor, tus sabias palabras y consuelo en los momentos que tocaba mi obscuridad. Gracias por tu compañía y tu abrigo para mí persona, por ser un padre en el momento que lo requerí. Te amo infinitamente y eres un ser importante en mi vida.

A mis compañeros y amigos, Víctor Chávez, Salvador Arias, Gabriel Olalde, Bárbara Estrada, Dra. Scheinvar, Virginia Evangelista, Miguel A. Martínez, Carmen Loyola, Linda Balcazar, Helia Herrera, Lucy Rangel, Carmen C. Hernández, Cristina Mapes, Lucero, Magda Peña, Laura Cortéz, Jorge Saldivar, Francisco Basurto, Francisco Vergara, Dra. Guadalupe Palomino, Ingrid Bruner, Javier Martínez, Abisaí García, Aida Téllez, Jerónimo Reyes, Tania Terrazas, Robert Bye, Edelmira Linares y Guadalupe Castellanos (Lupita), personal del Jardín Botánico quienes fueron piezas clave para alcanzar este logro y poder llegar hasta donde he llegado.

A todo el personal administrativo del Jardín Botánico, que me han acompañado en mi trayectoria académica ofreciéndome alegría y servicio de apoyo.

A mis hermanos de luz: Carmen, Samer (mis hermanos), Fede (Mi Capy, mi hermano), Martha, Marce, Agus, Maritza, Ruth, Irma, Jatziri, Alejandra (Comprometiva), Ale (de Tacámbaro), Oli (mamá hermosa), Yuli, Rosy, Edith (¡Gracias México!), Alberto, Norberto (Harry Potter), Luis David (Huachito querido), Virgilio (Vico), Julio, Marco Lara (Mi Capy), Abraham, Rafa, Moy, Carmen (mi

budy), Sergio, Marco Antonio (mi querido hijo), Fede, Libia, Darío, Samuel, Erika, Paty, Laura, Jaime A., Alan (mi angel), Nancy, que me han acompañado en mi camino de luz compartiendo alegrías inmensas y nuevas sensaciones de la vida, los amo.

A mi familia paterna Don Toño y Malena mis ángeles de la guarda, gracias por darme la vida. A mis hermanos Jorge, Gloria, Cristina y Socorro gracias por su amor y compañía en las etapas de mi vida.



DEDICATORIA

Esta frágil nave que vacías una y otra vez,

llenándola siempre de fresca vida

Una pequeña flauta de carrizo,

que llevas a través de montes y valles y de la que surgen nuevas melodías eternamente

Tus infinitos dones llegan a mi alma,

y a pesar del tiempo y de todo lo que tú me brindas

Siempre habrá un espacio que llenar

Gracias Universo

A Manuel Alejandro

mi compañero, mi amor,

mi cómplice de vida,

El ser maravilloso que camina a mi lado

A mi amada Tania Gabriela

mi maestra, mi tesoro, mi amor,

mi equilibrio y fortaleza.

Gracias por comprender mis ausencias

CONTENIDO

☞ RESUMEN	1
☞ ABSTRACT	3
☞ CAPÍTULO 1.	
INTRODUCCIÓN	5
☞ CAPÍTULO 2.	
CARACTERES ESTRUCTURALES EN ONCIDIINAE	10
☞ CAPÍTULO 3.	
RELACIONES FILOGENÉTICAS DE LA SUBTRIBU ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE) INFERIDAS A PARTIR DE CARACTERES ESTRUCTURALES Y SECUENCIAS DE ADN (ITS y <i>matK</i>): UN ENFOQUE COMBINADO	48
☞ CAPÍTULO 4.	
DIVERSIDAD DE INCLUSIONES MINERALES EN LA SUBTRIBU ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE)	66
☞ CAPÍTULO 5.	
EVOLUCIÓN DE CARACTERES ESTRUCTURALES DE ONCIDIINAE	90
☞ CAPÍTULO 6.	
CONCLUSIONES GENERALES	128
☞ LITERATURA CITADA	133
☞ ANEXOS :	
Anexo 1. Caracteres estructurales y estados de carácter utilizados en el análisis cladístico combinando.	139
Anexo 2. Especies de Oncidiinae incluidas en este estudio. Se indica el colector, número de colecta, el número de acceso en GenBank de las secuencias de ADN utilizadas (ITS y <i>matK</i>), excepto para <i>Oncidium alexandrae</i> , <i>O. epidendroides</i> (<i>matK</i>), <i>Tolumnia pulchella</i> y <i>T. triquetra</i> (ITS y <i>matK</i>).	141

Anexo 3. Matriz de caracteres estructurales utilizados en el análisis cladístico de Oncidiinae. Los estados de carácter corresponden a los descritos en el Anexo 1.	143
Anexo 4. Lista de especies incluidas en el análisis de diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae).	146
Anexo 5. Número de cambios evolutivo registrado por carácter para cada clado. Los ocho primeros caracteres son morfológicos, los demás son anatómicos.	152



☞ LISTA DE FIGURAS :

Figura 2.1. Ramificación del tallo en Oncidiinae. A. Simpodial; <i>Otoglossum chiriquense</i> . B. Monopodial; <i>Telipogon costaricensis</i>	28
Figura 2.2. Tipos de tallo en Oncidiinae. A. Tipo pseudobulbo; <i>Brassia arcuigera</i> . B. Tipo rollizo; <i>Lockhartia hercodonta</i>	28
Figura 2.3. Crecimiento del pseudobulbo en Oncidiinae. A. Muy evidente; <i>Brassia caudata</i> . B. Reducido; <i>Erycina pusilla</i>	29
Figura 2.4. Variación del número de entrenudos en el tallo por módulo en Oncidiinae. A. Dos o más; <i>Fernandezia subbiflora</i> . B. Uno; <i>Otoglossum globuliferum</i>	29
Figura 2.5. Ubicación de las hojas en el tallo en Oncidiinae. A. En el ápice; <i>Brassia arcuigera</i> . B. A lo largo; <i>Telipogon costaricensis</i>	30
Figura 2.6. Disposición de las hojas en el tallo en Oncidiinae. A. Otros; <i>Aspasia epidendroides</i> . B. En forma de abanico; <i>Ornithocephalus bicornis</i> . C. Dísticas; <i>Lockhartia pittieri</i>	30
Figura 2.7. Suculencia de la lámina foliar en Oncidiinae. A. No suculentas; <i>Trichopilia galeottiana</i> . B. Suculentas; <i>Trichocentrum tenuiflorum</i>	31
Figura 2.8. Perfil de la lámina en sección transversal en Oncidiinae. A. Dorso-ventralmente extendida; <i>Aspasia epidendroides</i> . B. Conduplicada; <i>Lockhartia pittieri</i> . C. Marginalmente conduplicada; <i>Tolumnia variegata</i> . D. Uní-facial; <i>Macroclinium bicolor</i> . E. Rolliza; <i>Trichocentrum cebolleta</i> . F. Plegada; <i>Cyrtopodium paniculatum</i>	32
Figura 2.9. Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en la lámina foliar en Oncidiinae. A y C vista superficial; B sección transversal. A. Sin papilas; <i>Oncidium alexandrae</i> . B. Con papilas; <i>Ornithocephalus iridifolius</i> . C. Con papilas; <i>Trichocentrum splendidum</i>	33
Figura 2.10. Apéndices epidérmicos abaxiales como papilas en la lámina foliar en Oncidiinae. A y C vista superficial; B sección transversal. A. Sin papilas; <i>Rhynchostele aptera</i> . B. Con papilas; <i>Trichocentrum splendidum</i> . C. Con papilas; <i>Psychopsis papilio</i>	33
Figura 2.11. Tricomas no glandulares en epidermis adaxial en la lámina foliar. A y B vista transversal; C vista superficial. A. Base del tricoma; <i>Ada glumacea</i> . B. Tricoma	

uniseriado; <i>Oncidium epidendroides</i> . C. Tricomas biseriados; <i>Rhyncholele beloglossa</i>	34
Figura 2.12. Glándulas. A y B vista transversal. A. <i>Maxillaria cucullata</i> . B. <i>Xylobium elongatum</i>	34
Figura 2.13. Ubicación de estomas en la lámina foliar. A y B vista transversal. A. En epidermis abaxial, hoja hipostomática; <i>Rhyncholele londesboroughiana</i> . B. En ambas epidermis, hoja anfistomática; <i>Trichocentrum pfavii</i>	35
Figura 2.14. Collar cuticular en estoma. A y B vista transversal. A. Presente; <i>Otoglossum chiriquense</i> . B; Ausente. <i>Erycina crista-galli</i>	35
Figura 2.15. Apertura del collar cuticular en estoma. A y B vista superficial. A. Longitudinal; <i>Oncidium ghiesbreghtianum</i> . B. Transversal; <i>Trichocentrum splendidum</i>	36
Figura 2.16. Grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas. A y B vista transversal. A. Muy engrosada; <i>Telipogon costaricensis</i> . B. Poco engrosada; <i>Rhyncholele beloglossa</i>	36
Figura 2.17. Hipodermis adaxial en la lámina foliar. A y B vista transversal. A. Ausente; <i>Trichocentrum pfavii</i> . B. Presente; <i>Rhyncholele beloglossa</i>	37
Figura 2.18. Grosor de las paredes celulares de la hipodermis adaxial. A y B vista transversal. A. Paredes delgadas; <i>Cuitlauzina pygmaea</i> . B. Paredes gruesas; <i>Oncidium alexandrae</i>	37
Figura 2.19. Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial. A y B vista transversal. A. Continuos; <i>Ada aurantiaca</i> . B. Discontinuos; <i>Oncidium ornithorhynchum</i>	38
Figura 2.20. Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial. A-C vista transversal. A. Uno; <i>Oncidium ornithorhynchum</i> . B. Dos; <i>Cuitlauzina pendula</i> . C. Tres o más; <i>Lockhartia amoena</i>	38
Figura 2.21. Hipodermis abaxial. A y B vista transversal. A. Ausente; <i>Tolumnia pulchella</i> . B. Presente; <i>Otoglossum chiriquense</i>	39
Figura 2.22. Células del mesofilo como parénquima en empalizada. A y B vista transversal. A. Ausente; <i>Zelenkoa onusta</i> . B. Presente; <i>Tolumnia triquetra</i>	39
Figura 2.23. Células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial. A y B vista transversal. A. Ausentes; <i>Oncidium fimbriatum</i> . B. Presentes; <i>Oncidium cheirophorum</i>	40
Figura 2.24. Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo. A-C vista	

transversal. A. <i>Oncidium astatum</i> . B. <i>Trichocentrum macroclinium</i> . C. <i>Trichocentrum bicallosum</i>	40
Figura 2.25. Células buliformes. A y B vista transversal. A Ausentes; <i>Trichocentrum bicallosum</i> . B. Presentes; <i>Cuitlauzina candida</i>	41
Figura 2.26. Ubicación de las células buliformes. A y B vista transversal. A. En la zona central adaxial. <i>Rhynchostele beloglossa</i> B. En varias zonas además de la central adaxial. <i>Maxillaria cucullata</i>	41
Figura 2.27. Zona central abaxial de la lámina foliar. A y B vista transversal. A. Convexa; <i>Rossioglossum krameri</i> . B. Carinada; <i>Rhynchostele beloglossa</i>	42
Figura 2.28. Número de estratos de haces vasculares en la zona central. A y B vista transversal. A. Uno; <i>Trichopilia tortilis</i> . B. Dos o más; <i>Trichocentrum bicallosum</i>	42
Figura 2.29. Número de estratos de haces vasculares en la lámina. A y B vista transversal. A. Uno; <i>Oncidium epidendroides</i> . B. Dos o más; <i>Trichocentrum splendidum</i>	43
Figura 2.30. Haces de fibras adaxiales en la lámina. A y B vista transversal. A. Ausentes; <i>Ada glumacea</i> . B. Presentes; <i>Maxillaria cucullata</i>	43
Figura 2.31. Haces de fibras abaxiales en la lámina. A y B vista transversal. A. Ausentes; <i>Fernandezia tica</i> . B. Presentes; <i>Oncidium sphacelatum</i>	44
Figura 2.32. Número de estratos de haces de fibras abaxiales. A y B vista transversal. A. Uno; <i>Oncidium sphacelatum</i> . B. Dos; <i>Oncidium flexuosum</i> . C. Tres o más; <i>Notylia barkeri</i>	44
Figura 2.33. Estérgmatos en los haces vasculares. A y B vista transversal. A. Presentes; <i>Cuitlauzina pendula</i> . B. Ausentes; <i>Hintonella mexicana</i>	45
Figura 2.34. Estérgmatos en los haces de fibras abaxiales. A y B vista transversal. A. Ausentes; <i>Cyrtochiloides ochmatochila</i> . B. Presentes; <i>Trichocentrum bicallosum</i>	45
Figura 2.35. Cristales prismáticos en el mesofilo. A y B vista transversal. A. Ausentes; <i>Miltonia candida</i> . B. Presentes; <i>Oncidium hymenanthum</i>	46
Figura 2.36. Cristales como drusas en el mesofilo. A y B vista transversal. A. Ausentes; <i>Caucaea phalaenopsis</i> . B. Presentes; <i>Oncidium oblongatum</i>	46
Figura 2.37. Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal. A y B vista transversal. A. Presentes; <i>Rossioglossum grande</i> . B. Ausentes; <i>Cuitlauzina pygmaea</i>	47

Figura 3.1. (Fig. 1 de artículo). Filogenia combinada (ITS, *matK* y caracteres estructurales) de Oncidiinae. Se muestra 1 de los 2 cladogramas igualmente parsimoniosos obtenidos (L = 3016, CI = 0.47, RI = 0.58). El nodo que cambia en la otra topología se indica con una flecha. El número por debajo de las ramas corresponde al valor de soporte *jackknife* mayor al 50%, por encima el número de los caracteres que soportan la rama. Se indica la distribución de los caracteres estructurales (sinapomorfías = círculos cerrados; paralelismos = círculos abiertos; reversiones = cuadros cerrados). 53

Figura 3.2. (Fig. 2 de artículo). Caracteres estructurales que se recuperaron como sinapomorfías en el análisis combinado para Oncidiinae. A. *Trichocentrum splendidum*, sección transversal de hoja. Haces vasculares en varios estratos (flechas). B. *Lockhartia amoena*, sección transversal de hoja. Lámina conduplicada. C. *Fernandezia tica*, sección transversal de hoja. Haz vascular sin estérgmatos. D. *Oncidium epidendroides*, sección transversal de hoja. Hipodermis adaxial con células de paredes engrosadas. E. *Cyrtochiloides ochmatochila*, sección transversal de hoja. Haces de fibras abaxiales sin estérgmatos (flecha). Escala A y B = 1 mm; C, E = 50 µm; D = 20 µm. 54

Figura 3.3. (Fig. 3 de artículo). Caracteres estructurales que apoyan los clados o que se recuperan como sinapomorfías en el análisis combinado para Oncidiinae. A. *Notylia barkeri*, sección transversal de hoja. Hipodermis adaxial con un estrato celular (flecha). B. *Otoglossum chiriquense*, sección transversal de hoja. Zona abaxial central convexa. C. *Tolumnia triquetra*, sección transversal de hoja. Mesofilo con parénquima en empalizada. D. *Tolumnia variegata*, sección transversal de hoja. Lámina conduplicada marginalmente. E. *Erycina cristagalli*, sección transversal de hoja. Estoma sin collar cuticular (flecha). Escala A-E = 50 µm. 54

Figura 4.1. (Fig. 1 de artículo). Rafidios en Oncidiinae. Vista superficial. A. *Oncidium fimbriatum*, con luz polarizada. B. *Mesospinidium panamense*, campo claro. C. *Macroclinium bicolor*, campo claro. D. *Cuitlauzina pygmaea* campo claro. Barras = 1 µm. 69

Figura 4.2. (Fig. 2 de artículo). Diversidad de cristales en Oncidiinae. A. Porcentaje de especies que presentan las diferentes formas cristalinas. B. Porcentaje de especies con prismas. C. Con drusas. D. Con arena. E. Con concéntricos. F. Con placas radiales. 71

Figura 4.3. (Fig. 3 de artículo). Cristales en Oncidiinae. Secciones transversales, con luz polarizada. A. Prismas, *Oncidium hymenanthum*. B. Drusas, *Oncidium oblongatum*. C. Drusas, *Oncidium ghiesbreghtianum*. D. Arenas, *Oncidium warmingii*. E. Concéntrico, *Rossioglossum ampliatum*. F. Placas radiales, *Cuitlauzina convalarioides*. Barras = 1 μm 75

Figura 4.4. (Fig. 4 de artículo). Distribución de estégmatos en Oncidiinae y porcentaje de especies por clados con estégmatos (ver Apéndice). A. Haces vasculares y haces de fibras. B. Haces vasculares. C. Haces de fibras adaxiales y abaxiales. (barra negra = presencia, barra con diagonales = ausencia). D. Haces de fibras adaxiales. E. Haces de fibras abaxiales. 77

Figura 4.5. (Fig. 5 de artículo). Estégmatos en Oncidiinae. A. Haces vasculares, *Cuitlauzina pendula* (flechas), sección transversal. B. Haces vasculares, *Ada glumacea* (flecha), vista superficial. C. Haces de fibras adaxiales y abaxiales, *Cuitlauzina egertonii* (flechas), sección transversal. D. Haz de fibras adaxial, *Aurinocidium pulvinatum* (flechas), sección transversal. Barra en A, D = 10 μm ; en B, C = 50 μm 78

Figura 4.6. (Fig. 6 de artículo). Inclusiones minerales sin optimizar en la hipótesis filogenética para Oncidiinae modificada a partir de Sandoval *et al.* (en prensa). Número superior = especies que contienen una forma particular de cristal. Número inferior = especies estudiadas por clado. La posición del clado J es asignada de acuerdo a la hipótesis filogenética para Oncidiinae propuesta por Williams *et al.* (2001b). Los rafidios están presentes en todas las especies estudiadas de Oncidiinae, por lo que no se muestran. 80

Figura 5.1. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu.

Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Ramificación del tallo. B. Tipo de tallo. C. Crecimiento de pseudobulbo. D. Número de entrenudos en el tallo. 118

Figura 5.2. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Ubicación de las hojas en el tallo. B. Disposición de las hojas en el tallo. C. Suculencia de la lámina foliar. D. Perfil de la lámina en sección transversal. 119

Figura 5.3. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en la lámina foliar. B. Tricomas no glandulares en epidermis adaxial. C. Ubicación de estomas en la lámina foliar. D. Collar cuticular en estoma. 120

Figura 5.4. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Apertura del collar cuticular en estoma. B. Grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas. C. Hipodermis adaxial en la lámina foliar. D. Grosor de las paredes celulares de la hipodermis adaxial. 121

Figura 5.5. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el

texto. A. Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial. B. Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial. C. Hipodermis abaxial. D. Células del mesofilo como parénquima en empalizada. 122

Figura 5.6. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial. B. Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo. C. Células buliformes. D. Ubicación de las células buliformes. 123

Figura 5.7. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Zona central abaxial de la lámina foliar. B. Número de estratos de haces vasculares en la zona central. C. Número de estratos de haces vasculares en la lámina. D. Haces de fibras abaxiales en la lámina. 124

Figura 5.8. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Número de estratos de haces de fibras abaxiales. B. Estérgmatos en los haces vasculares. C. Estérgmatos en los haces de fibras abaxiales. D. Cristales prismáticos en el mesofilo. 125

Figura 5.9. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu.

Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Cristales como drusas en el mesofilo. B. Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal. 126

Figura 5.10 Gradiente altitudinal y parámetros ambientales de cada clado recuperado para Oncidiinae; los números por encima de las ramas indican el número de cambios respecto a los 37 caracteres estructurales analizados. 127

Figura 5.11. A y B Gráfica de caja. A. Intervalos de altitud de los nueve clados obtenidos para Oncidiinae, media, una desviación estándar e intervalo (mínimo-máximo). B. Intervalos de longitud de hoja de los nueve clados obtenidos para Oncidiinae, media, una desviación estándar e intervalo (mínimo-máximo). 127

☞ **LISTA DE CUADROS :**

Cuadro 4.1. (Cuadro 1 de artículo). Ubicación y distribución de los tipos de inclusiones minerales en las especies de Oncidiinae. 72

Cuadro 4.2. (Cuadro 2 de artículo). Diversidad de cristales y estérgmatos en géneros con varias especies. 76

Cuadro 5.1. Condición de los caracteres estructurales analizados en la filogenia de Oncidiinae, de acuerdo a un criterio de optimización ACCTRAN o DELTRAN, según fue el caso. 114

Cuadro 5.2. Escenarios de adaptación para 37 caracteres estructurales de Oncidiinae. 117





Especies representativas de Oncidiinae. A. *Ada aurantiaca*; B. *Aspasia epidendroides*; C. *Brassia gireoudiana*; D. *Capanemia superflua*; E. *Erycina cristagalli*; F. *Fernandezia tica*; G. *Miltoniopsis warscewiczii*; H. *Oncidium fuscatum*; I. *Telipogon costaricensis*.

RESUMEN :

La subtribu Oncidiinae es un elemento importante de la orquideoflora neotropical y en México constituye también un grupo importante de orquídeas. Se le ha considerado una de las subtribus más diversas, tanto taxonómicamente como en sus caracteres florales, vegetativos, números cromosómicos, formas e historias de vida, entre otros. La sistemática de Oncidiinae recientemente ha sido revisada, a partir de datos exclusivamente moleculares. La importancia que los caracteres estructurales tienen en la filogenia de otros grupos de Orchidaceae ha sido demostrada; no obstante, estos caracteres no habían sido explorados en Oncidiinae.

El objetivo central de este estudio fue analizar caracteres estructurales de Oncidiinae para conocer su significancia filogenética y sistemática, explorar su importancia taxonómica y postular una explicación de su posible camino evolutivo. La estructura de la tesis consta de seis capítulos y cinco anexos.

En el primer capítulo y como marco teórico del trabajo, se presenta una introducción general donde se da un panorama de las características morfológicas de la subtribu, su distribución y su historia taxonómica. Asimismo, se indican los objetivos generales y específicos de este estudio.

En el segundo capítulo se presenta una descripción general de los 37 caracteres estructurales seleccionados para el estudio filogenético de la subtribu. Se presenta la descripción de Oncidiinae a partir de los caracteres estructurales analizados en este trabajo.

En el tercer capítulo y con el propósito de conocer el valor que los caracteres estructurales tienen para la reconstrucción filogenética de la subtribu Oncidiinae, se realizó un análisis cladístico utilizando el criterio de parsimonia, basado en datos anatómico- foliares, morfológicos y secuencias de ADN de las regiones ITS y *matK*. Se obtuvieron dos árboles igualmente parsimoniosos que difieren entre sí sólo en la posición de un taxon. Oncidiinae se recobró como un grupo monofilético, caracterizado por la presencia de papilas adaxiales y abaxiales en la hoja. Siete sinapomorfías estructurales definen cinco clados con soporte alto: 1) clado *Lockhartia*, definido por una lámina foliar conduplicada; 2) clado *Trichocentrum*, definido por una hoja anfistomática y dos o más estratos de haces vasculares; 3) un clado compuesto por los géneros *Fernandezia*, *Ornithocephalus* y *Telipogon*, agrupados por la ausencia de estégmato en haces vasculares y su crecimiento monopodial; 4) un gran clado compuesto por la mayoría de los clados derivados de Oncidiinae, definido por la presencia de dos estratos en la

hipodermis adaxial; 5) el clado *Tolumnia*, definido por una hoja con lámina sólo conduplicada marginalmente. La mayoría de los clados adicionales están apoyados por combinaciones de caracteres estructurales; los clados *Trichopilia* y *Miltonia*, al igual que las ramas terminales de algunos de los clados con posición intermedia no están apoyados por caracteres estructurales. Los clados más derivados están apoyados por caracteres estructurales resueltos como reversiones.

En el cuarto capítulo se analizaron y compararon las inclusiones minerales en las hojas de 140 especies de Oncidiinae (Epidendroideae, Orchidaceae). Secciones transversales de hojas se observaron para describir las inclusiones minerales con el apoyo de la microscopía de luz en campo claro, contraste de fases y polarización. Se encontraron cristales de oxalato de calcio de diferentes formas y depósitos de dióxido de sílice en forma de estégmatos. Las formas cristalinas más comunes son rafidios, prismas y drusas; sin embargo, algunas especies tienen cristales en arena, concéntricos o en placas radiales. En esta investigación se reportan las dos últimas por primera vez para Oncidiinae y también para Orchidaceae. Los cristales generalmente están presentes en las células del mesofilo y sólo dos especies los presentan en las células epidérmicas. Los estégmatos son cónicos con superficie rugosa, generalmente formando hileras a lo largo de las fibras. Comúnmente se presentan en los haces vasculares y en los haces de fibras abaxiales. Sin embargo, existen especies cuyos haces de fibras no tienen estégmatos, así como especies sin haces de fibras ni estégmatos. Se discute la importancia taxonómica de estas inclusiones minerales para los diferentes clados, géneros y/o especies de Oncidiinae.

En el quinto capítulo se analiza la evolución de los caracteres estructurales de Oncidiinae con el propósito de explorar posibles patrones evolutivos en 37 de estos caracteres para la subtribu. Los caracteres fueron optimizados sobre uno de dos árboles igualmente parsimoniosos obtenidos, derivados de un análisis cladístico combinado a partir de datos moleculares y los mismos 37 caracteres estructurales. Se discuten las posibles correlaciones entre los caracteres estructurales con parámetros ambientales, como altitud, clima y tipos de vegetación, así como el tamaño de las hojas entre los clados definidos para Oncidiinae y su posible relación en la diversificación de la subtribu.

En el sexto y último capítulo se presentan las conclusiones generales derivadas del presente estudio.

ABSTRACT :

The subtribe Oncidiinae (tribe Epidendroideae, family Orchidaceae) is an important element of the neotropical orchid's flora and Mexico is particularly rich in members of this group. Its diversity, either taxonomically as morphologically has been emphasized by several authors and its systematics has been recently reviewed based on molecular data. Although the importance of structural characters in the systematic of Orchidaceae has been outlined for several groups, until now there has been no explored its usefulness in the Oncidiinae.

The main objective of this study was to analyze the structural characters in Oncidiinae to evaluate their systematic and phylogenetic importance, to explore their taxonomic significance and to postulate possible pathways of their evolution. The thesis includes six chapters and five appendages.

The first chapter is a general introduction and provides a general framework of the work; in this chapter the taxonomic history, geographical distribution and morphological characteristics of Oncidiinae are discussed to understand the goals of the study.

The second chapter includes a description of 37 structural characters evaluated in members of the subtribe Oncidiinae and used in the phylogenetic analyses; a description of the subtribe based on these characters is also provided.

The third chapter shows the results of the analysis of parsimony combining the structural (both anatomical and morphological) characters discussed in the second chapter and DNA molecular sequences from the *matK* and ITS regions; the goal was to determine the importance of the structural characters in the phylogeny of Oncidiinae. The analysis resulted in two equally parsimonious trees, both differing only in the placement of one taxon. Oncidiinae was recovered as monophyletic, characterized by the presence of adaxial and abaxial leaf papillae. In addition, seven structural synapomorphies that define five clades with high jackknife support were identified: 1) *Lockhartia* clade, supported by a conduplicate leaf blade; 2) *Trichocentrum* clade, supported by and amphistomatic leaf and two or more strata of vascular bundles; 3) a clade composed by the genera *Fernandezia*, *Ornithocephalus* and *Telipogon*, clustered by the absence of stigmata in the vascular bundles and their monopodic growth; 4) a larger clade including most of the derived clades of Oncidiinae, characterized by the presence of two strata at the adaxial hypodermis; 5) *Tolumnia* clade, supported by the leaf with blades only marginally conduplicate. Most of these additional clades recovered are supported by

combinations of structural characters, and the clades *Trichopilia* and *Miltonia* as well as several terminal branches in some well resolved clades of intermediate position are not supported by structural characters. The more derived clades are supported by structural characters resolved as reversals.

The fourth chapter includes a comparative analysis of the mineral inclusions found on leaves of 140 species of Oncidiinae. Transversal sections of leaves were evaluated to describe these mineral inclusions by using clear-field light, phases-contrast and polarized microscopy. Calcium oxalate crystals with different forms and dioxide sylicium depositions in the stigmata form were found. The more common crystalline forms found were rafidia, prisms and druses; however, several species included crystals like sand, concentric or as radial plates. This survey recorded for the first time into Oncidiinae and for all Orchidaceae the last two crystalline forms. The crystals are found generally in the mesophil cells and only two species include them in the epidermal cells. The stigmata are conical with rugose surface, generally disposed as lines along fibers. They are found more commonly in the vascular bundles and in the abaxial fibers bundles; however, there are species with fiber bundles with no stigmata as well as species without either fibers bundles or stigmata. The taxonomic relevance of these mineral inclusions in the different clades, genera and/or species of Oncidiinae is discussed.

The fifth chapter analyses the evolution of the 37 structural characters studied in Oncidiinae, with the goal to explore possible evolutionary patterns. The characters were optimized on one of the two equally parsimonious trees obtained in the combined phylogenetic analysis discussed in the chapter tree. The possible correlations among these structural characters and environmental parameters such as altitude, climate and vegetation types are discussed. Likewise, allometric parameters such as the size of the leaves among clades in Oncidiinae and their potential relation with subtribe diversification are discussed.

The sixth chapter provides the general conclusions of the study.



CAPÍTULO 1



INTRODUCCIÓN

La familia Orchidaceae (Asparagales) es un grupo monofilético (Cameron *et al.* 1999) con cerca de 25,500 especies (Chase *et al.* 1995, Dressler y Chase 1995) y de distribución mundial. Esta familia incluye cinco subfamilias: Apostacioideae, Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae y Epidendroideae, las cuales han sido ratificadas a partir de análisis filogenéticos utilizando secuencias de ADN (Chase *et al.* 2003). La subfamilia Epidendroideae es el linaje más diverso, tanto en número de especies y géneros como en hábitos y formas de vida, intervalos de tamaños y estrategias reproductivas; es además el grupo predominante en el biotopo epífita. El 80% de las orquídeas, es decir, cerca de 20,400 especies, pertenecen a esta subfamilia (Hágsater *et al.* 2005). Una de sus tribus (Maxillarieae) incluye seis subtribus (Williams *et al.* 2001a), entre las que se encuentra la subtribu Oncidiinae, con aproximadamente 95 géneros y 1,700 especies (Williams *et al.* 2001a, 2001b). Oncidiinae es uno de los grupos neotropicales más diversos y evolutivamente avanzado (Chase 1986b, Dressler 1993, Sosa *et al.* 2001, Williams *et al.* 2001a, 2001b, Chase *et al.* 2003), con una gran variación respecto a sus números cromosómicos, tamaño del genoma, ecología, morfología floral y vegetativa, historia de vida o síndromes de polinización, entre otros caracteres. Típicamente son epifitas y unas cuantas son terrestres y litófitas; usualmente presentan pseudobulbos de formas y tamaños diversos, de un solo entrenudo y con un crecimiento simpodial; a veces presentan tallos delgados, cortos o elongados, con varios entrenudos; en ocasiones con un crecimiento monopodial

(*Fernandezia*); el velamen es de tipo *Cymbidium*; generalmente las hojas apicales tienen un arreglo dístico, alterno o están arregladas en forma de abanico (*Ornithocephalus*), son articuladas o no; están conduplicadas en grados variados, pueden ser rollizas (*Trichocentrum cebolleta* (Jacq.) M.W. Chase & N.H. Williams) o lateralmente aplanadas (*Macroclinium bicolor* (Lindl.) Dodson); la inflorescencia generalmente es lateral, simple o ramificada, uniflora o con muchas flores; flores espirales o dísticas, diminutas a muy grandes, resupinadas; el labelo puede ser espolonado o puede tener apéndices nectaríferos extendidos dentro de un espolón sepalino (*Comparettia*); a menudo con callo grande; columna alada o no; antera terminal y operculada o erecta y dorsal, con particiones reducidas; dos polinios o en ocasiones cuatro (*Ornithocephalus*), con viscidio y estipite usualmente pareciendo diferentes en color o textura; estigma entero o bilobulado. Florísticamente, las Oncidiinae son un elemento importante en todas las regiones tropicales del Nuevo Mundo. Se les encuentra desde el nivel del mar hasta los páramos de alta montaña; desde Sinaloa y Tamaulipas en México hasta Misiones en Argentina, y el Caribe, incluyendo el sur de Florida en Estados Unidos (Chase 1986b).

La taxonomía de las Oncidiinae se basa casi exclusivamente en caracteres florales; caracteres vegetativos y la distribución geográfica en algunas ocasiones han sido considerados en el establecimiento de sus límites y relaciones genéricas. Lo anterior ha generado un sistema de clasificación extremadamente artificial que además revela poco acerca de sus relaciones filogenéticas. Varios autores se han esforzado por definir los límites genéricos en la subtribu, pues uno de los problemas principales en esta subtribu es que la mayoría de sus especies están ubicadas en sólo cuatro géneros (Dressler y Williams 1975); por otro lado, los taxones que integran la subtribu muestran una gran variación morfológica, lo que ha generado a lo largo de su historia diferentes propuestas de clasificación de acuerdo a la concepción de los diferentes autores, quienes atribuyeron mayor importancia sólo a algunos caracteres para el reconocimiento de categorías inferiores.

Varios trabajos moleculares en Oncidiinae se han enfocado en el entendimiento de las relaciones filogenéticas de un pequeño grupo, o bien, en un número más amplio de especies (Chase y Palmer 1988, Chase y Palmer 1992, Sosa *et al.* 2001, Williams *et al.* 2001a; 2001b). Uno de los más recientes y que incluye un mayor número de especies representativas de la subtribu es el realizado por Williams y colaboradores (2001a), quienes llevaron a cabo un análisis de datos combinados del ADN del ribosoma nuclear (ITS) y dos regiones de plastidios (*matK*, *trnL-F*), para 77 taxa representativos de todos los grupos de Oncidiinae y dos taxa como grupo externo, con el propósito de evaluar la monofilia y las relaciones filogenéticas de *Cyrtorchilum* y géneros relacionados (Oncidiinae). A partir de estos

resultados, los autores reconocen a la subtribu como un grupo monofilético; no obstante, su circunscripción está basada principalmente en datos moleculares. Además, reconocen la formación de nueve clados en Oncidiinae y muestran que las propuestas de clasificación anteriores eran artificiales (Williams *et al.* 2001a). La clasificación propuesta por Williams y colaboradores (2001a) para Oncidiinae amplía los límites de la subtribu, ahora incluyendo a géneros que estaban considerados dentro de las subtribus Telipogoninae, Ornithocephalinae y Pachiphilinae *sensu* Dressler (1993).

Se conoce que los caracteres vegetativos en este grupo son variados y son taxonómicamente informativos (Dressler 1993, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001); sin embargo, sólo algunos de ellos se han puesto a prueba a través de un análisis filogenético para conocer su valor taxonómico y filogenético (Stern y Carlswald 2006).

Los caracteres anatómico foliares han sido utilizados en la clasificación de las Orchidaceae. Williams (1974) propone que el estudio de la anatomía vegetativa de las orquídeas puede ser útil, tanto en niveles superiores (subfamilias, tribus, subtribus) como en inferiores (géneros, subgéneros, secciones, especies). De acuerdo con Pridgeon (1987), los caracteres anatómico foliares son considerados importantes para la determinación de las relaciones taxonómicas en Orchidaceae y los trabajos anatómicos enfocados a esto son muy diversos. Algunos aplican uno o varios de los métodos numéricos multivariados, para reconocer los caracteres que tienen valor taxonómico en la agrupación de los taxa (Sandoval-Zapotitla 1999), otros incluyen únicamente aspectos anatómicos de ciertas especies de Oncidiinae (Groom 1893, Ayensu y Williams 1972, Williams 1974, Pridgeon *et al.* 1983, Chase 1986b, Rojas-Leal 1993, Sandoval-Zapotitla 1993, 1999, Toscano de Brito 1998, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001, Stern y Carlswald 2006). Sandoval-Zapotitla (1999) y Sandoval-Zapotitla y Terrazas (2001) encuentran que algunos caracteres anatómicos apoyan el reconocimiento del clado *Lophiaris*, ahora *Trichocentrum* y las relaciones de sus miembros; estas relaciones son congruentes con las propuestas a partir de evidencias moleculares (Sosa *et al.* 2001, Williams *et al.* 2001a, 2001b).

No obstante a la propuesta filogenética y a el reconocimiento de clados para la subtribu Oncidiinae (Williams *et al.* 2001a, 2001b), las relaciones filogenéticas en algunos de los clados o de sus especies aún no están completamente resueltas, por lo que su taxonomía no se ha estabilizado. Se ha argumentado que, si bien la sistemática molecular es la principal herramienta en la reconstrucción filogenética, las clasificaciones taxonómicas no se pueden basar únicamente en la comparación evolutiva de macromoléculas; también es importante sumar la información que brindan otros caracteres

(Margulis y Guerrero 1991). Por otro lado, a la fecha no existen trabajos que den una explicación de la evolución de los caracteres anatómicos o morfológicos para los grupos o clados de Oncidiinae.

Para abordar este estudio, se establecieron los siguientes objetivos:

1. Analizar los caracteres estructurales (morfológicos y anatómico foliares), desde una perspectiva cladística, para conocer su valor en la filogenia de Oncidiinae.
2. Describir los contenidos minerales presentes en esta subtribu y determinar si son caracteres filogenéticamente informativos.
3. Evaluar los patrones de evolución de los caracteres estructurales (morfológicos y anatómico foliares) de la subtribu Oncidiinae, con base en las relaciones filogenéticas inferidas desde un análisis de evidencia total y discutir sus posibles implicaciones evolutivas.

Este estudio incluye seis capítulos, organizados de la siguiente manera. El capítulo uno abarca la presente introducción. En el segundo capítulo se presenta una descripción general de Oncidiinae, a partir de los caracteres estructurales (morfológicos y anatómico foliares) revisados para 52 especies seleccionadas como representativas de la subtribu y cinco taxa más de otras subtribus, como grupo externo. Este capítulo además incluye una sección en la cual se hace la presentación de los caracteres seleccionados para el análisis cladístico, y se definen los estados de carácter asignados en cada caso. Si bien existen propuestas filogenéticas para Oncidiinae, a partir de datos moleculares, particularmente de tres secuencias de ADN (ITS, *matK*, *trnL-F*) (Williams *et al.* 2001a, 2001b), se carece de un análisis que integre además información de otras fuentes, como las estructurales. El propósito de este segundo capítulo es presentar los caracteres estructurales y sus estados de carácter que representan las hipótesis de homología primaria que serán la base para un análisis cladístico de evidencia total. En el tercer capítulo, se presentan los resultados de un análisis cladístico de evidencia total, que incluye datos estructurales (morfológicos y anatómico foliares) y dos secuencias moleculares (ITS y *matK*). El propósito de este capítulo es poner a prueba la monofilia de Oncidiinae, presentar una hipótesis filogenética generada a partir de evidencia total y conocer el valor que los caracteres estructurales tienen en la filogenia de Oncidiinae. Como resultado del análisis de los caracteres anatómicos en Oncidiinae, se preparó un cuarto capítulo en el cual se presenta una revisión de los contenidos minerales en 140 especies de Oncidiinae. Estos contenidos incluyen sílice y cristales de oxalato de calcio. Se discute la importancia filogenética de estos contenidos en la conformación de los grupos

reconocidos para Oncidiinae. En el quinto capítulo se discute la evolución de los caracteres estructurales en Oncidiinae y tiene el propósito de explorar los posibles patrones evolutivos en 37 caracteres estructurales (morfológicos y anatómico foliares) de Oncidiinae. Finalmente, en el sexto capítulo se presentan las conclusiones generales y perspectivas generadas a partir de la presente investigación.

La literatura citada se presenta al final de este documento y corresponde a todas las citas mencionadas en el texto de cada capítulo. Los Anexos se presentan igualmente al final, en la misma secuencia de como se irán mencionando en cada capítulo. En el Anexo 1 se presenta la lista de caracteres estructurales usados en el análisis cladístico. En el Anexo 2 se presenta la lista de las especies de Oncidiinae analizadas en este estudio. Se indica el colector, número de colecta, el número de acceso en GenBank de las secuencias de ADN utilizadas (ITS y *matK*), excepto para *Oncidium alexandrae*, *O. epidendroides* (*matK*), *Tolumnia pulchella* y *T. triquetra* (ITS, *matK*). En el Anexo 3 se presenta la matriz de caracteres estructurales utilizada en el análisis cladístico de Oncidiinae. Los estados de carácter corresponden a los descritos en el Anexo 1. En el Anexo 4 se presenta la lista de especies incluidas en el análisis de diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae. En el Anexo 5 se presenta el número de cambios evolutivos registrado por carácter para cada clado. Los ocho primeros caracteres son morfológicos, el resto son anatómicos.



CAPÍTULO 2



CARACTERES ESTRUCTURALES EN ONCIDIINAE

Resumen:

Se revisaron 37 caracteres estructurales morfológicos (8) y anatómicos (29). Los últimos se analizaron a partir de preparaciones histológicas de hojas maduras de 52 especies de Oncidiinae y cinco de otras subtribus. Los caracteres se seleccionaron con base en los criterios de variación, similitud y no conjunción. Se presenta la descripción de Oncidiinae a partir de los mismos caracteres estructurales analizados.

Introducción:

La subtribu Oncidiinae (tribu Maxillarieae), con aproximadamente 1,700 especies (Williams *et al.* 2001a, 2001b), después de Pleurothallidinae es una de las subtribus más grandes de las orquídeas Neotropicales (Chase 1986b, Chase y Palmer 1988). Desde el punto de vista de su clasificación, la subtribu Oncidiinae es uno de los grupos más complejos de Orchidaceae (Ayensu y Williams 1972, Chase 1986b, Chase 1987, Chase y Palmer 1989, Dressler 1993, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001, Williams *et al.* 2001a, 2001b). Su clasificación ha estado sustentada en los caracteres florales (Chase y Palmer 1989), pero estos caracteres varían ampliamente aún dentro de las especies y no siempre apoyan a definir los grupos taxonómicos. Debido a que muchos caracteres florales reciben mucha atención por los taxónomos, se han producido clasificaciones que incluyen grupos morfológicos complejos, más fuertemente relacionados con sistemas o síndromes de polinización altamente especializados que con su historia genética, además estas clasificaciones resultan ser artificiales. Por lo tanto, podría ser

ventajoso para los estudios sistemáticos, filogenéticos y evolutivos, considerar otro tipo de caracteres, como los caracteres vegetativos, además de los florales. Un amplio conocimiento de los órganos vegetativos también podría apoyar significativamente en el entendimiento de la biología, ecología y evolución de las orquídeas (Rasmussen 1986).

Sólo de forma reciente se han empleado caracteres moleculares en la sistemática de Oncidiinae (Williams *et al.* 2001a, 2001b). La mayoría de los estudios sistemáticos en Oncidiinae han excluido los caracteres vegetativos y micromorfológicos; aún cuando estos caracteres son variables dentro de la subtribu, su diversidad pudiera significar una fuente de caracteres taxonómicos potencialmente importante en la sistemática de la subtribu, además de proporcionar un sistema rico en información sistemática y filogenética con el cual estudiar los patrones de evolución de los grupos taxonómicos y de los mismos caracteres estructurales o de otro tipo. Por ejemplo, los estudios anatómicos realizados a la fecha están enfocados a describir algunos aspectos de las estructuras vegetativas de unas cuantas especies o pequeños grupos de Oncidiinae donde se ha visto que caracteres como: en el tallo: tipo de tallo, número de entrenudos, presencia de hipodermis y células almacenadoras de agua; en la raíz: presencia, número de estratos, tipo y grosor de pared celular del velamen, presencia, ubicación y tipo de tilosomas; presencia, número de estratos, tipo de engrosamiento en las paredes celulares de la exodermis y endodermis; tipo de periciclo; número de arcos que forman los haces vasculares centrales; en la lámina foliar: presencia y ubicación de papilas epidérmicas; ubicación de estomas; presencia, número de estratos, grosor de la pared celular y continuidad de los estratos celulares de la hipodermis adaxial y abaxial; tipo de parénquima en el mesofilo; presencia y ubicación de células con engrosamientos secundarios; presencia de células buliformes y presencia, ubicación y número de estratos de haces de fibras no vasculares son significativamente importantes para el reconocimiento de algunos grupos taxonómicos de Oncidiinae (Leitgeb 1864, Pfitzers 1882, Möbius 1887, Groom 1893, Meinecke 1894, Solereder y Meyer 1930, Ayensu y Williams 1972, Williams 1974, Chase 1986a, 1986b, Chase y Palmer 1988, Chase y Palmer 1992, Rojas-Leal 1993, Sandoval-Zapotitla 1993, Soto *et al.* 1993, Chase y Palmer 1997, Stern 1997a, Sandoval-Zapotitla 1999, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001, Stern *et al.* 2004). Sin embargo, aún cuando se conoce que los caracteres estructurales son significativamente informativos para la sistemática de otros grupos de Orchidaceae (Pridgeon y Williams 1979, Pridgeon 1982, Pridgeon y Stern 1982, Pridgeon *et al.* 1983, Møller y Rasmussen 1984, Pridgeon 1987, Stern y Morris 1992, Stern *et al.* 1993a, 1993b, Carlswald *et al.* 1997, Stern 1997b, Toscano de Brito 1998, Davies 1999, Freudenstein y Rasmussen 1999, Stern y Whitten 1999,

Pridgeon *et al.* 2001, Stern y Judd 2001, Stern y Judd 2002, Stern *et al.* 2004, Stern y Carlswald 2004, García-Cruz y Sosa 2005, Figueroa *et al.* 2008, Cervantes 2009), en Oncidiinae solo algunos trabajos han explorado y analizado si la variación observada en los caracteres estructurales es taxonómica o filogenéticamente informativa (Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001, Stern y Carlswald 2006). Stern y Carlswald (2006) realizaron un análisis cladístico con nueve caracteres anatómico foliares y morfológicos para 40 géneros de esta subtribu y encontraron que caracteres anatómicos, como la presencia de una hipodermis, la presencia de haces de fibras y estégmatos, entre otros, soportan o apoyan algunos grupos de Oncidiinae, por ejemplo, el clado *Cuitlauzina-Osmoglossum* es soportado por la presencia de células endodermales con paredes engrosadas en forma de “U”.

Vegetativamente, Oncidiinae es polimórfica y existe una gran variación en la forma de sus tallos, así como en la forma, perfil, tamaño y textura de sus hojas a nivel de géneros y especies (Dressler 1993). Freudenstein y Rasmussen (1999) mencionan que el análisis de los caracteres estructurales es importante porque son herramientas útiles para evaluar los sistemas de clasificación previos. Un análisis explícito de estos caracteres revela hipótesis alternativas de patrones de relación que de otra manera no pueden ser considerados. La evaluación y análisis de caracteres, la definición de sus estados y su codificación forman una base sólida a partir de la cual se puede continuar el trabajo sistemático. Cuando nuevos caracteres sean evaluados, podrán ser adicionados al conjunto de datos ya utilizados en la sistemática de ciertos grupos vegetales y estar sujetos a futuros análisis filogenéticos o sistemáticos. Finalmente, los caracteres estructurales así evaluados pueden ser combinados con otro conjunto de datos (moleculares, números cromosómicos, formas de vida, etc.) para generar análisis filogenéticos o sistemáticos mejor sustentados.

El objetivo del presente análisis es conocer los caracteres estructurales de las especies o categorías superiores de Oncidiinae cuya variación, similitud y no conjunción permita proponerlos como homologías primarias para esta subtribu.

Materiales y Métodos:

Selección de caracteres. Se seleccionaron un total de 37 caracteres binarios y multiestado (Anexo 1); de ellos ocho son morfológico-vegetativos y 29 son anatómico foliares. La selección de los caracteres anatómicos se realizó tomando en cuenta trabajos anatómicos previos realizados para algunas especies de la subtribu (Ayensu y Williams 1972, Williams 1974, Chase 1986a, Rojas-Leal 1993, Sandoval-Zapotitla 1993, 1999, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001, Stern y Carlswald 2006). El

análisis de los ocho caracteres morfológico-vegetativos (1-8) se basó en la observación de plantas vivas de los invernaderos del Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero en Xalapa, Veracruz, México; de la Asociación Mexicana de Orquideología (AMO) en el Distrito Federal, México; del Jardín Botánico Lankester de la Universidad de Costa Rica, así como de colecciones particulares y se complementaron con información obtenida de la literatura. Ocho caracteres de la epidermis fueron analizados a partir de la vista superficial (9, 10, 11, 13, 14, 15) y de secciones transversales de la hoja (12, 16). Se distinguieron 20 caracteres más de secciones transversales de la región media (17-36) y un carácter (37) de la región basal de la hoja. Cada uno de los caracteres evaluados mostró variación entre los taxa y aprobó los criterios de similitud y de no conjunción (de Pinna 1991).

Estudios Anatómicos. Se tomaron muestras de hojas maduras de plantas vivas recolectadas en el campo o de plantas mantenidas en cultivo bajo condiciones de invernadero. Para cada hoja, tres fracciones de la región media y una de la región basal fueron fijadas en Navashin (Sandoval-Zapotitla *et al.* 2005) por al menos 24 horas; posteriormente fueron almacenadas en etanol al 70% hasta su procesamiento. Dos secciones de la región media fueron sumergidas en soluciones sucesivas de hidróxido de sodio e hipoclorito de sodio (20%), durante 20 a 40 minutos respectivamente para obtener una fracción transparentada y las epidermis adaxial y abaxial de la hoja; tanto la fracción transparentada como las epidermis se montaron como preparaciones temporales en gelatina glicerizada. La tercera fracción de hoja se deshidrató en soluciones graduales de alcohol-alcohol butílico terciario (ABT)-agua, desde 30% hasta alcohol absoluto y finalmente en ABT absoluto. Se infiltraron e incluyeron en Parafina Histológica a una temperatura de 58 a 60 °C. Con un micrótopo (American Optical 820) se cortaron secciones transversales (15 a 25 μm) que fueron teñidas con safranina verde rápido (Sandoval-Zapotitla *et al.* 2005). Se hicieron preparaciones permanentes montadas en enteyan. Las observaciones de los caracteres anatómicos foliares fueron realizadas con un fotomicroscopio Axioskope (Carl Zeiss, Göttingen, Alemania). Se elaboraron fotomicrografías con una cámara de video Exwave HAD (Sony), posteriormente se digitalizaron a través de una tarjeta de video (ATI) instalada en una computadora personal.

Resultados:

Análisis de caracteres.

A continuación se presenta la descripción de los caracteres morfológicos y anatómicos y sus estados de carácter como se observaron en el grupo bajo estudio (Anexo 1). Para la codificación de los estados de carácter de todos los caracteres estructurales analizados, se estableció que aquél estado de carácter presente en el grupo externo funcional, le corresponde el código “0”. Las descripciones se acompañan de fotomicrografías que ilustran sus estados de carácter.

Ramificación del tallo: La mayoría de las orquídeas siguen un patrón de ramificación simpodial que es común en las monocotiledóneas (Holttum 1955, Freudenstein y Rasmussen 1999). De acuerdo con Dressler (1993), en Oncidiinae se puede presentar dos tipos de ramificación del tallo: simpodial y monopodial. En el simpodial, cada brote tiene un crecimiento limitado y finalmente da lugar a un brote similar desde una yema axilar. Este es un hábito de crecimiento de tipo modular. Las plantas simpodiales pueden tener brotes concrecentes agrupados o separados sobre un rizoma largo y nuevos brotes pueden surgir desde cualquier parte de los brotes viejos donde existe una yema axilar. En el monopodial, los brotes tienen el potencial para un crecimiento apical indefinido (Fig. 2.1). Esta forma de ramificación ha sido derivada desde el hábito simpodial en varios grupos de orquídeas (Dressler, 1993). Se definieron dos estados para este carácter: 0. Simpodial, como la mayoría de las especies de Oncidiinae y 1. Monopodial, como en *Telipogon costaricensis* Schltr.

Tipos de tallo: La estructura básica del tallo de las orquídeas es comparable al de una caña o carrizo y está formado por entrenudos, delimitados por nudos o anillos cicatrizales donde originalmente se insertan hojas, vainas o escamas foliares. La forma del tallo así como el grado de engrosamiento son caracteres utilizados para el análisis cladístico de Orchidaceae (Freudenstein y Rasmussen 1999). La forma más común de tallo en la Oncidiinae epífitas es un pseudobulbo, también está presente en algunas orquídeas terrestres o rupícolas. Más que un órgano, el pseudobulbo debería ser considerado como una condición especializada o cualidad más o menos pronunciada, perteneciente al tallo, justo como lo es su longitud (Rasmussen 1986). Sin embargo, se le refiere como un tallo modificado. Los pseudobulbos son tallos aéreos normalmente engrosados, que almacenan de agua para periodos de

sequía además contiene sustancias nutritivas de reservas, como almidón, que son utilizados al menos en parte para sustentar la producción de flores y frutos y el desarrollo de nuevos vástagos (Hágsater *et al.* 2005). Puede estar constituido por un solo entrenudo, como en *Oncidium*, o compuesto de varios entrenudos. En algunas especies está escasamente engrosado y aparenta ser un tallo rollizo similar al observado en la mayoría de las monocotiledóneas; ya sea parecidos a cañas o esféricos, todos ellos se producen a partir de una yema axilar ubicada en los nudos de un tallo rastrero llamado rizoma, el cual puede ser reptante o péndulo (Dressler 1993, Hágsater *et al.* 2005) (Fig. 2.2). Se establecen dos estados para la forma de tallo: 0. Tipo pseudobulbo, 1. Tipo rollizo.

Crecimiento del pseudobulbo: Los pseudobulbos de las especies de Oncidiinae son variables en términos de tamaño, forma, textura, color y grado de desarrollo. Si bien el grado de desarrollo puede llevar a que el pseudobulbo alcance dimensiones distintas; con fines prácticos se distinguieron dos estados para este carácter, especies con pseudobulbos muy evidente, es decir con más de 2 cm de largo y especies con pseudobulbos reducidos, donde apenas alcanzan los 2 cm de largo; independientemente de la forma, color y textura que adquieran (Fig. 2.3). Se definen dos estados para el tipo de pseudobulbo: 0. Pseudobulbo muy evidente, 1. Pseudobulbo reducido.

Variación del número de entrenudos en el tallo por módulo: El número de entrenudos que comprende un pseudobulbo es variable. En muchos taxa de Orchidaceae, claramente existe un entrenudo (por ejemplo *Bulbophyllum*), mientras que en otros (*Catasetum*) puede haber varios, este carácter fue utilizado para el análisis cladístico de Orchidaceae por Freudenstein y Rasmussen (1999). La mayoría de las especies de Oncidiinae desarrollan un tallo con un solo entrenudo; sin embargo, existen especies que desarrollan tallos que incluyen varios entrenudos (*Fernandezia*) (Fig. 2.4). Se establecen dos estados para el número de entrenudos en el tallo: 0. Dos o más, 1. Uno.

Ubicación de las hojas en el tallo: Las hojas en las especies de Oncidiinae pueden estar ubicadas a lo largo del tallo, como en *Fernandezia* y *Telipogon* o pueden ubicarse en el ápice y en algunas ocasiones en la base del tallo como en la mayoría de las especies, donde muestran poca variación (Fig. 2.5). Se definen dos estados para la ubicación de las hojas en el tallo: 0. En el ápice del tallo, 1. A lo largo del tallo.

Disposición de las hojas en el tallo: La disposición de las hojas en el tallo se conoce como filotaxia, se describe en general que las orquídeas tienen una filotaxia espiral o dística, esta última soportada como el estado derivado (Dressler y Dodson 1960, Dressler, 1993). En Oncidiinae la disposición de las hojas en el tallo es variada; las hay solitarias u opuestas, como en la mayoría de sus especies, en forma de abanico como en *Ornithocephalus* o dísticas como en *Lockhartia* (Fig. 2.6). Se definen tres estados para la disposición de las hojas en el ápice del tallo: 0. Otras; 1. Con arreglo en forma de abanico; 2. Dísticas.

Suculencia de la lámina foliar: Las plantas suculentas son aquellas en las que la raíz, el tallo o las hojas han aumentado su volumen a través del desarrollo de tejido epidérmico o fundamental para el almacenamiento de agua o nutrientes en cantidades mucho mayores que en las plantas no suculentas. Las hojas suculentas tienen un volumen mayor y una apariencia carnosa (Fig. 2.7). Muchas epífitas tienen hojas con un grado variable de suculencia, generalmente la mayor parte de su tejido fundamental está especializado para almacenar agua. La apariencia carnosa se utilizó como criterio para definir a la hoja como suculenta. Se definen dos estados para la suculencia de la lámina foliar: 0. No suculenta; 1. Suculenta.

Perfil de lámina en sección transversal: A partir de una sección transversal, el perfil de la lámina puede variar. Chase (1986a) describe para Oncidiinae cinco tipos diferentes de perfiles. Vista en sección transversal, la lámina dorso-ventralmente extendida es completamente abierta, casi plana y corresponde al Tipo V de Chase (1986a) (Fig. 2.8 A); sin embargo, en algunas especies las hojas tienen láminas en forma de “V”, con los lados extendidos y dirigidos hacia arriba dejando a la vena media formando un canal central. En su perfil, estas hojas pueden tener variación en el ángulo de apertura que forman los dos lados de su lámina, para esta condición no se definieron subcategorías por lo que se agruparon todos los ángulos de apertura como un solo carácter. Cuando las hojas en su madurez tienen láminas marcadamente conduplicadas y sus extremos inferiores están imbricados, es decir, se sobrelapan una con otra como tejas en un techo, reciben el nombre de lámina basalmente conduplicada, como se observa en *Lockhartia* (Fig. 2.8 B), esta condición corresponde a la lámina del Tipo III de Chase (1986a). Otras hojas tienen una lámina marginalmente conduplicada, donde el 30% de la superficie adaxial se conserva expuesta y la zona central es fuertemente carinada, como se observa en *Tolumnia* (Fig. 2.8 C) y corresponde al Tipo IV (Chase 1986a). Una hoja uní-facial o enciforme, en sección

transversal, puede tener menos del 12% de la superficie adaxial expuesta y 88% de la lámina se mantiene lateralmente aplanada en la madurez, corresponde al Tipo II (Chase 1986a). En estas hojas los haces vasculares están organizados en dos estratos opuestos y tienen el xilema orientado hacia adentro y el floema hacia fuera de la lámina (Mauseth 1988). Chase (1986b) menciona que esta condición es resultado de la retención de un estado juvenil en la planta adulta y lo llama hoja psigmoide, como se observa en *Macroclinium bicolor* (Lindl.) Dodson (Fig. 2.8 D). Una hoja con lámina rolliza, en sección transversal tiene una forma semicircular u ovada y corresponde al Tipo I (Chase 1986a); esta lámina a simple vista se observa alargada, rolliza y en ocasiones falcada, con un surco adaxial central a lo largo de su eje longitudinal, que corresponden a una insipiente epidermis adaxial, como se observa en *Trichocentrum cebolleta* (Jacq.) M.W.Chase & N.H.Williams (Fig. 2.8 E). Dentro de los taxa de los grupos externos se observa una condición donde la hojas tienen varios haces vasculares proyectados hacia una o ambas epidermis y tienen una apariencia de acordeón, la lámina es plegada, como en *Cyrtopodium paniculatum* (Ruiz & Pav.) Garay (Fig. 2.8 F). Se definen seis estados para el perfil de la lámina foliar en sección transversal: 0. Lámina dorso-ventralmente extendida; 1. Lámina basalmente conduplicada; 2. Lámina marginalmente conduplicada; 3. Lámina unifacial; 4. Lámina rolliza; 5. Lámina plegada.

Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en la lámina foliar: Las especies pueden desarrollar epidermis con apéndices epidérmicos, que en sección transversal resultan ser proyecciones o excrecencias de la membrana de las células epidérmicas de diversos tamaños; en términos generales son conocidas como tricomas. Aquellos tricomas cortos, cuya base es más ancha que su altura y donde su extremo distal es obtuso, suelen conocerse como papilas (Font Quer 1982). Williams (1974) menciona que una epidermis adaxial con papilas es típica de varias especies de Oncidiinae, mientras que otras de sus especies y géneros tienen epidermis lisa. Este autor menciona que tal carácter puede tener alguna utilidad taxonómica en Orchidaceae. Se definen dos estados para las papilas adaxiales: 0. Sin papilas; 1. Con papilas (Fig. 2.9).

Apéndices epidérmicos abaxiales como papilas en la lámina foliar: Una epidermis abaxial con papilas es típica en varias especies y géneros de Oncidiinae, mientras que otras de sus especies y géneros tienen epidermis abaxial lisa. Se definen dos estados para las papilas abaxiales: 0. Sin papilas; 1. Con papilas (Fig. 2.10).

Tricomas no glandulares en epidermis adaxial en la lámina foliar: Los tricomas son las formas más comunes de excrescencias epidérmicas. Algunos autores mencionan que las superficies foliares de las especies de Oncidiinae no tienen tricomas (Williams 1974, Chase 1986a, Sandoval-Zapotitla 1993). Sin embargo, se ha observado que en Oncidiinae es frecuente encontrar tricomas sobre la epidermis adaxial, localizados hacia el margen de la hoja, principalmente en las etapas juveniles de las plantas aunque en algunas especies se mantienen hasta la etapa adulta. La forma del tricoma suele ser clavado elongado, uni o biseriado no ramificado, con una a tres células por serie formando su cuerpo principal; el ápice generalmente es obtuso y su base está formada por cuatro o más células epidérmicas no proyectadas, radialmente arregladas y distintas al resto de las células epidérmicas. Sus paredes pueden o no ser engrosadas y lignificadas. Debido a que las células del cuerpo principal del tricoma frecuentemente no se conservan inalteradas después del procesamiento de la hoja, para este carácter sólo se registró presencia o ausencia a partir de la observación de las células del pie del tricoma. Futuros estudios más detallados sobre las características de los tricomas podrían proporcionar mayor información potencialmente útil para la sistemática de esta subtribu. Se definen dos estados para los tricomas no glandulares de la epidermis adaxial: 0. Con tricomas; 1. Sin tricomas (Fig. 2.11).

Glándulas: Las glándulas epidérmicas son un conjunto de células capaces de acumular o de expeler una secreción (Font Quer 1982). Estas glándulas son externas porque están situadas en la superficie de la planta, en la epidermis. Pueden estar constituidas por una célula epidérmica de paredes delgadas, más o menos prolongada, papiliforme o abovedada o de forma más alargada. También pueden estar formadas de una o varias células de paredes engrosadas, en ocasiones lignificadas. En ambos tipos de células se observan evidentes contenidos densos. Se reporta que las glándulas están presentes en algunos miembros de Epidendroideae y son característicos de Lycastinae y Maxillariinae, pero no han sido mencionados para Oncidiinae. Estas glándulas son multicelulares, con ápices bulbosos típicamente sobre ambas superficies y sumidas en criptas (Holltmeier *et al.* 1998, Stern *et al.* 2004). Se definen dos estados para las glándulas: 0. Ausentes; 1. Presentes (Fig. 2.12).

Ubicación de estomas en la lámina foliar: Dependiendo de la ubicación de los estomas en la lámina, las hojas se definen como epistomáticas si los estomas están únicamente en la superficie adaxial, hipostomáticas si están únicamente en la superficie abaxial y anfistomáticas si están en ambas

superficies. En Oncidiinae, sólo se presentan dos estados, especies con estomas en la superficie abaxial o especies con estomas en ambas superficies. Williams (1974) mencionó que la mayoría de las especies de Oncidiinae tienen estomas ubicados en la superficie abaxial y que los estomas ubicados en la superficie adaxial tienen una distribución limitada en las Oncidiinae, por lo que parece ser un carácter taxonómico de utilidad. El mismo autor menciona que los estomas ubicados en ambas superficies se encuentran en unos pocos grupos de especies y generalmente estos grupos se encuentran en ambientes xerófilos. Se definen dos estados para el tipo de hoja en función de la ubicación de los estomas: 0. Hipostomática; 1. Anfistomática (Fig. 2.13).

Collar cuticular en estoma: A nivel del estoma, sobre las paredes tangenciales externas de las células oclusivas, se acumula un engrosamiento cuticular proyectado externamente a manera de labios prominentes, que en vista superficial tiene apariencia de un volcán. Este collar cuticular forma una antecámara supra-estomática, la cual se ha postulado cumple la función de acumular vapor de agua por encima de las células oclusivas y así evitar la pérdida excesiva de agua (Benzing 1990). Williams (1974) menciona que este collar está presente en especies de Oncidiinae, generalmente en aquellas que habitan ambientes xéricos; además, indica que el collar puede ser un carácter de utilidad taxonómica. Se definen dos estados para el collar cuticular: 0. Presente; 1. Ausente (Fig. 2.14).

Apertura del collar cuticular en estoma: En vista superficial, en las especies de Oncidiinae es posible distinguir dos posiciones diferentes para la apertura del collar cuticular, una es longitudinal y paralela al eje longitudinal de las células oclusivas y el poro del estoma, como se presenta en la mayoría de las especies de Oncidiinae y la otra es transversal al eje longitudinal de las células oclusivas y poro del estoma, como se observa en *Trichocentrum splendidum* (A.Rich. ex Duch.) M.W.Chase & N.H.Williams. Se definen dos estados para la apertura del collar cuticular: 0. Longitudinal y paralelo al eje longitudinal de las células oclusivas; 1. Transversal al eje longitudinal de las células oclusivas (Fig. 2.15).

Grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas: La pared tangencial interna de las células oclusivas del estoma tienen cierto grado de engrosamiento. Después de hacer 10 mediciones del grosor de esta pared en sección transversal en cada especie, se estimaron dos estados para este carácter: 0. Pared lateral interna muy engrosada (más de 2.5 μm), como se observa en la mayoría de las especies de

Oncidiinae; 1. Pared lateral interna poco engrosada (2.5 μm o menos), como se observa en *Erycina* y *Rhynchostele* (Fig. 2.16).

Hipodermis adaxial en la lámina foliar. La hipodermis es un estrato o estratos de células ubicadas por debajo de la epidermis y con células distintas de las células que forman el mesófilo de las hojas. El tamaño celular es generalmente más grande, así mismo, la forma de las células es distinta; la pared celular puede estar o no engrosada y en ocasiones lignificada, remarcando más la diferencia entre estas células y el conjunto de células que forman el resto de la hoja. Suelen ser células especializadas para almacenamiento de ciertos contenidos celulares, tales como cristales, sílice u otros, o estar especializadas en el almacenamiento adicional de agua (Mauseth 1988). Williams (1974) menciona que una hipodermis adaxial está presente en un número de especies de Oncidiinae y que este carácter varía y puede tener valor taxonómico para la subtribu (Fig. 2.17). Se definen dos estados para la hipodermis adaxial: 0. Ausente; 1. Presente.

Grosor de las paredes celulares de la hipodermis adaxial: La pared celular de las células hipodérmicas puede variar con respecto a su grosor (Fig. 2.18). Se definen dos estados para la pared celular de la hipodermis adaxial: 0. Pared delgada, cuando es menos de 2.5 μm ; 1. Pared gruesa, cuando es de 2.5 μm o más.

Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial: Cuando se desarrolla una hipodermis adaxial, las células que forman esta hipodermis pueden organizarse formando un estrato continuo o un estrato discontinuo debido a que en algunas especies no se desarrollan células hipodérmicas a nivel de los haces vasculares mayores o en otras zonas de la lámina (Fig. 2.19); ambas condiciones ya fueron observadas por Williams (1974) para algunas especies de Oncidiinae y establece que este carácter tiene utilidad taxonómica. Se definen dos estados para la distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial: 0. Continuos; 1. Discontinuos.

Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial: El número de estratos celulares de la hipodermis adaxial puede variar, de tal forma que observamos especies con uno, dos, tres o más estratos celulares (Fig. 2.20). Se definen tres estados para el número de estratos celulares en la hipodermis adaxial: 0. Un estrato; 1. Dos estratos; 2. Tres estratos.

Hipodermis abaxial: Williams (1974) menciona que una hipodermis abaxial está presente en un número de especies de Oncidiinae y que este carácter varía y puede tener valor taxonómico para la subtribu (Fig. 2.21). Se definen dos estados para la hipodermis abaxial: 0. Ausente; 1. Presente.

Células del mesofilo como parénquima en empalizada: El mesofilo de las hojas de algunas especies de Oncidiinae puede estar diferenciado en parénquima en empalizada y esponjoso o ser únicamente de tipo esponjoso. El parénquima en empalizada suele estar ubicado hacia el extremo adaxial de la hoja y se distingue porque el eje longitudinal de sus células es perpendicular a la superficie de las hojas, este tejido no es laxo por lo que sus células están compactas, generalmente contienen una mayor cantidad de cloroplastos (Fig. 2.22) en comparación con el parénquima esponjoso que es un tejido más laxo con mayor cantidad de espacios intercelulares, cuyas células son generalmente isodiamétricas y con menor cantidad de cloroplastos. El parénquima esponjoso suele estar ubicado hacia el extremo abaxial de la hoja. Se definen dos estados para el parénquima en empalizada: 0. Ausente; 1. Presente.

Células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial: Algunas especies de Oncidiinae tienen células en la hipodermis adaxial que desarrollan engrosamientos secundarios sobre su pared celular (Fig. 2.23). Este carácter ha sido detectado sólo en algunas especies, como en *Notylia barkerii* Lindl. y *Oncidium cheirophorum* Rchb.f., por lo que puede ser taxonómicamente útil. Se definen dos estados para las células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial: 0. Ausentes; 1. Presentes.

Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo: Algunas especies de orquídeas epífitas tienen células del mesófilo que desarrollan paredes secundarias o engrosamientos secundarios espiralados o reticulados. Pridgeon (1987) menciona que la presencia de este tipo de células puede ser diagnóstico para algunos grupos de Orchidaceae. La presencia de estas células en Oncidiinae se ha mencionado por varios autores (Williams 1974, Toscano de Brito 1998, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001). Algunas especies de Oncidiinae suelen habitar ambientes xéricos o estacionalmente secos; estas especies desarrollan estructuras especializadas, como la presencia de estas células con engrosamientos secundarios, útiles en la tolerancia al estrés hídrico (Benzing 1990) (Fig. 2. 24). Se definen dos estados para las células con engrosamientos secundarios en el mesofilo: 0. Ausentes; 1. Presentes.

Células buliformes: De acuerdo a Font Quer (1982), cuando una o más células del mesofilo se diferencian del resto de las células por adquirir una forma de ampolla o de burbuja, se conocen como células buliformes. El término “buliforme” (en forma de burbuja) ha sido usado para describir un tipo especial de célula epidérmica en las monocotiledóneas, particularmente en las gramíneas, las cuales parecen jugar un papel en el movimiento de la hoja, tal como el despliegue o apertura de la hoja desde la yema o en respuesta a presiones de turgencia o disponibilidad de agua (Esau 1965, Mauseth 1988, Rudall 1992). Tomlinson (1961) llamó a unas células similares y que se encuentran en la misma posición en las hojas de las Arecaceae como “Células de expansión”. Mauseth (1988) menciona que estas células pueden actuar como bisagra durante el desarrollo temprano de la hoja, facilitando que su forma generalmente conduplicada en las primeras etapas del desarrollo, pueda extender los dos extremos de la lámina y finalmente adquirir un perfil de hoja dorsiventralmente extendida o casi plana. Dentro de Oncidiinae, generalmente las especies presentan células buliformes (Fig. 2.25), cuyo eje longitudinal es perpendicular a la superficie de la hoja. Se definen dos estados para las células buliformes: 0. Ausentes; 1. Presentes.

Ubicación de las células buliformes: Las células buliformes de algunas especies de Oncidiinae suelen presentarse en la zona central adaxial de la lámina (Sandoval, observación personal); sin embargo, algunas especies de otras subtribus las pueden presentar además hacia las zonas marginales de la lámina (*Maxillaria*). Se definen dos estados para la ubicación de las células buliformes: 0. Sólo en la zona central adaxial; 1. En varias zonas además de la central adaxial.

Zona central abaxial de la lámina foliar: Cuando se aprecia en sección transversal, la hoja de algunas especies de Oncidiinae puede tener su zona abaxial central proyectada; sin embargo, esta proyección es variable y se puede observar como una proyección convexa, como en *Rossioglossum krameri* (Rchb.f.) M.W.Chase & N.H.Williams, o carinada como en la mayoría de las especies de Oncidiinae. Se definen dos estados para la zona abaxial central de la lámina. 0. Convexa; 1. Carinada (Fig. 2.27).

Número de estratos de haces vasculares en la zona central: La mayoría de las especies de Oncidiinae tienen un haz vascular a nivel de la zona central. Sin embargo, algunas cuantas especies presentan más

haces vasculares en dicha zona. Se definen dos estados para el número de haces vasculares en la zona central: 0. Uno; 1. Dos (Fig. 2.28).

Número de estratos de haces vasculares en la lámina: En la mayoría de las especies de Oncidiinae, las hojas tienen haces vasculares arreglados en un sólo estrato. Sin embargo, en algunas especies los haces vasculares se distribuyen en dos o más estratos. Se definen dos estados para el número de estratos de haces vasculares en la lámina: 0. Uno; 1. Dos o más (Fig. 2.29).

Haces de fibras adaxiales en la lámina: Muchas especies de Oncidiinae tienen haces de fibras no asociados a los haces vasculares, mientras que otras especies tienen hojas sin haces de fibras (Sandoval, observación personal). Stern *et al.* (1993b) usaron la presencia de los haces de fibras no vasculares en su estudio de Spiranthoideae para reconocer grupos de especies. Los haces de fibras pueden localizarse hacia la superficie adaxial o abaxial de la lámina. Las especies de Oncidiinae que presentan haces de fibras adaxiales suelen tenerlos formando un estrato. Tanto el tamaño de los haces como el grosor de la pared celular de las fibras son condiciones variables que requieren estudio. Se definen dos estados para los haces de fibras adaxiales en la lámina: 0. Ausentes; 1. Presentes (Fig. 2.30).

Haces de fibras abaxiales en la lámina: La mayoría de especies de Oncidiinae tienen haces de fibras abaxiales; sin embargo, algunas no los presentan, como es el caso de *Fernandezia tica* Mora-Ret. & García-Castro (Fig. 2.31). Se definen dos estados para los haces de fibras abaxiales en la lámina: 0. Ausentes; 1. Presentes.

Número de estratos de haces de fibras abaxiales: El número de estratos de los haces de fibras no vasculares abaxiales es variable entre las especies de Oncidiinae. Se definen tres estados para el número de estratos de haces de fibras abaxiales: 0. Uno; 1. Dos; 2. Tres o más (Fig. 2.32).

Estérgmatos en los haces vasculares: Los estérgmatos son cuerpos de sílice dentro de una célula de paredes delgadas o engrosadas que se encuentran asociadas al esclerénquima. Estos cuerpos están restringidos a Zingiberales y a unas cuantas familias más de monocotiledóneas, como Orchidaceae, Arecaceae, Maranthaceae, Musaceae y Restionaceae (Moller y Rasmussen 1984). Solereder y Meyer

(1930) ya habían reportado la presencia de estégmatos en Orchidaceae, donde se distinguen dos tipos, aquellos conteniendo cuerpos cónicos, ampliamente distribuidos en la familia y los que contienen cuerpos esféricos. Oncidiinae tiene cuerpos de sílice cónicos. Los cuerpos esféricos fueron observados en las orquídeas vandoides (*Phalaenopsis*, *Vanda*, *Angraecum*) y en *Dendrobium*, donde los cuerpos de sílice tienen una forma de disco. La presencia y tipo de estégmatos, aunque no su tamaño, es constante para las especies y géneros (Moller y Rasmussen 1984, Freudenstein y Rasmussen 1999). Para diferentes grupos de Orchidaceae, varios autores han mencionado la presencia de células de sílice en conexión con el esclerénquima de los haces vasculares (Williams 1974, Pridgeon y Williams 1979, Pridgeon y Stern 1982, Moller y Rasmussen 1984). Para las especies de Oncidiinae, otros autores han reportado su presencia en diversas especies (Rojas-Leal 1993, Sandoval-Zapotitla 1993, Stern 1997a, Sandoval-Zapotitla 1999, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001, Stern *et al.* 2004) (Fig. 2.33). Se definen dos estados para los estégmatos en los haces vasculares: 0. Presentes; 1. Ausentes.

Estégmatos en los haces de fibras abaxiales: Los estégmatos también están asociados al esclerénquima de los haces de fibras no vasculares. Aún cuando los haces de fibras abaxiales generalmente están presentes en las especies de Oncidiinae, existen algunas especies que tienen haces de fibras abaxiales sin estégmatos (Fig. 2.34). Se definen dos estados para los estégmatos de los haces de fibras abaxiales: 0. Ausentes; 1. Presentes.

Cristales prismáticos en el mesofilo: Las plantas por lo general presentan en algunas de sus células inclusiones minerales, como cristales de diversa naturaleza. En cerca del 75% de las angiospermas los cristales de oxalato de calcio son los más abundantes y ampliamente distribuidos (Franceschi y Horner 1980, Horner y Wagner 1995, Franceschi y Nakata 2005). Independientemente de su naturaleza, los cristales aparecen en diversas formas, como rafidios, estiloides, drusas, prismas y arena; su constancia entre las especies es de relevancia taxonómica (Webb 1999, Franceschi y Nakata 2005). Particularmente en las Orchidaceae, los rafidios son los cristales más comunes y a menudo se les puede encontrar al mismo tiempo con otras formas cristalinas, como drusas (Carlswald *et al.* 1997) o prismas (Stern *et al.* 1993b). Algunas especies de Oncidiinae desarrollan cristales de oxalato de calcio en forma de prismas de diversos tamaños (Fig. 2.35); no obstante, algunas especies no los presentan. Se definen dos estados de carácter para los cristales prismáticos: 0. Ausentes; 1. Presentes.

Cristales como drusas en el mesofilo: Algunas especies de Oncidiinae desarrollan cristales de oxalato de calcio como drusas (Fig. 2.36). Las drusas son cristales múltiples, los cuales se sabe que han precipitado alrededor de un sitio que actúa como núcleo para formar un conglomerado cristalino (Prychid y Rudall 1999). Sin embargo, algunas especies no los presentan. Se definen dos estados de carácter para las drusas: 0. Ausentes; 1. Presentes.

Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal: Algunas especies de Oncidiinae, a nivel de la región basal de sus hojas, presentan espacios aéreos que son interrupciones del tejido parenquimático en el mesofilo (Fig. 2.37). Algunos autores comentan que estos espacios permiten que el intercambio de gases sea eficiente a este nivel de la hoja (Williams 1974, Sandoval-Zapotitla 1993, Stern 1997b, Stern *et al.* 2004, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001). Se definen dos estados para los espacios aéreos en la región basal: 0. Presentes; 1. Ausentes.

Descripción de la subtribu Oncidiinae.

Las especies de Oncidiinae generalmente son plantas con crecimiento simpodial, algunas cuantas con crecimiento monopodial; con un tallo tipo pseudobulbo o en forma de caña; el pseudobulbo generalmente es extendido, en algunos taxa es reducido; presentan un entrenudo por módulo, unos cuantos taxa presentan dos o más entrenudos por módulo. Inflorescencia usualmente lateral (raramente terminal), simple a ramificada, una a muchas flores, arregladas espiral o dísticamente. Flores diminutas a muy grandes (más de 10 cm de diámetro), usualmente resupinadas. Sépalos usualmente libres, pero en algunos casos los sépalos laterales fusionados (formando un sinsépalo) y ocasionalmente formando un nectario espolonado. Pétalos usualmente libres, raramente parcialmente adnados a la base de la columna. Labelo usualmente libre, pero en ocasiones fusionado a la columna, usualmente sin un nectario, pero a veces espolonado o con una cavidad nectarífera basal, a veces provistos con uno o dos cuernos secretando néctar, a menudo con un callo complejo prominente, a veces productor de aceite que en algunos géneros mimetiza a una mosca o a otros insectos. Columna erecta, usualmente alargada, a veces arqueada, a menudo con alas u otros apéndices, a veces particularmente fusionados a la base del labelo y/o sépalos para formar un pie de columna; antera terminal, operculada, raramente erecta o dorsal, con particiones reducidas, 2-4 polinios duros, con un viscidio y a menudo un estipe alargado o con ganchos que son amarillos o blancos respectivamente; estigma ventral, entero o bilobulado,

circular o como una abertura, usualmente cerca del ápice de la columna pero a veces basal; róstelo a menudo picudo y a veces alargado. Ovario usualmente glabro, raramente equinado. Cápsula erecta, con 3 a 6 valvas, en la madures a menudo con tricomas higroscópicos que se tuercen cuando se deshidratan ayudando a liberar las semillas. Semillas del tipo *Maxillaria/Vanda*, con un número de variantes, incluyendo los márgenes celulares terminales alargados que forman ganchos o perillas en muchas epífitas de ramita. Las hojas están generalmente ubicadas hacia el ápice del tallo, en la base del tallo o en ciertos taxa a lo largo del tallo; las apicales están dispuestas como hojas solitarias u opuestas, en algunos taxa estas hojas están dispuestas formando un abanico y unos cuantos taxa tienen hojas apicales con un arreglo dístico, usualmente duplicadas y bifaciles, articuladas; habitualmente son no suculentas, pero algunos taxa tienen hojas suculentas; su tamaño va de 1.5 a 65.0 cm de largo por 0.2 a 12.0 cm de ancho; ordinariamente en sección transversal son dorso-ventralmente extendidas, las hay ensiformes, rollizas o teretes, marginalmente conduplicadas o completamente conduplicadas; generalmente no presentan papilas adaxiales ni abaxiales, excepto algunos taxa que si las presentan; usualmente presentan tricomas adaxiales ubicados hacia los márgenes de las hojas y en solo unos cuantos taxa están ausentes; los estomas están ubicados principalmente sólo en la epidermis abaxial, por lo que sus hojas son hipostomáticas, en algunos taxa son anfistomáticas; normalmente presentan un collar cuticular, aunque ausentes en algunos taxa; la apertura del collar cuticular usualmente es longitudinal y paralela al eje longitudinal de las células oclusivas y sólo en pocos taxa la apertura es transversal; usualmente la pared lateral interna de las células oclusivas es muy engrosada, de más de 2.5 μm de espesor, excepto algunos taxa; la hipodermis adaxial ordinariamente está presente, excepto en algunos taxa; la hipodermis adaxial puede tener hasta tres estratos celulares continuos o discontinuos, de paredes delgadas (de menos de 2.5 μm de grosor) o de paredes gruesas (de 2.5 μm o más de grosor); la hipodermis abaxial suele estar ausente, pero varios taxa la presentan y cuando está presente se encuentra formando un sólo estrato generalmente continuo o discontinuo y las células son de paredes delgadas o gruesas. El mesofilo generalmente es de tipo esponjoso y ocasionalmente se presenta parénquima en empalizada; las células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial son escasas; las células con engrosamientos secundarios en el mesofilo son escasas y sólo se presentan en pocos taxa; células buliformes generalmente presentes y ubicadas en la zona central adaxial; la zona abaxial central frecuentemente es carinada, en ocasiones es convexa; número de estratos de haces vasculares en la zona central, uno ocasionalmente dos o más; número de estratos de haces vasculares en la lámina, uno excepto los miembros del clado *Trichocentrum* con dos o más

estratos; haces de fibras adaxiales ausentes; haces de fibras abaxiales frecuentemente presentes; haces de fibras abaxiales dispuestos en uno, dos, tres o más estratos; los estérmatos son frecuentes en los haces vasculares y en los haces de fibras abaxiales; los cristales prismáticos generalmente están presentes en los miembros de los clados *Oncidium*, *Cyrtochilum* y otros pocos taxa; las drusas suelen estar presentes en los miembros del clado *Oncidium* y otros pocos taxa; los espacios aéreos son raros en la región basal de la hoja.

Las Oncidiinae son un elemento importante en las regiones tropicales de América, desde el sur de Florida y norte de México en Norteamérica, a través del Caribe y Centroamérica al sur en Perú, Bolivia y el norte de Argentina en Sudamérica. Típicamente son epífitas y unas cuantas son terrestres y litófitas; se les encuentra desde el nivel del mar hasta los páramos de alta montaña, hasta los 3200 metros, por lo que las condiciones climáticas donde habitan pueden ser desde cálidas y secas hasta frías y húmedas.



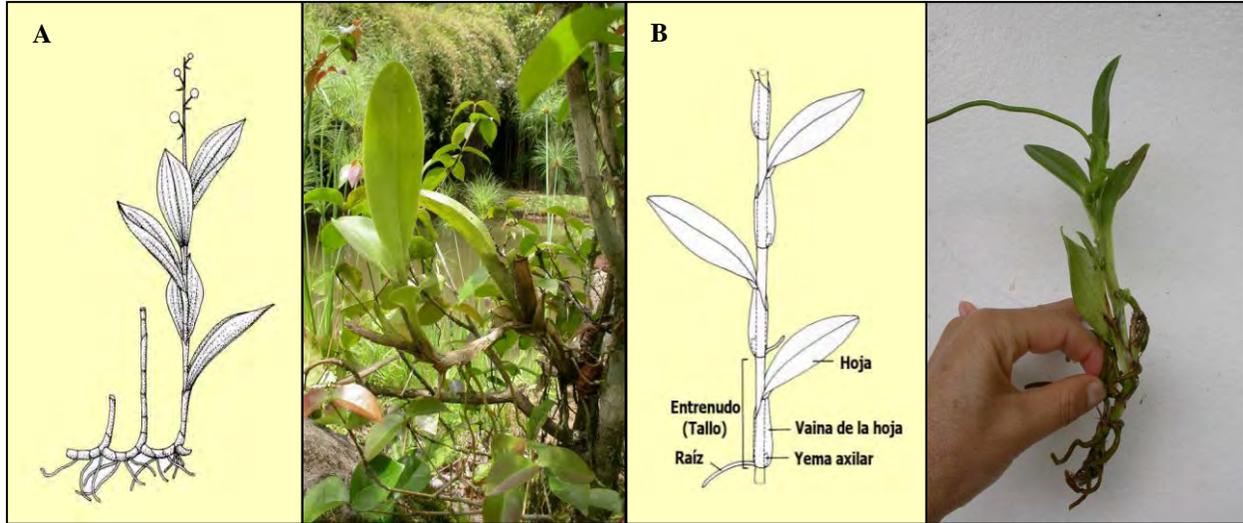


Figura 2.1. Ramificación del tallo en Oncidiinae. A. Simpodial. *Otoglossum chiriquense*; B. Monopodial; *Telipogon costaricensis*.

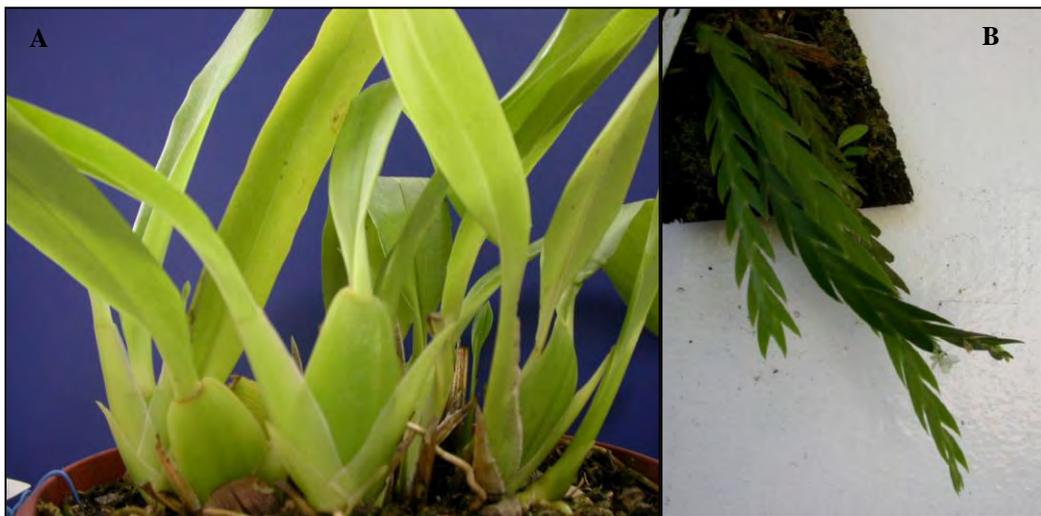


Figura 2.2. Tipos de tallo en Oncidiinae. A. Tipo pseudobulbo; *Brassia arcuigera*. B. Tipo rollizo; *Lockhartia hercodonta*.

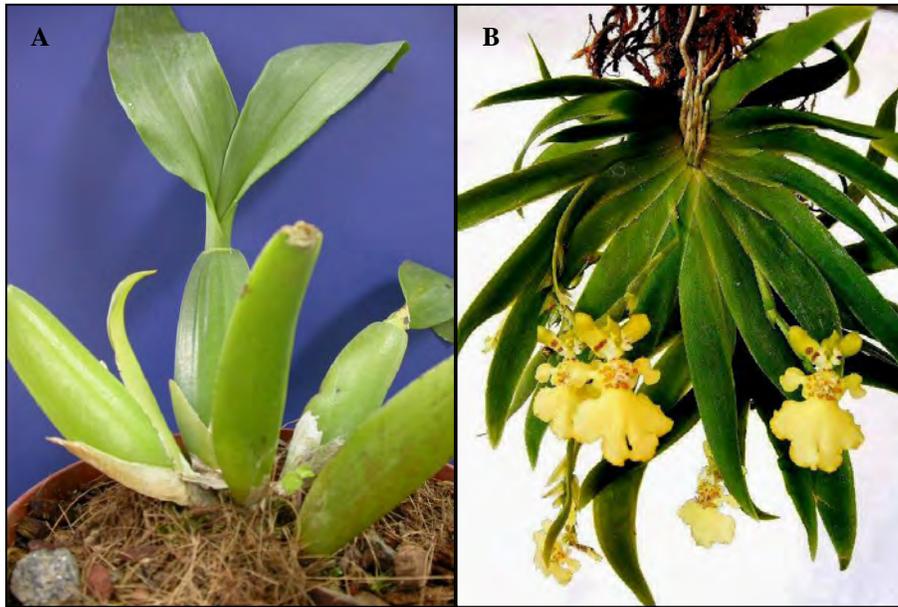


Figura 2.3. Crecimiento del pseudobulbo en Oncidiinae. A. Muy evidente; *Brassia caudata*. B. Reducido; *Erycina pusilla*.



Figura 2.4. Variación del número de entrenudos en el tallo por módulo en Oncidiinae. A. Dos o más; *Fernandezia subbiflora*. B. Uno; *Otoglossum globuliferum*.



Figura 2.5. Ubicación de las hojas en el tallo de Oncidiinae. A. En el ápice; *Brassia arcuigera*. B. A lo largo; *Telipogon costaricensis*.



Figura 2.6. Disposición de las hojas en el tallo en Oncidiinae. A. Otros; *Aspasia epidendroides*. B. En forma de abanico; *Ornithocephalus bicornis*. C. Dísticas; *Lockhartia pittieri*.



Figura 2.7. Suculencia de la lámina foliar en Oncidiinae. A. No succulentas; *Trichopilia galeottiana*. B. Succulentas; *Trichocentrum tenuiflorum*.

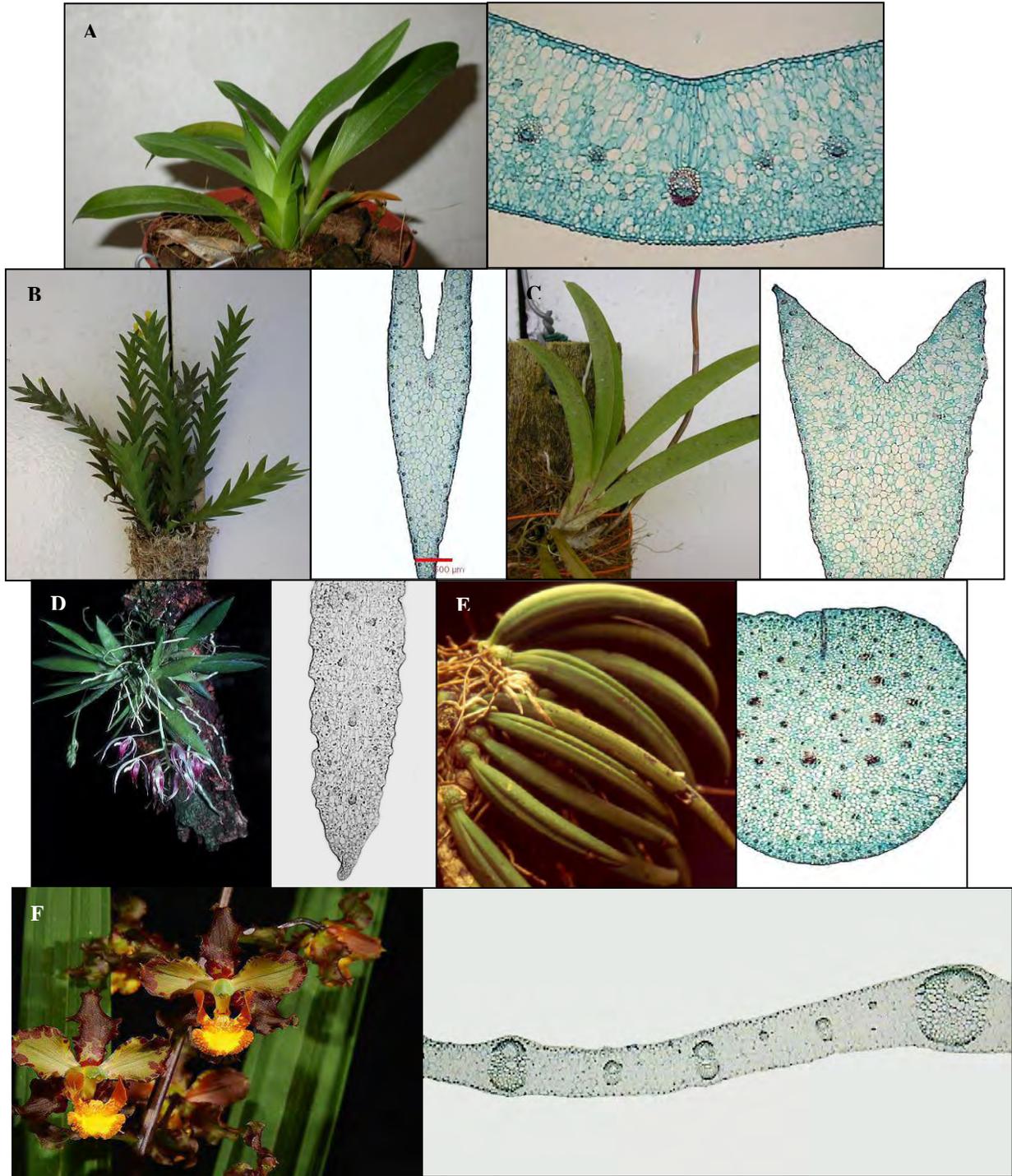


Figura 2.8. Perfil de la lámina en sección transversal en Oncidiinae. A. Dorso-ventralmente extendida; *Aspasia epidendroides*. B. Conduplicada; *Lockhartia pittieri*. C. Marginalmente conduplicada; *Tolumnia variegata*. D. Uní-facial; *Macroclinium bicolor*. E. Rolliza; *Trichocentrum cebolleta*. F. Plegada; *Cyrtopodium paniculatum*.

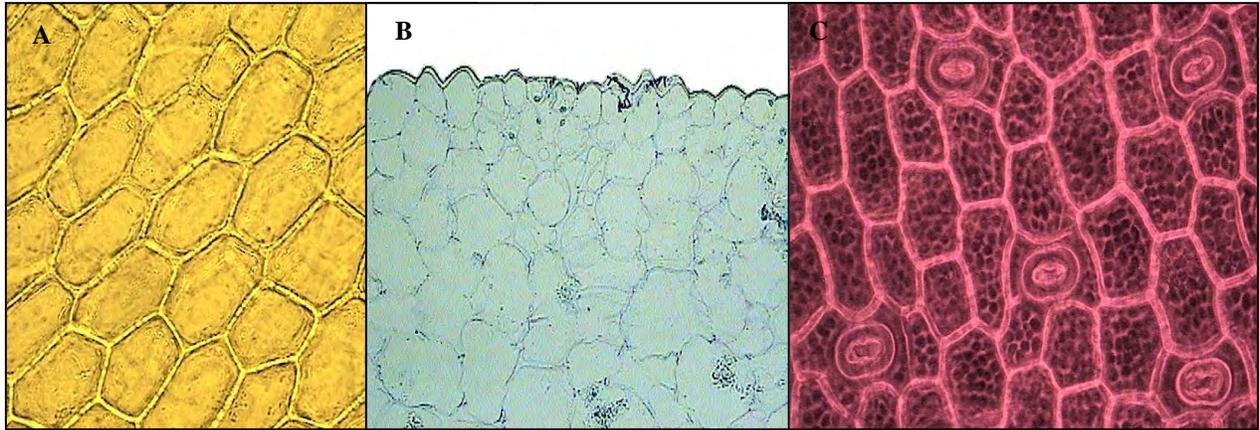


Figura 2.9. Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en la lámina foliar en Oncidiinae. A y C vista superficial; B sección transversal. A. Sin papilas; *Oncidium alexandrae*. B. Con papilas; *Ornithocephalus iridifolius*. C. Con papilas; *Trichocentrum splendidum*.

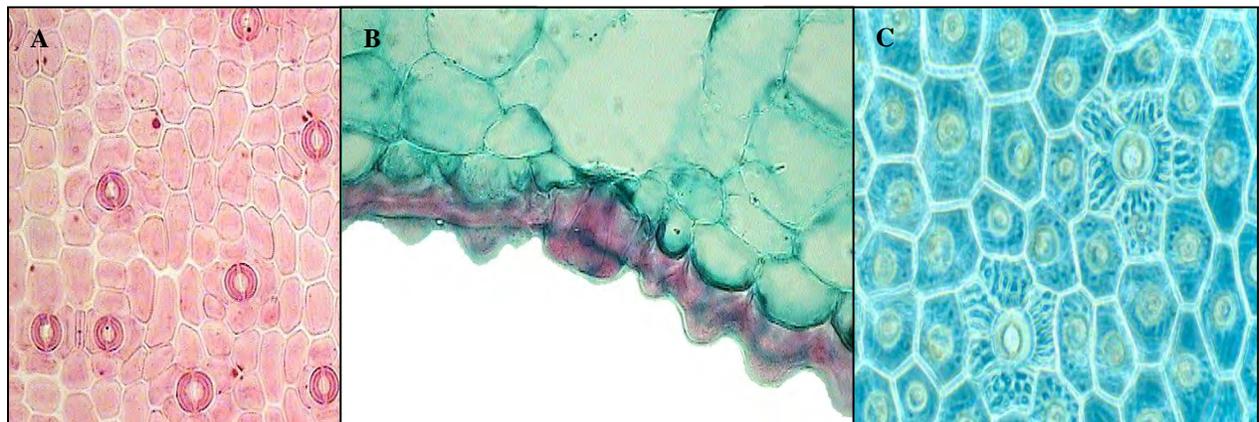


Figura 2.10. Apéndices epidérmicos abaxiales como papilas en la lámina foliar en Oncidiinae. A y C vista superficial; B sección transversal. A. Sin papilas; *Rhynchostele aptera*. B. Con papilas; *Trichocentrum splendidum*. C. Con papilas; *Psychopsis papilio*.

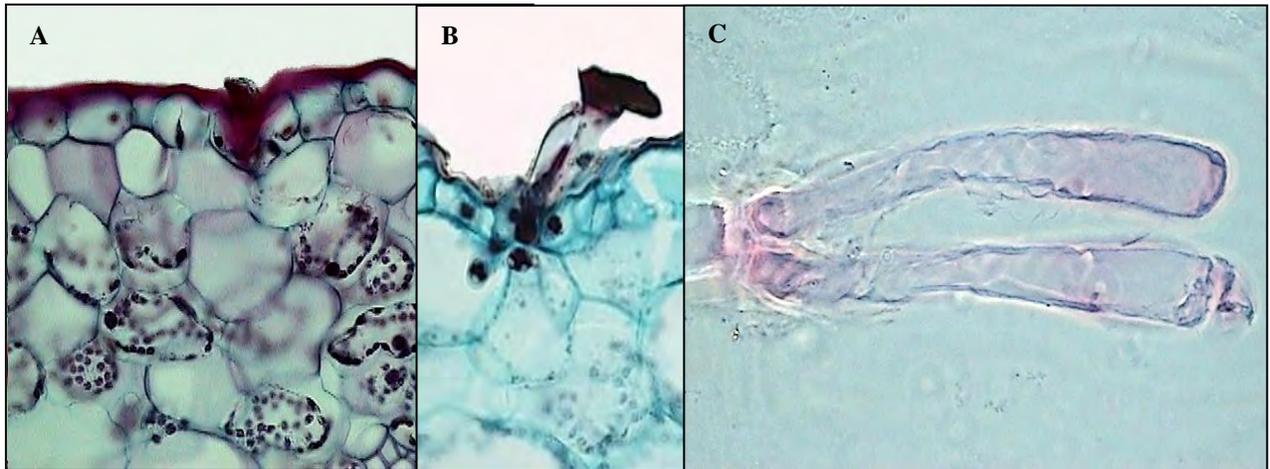


Figura 2.11. Tricomas no glandulares en epidermis adaxial en la lámina foliar. A y B vista transversal; C vista superficial. A. Base del tricoma; *Ada glumacea*. B. Tricoma uniseriado; *Oncidium epidendroides*. C. Tricomas biseriados; *Rincho스테le beloglossa*.

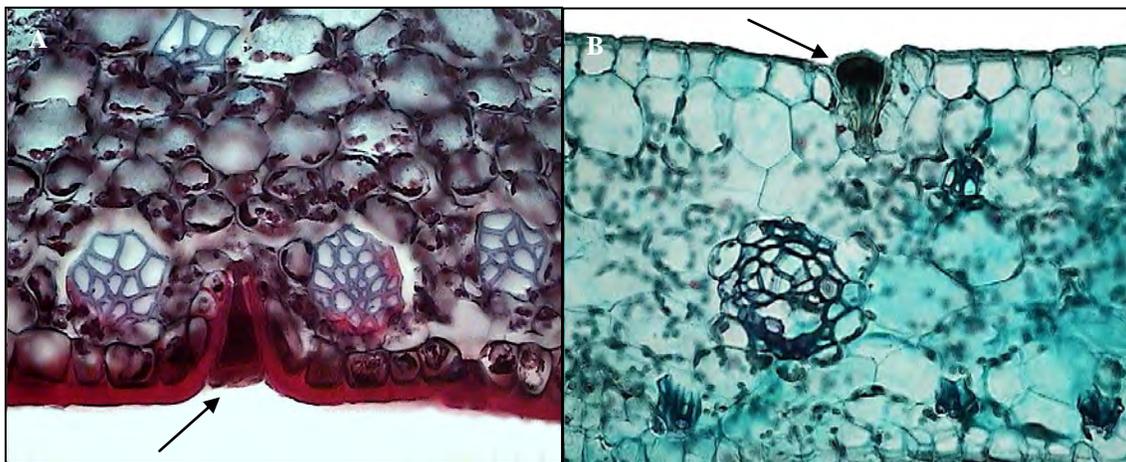


Figura 2.12. Glándulas A y B vista transversal. A. *Maxillaria cucullata*. B. *Xylobium elongatum*.

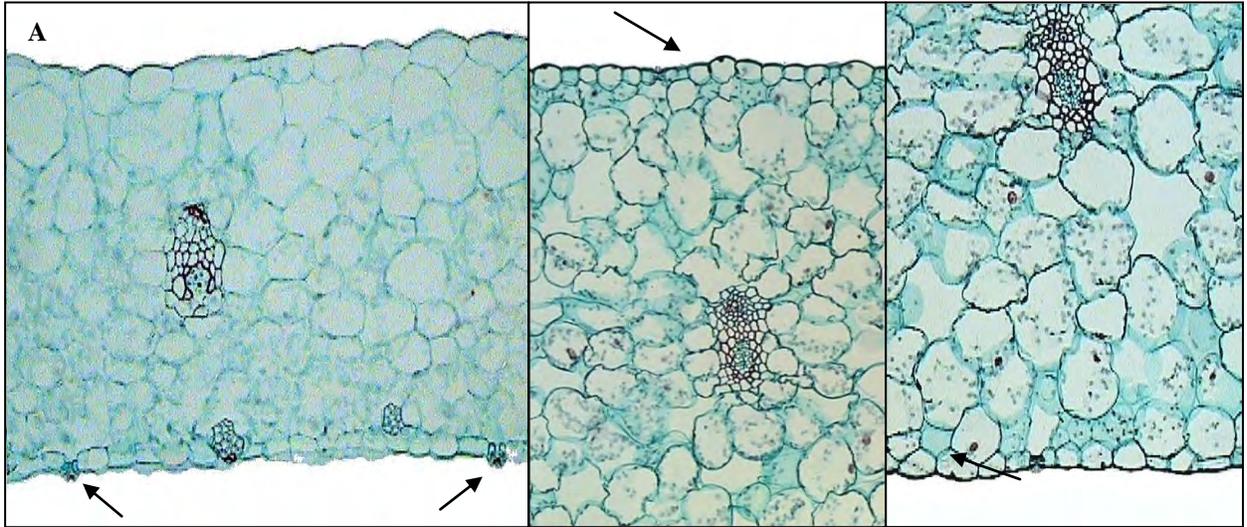


Figura 2.13. Ubicación de estomas en la lámina foliar. A y B vista transversal. A. En epidermis abaxial, hoja hipostomática; *Rhynchosyris londesboroughiana* (flechas). B. En ambas epidermis, hoja anfistomática; *Trichocentrum pfavii*.

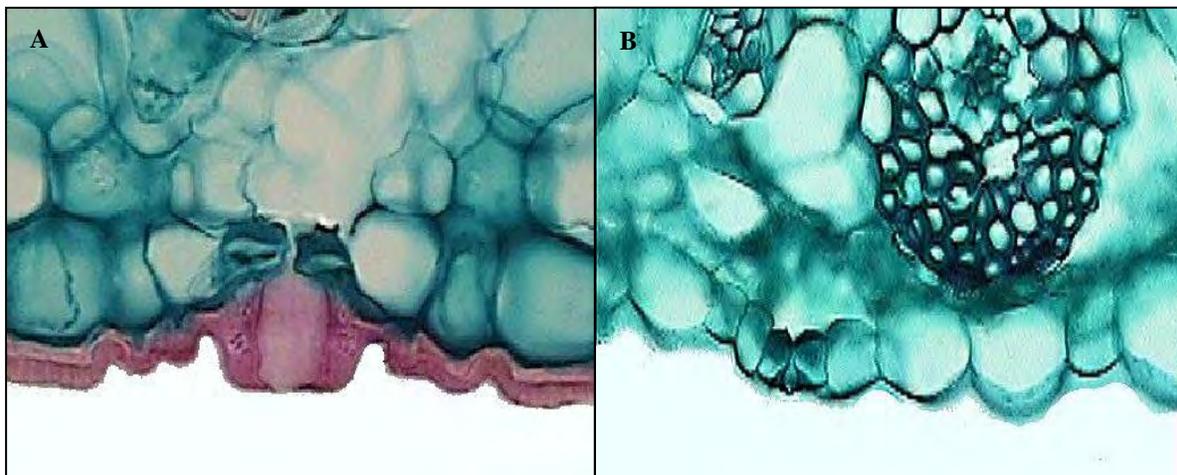


Figura 2.14. Collar cuticular en estoma. A y B vista transversal. A. Presente; *Otaglossum chiriquense*. B. Ausente; *Erycina crista-galli*.

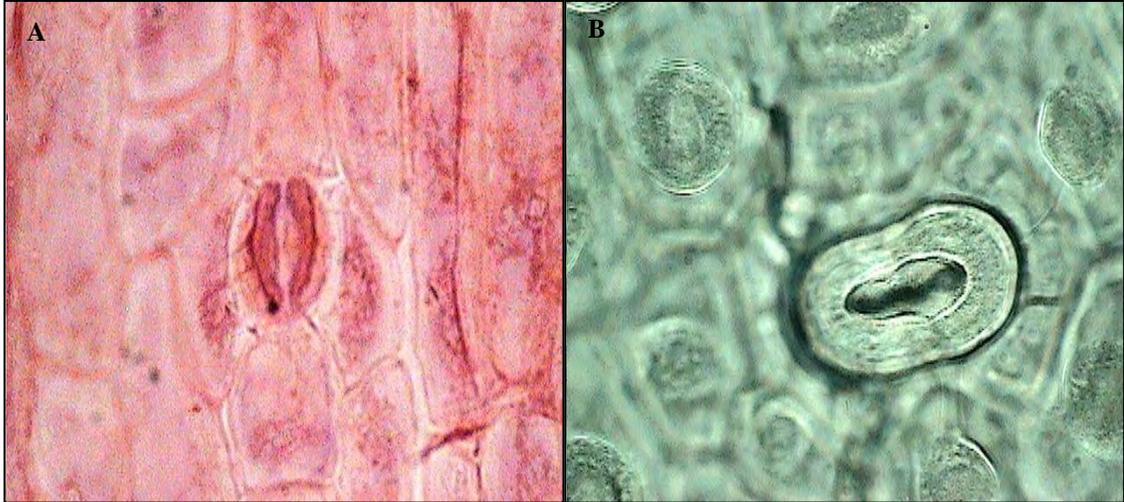


Figura 2.15. Apertura del collar cuticular en estoma. A y B vista superficial. A. Longitudinal; *Oncidium ghiesbreghtianum*. B. Transversal; *Trichocentrum splendidum*.

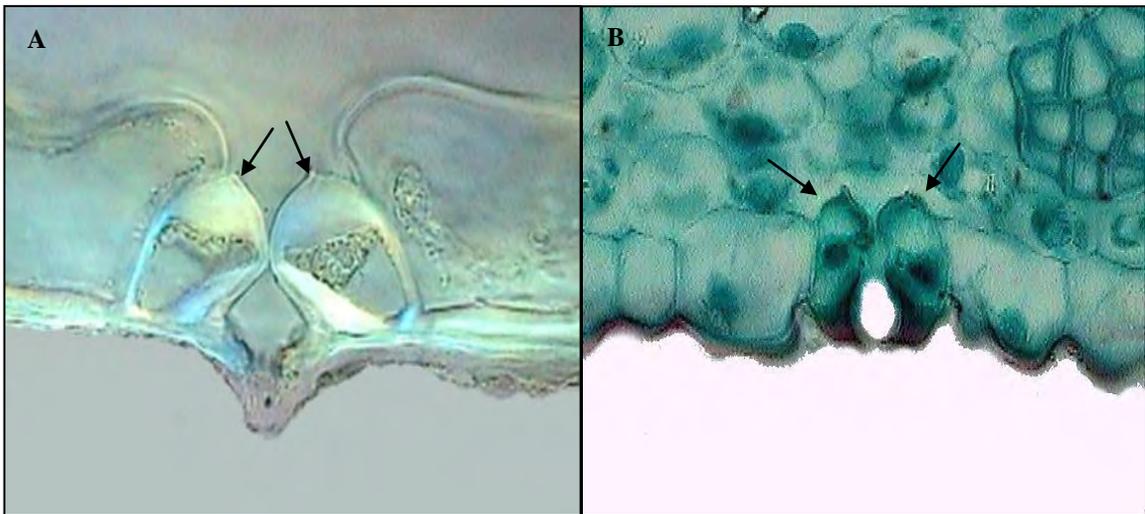


Figura 2.16. Grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas. A y B vista transversal. A. Muy engrosada; *Telipogon costaricensis*. B. Poco engrosada; *Rhynchosstele beloglossa*.

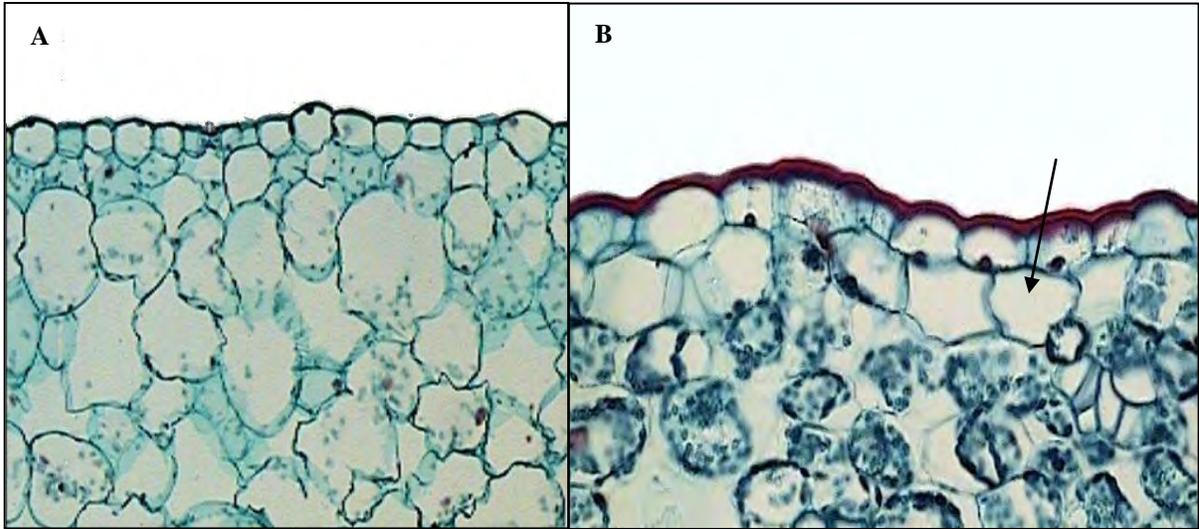


Figura 2.17. Hipodermis adaxial en la lámina foliar. A y B vista transversal. A. Ausente; *Trichocentrum pfavii*. B. Presente; *Rhynchostele beloglossa*.

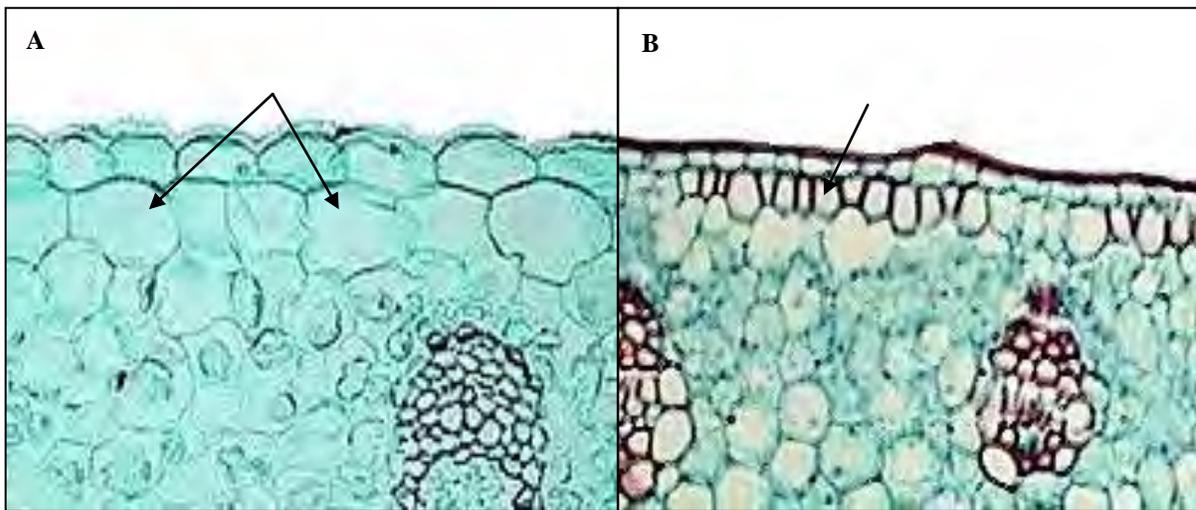


Figura 2.18. Grosor de las paredes celulares de la hipodermis adaxial. A y B vista transversal. A. Paredes delgadas; *Cuitlauzina pygmaea*. B. Paredes gruesas; *Oncidium alexandrae*.

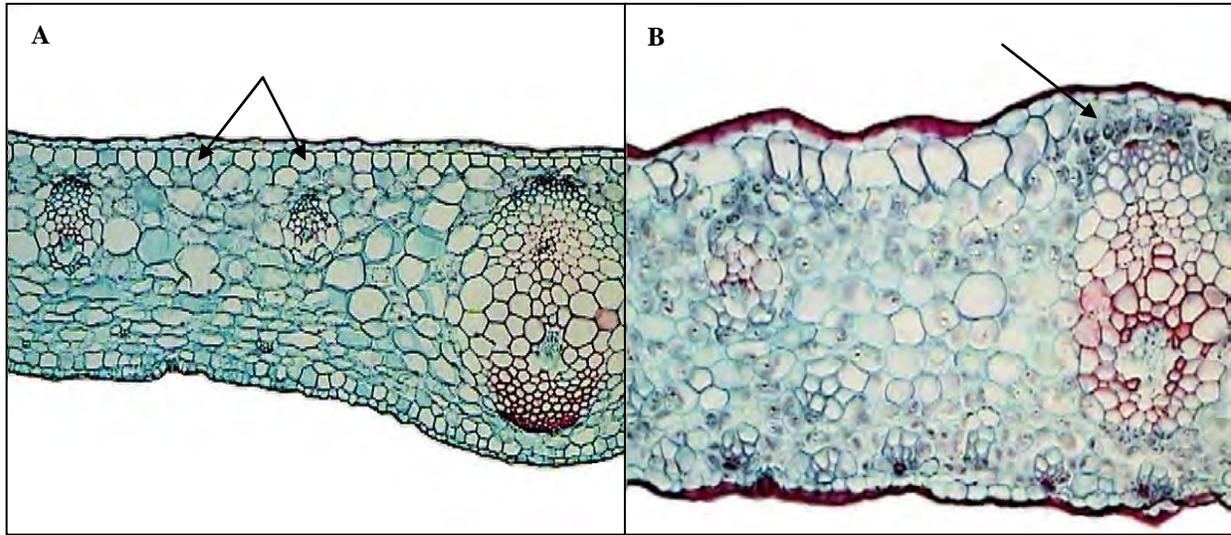


Figura 2.19. Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial. A y B vista transversal. A. Continuos; *Ada aurantiaca*. B. Discontinuos; *Oncidium ornithorhynchum*.

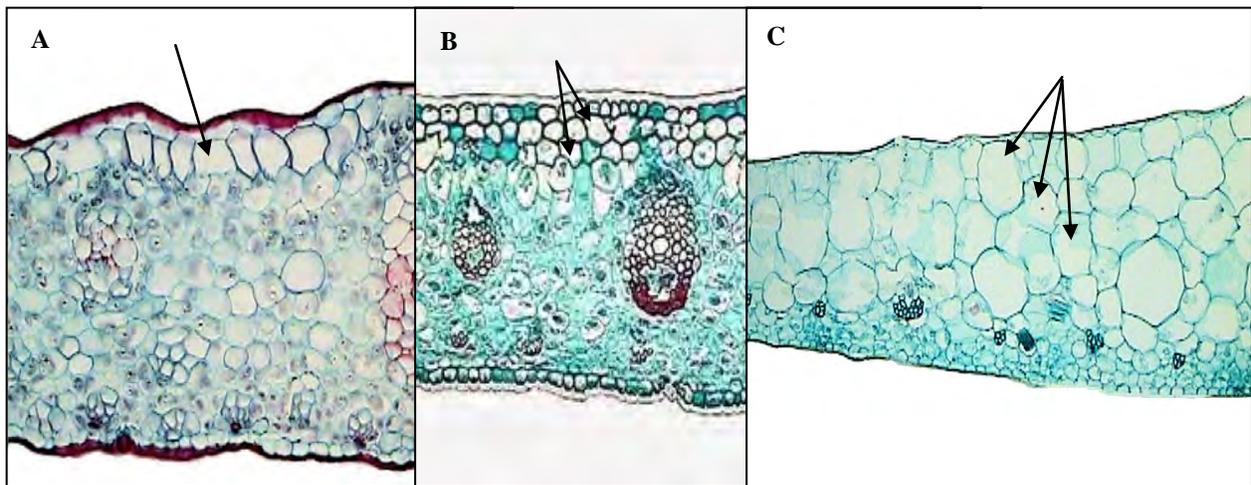


Figura 2.20. Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial. A-C vista transversal. A. Uno; *Oncidium ornithorhynchum*. B. Dos; *Cuitlauzina pendula*. C. Tres o más; *Lockhartia amoena*.

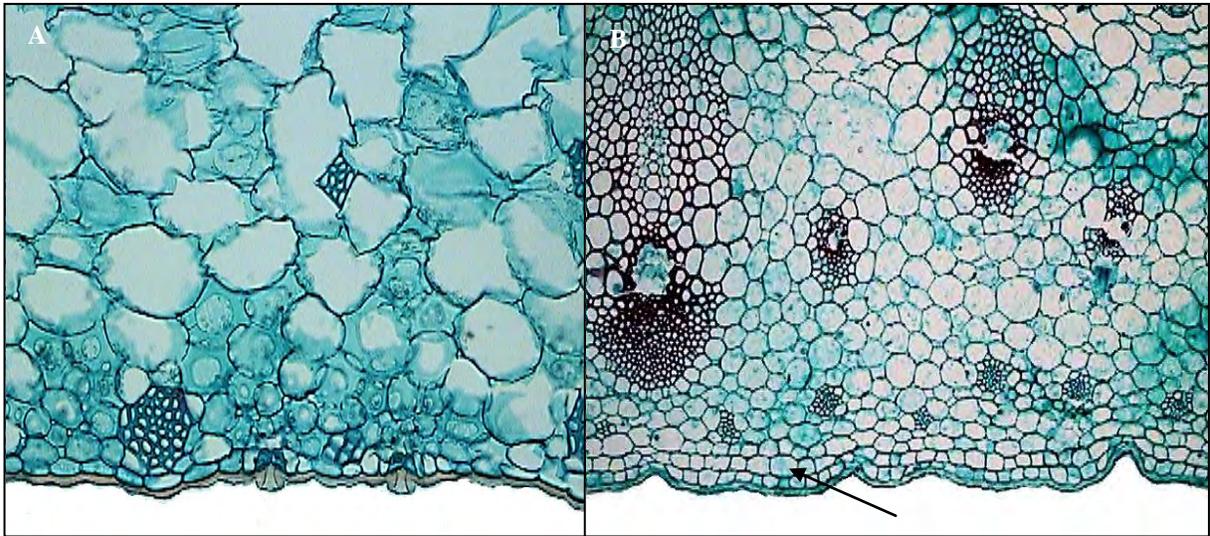


Figura 2.21. Hipodermis abaxial. A y B vista transversal. A. Ausente; *Tolumnia pulchella*. B. Presente; *Otoglossum chiriquense*.

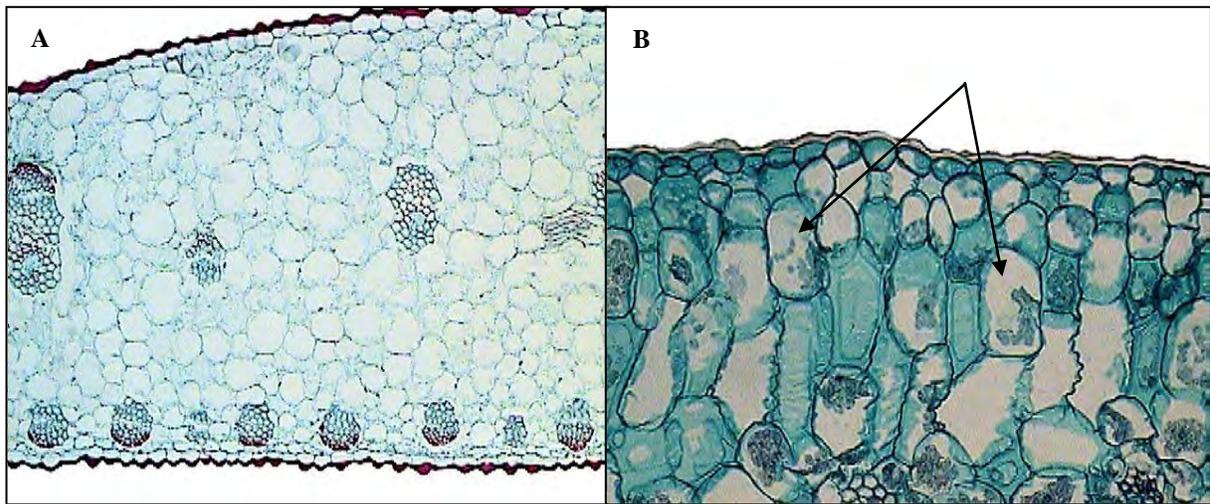


Figura 2.22. Células del mesofilo como parénquima en empalizada. A y B vista transversal. A. Ausente; *Zelenkoa onusta*. B. Presente; *Tolumnia triquetra*.

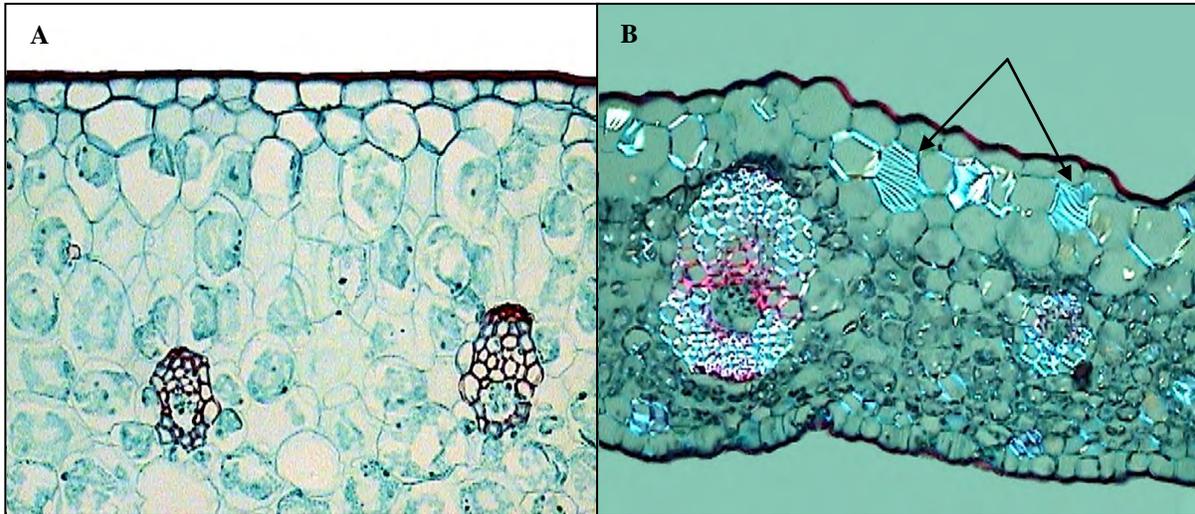


Figura 2.23. Células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial. A y B vista transversal.
 A. Ausentes; *Oncidium fimbriatum*. B. Presentes; *Oncidium cheirophorum*.

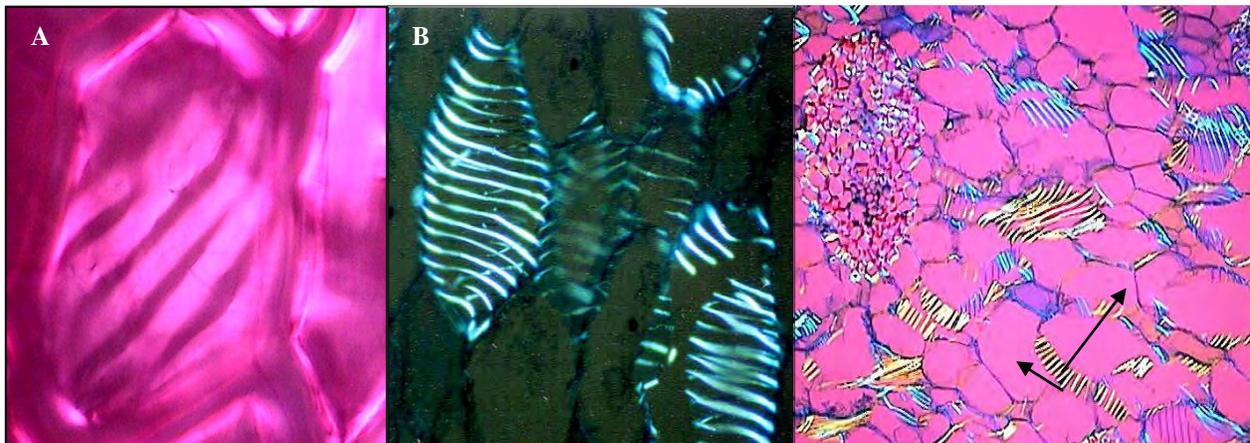


Figura 2.24. Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo. A-C vista transversal. A.
Oncidium astatum. B. *Trichocentrum macroclinium*. C. *Trichocentrum bicallosum*.

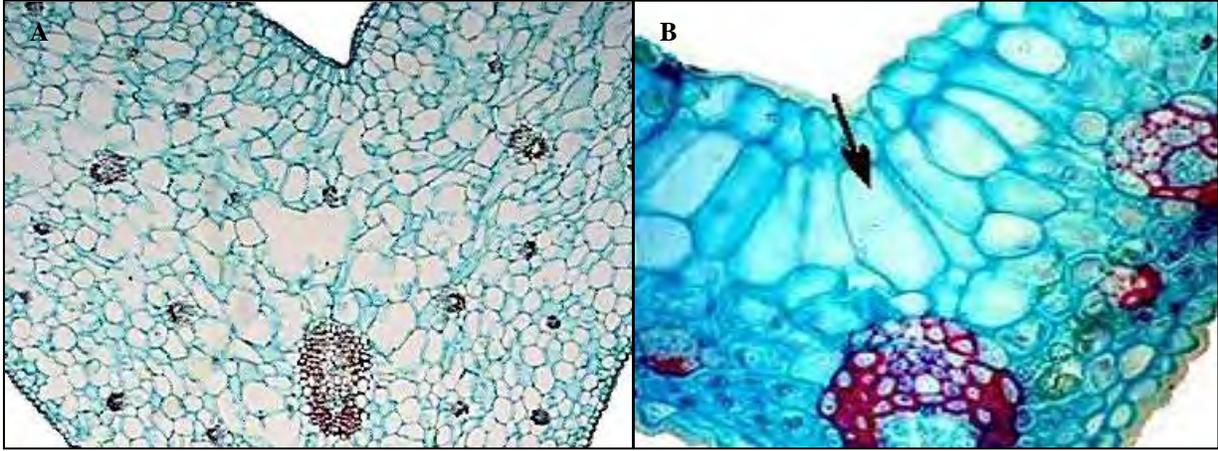


Figura 2.25. Células buliformes. A y B vista transversal. A Ausentes; *Trichocentrum bicallosum*. B. Presentes; *Cuitlauzina candida*.

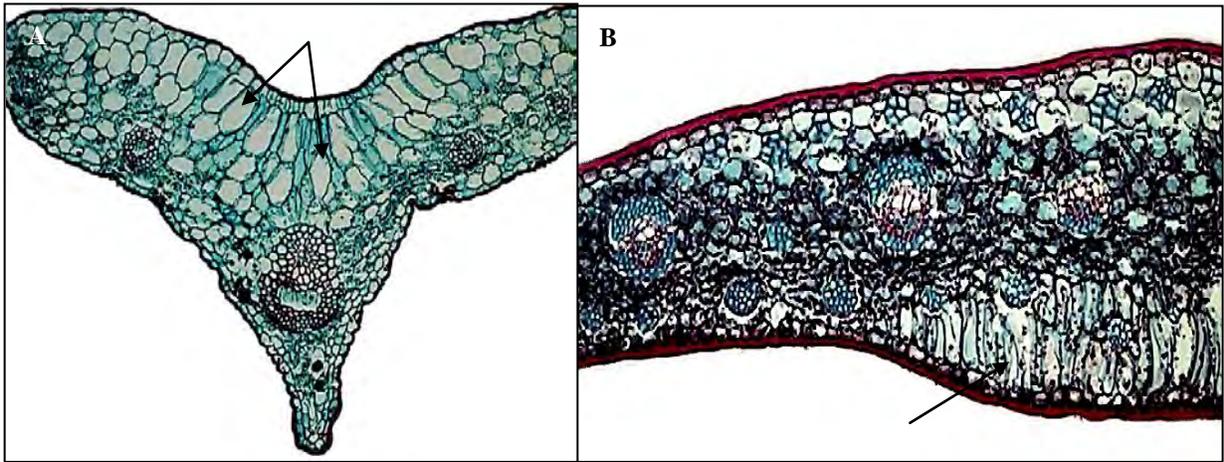


Figura 2.26. Ubicación de las células buliformes. A y B vista transversal. A. En la zona central adaxial; *Rhynchostele beloglossa*. B. En varias zonas además de la central adaxial; *Maxillaria cucullata*.

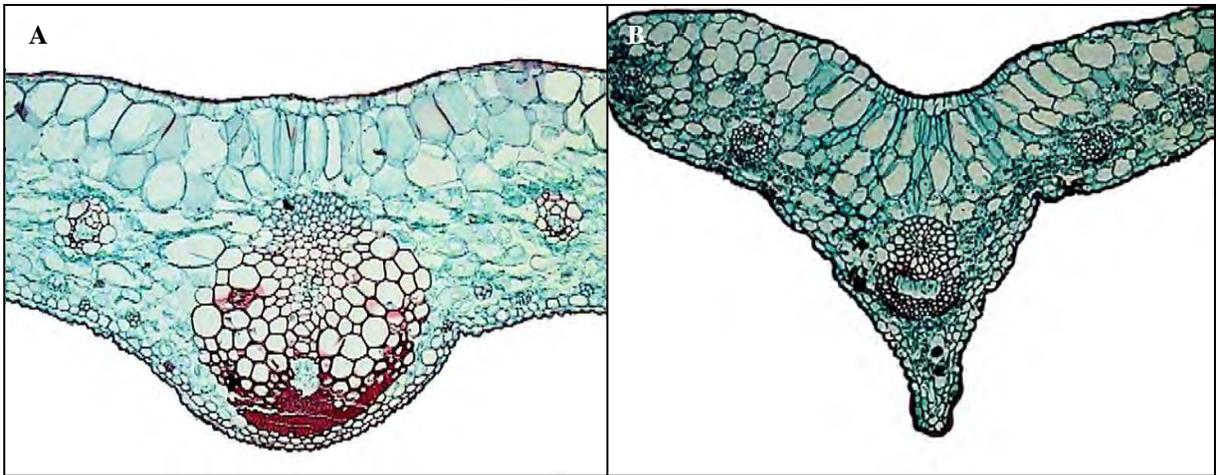


Figura 2.27. Zona central abaxial de lámina foliar. A y B vista transversal. A. Convexa; *Rossioglossum krameri*. B. Carinada; *Rhynchostele beloglossa*.

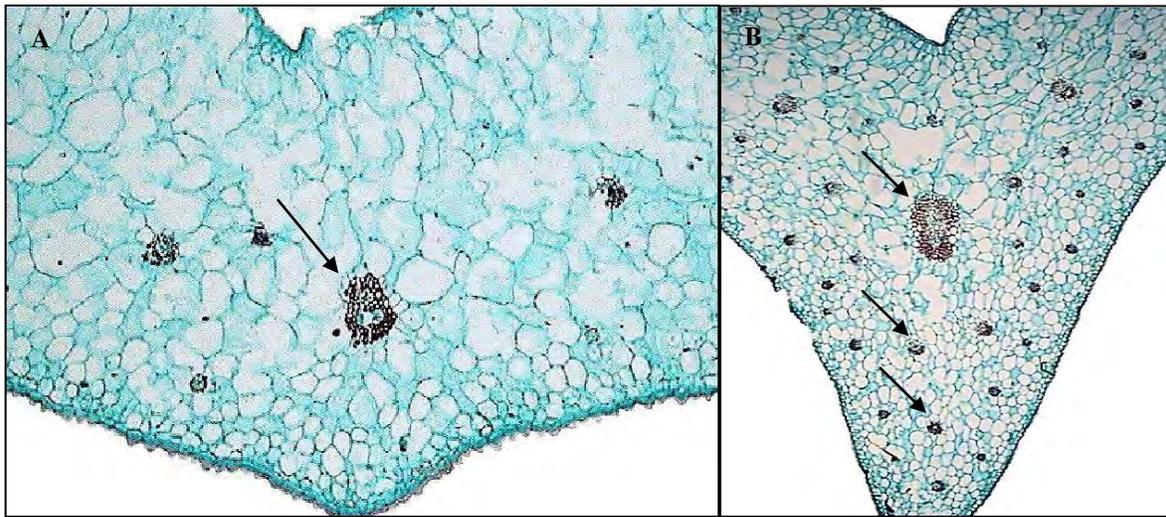


Figura 2.28. Número de estratos de haces vasculares en la zona central. A y B vista transversal. A. Uno; *Trichopilia tortilis*. B. Dos o más; *Trichocentrum bicallosum*.

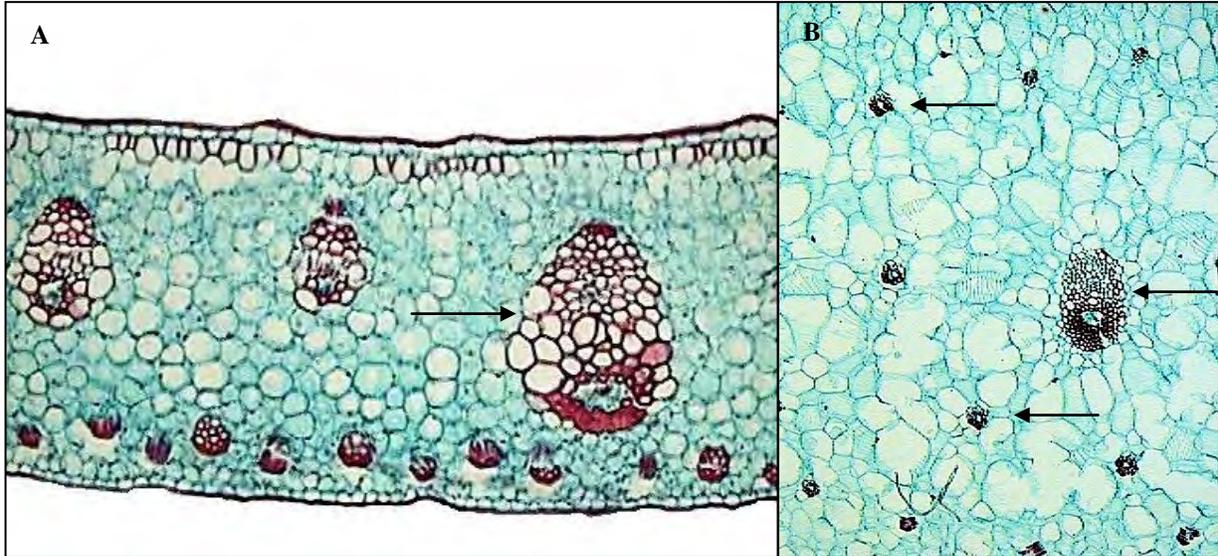


Figura 2.29. Número de estratos de haces vasculares en la lámina. A y V vista trasversal. A. Uno; *Oncidium epidendroides*. B. Dos o más; *Trichocentrum splendidum*.

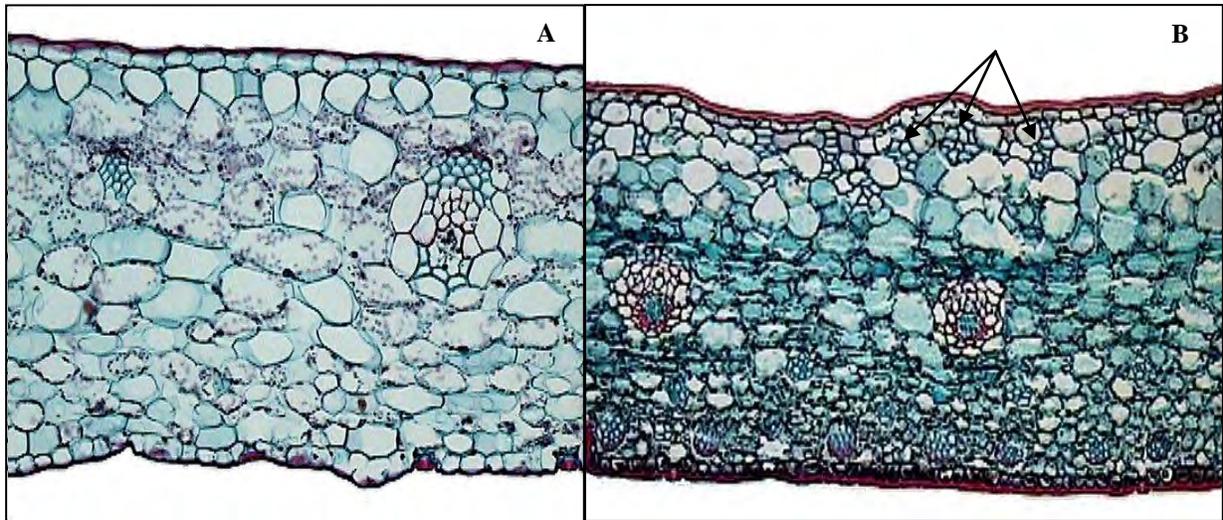


Figura 2.30. Haces de fibras adaxiales en la lámina. A y B vista trasversal. A. Ausentes; *Adalgumacea*. B. Presentes; *Maxillaria cucullata*.

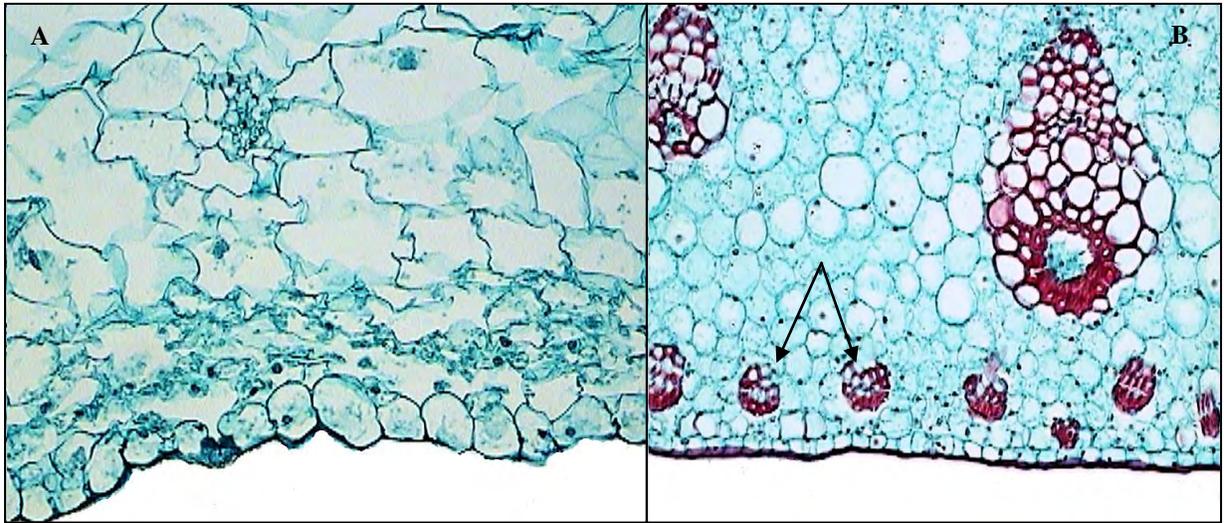


Figura 2.31. Haces de fibras abaxiales en la lámina. A y B vista transversal. A. Ausentes; *Fernandezia tica*. B. Presentes; *Oncidium sphacelatum*.

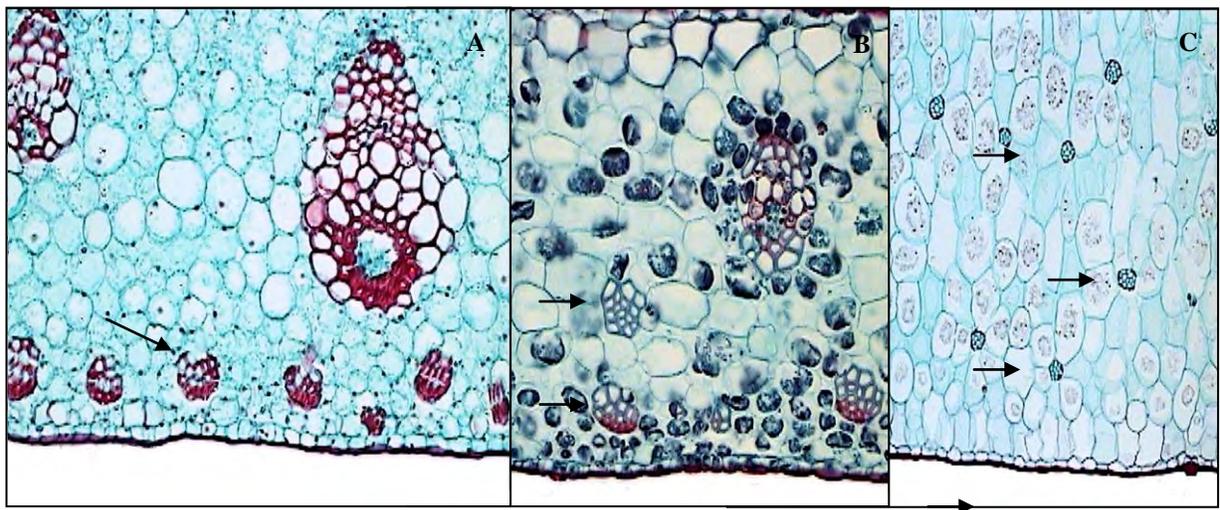


Figura 2.32. Número de estratos de haces de fibras abaxiales. A y B vista transversal. A. Uno; *Oncidium sphacelatum*. B. Dos; *Oncidium flexuosum*. C. Tres o más; *Notylia barkeri*.

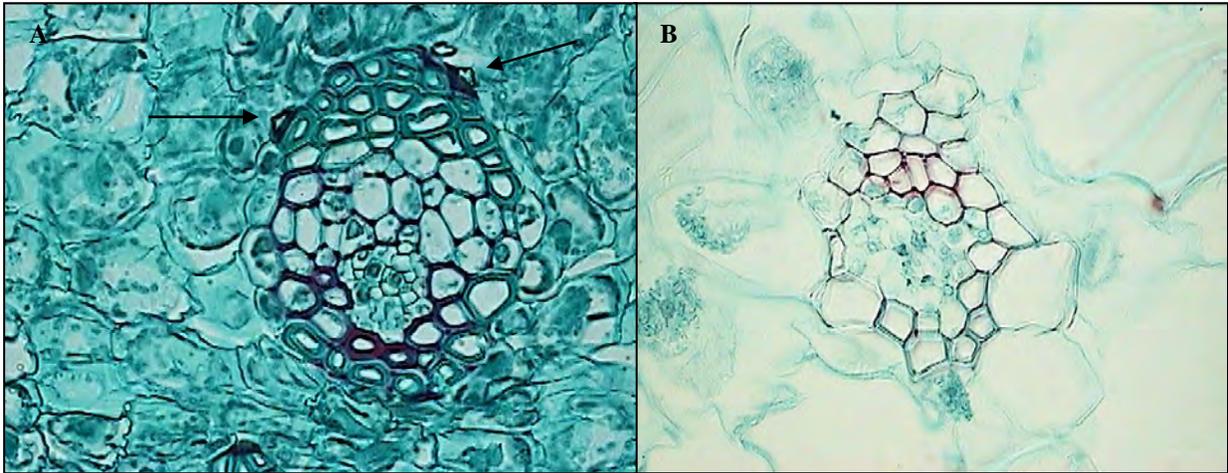


Figura 2.33. Estégmato en los haces vasculares. A y B vista transversal. A. Presentes; *Cuitlauzina pendula*. B. Ausentes; *Hintonella mexicana*.

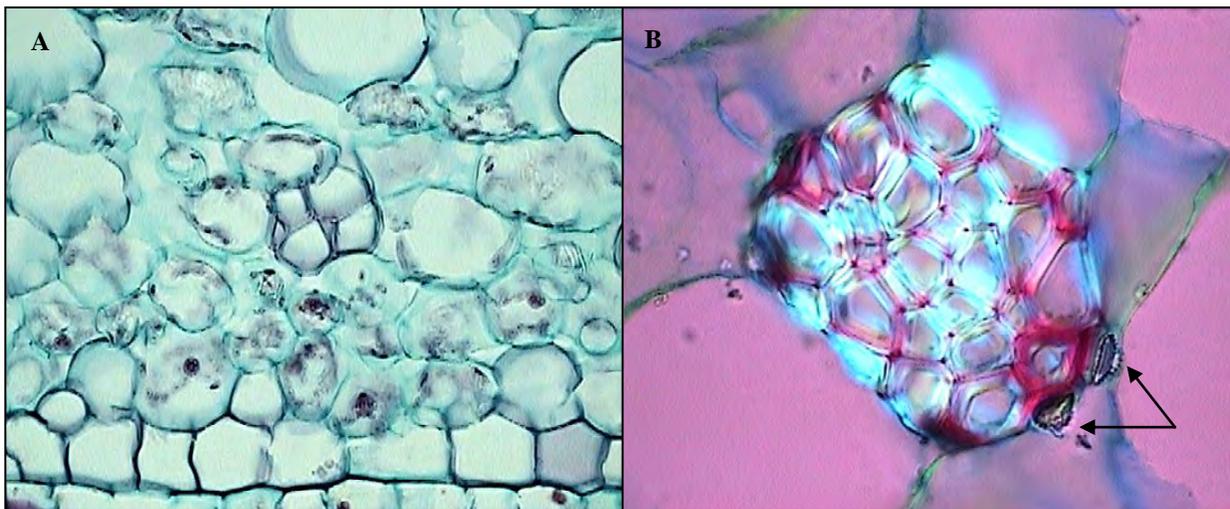


Figura 2.34. Estégmato en los haces de fibras abaxiales. A y B vista transversal. A. Ausentes; *Cyrtochiloides ochmatochila*. B. Presentes; *Trichocentrum bicallosum*.

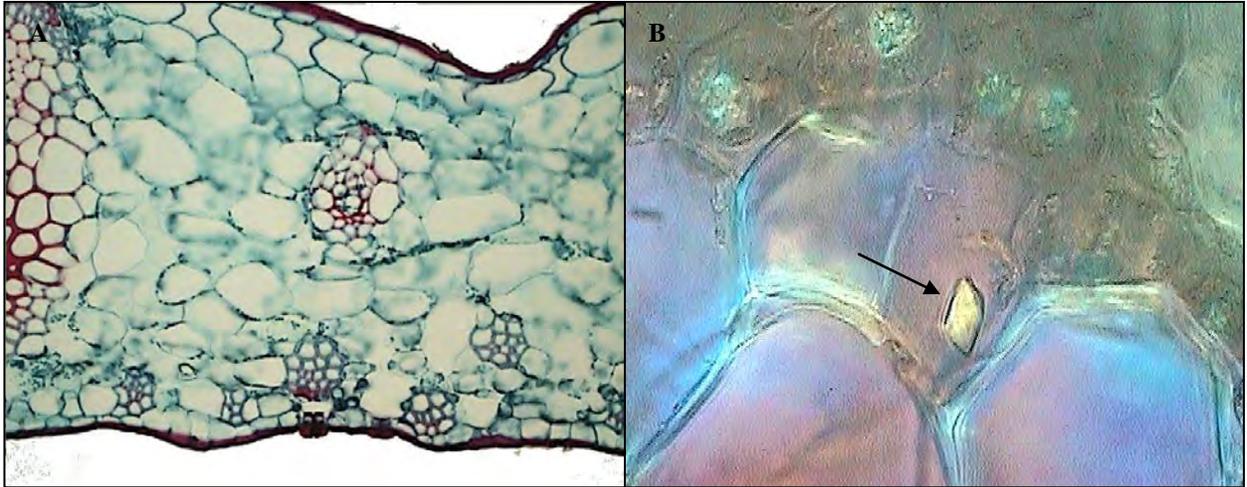


Figura 2.35. Cristales prismáticos en el mesofilo. A y B vista transversal. A. Ausentes; *Miltonia candida*. B. Presentes; *Oncidium hymenanthum*.

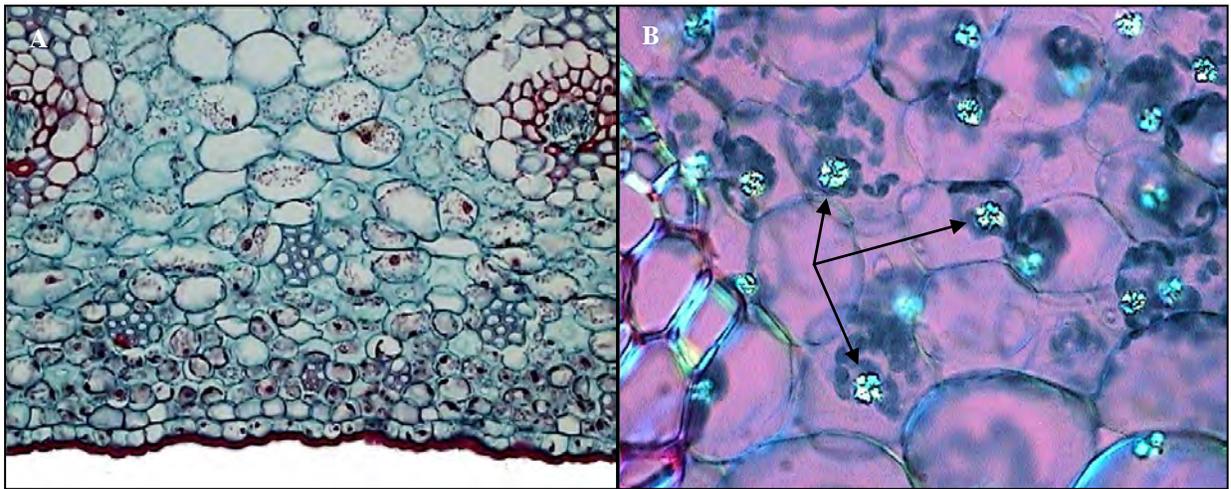


Figura 2.36. Cristales como drusas en el mesofilo. A y B vista transversal. A. Ausentes; *Caucaea phalaenopsis*. B. Presentes; *Oncidium oblongatum*.

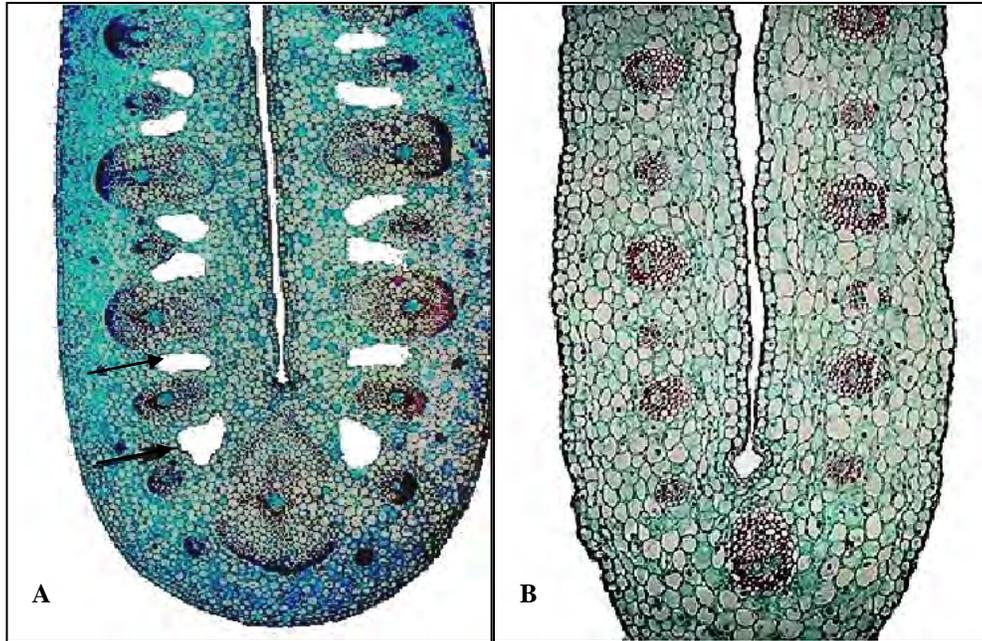


Figura 2.37. Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal. A y B vista transversal. A. Presentes; *Rossioglossum grande*. B. Ausentes; *Cuitlauzina pygmaea*.



CAPÍTULO 3



RELACIONES FILOGENÉTICAS DE LA SUBTRIBU ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE) INFERIDAS A PARTIR DE CARACTERES ESTRUCTURALES Y SECUENCIAS DE ADN (ITS y *matK*): UN ENFOQUE COMBINADO.



Relaciones filogenéticas de la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae) inferidas a partir de caracteres estructurales y secuencias de ADN (ITS y *matK*): un enfoque combinado

Phylogenetic relationships of the subtribe Oncidiinae (Orchidaceae) inferred from structural and DNA sequences (*matK*, ITS): a combined approach

Estela Sandoval-Zapotitla^{1*}, Javier García-Cruz², Teresa Terrazas¹ y José Luis Villaseñor¹

¹Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F., México.

²Herbario Metropolitano, Departamento de Biología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Apartado postal 55-535, 09340 México, D.F., México.

*Correspondencia: esz@ibiologia.unam.mx

Resumen. Para conocer el valor que los caracteres estructurales tienen para la reconstrucción filogenética de la subtribu Oncidiinae se realizó un análisis de parsimonia combinado con base en datos anatómico foliares, morfológicos y secuencias de ADN de las regiones *matK* e ITS. Se obtuvieron 2 árboles igualmente parsimoniosos que difieren entre sí sólo en la posición de 1 taxon. Oncidiinae se recobró como monofilética, caracterizada por la presencia de papilas adaxiales y abaxiales en la hoja. Siete sinapomorfías estructurales definen 5 clados con soporte alto, incluyendo: 1) clado *Lockhartia*, definido por una lámina foliar conduplicada; 2) clado *Trichocentrum*, definido por una hoja anfistomática y 2 o más estratos de haces vasculares; 3) clado compuesto por los géneros *Fernandezia*, *Ornithocephalus* y *Telipogon*, agrupados por la ausencia de estégmatos en haces vasculares y su crecimiento monopodial; 4) un gran clado compuesto por la mayoría de los clados derivados de Oncidiinae, definido por la presencia de 2 estratos en la hipodermis adaxial; 5) clado *Tolumnia*, definido por una hoja con lámina sólo conduplicada marginalmente. La mayoría de los clados adicionales están apoyados por combinaciones de caracteres estructurales; los clados *Trichopilia* y *Miltonia*, al igual que las ramas terminales de algunos de los clados con posición intermedia no están apoyados por caracteres estructurales. Los clados más derivados están apoyados por caracteres estructurales resueltos como reversiones.

Palabras clave: anatomía foliar, filogenia, hoja, morfología, Oncidiinae, Orchidaceae, *matK*, ITS.

Abstract. With the aim of exploring the significance of structural characters in phylogeny estimation of subtribe Oncidiinae, a combined parsimony analysis based on leaf foliar-anatomical, morphological and DNA sequence data of the *matK* and ITS regions was carried out. Two equally parsimonious trees were obtained which differ only in the position of 1 taxon. Oncidiinae was recovered as monophyletic and characterized by the presence of abaxial and adaxial leaf papillae. Seven structural synapomorphies define 5 clades with strong support, including: 1) the *Lockhartia* clade defined by a conduplicate leaf blade, 2) the *Trichocentrum* clade, defined by a blade anphistomatic and 2 or more strata of vascular bundles, 3) a clade composed of the genera *Fernandezia*, *Ornithocephalus* and *Telipogon*, grouped by the absence of stegmata in the vascular bundles and by their monopodic growth, 4) a large clade composed of most derived clades of Oncidiinae, defined by the presence of 2 strata on the adaxial hypodermis, 5) *Tolumnia* clade, defined by a marginally conduplicate leaf blade. Most of the additional clades are supported by structural character combinations; the *Miltonia* y *Trichopilia* clades, as well as the terminal branches of clades with intermediate position in the trees are not supported by structural characters. The most derived clades are supported only by structural characters resolved as reversals.

Key words: leaf anatomy, morphology, phylogeny, Oncidiinae, Orchidaceae, *matK*, ITS.

Introducción

La subtribu Oncidiinae (subfamilia Epidendroideae, tribu Maxillarieae), con aproximadamente 95 géneros

y 1 700 especies (Williams et al., 2001a, 2001b), es uno de los grupos neotropicales más diversos y derivados evolutivamente en la familia Orchidaceae. Además está considerada como una de las subtribus más polimórficas en la familia (Dressler, 1993; Sosa et al., 2001; Williams et al., 2001a, 2001b; Chase et al., 2003), como lo sugieren su

Recibido: 18 noviembre 2008; aceptado: 06 febrero 2010

gran variación en cuanto a números cromosómicos, tamaño del genoma, morfologías floral y vegetativa, diferentes historias de vida, numerosos síndromes de polinización y la gran diversidad de nichos ecológicos en que habitan. Son plantas típicamente epífitas, aunque unas cuantas especies son terrestres o litófitas; se les encuentra desde el nivel del mar hasta los páramos de alta montaña; se distribuye desde Sinaloa y Tamaulipas en México hasta Misiones en Argentina, así como en el Caribe y el sur de Florida en los Estados Unidos de América (Chase y Palmer, 1988).

La taxonomía en Oncidiinae se ha basado tradicionalmente en caracteres florales, lo que ha generado sistemas de clasificación artificiales que revelan poco sobre sus relaciones filogenéticas (Chase, 1986a; Chase y Palmer, 1988, 1992). Los caracteres vegetativos y la distribución geográfica sólo en algunas ocasiones han sido considerados en el establecimiento de los límites y relaciones genéricas (Ayensu y Williams, 1972; Chase, 1986a; Rasmussen, 1987; Chase y Palmer, 1988, 1992, 1997; Chase y Phippen, 1988; Toscano de Brito, 1998).

Recientemente, varios trabajos han demostrado la utilidad que los caracteres moleculares tienen en la sistemática y en el establecimiento de las relaciones filogenéticas en Oncidiinae (Chase y Palmer, 1988, 1992; Williams et al., 1999, 2001a, 2001b; Sosa et al., 2001). Williams et al. (2001a, 2001b) realizaron análisis filogenéticos utilizando 3 marcadores moleculares (secuencias de ADN de la regiones ITS, *matK* y *trnL-trnF*), incluyendo 77 taxa que representan los principales grupos definidos para la subtribu Oncidiinae; sus resultados sugieren que la subtribu es monofilética y reconocen 9 clados principales. Dichos trabajos proporcionaron las bases para proponer algunos cambios en la clasificación de la subtribu y demostraron que las clasificaciones anteriormente propuestas para Oncidiinae eran artificiales. La clasificación propuesta por Williams et al. (2001a, 2001b) para Oncidiinae amplía sus límites, ahora incluyendo también las subtribus Ornithocephalinae, Pachyphyllinae y Telipogoninae *sensu* Dressler (1993).

El valor de los caracteres morfológicos para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas y la clasificación en plantas ha sido enfatizado en diversos grupos vegetales (Freudenstein y Rasmussen, 1999; Thompson et al., 2001; Scotland et al., 2003; Wiens, 2004; Clement y Weiblen, 2009; Tate et al., 2009); dichos caracteres han sido utilizados en la clasificación o establecimiento de relaciones filogenéticas a diferentes niveles taxonómicos en algunos grupos de Orchidaceae y su importancia se ha demostrado en varios de ellos (Pridgeon, 1987; Stern et al., 1993; Toscano de Brito, 1998; Freudenstein y Rasmussen, 1999; van den Berg et al., 2000; Pridgeon et al., 2001; Stern y Judd, 2001, 2002;

Cameron, 2005; García-Cruz y Sosa, 2005; Sosa, 2007; Figueroa et al., 2008; Cervantes, 2009). Particularmente en Oncidiinae, algunos trabajos describen aspectos anatómicos de algunos de sus grupos o de sus especies (Groom, 1893; Ayensu y Williams, 1972; Williams, 1974; Pridgeon et al., 1983; Chase, 1986b; Rojas-Leal, 1993; Sandoval-Zapotitla, 1993, 1999; Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001). Sandoval-Zapotitla y Terrazas (2001) analizaron desde el punto de vista sistemático la anatomía foliar de 16 especies del clado *Trichocentrum sensu* Williams et al. (2001a). Dicho trabajo mostró que algunos caracteres anatómicos foliares apoyan a grupos reconocidos en las hipótesis de relaciones filogenéticas propuestas a partir de datos moleculares por Sosa et al. (2001) y Williams et al. (2001a, 2001b). Debido a la dificultad de establecer una clasificación sistemática estable entre los géneros de Oncidiinae y con el propósito de evaluar la utilidad de las estructuras anatómicas como herramienta en la sistemática de Oncidiinae, Stern y Carlsward (2006) realizaron un análisis cladístico con 9 caracteres anatómicos foliares y morfológicos para 40 géneros de esta subtribu y demostraron que, entre otros caracteres anatómicos, la presencia de hipodermis, la presencia de haces de fibras y la de estégmatos apoyan algunos grupos de Oncidiinae; e. g., el clado *Cuitlauzina-Osmoglossum* está soportado por la presencia de células endodérmicas con paredes engrosadas en forma de "U".

A pesar de que los marcadores moleculares, como las secuencias de ADN, en la actualidad son la fuente principal de datos para la reconstrucción filogenética, consideramos que las clasificaciones taxonómicas no se deben basar únicamente en la similitud entre nucleótidos, sino también en la información que brindan otras fuentes de caracteres (Margulis y Guerrero, 1991), como los morfológicos y anatómicos (Jenner, 2004; Wiens, 2004; Clement y Weiblen, 2009). Algunos autores sugieren, por un lado, que la inclusión de este tipo de caracteres incrementa el soporte de los clados (Koehler et al., 2002; Wortley y Scotland, 2006), y por otro, proporciona oportunidades para probar hipótesis alternativas (Lockhart y Cameron, 2001).

Particularmente en Orchidaceae se han realizado análisis cladísticos donde se combinan secuencias de ADN y caracteres morfológicos (Albert, 1994; Gravendeel y De Vogel, 2002; Koehler et al., 2002; Gravendeel et al., 2004; Sosa, 2007; Figueroa et al., 2008; Cervantes, 2009), los cuales demuestran claramente que la combinación de secuencias de ADN y morfología (en ocasiones con anatomía) no sólo incrementan la resolución de los cladogramas resultantes sino también el apoyo de los clados recuperados (Gravendeel y De Vogel, 2002; Gravendeel et al., 2004; Sosa, 2007; Cervantes, 2009). Incluso se

ha demostrado que algunos caracteres estructurales son diagnósticos de los clados recuperados en los análisis cladísticos combinados (secuencias de ADN y morfología) en diferentes niveles taxonómicos: subfamilia (Albert, 1994; Freudenstein y Rasmussen, 1999), tribu y subtribu (Cameron, 2005; Figueroa et al., 2008; Cervantes, 2009), subtribu, género y especie (Sosa, 2007) e infragenérico (Gravendeel y De Vogel, 2002; Gravendeel et al., 2004). Nixon y Carpenter (1996) se refieren a este efecto como “emergencia de señal filogenética”.

Se ha demostrado que los análisis combinados pueden recobrar árboles más parsimoniosos con mayor resolución y soporte interno más alto que cualquiera de los conjuntos de datos individuales (Gravendeel y De Vogel, 2002; Gravendeel et al., 2004). Además, la inclusión simultánea de toda la evidencia amplifica el poder explicativo de los datos (Nixon y Carpenter, 1996) e impone una prueba rigurosa de las hipótesis de homología primaria a través de la congruencia de caracteres (de Pinna, 1991). Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo realizar un análisis cladístico combinado de la subtribu Oncidiinae utilizando caracteres estructurales (anatómicos/morfológicos) y moleculares (secuencias de ADN de las regiones ITS y *matK*) para evaluar la utilidad de los caracteres estructurales en la filogenia de la subtribu.

Materiales y métodos

Especies estudiadas. Un total de 57 especies (Apéndice 1), representantes de 37 géneros que pertenecen a las subtribus Cyrtopodiinae, Maxillariinae, Oncidiinae y Zygopetalinae (Chase y Palmer, 1992; Dressler, 1993; Whitten et al., 2000; Williams et al., 2001a; Chase et al., 2003) fueron incluidas y utilizadas como taxa terminales; dicha muestra incluye especies representativas de los 9 clados principales de la subtribu Oncidiinae del cladograma obtenido por Williams et al. (2001a). En lo posible se utilizaron las mismas especies incluidas en el referido trabajo. Los nombres de las especies siguen las propuestas nomenclaturales más recientes (Dressler y Williams, 2003; Williams et al., 2001a; Chase et al., 2008; Chase et al., 2009). Los ejemplares que respaldan las observaciones para cada especie se presentan en el Apéndice 1.

Se consideró oportuno incluir pocas especies de cada género para representar a los clados o subclados de la subtribu Oncidiinae, debido a que algunos géneros en el estudio de Williams et al. (2001a) se recuperaron como monofiléticos (*Brassia*, *Erycina*, *Ionopsis*, *Lockhartia*, *Miltonia*, *Rodriguezia*, *Rynchosstele*, *Tolumnia* y *Trichocentrum*); además, a partir de estudios anatómicos previos en algunas especies de Oncidiinae se encontró

que ciertos caracteres anatómicos foliares, al igual que otros morfológicos, suelen ser homogéneos en el nivel de género (Rojas-Leal, 1993; Sandoval-Zapotitla, 1993, 1999; Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001). Con el propósito de enraizar los cladogramas obtenidos y poner a prueba la monofilia de Oncidiinae, 4 géneros y 5 especies de las subtribus Cyrtopodiinae, Maxillariinae y Zygopetalinae se usaron como grupos externos, tomando como referencia estudios filogenéticos previos (Cameron et al., 1999; Whitten et al., 2000).

Estudios anatómicos. Se utilizaron hojas maduras de plantas vivas, recolectadas en el campo o de plantas mantenidas en cultivo bajo condiciones de invernadero. De cada hoja, 3 fracciones de la región media y 1 de la región basal estuvieron fijadas en Navashin (Sandoval-Zapotitla et al., 2005) al menos por 24 horas; posteriormente se almacenaron en etanol al 70% hasta su procesamiento; 2 fracciones de la región media se sumergieron en soluciones sucesivas de hidróxido de sodio e hipoclorito de sodio al 20%, durante 20 y 40 minutos respectivamente; una se utilizó para obtener la superficie de la hoja transparentada y la otra, para obtener las epidermis adaxial y abaxial separadas de la hoja. Se realizaron preparaciones temporales en gelatina glicerínada tanto de la hoja transparentada como de las epidermis adaxial y abaxial. La tercera fracción de hoja se deshidrató en soluciones graduales de alcohol-alcohol butílico terciario (ABT)-agua, desde 30% hasta alcohol absoluto, y finalmente en ABT absoluto. Se infiltraron e incluyeron en parafina histológica a temperaturas de 58° a 60° C. Con un micrótopo (American Optical 820) se cortaron secciones transversales de 15 a 25 µm, y se tiñieron con safranina verde rápido (Sandoval-Zapotitla et al., 2005). Se hicieron preparaciones permanentes montadas en entellán. Los caracteres anatómicos foliares se observaron con un fotomicroscopio Axioskope (Carl Zeiss, Göttingen, Alemania), y con una cámara de video Exwave HAD (Sony) se tomaron fotomicrográficas para analizar los caracteres estructurales.

Caracteres estructurales. Se analizaron y codificaron 37 caracteres, los cuales se listan en el Apéndice 2; de éstos 29 son anatómicos foliares y 8 son atributos de la morfología vegetativa. Con el propósito de minimizar los estados de carácter inaplicables para los taxa que carecieron de estructuras particulares, su ausencia fue incluida como estado de un carácter multiestado (Maddison, 1993). La selección de los caracteres anatómicos se realizó tomando en cuenta trabajos anatómicos previos realizados para algunas especies de la subtribu Oncidiinae (Ayensu y Williams, 1972; Williams, 1974; Rojas-Leal, 1993; Sandoval-Zapotitla, 1993, 1999; Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001; Stern y Carlswald, 2006). A partir de la vista superficial se analizaron 6 caracteres de la epidermis

(1 - 6; números de acuerdo con el Apéndice 2:) y 2 de las secciones transversales de la hoja (7, 8). Se distinguieron 20 caracteres más de secciones transversales de la región media (9 - 28) y 1 carácter (29) de la región basal de la hoja. La selección de los 8 caracteres morfológico-vegetativos (30-37) se basó en la observación de plantas vivas de los invernaderos del Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero en Xalapa, Veracruz; del Herbario AMO en la ciudad de México; del Jardín Botánico Lankester de la Universidad de Costa Rica, así como de colecciones particulares, y se complementaron con información obtenida de la literatura. Únicamente fueron incluidos aquellos caracteres que mostraron variación entre los taxa y aprobaron los criterios de similitud y no conjunción (de Pinna, 1991).

Caracteres moleculares. Se utilizaron secuencias de ADN de la región de plastidios *matK* con 1397 caracteres y de la región nuclear ITS con 831 caracteres. Todas las secuencias se obtuvieron de la base de datos pública GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>), excepto para *Oncidium alexandrae* (Bateman) M.W.Chase et N.H.Williams y *O. epidendroides* (Kunth) Beer (*matK*), *Tolumnia pulchella* (Hook.) Raf. y *T. triquetra* (Sw.) Nir (*matK*, ITS), las cuales fueron proporcionadas por N. H. Williams. Los números de acceso se presentan en el Apéndice 1.

Análisis cladístico. Las secuencias de ADN se ensamblaron y editaron con el programa BioEdit ver. 7.0.5.3 y se alinearon visualmente. Los juegos de datos se combinaron y analizaron simultáneamente. El análisis de parsimonia se realizó con el programa Nona (Goloboff, 1999) implementado en WinClada ver. 1.00.08 (Nixon, 2002). Todos los cambios de los caracteres fueron tratados como no ordenados y con el mismo peso (Fitch, 1971). Se realizó una búsqueda heurística conservando únicamente los árboles más parsimoniosos. El árbol inicial fue generado por "stepwise addition" con 10 000 réplicas aleatorias, conservando un árbol por réplica. Posteriormente se realizó el intercambio de ramas con la opción TBR+TBR en efecto, salvando no más de 10 000 árboles por réplica. Los árboles más parsimoniosos (APs) obtenidos se guardaron y se procedió a obtener el árbol de consenso estricto. El apoyo de los clados se evaluó con la técnica de remuestreo de *jackknife* (Farris et al., 1996), como está implementado en Nona. Los valores de *jackknife* fueron evaluados mediante el análisis de 1 000 réplicas de *jackknife*, removiendo el 30% de caracteres, 10 adiciones de taxa al azar e intercambio de ramas TBR+TBR, y se guardaron los 10 árboles más parsimoniosos por réplica (Maddison, 1991). Todos los caracteres se optimizaron con la opción "transformación acelerada" (ACCTRAN) que favorece las hipótesis de homología primaria como verdaderas en ausencia de evidencia que las contradiga

(de Pinna, 1991), usando el mismo programa.

Resultados

De los 2 265 caracteres, únicamente 611 fueron parsimoniosamente informativos. El análisis cladístico recuperó 2 árboles más parsimoniosos (AP), con longitud de 3 016 pasos, índice de consistencia de 0.47 e índice de retención de 0.58; con respecto a los caracteres estructurales, de los 37 incluidos en el análisis, 35 fueron parsimoniosamente informativos; de éstos, 29 tienen un índice de retención mayor o igual a 0.60. Los AP difieren en la posición de *Oncidium pictoides* M.W.Chase et N.H.Williams; en el primer AP, *O. pictoides* es el taxon hermano del linaje formado por *O. leucochilum* Bateman ex Lindl., *O. sphacelatum* Lindl., *O. ghiesbreghtianum* A.Rich. et Galeotti y *O. reichenheimii* (Linden et Rchb.f.) Garay et Stacy (Fig. 1). En el segundo AP, *O. pictoides* es el taxon hermano del clado formado por *O. leucochilum* y *O. sphacelatum*.

Los resultados indican que la subtribu Oncidiinae es un grupo monofilético, apoyado por 2 caracteres estructurales homoplásicos: presencia de papilas adaxiales y abaxiales (caracteres 1 y 2 respectivamente). Este grupo natural está bien apoyado por un valor de *jackknife* de 93% (Fig. 1). Fueron identificados 9 clados principales en Oncidiinae.

El clado A contiene todas las especies de *Trichocentrum* incluidas en este estudio (Fig. 1); este género se resuelve como monofilético y está apoyado por 5 caracteres estructurales, de los cuales las hojas anfiestomáticas y 2 o más estratos de haces vasculares que presenta (caracteres 5 y 19 respectivamente; Fig. 2A) son sinapomórficos, y los otros 3 caracteres (16, 20 y 36) son homoplásicos; tiene un apoyo de *jackknife* del 100%.

El clado B incluye los géneros *Psychopsis* y *Trichopilium* (Fig. 1); aunque no está apoyado por ningún carácter estructural, presenta un valor alto de *jackknife* (97%).

El clado C contiene las 2 especies de *Lockhartia* incluidas en este estudio (Fig. 1); este género se resuelve como monofilético y está apoyado por la presencia de una hoja con lámina conduplicada (carácter 37; Fig. 2 B), que es una sinapomorfia, y un estrato de haces de fibras abaxiales (carácter 23), que es homoplásico; presenta un apoyo de *jackknife* del 100%.

El clado D incluye los géneros *Fernandezia*, *Ornithocephalus* y *Telipogon* (Fig. 1) y está apoyado por la ausencia de estigmas en los haces vasculares (Fig. 2 C) y por presentar un crecimiento monopodial (caracteres 24 y 30 respectivamente), ambos sinapomórficos, y por 5 caracteres estructurales (3, 22-23, 25 y 36), que son homoplásicos; tiene un valor de *jackknife* del 100%.

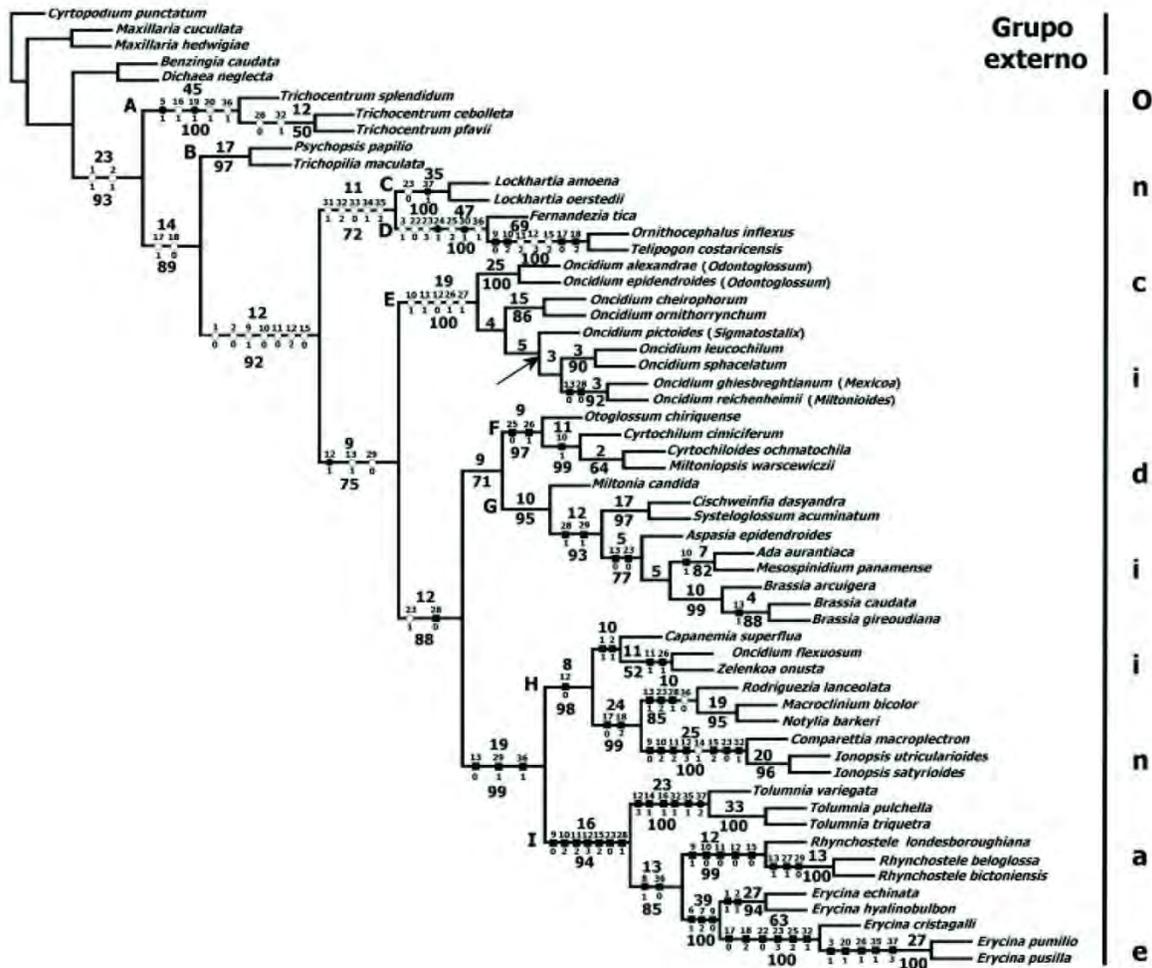


Figura 1. Filogenia combinada (ITS, *matK* y caracteres estructurales) de Oncidiinae. Se muestra 1 de los 2 cladogramas igualmente parsimoniosos obtenidos ($L= 3\ 016$, $CI= 0.47$, $RI= 0.58$). El nodo que cambia en la otra topología se indica con una flecha. El número por debajo de las ramas corresponde al valor de soporte *jackknife* mayor al 50%, por encima el número de los caracteres que soportan la rama. Se indica la distribución de los caracteres estructurales (sinapomorfias = círculos cerrados; paralelismos = círculos abiertos; reversiones = cuadros cerrados).

El clado E incluye las especies de *Oncidium* analizadas en este estudio (Fig. 1), excepto *O. flexuosum* Lodd.; está apoyado por 5 caracteres estructurales (caracteres 10-12, 26 y 27; Fig. 2 D) que en general son homoplásicos, pero en un nivel menos inclusivo dentro de la filogenia podrían considerarse sinapomórficos; presenta un valor de *jackknife* del 100%.

El clado F incluye los géneros *Ototoglossum*, *Cyrtochilum*, *Cyrtochiloides* y *Miltoniopsis* (Fig. 1) y está apoyado por la ausencia de estérmatos en los haces de fibras abaxiales y por la presencia de cristales prismáticos (caracteres 25 y 26 respectivamente; Fig. 2 E); tiene un

valor de *jackknife* del 97%.

El clado G incluye los géneros *Miltonia*, *Cischweinfia*, *Systeloglossum*, *Aspasia*, *Ada*, *Mesospinidium* y *Brassia* (Fig. 1); no está apoyado por ningún carácter estructural, pero presenta un valor alto de *jackknife* (95%); en este clado, el género *Brassia* se recupera como monofilético y aunque no está apoyado por ningún carácter estructural, presenta un valor alto de *jackknife* del 99%.

El clado H incluye los géneros *Capanemia*, *Oncidium*, *Zelenkoa*, *Rodriguezia*, *Macroclinium*, *Notylia*, *Comparettia* e *Ionopsis* (Fig. 1) y está apoyado por la presencia de un estrato celular de la hipodermis adaxial

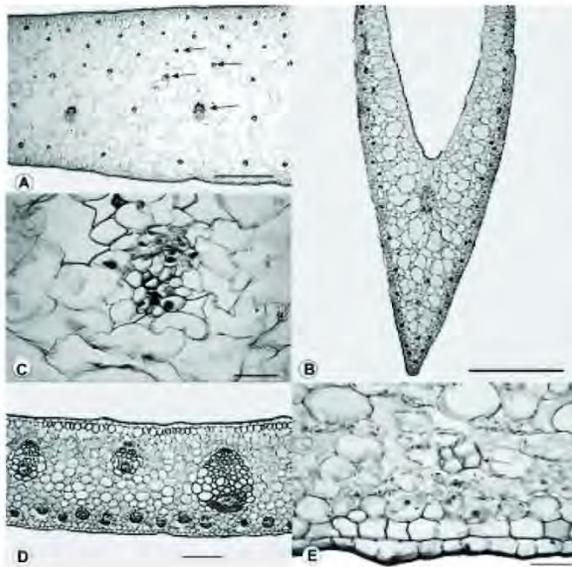


Figura 2. Caracteres estructurales que se recuperaron como sinapomorfías en el análisis combinado para Oncidiinae. A. *Trichocentrum splendidum*, sección transversal de hoja. Haces vasculares en varios estratos (flechas). B. *Lockhartia amoena*, sección transversal de hoja. Lámina conduplicada. C. *Fernandezia tica*, sección transversal de hoja. Haz vascular sin estérmatos. D. *Oncidium epidendroides*, sección transversal de hoja. Hipodermis adaxial con células de paredes engrosadas. E. *Cyrtochiloides ochmatochila*, sección transversal de hoja. Haces de fibras abaxiales sin estérmatos (flecha). Escala A y B = 1 mm; C, E = 50 µm; D = 20 µm.

(carácter 12; Fig. 3 A); presenta un valor de *jackknife* del 98%. Además, las 2 especies del género *Ionopsis* forman un grupo natural apoyado por un valor alto de *jackknife* (96%).

El clado I está formado por los géneros *Tolumnia*, *Rhynchostele* y *Erycina* (Fig. 1) y está apoyado por 7 caracteres estructurales (9-12, 15, 23 y 28; Fig. 3 B), que en nivel general son homoplásicos pero en uno menos incluso son sinapomórficos, y por un valor de *jackknife* del 94%. Cada uno de los 3 géneros que forman este clado se recuperan como grupos monofiléticos, con un valor de *jackknife* del 100%, 99% y 100%, respectivamente, y están apoyados por caracteres estructurales. *Tolumnia* está apoyado por 6 caracteres estructurales (12, 14, 16, 32, 35 y 37; Fig. 3 C), de los cuales el carácter lámina conduplicada (37; Fig. 3 D) sólo marginalmente es una sinapomorfía; *Rhynchostele* está apoyado por 5 caracteres estructurales (9-12 y 15), que en un nivel menos incluso de la filogenia podrían ser sinapomorfías, y *Erycina* está apoyado por

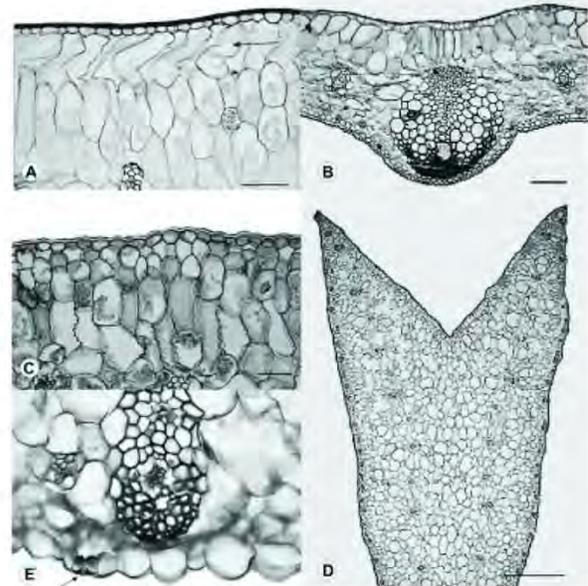


Figura 3. Caracteres estructurales que apoyan los clados o que se recuperan como sinapomorfías en el análisis combinado para Oncidiinae. A. *Notylia barkeri*, sección transversal de hoja. Hipodermis adaxial con un estrato celular (flecha). B. *Otoglossum chiriquense*, sección transversal de hoja. Zona abaxial central convexa. C. *Tolumnia triquetra*, sección transversal de hoja. Mesofilo con parénquima en empalizada. D. *Tolumnia variegata*, sección transversal de hoja. Lámina conduplicada marginalmente. E. *Erycina cristagalli*, sección transversal de hoja. Estoma sin collar cuticular (flecha). Escala A-E = 50 µm.

3 caracteres estructurales (6, 7 y 9; Fig. 3 E) que, como en el caso de *Rhynchostele*, podrían ser considerados sinapomorfías. Desde el punto de vista de los caracteres estructurales, los clados H e I presentan el mayor número de cambios de estos caracteres (Fig. 1), por lo que podrían considerarse como los clados más derivados dentro de la subtribu Oncidiinae.

Discusión

Integración de los caracteres moleculares y estructurales.

La delimitación genérica en Oncidiinae no ha sido clara a lo largo de su historia, debido a que se han reconocido géneros polifiléticos (Chase, 1986a; Chase y Palmer, 1988, 1989, 1992) y han sido varios los esfuerzos por delimitar tanto los géneros como sus relaciones entre ellos dentro de la subtribu (Chase y Palmer, 1988, 1989, 1997; Williams et al., 2001a, 2001b). Sin embargo, todos estos estudios han incluido datos de secuencias de ADN y dejado a un

lado otras series de datos como los estructurales, debido a la suposición general de que los datos morfológicos presentan altos niveles de homoplasia y bajos niveles de resolución y soporte (Scotland et al., 2003). En un análisis cladístico, el incremento en el número de caracteres generalmente incrementa su resolución (Furtado de Sousa et al., 2007).

Los 9 grupos principales obtenidos en el presente estudio son consistentes con los obtenidos en el estudio realizado por Williams et al. (2001a), donde únicamente se incluyeron datos moleculares. Los 9 clados propuestos por estos autores para Oncidiinae se mantienen en nuestro análisis, a pesar de que no se incluyó la región *trnL-F*, se utilizó un número menor de taxa y se adicionaron los caracteres estructurales; los 9 clados se recuperan con un apoyo alto de *jackknife* ($\geq 94\%$). Al comparar las relaciones filogenéticas de los 9 clados entre el presente trabajo y el estudio de Williams et al. (2001a), se observa que existen algunas diferencias en las relaciones entre los clados, por lo que el análisis combinado que se presenta aquí generó una hipótesis filogenética donde se muestran nuevas o diferentes relaciones entre los clados que no han sido registradas en trabajos previos. Las nuevas relaciones filogenéticas entre los clados están firmemente apoyadas por los caracteres estructurales.

Caracteres estructurales. El análisis aquí presentado dio como resultado una completa resolución entre las especies de Oncidiinae, con sus miembros agrupados en 9 clados bien sustentados (Fig. 1), la mayoría por caracteres estructurales. Muchos de estos caracteres son homoplásicos dentro de la subtribu como un todo, pero algunos de ellos son sinapomorfias (caracteres no conflictivos) dentro de los clados recuperados. Los caracteres estructurales incluidos en este estudio muestran una gran diversificación a lo largo de la evolución de la subtribu, incluso existen varias especializaciones estructurales que caracterizan o diagnostican algunos clados.

En varios estudios se ha mencionado que la presencia de más de 2 estratos de haces vasculares, de hojas anfigomáticas y de células con engrosamientos secundarios en el mesofilo son caracteres distintivos para el género *Trichocentrum* (Williams, 1974; Sandoval-Zapotitla, 1999; Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001; Stern y Carlswald, 2006); sin embargo, ninguno de estos trabajos postuló una hipótesis filogenética explícita.

El presente estudio corrobora lo anterior mediante un análisis cladístico, mostrando que esos caracteres son sinapomorfias para el género en un nivel menos inclusivo. De igual manera, las células con engrosamientos secundarios también son un carácter diagnóstico para las subtribus Cryptarrheninae y Zygotepalinae (*sensu* Dressler, 1993).

El perfil de la hoja ha sido un carácter importante en la delimitación de grupos dentro de las Orchidaceae; Chase (1986a) lo propuso como un carácter diagnóstico para distinguir grupos dentro de Oncidiinae. Cameron (2005) encontró que las especies epífitas que forman el clado *Oberonia* dentro de la tribu Malaxideae presenta hojas unifaciales, mientras que las especies terrestres que forman otro grupo monofilético tienen hojas plegadas. Stern et al. (2004) mencionan que el perfil de la hoja, junto con otros caracteres anatómicos, permite distinguir 3 grandes grupos dentro de la subtribu Ornithocephalinae (*sensu* Dressler, 1993). Carlswald et al. (1997) demostraron que la relación de grupo hermano entre las secciones *Aporum* y *Rhizobium* de *Dendrobium* (Dendrobiinae) está apoyada por la presencia de hojas unifaciales. En este estudio el género *Lockhartia* (clado C) se caracteriza por presentar una hoja madura con lámina conduplicada, entre otros caracteres.

La presencia/ausencia de haces de fibras adaxiales es otro carácter que ha mostrado utilidad taxonómica dentro de la familia para la caracterización de grupos; por ejemplo, en la subtribu Oncidiinae es un carácter común (Solleder y Meyer, 1930; Ayensu y Williams, 1972; Williams, 1974; Rojas-Leal, 1993; Sandoval-Zapotitla, 1993; Toscano de Brito, 1998; Sandoval-Zapotitla, 1999; Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001; Stern y Carlswald, 2006); dentro de las Dendrobiinae, su presencia es un carácter que apoya la monofilia de la sección *Aporum* y dentro de Oncidiinae, la del clado I (*Tolumnia*, *Rhynchostele* y *Erycina*), mientras que su ausencia caracteriza la sección *Rhizobium* (Carlswald et al., 1997) y a las subtribus Cryptarrheninae (Stern et al., 2004), Ornithocephalinae y Telipogoninae (*sensu* Dressler, 1993; Toscano de Brito, 1998; Stern et al., 2004). El número de estratos de haces de fibras es otro carácter taxonómico útil para distinguir grupos de especies (Williams, 1974; Toscano de Brito, 1998; Sandoval-Zapotitla, 1999; Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001; Stern y Carlswald, 2006); tal es el caso del género *Lockhartia* (clado C) que se caracteriza por un estrato de haces de fibras abaxiales.

Otro carácter estructural importante en la delimitación de grupos, no sólo dentro de la familia Orchidaceae, es la presencia de tricomas en la epidermis. La ausencia de tricomas es característico de las subtribus Ornithocephalinae y Telipogoninae (*sensu* Dressler, 1993; Toscano de Brito, 1998; Stern et al., 2004) y de Oncidiinae (Williams, 1974; Toscano de Brito, 1998; Stern y Carlswald, 2006); sin embargo, nuestros resultados muestran que a excepción del clado D, su presencia es un carácter plesiomórfico y común en las Oncidiinae. Los tricomas similares a los observados en Oncidiinae parecen ser un carácter distintivo para *Dreslerella* (Pleurothallidinae;

Pridgeon y Williams, 1979) y son característicos de la subtribu Bletinae (Khasim y Mohana Rao, 1990) y de algunas secciones de *Dendrobium* (Dendrobiinae; Yukawa et al., 1990); en las Cypripedioideae apoyan el clado que presenta hojas conduplicadas (Albert, 1994). En otras familias apoya la relación de grupo hermano entre *Sloetia* y *Bleekrodea* (Moraceae) (Clement y Weiblen, 2009).

La literatura indica que la presencia de estégmatos en los haces vasculares es frecuente en la familia Orchidaceae; sin embargo, su ausencia es característica de algunos grupos, pues se ha registrado que apoya la monofilia de Cranichideae (Stern et al., 1993) y de Vanilleae (Freudenstein y Rasmussen, 1999), además de que es propia de la subtribu Ornithocephalinae (*sensu* Dressler, 1993; excepto *Phymatidium tillandsoides* Barb. Rodr. [Stern et al., 2004], de *Pachyphyllum* [Stern y Carlswald, 2006]) y del clado D recuperado en este trabajo.

El número de estratos celulares, su continuidad y la condición de la pared de las células de la hipodermis adaxial se mencionaron como caracteres con utilidad taxonómica para el reconocimiento de ciertos grupos de especies en Oncidiinae (Williams, 1974), como es el caso de los miembros del clado *Cuitlauzina*, que presentan dichos caracteres (Ayensu y Williams, 1972; Sandoval-Zapotitla, 1993). La presencia de una hipodermis adaxial con 1 estrato es característica en *Rhynchostele*, en el clado E (*Oncidium*), en el clado H (*Capanemia*, *Cyrtochilum*, *Zelenkoa*, *Rodriguezia*, *Macroclinium*, *Notylia*, *Comparettia* e *Ionopsis*) y en algunas especies de *Dresslerella* (Pleurothallidinae; Pridgeon y Williams, 1979); además, en *Rhynchostele* el grosor de la pared celular permite reconocer algunas de sus especies (Rojas-Leal, 1993). La presencia de una hipodermis adaxial con células de paredes delgadas ubicadas en 1 a 2 estratos y sin células con engrosamientos secundarios es característica de los miembros de la subtribu Bletinae (Khasim y Mohana Rao, 1990) y permite reconocer las especies de *Dresslerella* (Pleurothallidinae; Pridgeon y Williams, 1979). La presencia de hipodermis adaxial también se ha registrado en miembros de las subtribus Zygopetalinae, Maxillariinae y Oncidiinae (Maxillarieae; Solereder y Meyer, 1930; Williams, 1974; Rojas-Leal, 1993; Sandoval-Zapotitla, 1993, 1999; Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001; Stern y Carlswald, 2006).

La ausencia de hipodermis también define algunos grupos, como es el caso de *Tolumnia* y *Erycina*, el clado A (*Trichocentrum*) como ya lo habían registrado Stern y Carlswald (2006) y en algunos miembros de la subtribu Ornithocephalinae y Telipogoninae por Toscano de Brito (1998) y Stern et al. (2004).

Los cristales (prismáticos y/o drusas) son otro carácter que ha sido útil en el reconocimiento de grupos. Los

cristales prismáticos se han registrado en los géneros *Rhynchostele* (incluye los géneros *Lemboglossum* y *Mesoglossum*; Soto-Arenas et al., 1993), *Oncidium* (clado E en este trabajo) y en algunos géneros que forman el clado H del presente estudio y en nivel específico en *Trichoceros antennifer* (Humb. et Bonpl.) Kunth (Oncidiinae; Toscano de Brito, 1998). Con respecto a los cristales como drusas únicamente se tienen registros en el género *Myoxanthus* (Pleurothallidinae; Pridgeon y Stern, 1982), en Ponerinae (Epidendroideae; Cervantes, 2009) y en el clado E (en este trabajo). En estos 2 últimos, la presencia de las drusas apoya su monofilia.

El presente análisis permitió destacar el valor taxonómico que algunos caracteres estructurales podrían tener en la taxonomía de las Oncidiinae, unos en el nivel de género y otros en el de clados más incluyentes. Excepto por las glándulas epidérmicas y los haces de fibras adaxiales, el resto de los caracteres estructurales apoyan la formación de grupos naturales a un nivel en particular. Los caracteres estructurales tienen un efecto importante en el soporte de los clados de Oncidiinae, a pesar de que se ha planteado que los caracteres morfológicos (incluyendo a los anatómicos) presentan altos niveles de homoplasia, bajos niveles de resolución y bajos niveles de soporte (Scotland et al., 2003); en este estudio, cerca del 90% de los caracteres anatómicos foliares y 38% de los caracteres morfológicos tienen un índice de retención mayor a 0.6, lo que indica que hay un elevado nivel de homología (sinapomorfías) en estos caracteres.

Para una familia tan grande como Orchidaceae, a la fecha aún son pocos los análisis cladísticos utilizando únicamente caracteres morfológicos o anatómicos (Stern et al., 1993; Freudenstein y Rasmussen, 1999; Stern y Judd, 2001, 2002; Stern et al., 2004; García-Cruz y Sosa, 2005; Stern y Carlswald, 2006) o en combinación con caracteres moleculares como secuencias de ADN (Albert, 1994; Chase y Palmer, 1992; Gravendeel y de Vogel, 2002; Koehler et al., 2002; Gravendeel et al., 2004; Sosa, 2007; Figueroa et al., 2008; Cervantes, 2009).

Este trabajo incluye un análisis combinado, incorporando la mayoría de los caracteres anatómicos que ya habían sido reconocidos como importantes para distinguir grupos de especies en Oncidiinae (Ayensu y Williams, 1972; Williams, 1974; Rojas-Leal, 1993; Sandoval-Zapotitla, 1993, 1999; Sandoval-Zapotitla y Terrazas, 2001; Stern y Carlswald, 2006) sin un enfoque filogenético explícito. El presente trabajo es el primero que de manera explícita pone a prueba y demuestra la importancia que los caracteres anatómicos tienen en la filogenia de Oncidiinae.

Generalmente, los caracteres vegetativos se consideran más conservadores que los florales (Williams, 1974).

No obstante, los resultados sugieren que ésa no es la generalidad dentro de Oncidiinae; mientras que los clados B, C, F y G presentan pocos o ningún cambio en los caracteres estructurales, los clados A, D, E, H e I han acumulado una gran cantidad de cambios a lo largo de su historia evolutiva. La poca divergencia evolutiva en los primeros indica una posición menos derivada; por el contrario, la gran divergencia evolutiva en los segundos sugiere lo contrario. Estas diferencias quizá se deban a que las presiones de selección actúan a diferente nivel e intensidad en cada uno de los grupos, dando como resultado diferentes respuestas. Algunos autores plantean que la radiación de Oncidiinae en una primera etapa, estuvo basada en especializaciones en el hábitat y su historia de vida (Chase, 1986a; Chase y Palmer, 1997). Los resultados permiten postular que seguramente esta radiación también se vio reflejada en numerosos cambios en sus caracteres estructurales que indudablemente tienen valor adaptativo (Chase y Palmer, 1992, 1997).

Con la combinación de los datos estructurales y moleculares, se pone en evidencia que los caracteres estructurales son informativos en la filogenia de Oncidiinae e importantes en la diversificación de algunos de sus grupos. Varios de los clados en Oncidiinae pudieron haber desarrollado importantes especializaciones estructurales, como la presencia de hipodermis adaxial en un estrato discontinuo y de paredes engrosadas, que posiblemente le confieren soporte interno y resistencia mecánica a las hojas expuestas a la incidencia de fuertes vientos (clado E); la presencia de células buliformes para el despliegue de las hojas durante las primeras etapas de su desarrollo (clados F y G), y un mesofilo diferenciado en parénquima en empalizada y esponjoso, para hacer más eficiente la captación de luz (*Tolumnia*), entre otros.

Los resultados de este trabajo apoyan la propuesta de reunir el mayor número posible de fuentes de evidencia y realizar análisis combinados para que el poder explicativo de los datos utilizados llegue a su máximo (Nixon y Carpenter, 1996). Los resultados del presente estudio destacan la importancia que tiene la inclusión de caracteres estructurales en un análisis combinado de secuencias de ADN ya que además de recuperar relaciones en el nivel de los clados principales, permite incrementar la resolución de las relaciones entre sus miembros, evaluar el valor de los caracteres estructurales para diagnosticar clados y analizar la evolución de la morfología en un contexto filogenético explícito.

Agradecimientos

La presente investigación es parte de los estudios de

posgrado del primer autor, quien agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por su aceptación y apoyo, y al CONACYT por la beca otorgada (Núm.199595). Los autores agradecen a Eduardo Pérez, Gerardo A. Salazar, Ignacio Aguirre, Miguel A. Soto Arenas, Oscar Francke, Sandro Cusi y Teodoro Platas, por proporcionar muestras de hojas de sus colecciones particulares. A Philip J. Brewster y Martín Mata, del Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero de Xalapa, Veracruz, México; a Eric Hågsater, Luis Sánchez y Rolando Jiménez, del Herbario AMO, México, y a Jorge Warner, Robert L. Dressler, Franco Pupulin, Diego Bogarín y Alejandro Rojas, del Jardín Botánico Lankester, Costa Rica, por aportar material biológico y respaldo en la determinación de los taxa utilizados para la presente investigación. A Laura Márquez del Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Biología, UNAM, quien apoyó en el manejo de las secuencias nucleares, e igualmente a Alejandro Vallejo y Julio Cesar Montero, del Instituto de Biología, UNAM, por su apoyo en la edición de las imágenes, y a Concepción Guzmán y Patricia Zendejas del Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM, quienes brindaron apoyo técnico para el procesamiento histológico de las muestras.

Literatura citada

- Albert, V. A. 1994. Cladistic relationships of the slipper orchids (Cypripedioideae: Orchidaceae) from congruent morphological and molecular data. *Lindleyana* 9:115-132.
- Ayensu, E. S. y N. H. Williams. 1972. Leaf anatomy of *Palumbina* and *Odontoglossum* subgenus *Osmoglossum*. *American Orchid Society Bulletin* 41:687-696.
- Cameron, K. M. 2005. Leave it to the leaves: a molecular phylogenetic study of Malaxidae (Epidendroideae, Orchidaceae). *American Journal of Botany* 92:1025-1032.
- Cameron, K. M., M. W. Chase, W. M. Whitten, P. J. Kores, D. C. Jarrell, V. A. Albert, T. Yukawa, H. G. Hills y D. H. Goldman. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *American Journal of Botany* 86:208-224.
- Carlswald, B. S., W. L. Stern, W. S. Judd y T. W. Lucansky. 1997. Comparative leaf anatomy and systematic in *Dendrobium*, sections *Aporum* and *Rhizobium* (Orchidaceae). *International Journal of Plant Sciences* 158:332-342.
- Cervantes, L. M. 2009. Estudio de la anatomía foliar de la subtribu Ponerinae (Orchidaceae, Epidendroideae) en un contexto filogenético. Tesis. maestría. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 91 p.
- Chase, M. W. 1986a. A reappraisal of the Oncidioid-Orchids. *Systematic Botany* 11:477-491.
- Chase, M. W. 1986b. A monograph of *Leochilus* (Orchidaceae). *Systematic Botany Monographs* 14:1-97.

- Chase, M. W. y J. D. Palmer. 1988. Chloroplast DNA variation, geographical distribution and morphological parallelism in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 75:163-164.
- Chase, M. W. y J. D. Palmer. 1989. Chloroplast DNA systematics of lilioid monocots: resources, feasibility, and an example from the Orchidaceae. *American Journal of Botany* 76:1720-1730.
- Chase, M. W. y J. D. Palmer. 1992. Floral morphology and chromosome number in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae): evolutionary insights from a phylogenetic analysis of chloroplast DNA restriction site variation. *In* Molecular systematics of plants, P. S. Soltis, D. E. Soltis y J. J. Doyle (eds.). Chapman & Hall, New York. p. 324-339.
- Chase, M. W. y J. D. Palmer. 1997. Leapfrog radiation in floral and vegetative traits among twig epiphytes in the orchid subtribe Oncidiinae. *In* Molecular evolution and adaptive radiation, T. J. Givnish y K. J. Sytsma (eds.). Cambridge University Press, Cambridge. p. 331-352.
- Chase, M. W. y J. Pippen. 1988. Seed morphology in the Oncidiinae and related subtribes (Orchidaceae). *Systematic Botany* 13:313-323.
- Chase, M. W., K. M. Cameron, R. L. Barret y J. V. Freudenstein. 2003. DNA Data and Orchidaceae systematics: a new Phylogenetic Classification. *In* Orchid conservation, K. W. Dixon, S. P. Kell, R. L. Barret y P. J. Cribb (eds.). Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia. p. 69-89.
- Chase, M. W., N. H. Williams, K. M. Neubig y W. M. Whitten. 2008. Taxonomic transfers in Oncidiinae to accord with Genera Orchidacearum, vol. 5. *Orchids* 21: 20-31.
- Chase, M. W., N. H. Williams, y W. M. Whitten. 2009. Oncidiinae nomenclature. Generic changes in Genera Orchidacearum, vol. 5. *Orchids* 12:228-238.
- Clement, W. L. y G. D. Weiblen. 2009. Morphological evolution in the Mulberry family (Moraceae). *Systematic Botany* 34:530-552.
- de Pinna, M. C. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* 7:367-394.
- Dressler, R. L. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family: Dioscorides Press, Portland, Oregon 314 p.
- Dressler R. L. y N. H. Williams. 2003. New combinations in Mesoamerican Oncidiinae (Orchidaceae). *Selbyana* 24:44-45.
- Farris, J. S., V. A. Albert, M. Källersjö, D. Lipscomb, y A. G. Kluge. 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. *Cladistics* 12:99-124.
- Figueroa, C., G. A. Salazar, H. A. Zavaleta y E. M. Engleman. 2008. Root character evolution and systematics in Cranichidinae, Prescottiinae and Spiranthininae (Orchidaceae, Cranichideae). *Annals of Botany* 101:509-520.
- Fitch, W. M. 1971. Toward defining the course of evolution: minimal change for a specific tree topology. *Systematic Zoology* 20:406-416.
- Freudenstein, J. V. y F. N. Rasmussen. 1999. What does morphology tell us about orchid relationships? A cladistic analysis. *American Journal of Botany* 86:225-248.
- Furtado de Sousa, L. O., T. Wendt, G. K. Brown, D. E. Tuthill y T. M. Evans. 2007. Monophyly and phylogenetic relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on morphology and chloroplast DNA sequences. *Systematic Botany* 32:264-270.
- García-Cruz, J. y V. Sosa. 2005. Phylogenetic relationships and character evolution in *Govenia* (Orchidaceae). *Canadian Journal of Botany* 83:1329-1339.
- Goloboff, P. 1999. Nona, version 2. Published by the author, Tucumán.
- Gravendeel, B. y E. F. De Vogel. 2002. Revision of *Coelogyne* section *Moniliformes* (Orchidaceae) based on morphology, plastid and nrITS sequences. *Blumea* 47:409-462.
- Gravendeel, B., M. C. M. Eurlings, C. van den Berg y P. J. Cribb. 2004. Phylogeny of *Peione* (Orchidaceae) and parentage analysis of its wild hybrids based on plastid and nuclear ribosomal ITS sequences and morphological data. *Systematic Botany* 29:50-63.
- Groom, P. 1893. On the velamen of orchids. *Annals of Botany* 7:143-151.
- Jenner, R. A. 2004. Accepting partnership by submission? Morphological phylogenetics in a molecular millennium. *Systematic Biology* 53:333-342.
- Khasim, S. M. y P. R. Mohana Rao. 1990. Anatomy in relation to taxonomy in some members of Epidendroideae (Orchidaceae). *Phytomorphology* 40:243-250.
- Koehler, S., N. H. Williams, W. M. Whitten y M. C. E. Amaral. 2002. Phylogeny of the *Bifrenaria* (Orchidaceae) complex based on morphology and sequence data from nuclear rDNA internal transcribed spacers (ITS) and chloroplast *trnL-trnF* region. *International Journal of Plant Sciences* 163:1055-1066.
- Lockhart, P. J. y S. A. Cameron. 2001. Trees for bees. *Trends in Ecology and Evolution* 16:84-88.
- Maddison, R. D. 1991. The discovery and importance of multiple islands of most-parsimonious trees. *Systematic Zoology* 40:315-328.
- Maddison, W. P. 1993. Missing data versus missing characters in phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 42:576-581.
- Margulis, L. y R. Guerrero. 1991. "Kingdoms in turmoil". *New Scientist* 132:46-50.
- Nixon, K. C. 2002. WinClada, versión 1.00.08. Published by the author, Ithaca, New York.
- Nixon, K. C. y J. M. Carpenter. 1996. On simultaneous analysis. *Cladistics* 12:221-241.
- Pridgeon, A. M. 1987. Diagnostic anatomical features in Orchidaceae. Abstracts XIV International Botanical Congress. Berlin (West).
- Pridgeon, A. M. y N. H. Williams. 1979. Anatomical aspects of *Dresslerella* (Orchidaceae). *Selbyana* 5:120-134.
- Pridgeon, A. M. y W. L. Stern. 1982. Vegetative anatomy of *Myoxanthus* (Orchidaceae). *Selbyana* 7:55-63.
- Pridgeon, A. M., W. L. Stern y D. H. Benzing. 1983. Tilosomes in roots of Orchidaceae: morphology and systematic occurrence. *American Journal of Botany* 70:1365-1377.
- Pridgeon A. M., R. Solano y M. W. Chase. 2001. Phylogenetic relationships in Pleurothallidinae (Orchidaceae): combined evidence from nuclear and plastid DNA sequences. *American Journal of Botany* 88:2286-2308.

- Rasmussen, H. 1987. Orchid stomata: structure, differentiation, function and phylogeny. *In* Orchid biology: reviews and perspectives. IV, J. Arditti (ed.), Cornell University Press, Ithaca, New York. p 105-138.
- Rojas-Leal, A. 1993. Anatomía foliar comparada de *Lemboglossum* Halb. y géneros relacionados. Tesis, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México. D. F. 73 p.
- Sandoval-Zapotitla, E. 1993. Anatomía foliar de *Cuittlauzina pendula*. Orquídea (Méx.) 13:181-190.
- Sandoval-Zapotitla, E. 1999. Anatomía foliar y análisis numérico del clado *Lophiaris* y géneros relacionados (Orchidaceae: Oncidiinae). Tesis, Maestría. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México. D. F. 101 p.
- Sandoval-Zapotitla, E. y T. Terrazas. 2001. Leaf anatomy of 16 taxa of the *Trichocentrum* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). *Lindleyana* 16:81-93.
- Sandoval-Zapotitla, E., A. Rojas-Leal, C. Guzmán, L. Carmona, R. M. Ponce, C. León, C. Loyola, M. A. Vallejo y A. Medina. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Cuadernos 38. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 278 p.
- Scotland, R. W., R. G. Olmstead y J. R. Bennett. 2003. Phylogeny reconstruction: the role of morphology. *Systematic Biology* 52:539-548.
- Solereder, H. y F. J. Meyer. 1930. Systematische Anatomie der Monokotyledonen. VI. Microspermae. Gebrüder Borntraeger, Berlin (English translation, 1969, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem).
- Sosa, V. 2007. A molecular and morphological phylogenetic study of subtribe Blettiinae (Epidendreae, Orchidaceae). *Systematic Botany* 32:34-42.
- Sosa, V., M. W. Chase, G. Salazar, W. M. Whitten y N. H. Williams. 2001. Phylogenetic position of *Dignathe* (Orchidaceae: Oncidiinae): evidence from nuclear ITS ribosomal DNA sequences. *Lindleyana* 16:94-101.
- Soto-Arenas, M. A., G. A. Salazar y A. Rojas. 1993. Nomenclatural changes in *Rhynchostele*, *Mesoglossum* y *Lemboglossum* (Orchidaceae, Oncidiinae). *Orquídea* (Méx.) 13:145-152.
- Stern, W. L. y B. S. Carlswald. 2006. Comparative vegetative anatomy and systematic of Oncidiinae (Maxillarieae, Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 152:91-107.
- Stern, W. L. y W. S. Judd. 2001. Comparative anatomy and systematics of Catasetinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 136:153-178.
- Stern, W. L. y W. S. Judd. 2002. Systematic and comparative anatomy of Cymbidiaceae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 139:1-27.
- Stern, W. L., M. Morris y W. S. Judd. 1993. Comparative vegetative anatomy and systematics of Spiranthoideae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 113:161-197.
- Stern, W. L., W. S. Judd y B. S. Carlswald. 2004. Systematic and comparative anatomy of Maxillarieae (Orchidaceae), sans Oncidiinae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 144:251-274.
- Tate, J. A., M. C. Acosta, J. McDill, E. A. Moscone, B. B. Simpson y A. A. Cocucci. 2009. Phylogeny and character evolution in *Nierembergia* (Solanaceae): molecular, morphological and cytogenetic evidence. *Systematic Botany* 34:198-206.
- Thompson, I. R., P. Y. Ladiges y J. H. Ross. 2001. Phylogenetic studies of the tribe Brongniartieae (Fabaceae) using nuclear DNA (ITS-1) and morphological data. *Systematic Botany* 26:557-570.
- Toscano de Brito, A. L. V. 1998. Leaf anatomy of Ornithocephalinae (Orchidaceae) and related subtribes. *Lindleyana* 13:234-258.
- van den Berg, C., W. E. Higgins, R. L. Dressler, W. M. Whitten, M. A. Soto Arenas, A. Culham y M. W. Chase. 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Lindleyana* 15:96-114.
- Whitten, W. M., N. H. Williams y M. W. Chase. 2000. Subtribal and generic relationships of Maxillarieae (Orchidaceae) with emphasis on Stanhopeinae: combined molecular evidence. *American Journal of Botany* 87:1842-1856.
- Wiens, J. 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Systematic Biology* 53:653-661.
- Williams, N. H. 1974. The value of plant anatomy in orchid taxonomy. *In* Proceedings of the Seventh World Orchid Conference, M. Ospina (ed.), Medellín. p. 281-298.
- Williams, N. H., W. M. Whitten y M. W. Chase. 1999. Molecular systematic of neotropical Maxillarieae (Orchidaceae). V Jornadas de Taxonomía Botánica, Lisbon.
- Williams, N. H., M. W. Chase, T. Fulcher y W. M. Whitten. 2001a. Molecular systematics of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtorchilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, and *Trichocentrum* and a new genus (Orchidaceae). *Lindleyana* 16:113-139.
- Williams, N. H., M. W. Chase y W. M. Whitten. 2001b. Phylogenetic positions of *Miltoniopsis*, *Caucaea*, a new genus, *Cyrtorchiloides*, and *Oncidium phymatochilum* (Orchidaceae: Oncidiinae) based on nuclear and plastid DNA sequence data. *Lindleyana* 16:272-285.
- Wortley, A. H. y R. W. Scotland. 2006. The effect of combining molecular and morphological data in published phylogenetic analyses. *Systematic Biology* 55:677-685.
- Yukawa, T., T. Ando, K. Karasawa y K. Hashimoto. 1990. Leaf surface morphology in selected *Dendrobium* species. *In* Proceedings of the 13th World Orchid Conference. World Orchid Conference Proceedings Trust, Auckland: p. 250-258.

Apéndice 1. Especies de Oncidiinae analizadas en este estudio. Se indica el colector, número de colecta y el número de acceso en GenBank de las secuencias de ADN utilizadas, excepto en *Oncidium alexandrae*, *O. epidendroides* (*matK*), *Tolumnia pulchella* y *T. triquetra* (*ITS*, *matK*).

	<i>No. de colecta</i>	<i>ITS</i>	<i>matK</i>
<i>Ada aurantiaca</i> Lindl.	JBL 02968	AF350518	AF350597
<i>Aspasia epidendroides</i> Lindl.	WB Hort	AF350521	AF350600
<i>Benzingia caudata</i> (Ackerman) Dressler.	JBL 13500	AY870027	AY869928
<i>Brassia arcuigera</i> Rchb.f.	JBL 3758	AF350522	AF350601
<i>Brassia caudata</i> (L.) Lindl.	OF Hort	AF350523	AF350602
<i>Brassia gireoudiana</i> Rchb.f. et Warsz.	JBL 8343	AF350524	AF350603
<i>Capanemia superflua</i> (Rchb.f.) Garay et Kennedy.	OF Hort	AF350549	AF350628
<i>Cischweinfia dasyandra</i> (Rchb.f.) Dressler et N.H.Williams.	RAVA Hort	AF350527	AF350606
<i>Comparettia macrolepton</i> Rchb.f. et Triana.	RD Hort	AF350541	AF350620
<i>Cyrtochiloides ochmatochila</i> (Rchb.f.) N.H.Williams et M.W.Chase.	RJM 2394	AF432946	AF433009
<i>Cyrtochilum cimiciferum</i> (Rchb.f.) Dalström.	EH 10535	AF350560	AF350639
<i>Cyrtopodium punctatum</i> (L.) Lindl.	JBL 13960	AF239412	AF239508
<i>Dichaea neglecta</i> Schltr.	PJB 50	AF239320	AF239416
<i>Erycina cristagalli</i> (Rchb.f.) N.H.Williams et M.W.Chase.	RAVA Hort	AF350540	AF350619
<i>Erycina echinata</i> (Kunth) Lindl.	ESZ 013	AF350537	AF350616
<i>Erycina hyalinobulbon</i> (La Llave et Lex.) N.H.Williams et M.W.Chase.	PL 702	AF350536	AF350615
<i>Erycina pumilio</i> (Rchb.f.) N.H.Williams et M.W.Chase.	RD 6669	AF350539	AF350618
<i>Erycina pusilla</i> (L.) N.H.Williams et M.W.Chase.	RJM Hort	AF350538	AF350617
<i>Fernandezia tica</i> Mora-Ret. et D.García.	RD 6706	DQ315821	DQ315889
<i>Ionopsis utricularioides</i> (Sw.) Lindl.	RJM Hort	AF350546	AF350625
<i>Ionopsis satyrioides</i> (Sw.) Rchb.f.	OF Hort	AF350547	AF350626
<i>Lockhartia amoena</i> Endres et Rchb.f.	JBL 07707	AF350515	AF350594
<i>Lockhartia oerstedii</i> Rchb.f.	DB 9399	AF350514	AF350593
<i>Macroclinium bicolor</i> (Lindl.) Dodson.	MAS 4951	AF350550	AF350629
<i>Maxillaria cucullata</i> Hook.	AV Hort	DQ210215	DQ209871
<i>Maxillaria hedwigiae</i> Hamer et Dodson.	JBL 9466	DQ210213	DQ209869
<i>Mesospinidium panamense</i> Garay.	JBL 01661	AF350526	AF350605
<i>Miltonia candida</i> Lindl.	MAS Hort	AF350517	AF350596
<i>Miltoniopsis warsewiczii</i> (Rchb.f.) Garay et Dunst.	JBL 2908	AF350556	AF350635
<i>Notylia barkeri</i> Lindl.	ESZ 017	AF350545	AF350624
<i>Oncidium alexandrae</i> (Bateman) M.W.Chase et N.H.Williams	MAS 6401	AF350785	N132
<i>Oncidium cheirophorum</i> Rchb.f.	MAS 5587	AF350567	AF350646
<i>Oncidium epidendroides</i> (Kunth) M.W.Chase et N.H.Williams	RD Hort	AF350777	N190
<i>Oncidium flexuosum</i> Lodd.	MAS Hort	AF350552	AF350631
<i>Oncidium ghiesbreghtianum</i> A.Rich. et Galeotti	MAS 4101	AF350563	AF350642
<i>Oncidium leucochilum</i> Batem ex. Lindl.	MAS 3565	AF350565	AF350644
<i>Oncidium ornithorhynchum</i> Kunth.	RJM 626	AF350566	AF350645
<i>Oncidium pictoides</i> M.W.Chase et N.H.Williams	JJZ Hort	AF350572	AF350651
<i>Oncidium reichenheimii</i> (Linden et Rchb.f.) Garay et Stacy.	OF Hort	AF350562	AF350641
<i>Oncidium sphacelatum</i> Lindl.	ESZ 018	AF350564	AF350643
<i>Ornithocephalus inflexus</i> Lindl.	TPH-265	AF350507	AF350586
<i>Otoglossum chiriquense</i> (Rchb.f.) Garay et Dunst.	MAS Hort	AF350561	AF350640
<i>Psychopsis papilio</i> (Lindl.) H.G.Jones.	MAS Hort	AF350582	AF350661

<i>Rhynchostele beloglossa</i> (Rchb.f.) Dressler et N.H.Williams.	TPH 283	AF350531	AF350610
<i>Rhynchostele bictoniensis</i> (Batem.) Soto Arenas et Salazar.	GAS 2648	AF350529	AF350608
<i>Rhynchostele londesboroughiana</i> (Rchb.f.) Soto Arenas et Salazar.	MAS 2197	AF350530	AF350609
<i>Rodriguezia lanceolata</i> Ruiz et Pav.	OF Hort	AF350542	AF350621
<i>Systemoglossum acuminatum</i> Ames et C.Schweinf.	DB 2664	AF350528	AF350607
<i>Telipogon costaricensis</i> Schltr.	AR Hort	DQ315860	AF350588
<i>Tolumnia pulchella</i> (Hook.) Raf.	JBL 11677	N351	N351
<i>Tolumnia triquetra</i> (Sw.) Nir	JBL 11680	N408	N376
<i>Tolumnia variegata</i> (Sw.) Braem.	RJM 969	AF350533	AF350612
<i>Trichocentrum cebolleta</i> (Jacq.) M.W.Chase et N.H.Williams.	EAP 286	AF350573	AF350652
<i>Trichocentrum pfavii</i> Rchb.f.	RAVA 512	AF350575	AF350654
<i>Trichocentrum splendidum</i> (A.Rich.) M.W.Chase et N.H.Williams.	MAS Hort.	AF350576	AF350655
<i>Trichopilia maculata</i> Rchb.f.	JBL 11683	AF350579	AF350658
<i>Zelenkoa onusta</i> (Lindl.) M.W.Chase et N.H.Williams.	HZ Hort	AF350555	AF350634

Colectores: AR = Alexander Rojas; AV = Andrés Vovides; WB. = Weimann Bussey; DB = Diego Bogarín; EAP = Eduardo A. Pérez García; EH = Eric Hágsater; ESZ = Estela Sandoval Zapotitla; EYG = Elvira Yañes Guerrero; FP = Franco Pupulin; GAS = Gerardo A. Salazar; IA = Ignacio Aguirre-Olavarieta; JJZ = Juan José Zúñiga; JBL = Jardín Botánico Lankester; JGC = Javier García-Cruz; JLW = Jorge Lamas Walz; MAS = Miguel Ángel Soto Arenas; OF = Oscar Francke; PJB = Philip J. Brewster; PL = Pesach Lubinsky; RL = R. Leleu; RD = Robert Dressler; RAVA = Rafael Valverde; RJM = Rolando Jiménez Machorro; SC = Sandro Cusi; TPH = Teodoro Platas Hernández; HZ = Harry Zelenko.

Apéndice 2. Caracteres estructurales y estados de carácter utilizados en el análisis cladístico combinado.

Caracteres anatómico foliares

1. Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en lámina foliar: 0. sin papilas; 1. con papilas.
2. Apéndices epidérmicos abaxiales como papilas en lámina foliar: 0. sin papilas; 1. con papilas.
3. Pelos no glandulares en epidermis adaxial: 0. con pelos; 1. sin pelos.
4. Glándulas epidérmicas: 0. ausentes; 1. presentes.
5. Ubicación de estomas en la lámina foliar: 0. hoja hipostomática; 1. hoja anfigostomática.
6. Collar cuticular en estoma: 0. presente; 1. ausente.
7. Apertura del collar cuticular en estoma: 0. longitudinal y paralelo al eje longitudinal de las células oclusivas; 1. transversal al eje longitudinal de las células oclusivas y poro del estoma; 2. ausente.
8. Pared lateral interna de las células oclusivas, visto en sección transversal: 0. muy engrosadas (más de 2.5 μm); 1. poco engrosadas (hasta de 2.5 μm).
9. Hipodermis adaxial: 0. ausente; 1. presente.
10. Paredes celulares de hipodermis adaxial: 0. delgadas (menos de 2.5 μm); 1. engrosadas (de 2.5 μm o más); 2. ausentes.
11. Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial: 0. continuos; 1. discontinuos; 2. ausentes.
12. Número de estratos celulares en hipodermis adaxial de la lámina foliar, región media: 0. uno; 1. dos; 2. tres; 3. ausentes.
13. Hipodermis abaxial en lámina foliar, región media de la lámina: 0. ausente; 1. presente.
14. Mesofilo como parénquima en empalizada: 0. ausente; 1. presente.
15. Células con engrosamientos secundarios, en hipodermis adaxial: 0. ausente en hipodermis adaxial; 1. presente en hipodermis adaxial; 2. sin hipodermis adaxial.
16. Células con engrosamientos secundarios, en mesofilo: 0. ausente; 1. presente.
17. Células buliformes: 0. ausente; 1. presente.
18. Ubicación de células buliformes: 0. diferenciadas sólo en la zona central adaxial; 1. diferenciadas en varias zonas además de la central adaxial; 2. ausentes.
19. Número de estratos de haces vasculares: 0. uno; 1. dos o más.
20. Número de haces vasculares de zona central: 0. uno; 1. dos.
21. Haces de fibras adaxiales: 0. ausentes; 1. presentes.
22. Haces de fibras abaxiales: 0. ausentes; 1. presentes.
23. Número de estratos de haces de fibras abaxiales: 0. uno; 1. dos; 2. tres o más; 3. ausentes.
24. Estérgmatos en haces vasculares: 0. presentes; 1. ausentes.
25. Estérgmatos en haces de fibras abaxiales: 0. presentes; 1. ausentes; 2. sin haces de fibras abaxiales.

- 26. Cristales prismáticos: 0. ausentes; 1. presentes.
- 27. Cristales como drusas: 0. ausentes; 1. presentes.
- 28. Zona abaxial central: 0. convexa; 1. carinada.
- 29. Espacios aéreos en mesofilo, región basal: 0. presente; 1. ausente.

Caracteres morfológicos

- 30. Tipo de crecimiento: 0. simpodial; 1. monopodial.
 - 31. Forma de tallo: 0. tipo pseudobulbo; 1. tipo caña.
 - 32. Tipo de pseudobulbo: 0. extendido; 1. reducido; 2. ausente.
 - 33. Número de entrenudos en el tallo: 0. dos o más por tallo; 1. uno por tallo.
 - 34. Ubicación de las hojas en el tallo: 0. en el ápice del tallo; 1. a lo largo del tallo.
 - 35. Disposición de las hojas en el ápice del tallo: 0. sin arreglo definido; 1. con arreglo en forma de abanico; 2. dísticas.
 - 36. Suculencia de la lámina foliar: 0. no suculenta; 1. suculenta.
 - 37. Perfil de hoja en sección transversal: 0. lámina dorso-ventralmente extendida; 1. lámina conduplicada; 2. lámina sólo conduplicada marginalmente; 3. lámina unifacial, ensiforme; 4. lámina rolliza o terete; 5. lámina plegada.
-

CAPÍTULO 4



**DIVERSIDAD DE INCLUSIONES MINERALES EN LA SUBTRIBU
ONCIDIINAE (ORCHIDACEAE).**

Diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae)

Estela Sandoval-Zapotitla¹, Teresa Terrazas² & José Luís Villaseñor²

1. Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Universidad 3000, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Distrito Federal, México; esz@ibiologia.unam.mx
2. Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida Universidad 3000, Ciudad Universitaria, C.P. 04510, Distrito Federal, México.

Recibido 06-VIII-2009. Corregido 09-I-2010. Aceptado 02-II-2010.

Abstract: Diversity of mineral inclusions in the subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). Mineral inclusions in plants, of different chemical constitution and forms, have been studied in some plant groups and are currently used as diagnostic tools in taxonomic identifications. With the aim to identify their possible application in taxonomy, mineral inclusions in the leaves of 140 species of Oncidiinae (Orchidaceae) were analyzed and compared. Leave transversal sections were studied with the aid of clear field, phase contrast, and polarized light microscopy. Crystals commonly occurred in mesophyll cells, and only in two species those were observed in epidermal cells. Several forms of calcium oxalate crystals and silicidioxide deposits in the form of stegmata were found. The most common crystalline forms were raphides, prisms and druses. Nevertheless, crystals like sands, and concentric and radial plates were also observed in few species. These crystalline forms of concentric and radial plates are reported for the first time in Oncidiinae and Orchidaceae. The stegmata are conical with rough surface, forming tiers along with fibers. Stegmata commonly occur in the vascular bundle sheath and in the abaxial or adaxial fiber bundles. However, few species do not have stegmata in fiber bundles and other species lack both. The taxonomic importance of these mineral inclusions is discussed for the different clades, genera or species within the subtribe Oncidiinae. *Rev. Biol. Trop.* 58 (2): 733-755. Epub 2010 June 02.

Key words: leaf, crystals, calcium oxalate, raphides, silica, stegmata, Orchidaceae, Oncidiinae.

Las plantas por lo general presentan en algunas de sus células inclusiones minerales, como cuerpos de sílice o cristales de diversa naturaleza. En cerca del 75% de las angiospermas los cristales de oxalato de calcio son los más abundantes y ampliamente distribuidos (Franceschi & Horner 1980, Horner & Wagner 1995, Franceschi & Nakata 2005). Independiente de su naturaleza, los cristales aparecen en una variedad de formas como rafidios, estiloides, drusas, prismas y arena; su constancia entre las especies es de relevancia taxonómica (Prychid & Rudall 1999, Webb 1999, Franceschi & Nakata 2005).

En las hojas, los cristales se forman de manera intracelular o extracelular en el

mesófilo; sin embargo, también se reportan cristales epidérmicos (Prychid & Rudall 1999). Los rafidios, por ejemplo, están presentes en la mayoría de las monocotiledóneas (Prychid & Rudall 1999). Particularmente en las Orchidaceae, los rafidios son los cristales más comunes y a menudo se les puede encontrar al mismo tiempo con otras formas cristalinas, como drusas (Carlswald *et al.* 1997) o prismas (Stern *et al.* 1993). La presencia, ausencia o ubicación de las diferentes formas de cristales pueden ser de utilidad taxonómica (Carlswald *et al.* 1997, Lersten & Horner 2000, Cervantes 2009).

Los contenidos minerales de sílice se presentan en diversos órganos de las angiospermas (Møller & Rasmussen 1984, Hodson *et*

al. 2005). Existen varias formas morfológicas de contenidos minerales de sílice o cuerpos de sílice y su número por célula puede variar. Las formas más comunes de cuerpo de sílice son el tipo esférico de drusa, nodular, rugoso o espinoso. Otras formas de cuerpos de sílice incluyen el tipo de cono truncado, de batea y de arena. Algunas de estas formas son consistentes dentro de *Cymbidium* (Cyrtopodiinae) o dentro de las tribus Cymbidieae y Maxillarieae en Orchidaceae (Yukawa & Stern 2002) y pueden utilizarse a modo de caracteres diagnósticos, como un apoyo en la identificación de sus miembros (Hodson *et al.* 2005). La localización relativa de los cuerpos de sílice en las plantas también es variable; se pueden localizar en las células epidérmicas o pueden estar sobre las paredes externas de las células de la vaina esclerótica de los haces vasculares y no vasculares (Prychid *et al.* 2004). En particular, los cuerpos de sílice presentes en células asociadas al esclerénquima reciben el nombre de estégmatos. Hasta donde se sabe, los estégmatos están restringidos a unas cuantas familias de monocotiledóneas, como Arecaceae, Marantaceae, Musaceae, Orchidaceae, Restionaceae y Zingiberaceae (Møller & Rasmussen 1984).

La presencia de estégmatos en Orchidaceae fue reportada por primera vez por Solereder & Meyer (1930) y actualmente se han registrado en cuatro de sus seis subfamilias; sin embargo, algunas especies no los presentan (Stern 1997a, Stern 1997b, Stern & Judd 2001, Prychid *et al.* 2004). Los estégmatos se encuentran sobre las fibras de los haces vasculares o no vasculares, tanto en las hojas como en el tallo, y están ausentes en la epidermis (Davies 1999).

La subtribu Oncidiinae (Subfamilia Epidendroideae, tribu Maxillarieae), con aproximadamente 95 géneros y 1 700 especies (Williams *et al.* 2001a, 2001b) es considerada una de las más derivadas dentro de las Orchidaceae (Dressler 1993, Sosa *et al.* 2001, Williams *et al.* 2001a, 2001b). Los miembros de esta subtribu son especies típicamente epífitas, unas cuantas son terrestres o litófitas; se les encuentra desde el nivel del mar hasta los páramos de alta montaña, desde Sinaloa y Tamaulipas en México hasta

Misiones en Argentina, pasando por el extremo sur de Perú, así como a través del Caribe, incluyendo el sur de Florida en Estados Unidos (Chase & Palmer 1988). Williams *et al.* (2001a, 2001b), en un análisis con datos moleculares (ITS, *matK*, *trnF-L*), reconocen diez clados principales; Sandoval-Zapotitla *et al.* (en prensa) a partir de un análisis cladístico combinado, incluyendo datos moleculares, anatómico-foliare y morfológicos, reconocen nueve de los diez clados previamente identificados para Oncidiinae. En el presente trabajo se considera que los contenidos minerales pueden proporcionar caracteres potencialmente útiles para caracterizar los clados reconocidos para Oncidiinae y apoyar sus relaciones filogenéticas. Los objetivos son los siguientes: describir y comparar las inclusiones minerales de las hojas de 140 especies de Oncidiinae; y, determinar si su presencia, forma y ubicación, tienen valor diagnóstico para apoyar la caracterización y relación de los clados propuestos para Oncidiinae.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con base en los trabajos de Williams *et al.* (2001a, 2001b) y Sandoval-Zapotitla *et al.* (en prensa), se seleccionaron 140 especies de Oncidiinae que representan los principales clados propuestos para Oncidiinae (Apéndice 1). Para facilitar la descripción de los resultados, en adelante se adoptarán las mismas letras asignadas a los clados por Sandoval-Zapotitla *et al.* (en prensa). Los nombres de las especies siguen las propuestas de nomenclatura más recientes (Soto *et al.* 1993, Dressler & Williams 2003, Williams *et al.* 2001a, Chase *et al.* 2008, Chase *et al.* 2009). Los ejemplares que respaldan las observaciones para cada especie se presentan en el Apéndice 1. A una hoja madura de cada especie se le cortó una fracción de la región media de la lámina. Estas fracciones fueron fijadas en Navashin, deshidratadas en alcohol ter-butílico (ATB), infiltradas e incluidas en parafina histológica (58-60°C) y cortadas en micrótopo de rotación para obtener secciones transversales de 15-20µm. Estas secciones fueron teñidas con safranina-verde rápido y

montadas con resina sintética como preparaciones permanentes (Sandoval-Zapotitla *et al.* 2005). Adicionalmente, fracciones de hoja de 1cm de ancho se transparentaron con hidróxido de sodio al 20% y posteriormente con hipoclorito de sodio al 20%, se montaron como preparaciones con gelatina glicerinada, y se utilizaron para corroborar los contenidos minerales. Todas las preparaciones fueron rotuladas y depositadas en la colección biológica del Laboratorio de Apoyo a la Investigación del Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

Las secciones fueron observadas y examinadas en un fotomicroscopio de luz Carl Zeiss Axioskope. Las propiedades de birrefringencia de las inclusiones minerales fueron utilizadas para detectar su presencia a través de las técnicas de iluminación de campo claro, contraste de fases y polarización (Rincón & Reyes 1991, Barrera & Cárdenas 1997, Vovides 1999, Sandoval-Zapotitla *et al.* 2005). Asimismo, para cada especie se registró la forma y ubicación

del contenido mineral en la hoja. Las imágenes seleccionadas fueron capturadas digitalmente usando el mismo fotomicroscopio, editadas en Paint Shop Pro 8.0 y organizadas en las láminas. Con el propósito de conocer si el número de estratos de haces de fibras abaxiales que desarrollan las especies determina la presencia de los estérgmatos, se hizo un análisis de correlación de Spearman, que permitió conocer si existe relación entre el número de estratos de haces de fibras abaxiales y el número de especies que tienen estérgmatos asociados a estas fibras.

RESULTADOS

Cristales: Las 140 especies estudiadas de Oncidiinae (*sensu* Williams *et al.* 2001a, 2001b) tienen rafidios, ubicados principalmente hacia los márgenes de la lámina en el mesófilo; sin embargo, la cantidad de rafidios por célula y su tamaño relativo varía entre las especies (Fig. 1). Sólo 70 especies contienen al menos otra forma cristalina más, como

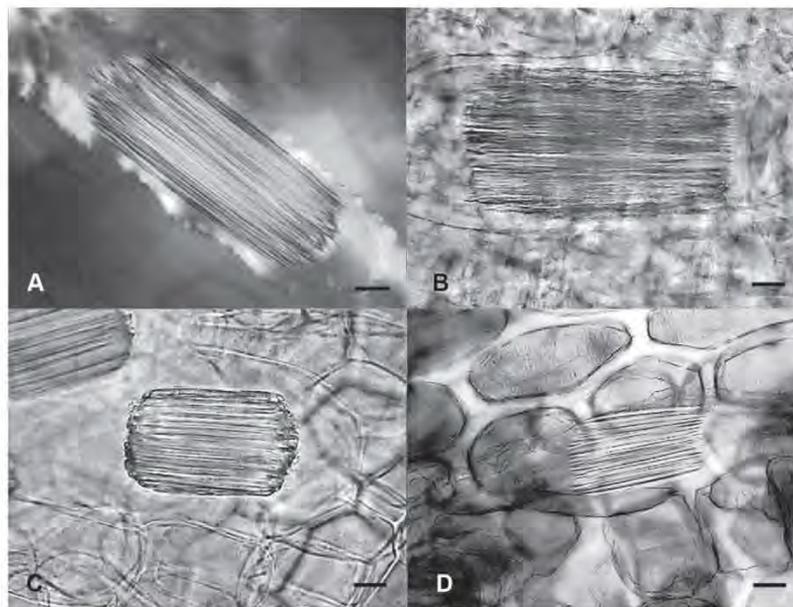


Fig. 1. Rafidios en Oncidiinae. Vista superficial. A. *Oncidium fimbriatum*, con luz polarizada. B. *Mesospinidium panamense*, campo claro. C. *Macroclinium bicolor*, campo claro. D. *Cuitlauzina pygmaea*, campo claro. Barras=1µm.

Fig. 1. Raphides in Oncidiinae. Front view. A. *Oncidium fimbriatum* with polarized light. B. *Mesospinidium panamense*, bright field. C. *Macroclinium bicolor*, bright field. D. *Cuitlauzina pygmaea*, bright field. Bars=1µm.

prismas, drusas, arena o formas no definidas en la literatura (Fig. 2A; Cuadro 1). Las formas cristalinas en Oncidiinae se localizan en las células parenquimáticas del mesófilo, en *Cuitlauzina pygmaea* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams están sólo en las células epidérmicas y en *Rossioglossum ampliatum* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams, en ambos tipos de células (Cuadro 1).

Los prismas son la segunda forma más común de cristal (Fig. 2A). Se les observó en 62 especies que representan 22 géneros (Cuadro 1) y el 44.3% de las especies incluidas. Los prismas están distribuidos en siete de los diez clados estudiados. Los clados con mayor porcentaje de especies que contienen prismas son el E y el F, y los de menor son el B y el G; los clados A, C y D no tienen prismas (Fig. 2B). *Oncidium hymenanthum* (Schltr.) M.W.Chase & N.H.Williams (clado E) es la única especie con cristales prismáticos distintivos respecto al resto de las especies estudiadas (Fig. 3A).

Las drusas se observaron en 33 especies de los géneros *Aspasia*, *Miltonia*, *Notyliopsis* y *Oncidium* (Fig. 3B, 3C; Cuadro 1), que correspondieron al 23.6% de las especies evaluadas (Fig. 2A) y seis de los diez clados estudiados. El clado con mayor porcentaje de especies con drusas es el E y el de menor es el H; los clados A, B, C y D no tienen drusas (Fig. 2C).

Las arenas se observaron exclusivamente en *Aspasia epidendroides* Lindl., *Cuitlauzina pygmaea*, *Miltonia spectabilis* Lindl., *Oncidium uniflorum* Booth ex Lindl., *O. warminhii* Rchb.f. (Fig. 3D), y *Rodriguezia* sp., que corresponden al 4.3% de las especies estudiadas (Fig. 2A) y son parte de cuatro de los diez clados estudiados. Su porcentaje es variable (Fig. 2D); el clado con mayor porcentaje de especies con arenas es el G y el de menor es el H; los clados A, B, C, D, F e I no tienen arenas (Fig. 2D). *Cuitlauzina pygmaea* presenta las arenas en las células epidérmicas a diferencia de las otras especies que los presentan en las células del mesófilo.

Rossioglossum ampliatum tiene conjuntos de cristales con crecimientos circulares concéntricos en las células epidérmicas (Fig. 2A, 2E,

3E); esta especie corresponde al clado J, para el que se reporta por primera vez esta forma cristalina.

Algunas pocas especies (4.3%) (Fig. 2A) contienen agrupaciones formadas por placas cristalinas que pueden estar radialmente arregladas, que surgen de un núcleo central o a partir de un núcleo lateral. Ambas formas pueden permanecer juntas y estar localizadas en las células del mesófilo. Estas placas radiales se observaron por primera vez en *Cuitlauzina candida* (Lindl.) Dressler & N.H.Williams, *C. convallarioides* (Schltr.) Dressler & N.H.Williams (Fig. 3F), *C. egertonii* (Lindl.) Dressler & N.H.Williams, *C. pulchella* (Bateman ex Lindl.) Dressler & N.H.Williams y *Miltonia spectabilis*; que correspondieron a dos de los diez clados estudiados: el J con mayor porcentaje y el G con menor porcentaje de especies que los contienen (Fig. 2F). Sólo siete de los diez clados estudiados contienen cristales distintos a los rafidios; la proporción de especies entre los clados, para una forma particular de cristal es variada (Fig. 2A, Fig. 6). Los clados G y J se distinguen porque contienen prismas, drusas, arenas y placas radiales; los clados E y H comparten la presencia de prismas, drusas y arenas. Dentro de los clados, el F seguido por el E son los que tienen una mayor proporción de especies con prismas. Los clados F e I comparten la presencia de prismas y drusas; el clado B sólo presenta prismas, mientras que los clados A, C y D se caracterizan por no tener cristales distintos a los rafidios.

Para los géneros con varias especies estudiadas se encontró que todos ellos tienen rafidios. Sin embargo, con respecto a las otras formas cristalinas analizadas se observó que en la mayoría de las especies de *Oncidium* siempre están presentes los prismas y las drusas, mientras que en las de *Comparettia*, *Cuitlauzina*, *Cyrtochilum* y *Otoglossum*, solamente están presentes los prismas. Los géneros cuyas especies muestran la mayor variación respecto a la presencia de sus cristales son *Cuitlauzina*, *Miltonia* y *Oncidium* (Cuadro 2).

Estérgmatos: En Oncidiinae los estérgmatos son cónicos con superficie rugosa, generalmente

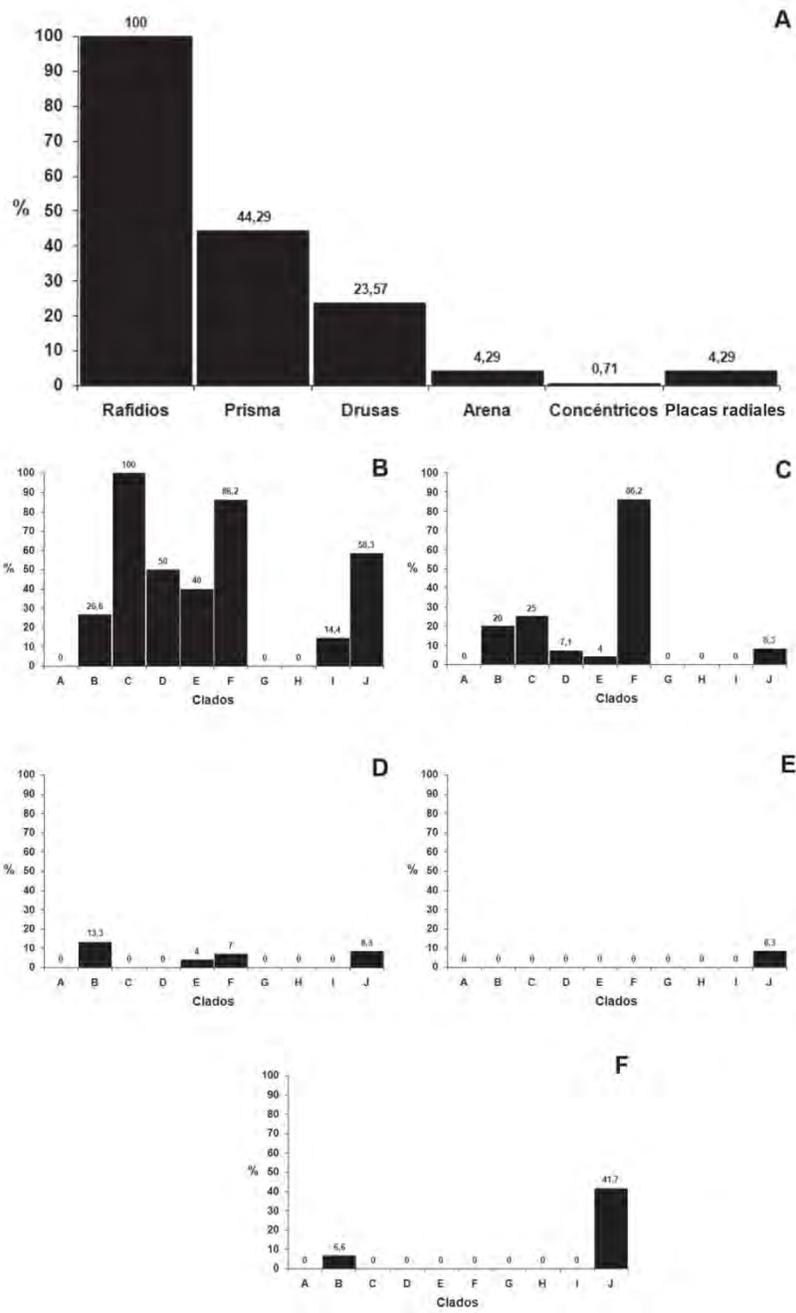


Fig. 2. Diversidad de cristales en Oncidiinae. A. Porcentaje de especies que presentan las diferentes formas cristalinas. B. Porcentaje de especies con prismas. C. Con drusas. D. Con arena. E. Con concéntricos. F. Con placas radiales.

Fig. 2. Diversity of crystals in Oncidiinae. A. Percentage of species with different forms of crystals. B. Percentage of species with prisms. C. Percentage of species with druses. D. Percentage of species with sand. E. Percentage of species with concentric. F. Percentage of species with radial plates.

TABLE 1
Location and distribution of types of mineral inclusions in species of *Oncidiinae* (see Appendix)

Género	# especies estudiadas	Oxalatos de calcio			Rad.	Posición	H. de fibras		Estérgmatos			
		Prismas	Drusas	Arena			Con.	Ada.	Aba.	H. vasc.	H. de fibras Ada.	Aba.
Clado A												
Aurinocidium	1	-	-	-	-	-	1	1	+	+	+	+
Trichocentrum	15	-	-	-	-	-	-/1	1/2/3	+/-	+	+	+/-
Clado B												
Psychopsis	2	-	-	-	-	-	-	3	+	-	-	+
Trichopilia	5	-/+	-	-	-	M	-	1/2/-	+/-	-	-	+
Clado C												
Loekhartia	2	-	-	-	-	-	-	1	+	-	-	+
Clado D												
Fernandezia	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hintonella	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ornithocephalus	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pachyphyllum	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Telipogon	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clado E												
Oncidium	29	+/-	+/-	-/+	-	M	-	1/2/3	+	-	-	+
Clado F												
Caucaea	1	+	-	-	-	M	-	3	+	-	-	+
Cyrtochiloides	1	+	-	-	-	M	-	1	+	-	-	-
Cyrtochilum	3	+	-/+	-	-	M	-	3/1	+	-	-	+/-
Miltoniopsis	1	+	-	-	-	M	-	2	+	-	-	-
Otoglossum	2	+	+/-	-	-	M	-	-/1	+	-	-	+/-

CUADRO 1 (Continuación)
 Ubicación y distribución de los tipos de inclusiones minerales en las especies de *Oncidiinae* (ver Apéndice)

TABLE 1 (Continued)
 Location and distribution of types of mineral inclusions in species of *Oncidiinae* (see Appendix)

Género	# especies estudiadas	Oxalatos de calcio				H. de fibras			Estérgatos				
		Prismas	Drusas	Arena	Con.	Rad.	Posición	Ada.	Aba.	H. de fibras Ada.	Aba.		
Clado G													
Ada	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Aspasia	1	+	+	+	-	-	M	-	-	-	-	-	+
Brassia	4	-/+	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	+
Cischweinfia	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesospinidium	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Miltonia	3	+/-	+/-	-/+	-	-/+	M	-	-	-	-	-	+
Systeloglossum	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clado H													
Capanemia	1	-	-	-	-	-	-	1	3	+	+	+	+
Comparettia	3	+	-	-	-	-	M	-	1	+	+	+	+
Ionopsis	2	-	-	-	-	-	-	-	1	+	+	+	+
Leochilus	4	+/-	-	-	-	-	M	-	1	+	+	+	+
Macroclinium	2	+/-	-	-	-	-	M	-	1	+	+	+	+
Notylia	3	-/+	-	-	-	-	M	-	3	+	+	+	+
Notyliopsis	1	+	+	-	-	-	M	-	1	+	+	+	+
Oncidium	1	+	-	-	-	-	M	-	2	+	+	+	+
Paperitzia	1	-	-	-	-	-	-	-	1	+	+	+	+
Rodriguezia	4	-	-	-/+	-	-	M	-	3	+	+	+	+
Trizeuxis	1	-	-	-	-	-	-	-	2	+	+	+	+
Warmingia	1	-	-	-	-	-	-	-	1	+	+	+	+
Zelenkoa	1	+	-	-	-	-	M	-	2	+	+	+	+

CUADRO 1 (Continuación)
 Ubicación y distribución de los tipos de inclusiones minerales en las especies de *Oncidiinae* (ver Apéndice)

TABLE 1 (Continued)
 Location and distribution of types of mineral inclusions in species of *Oncidiinae* (see Appendix)

Género	# especies estudiadas	Prismas			Drusas			Oxalatos de calcio			Rad.	Posición	H. de fibras		Estégmato		
		Prismas	Drusas	Arena	Con.	Arena	Con.	Ada.	Aba.	H. de fibras Ada.			Aba.	H. de fibras Ada.	Aba.		
Clado I																	
Erycina	5	+/-	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	+
Rhynchostele	5	+/-	-/+	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	+
Tolumnia	4	-/+	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	+
Clado J																	
Cuitlauzina	7	+/-	-/+	-/+	-	-	-	-	-	M, E	I/-	I	I	+	+/-	+/-	+/-
Rossiiglossum	5	+/-	-	-	-/+	-	-	-	-	M, E	-	I/-	I/-	+	-	-	+

Los clados A al J corresponden a los reconocidos para *Oncidiinae*. Para la posición de los oxalatos de calcio, M=mesófilo, E=epidermis. Para los oxalatos de calcio, Cor=concéntricos, Rad=placas radiales. Para los haces de fibras y estegmata, H=haces, Ada=adaxial, Aba=abaxial, vasc.=vasculares. Los números corresponden al número de estratos. En el resto de las columnas +=presencia, -=ausencia. El primer estado corresponde a la condición más frecuente para el género (-/+).

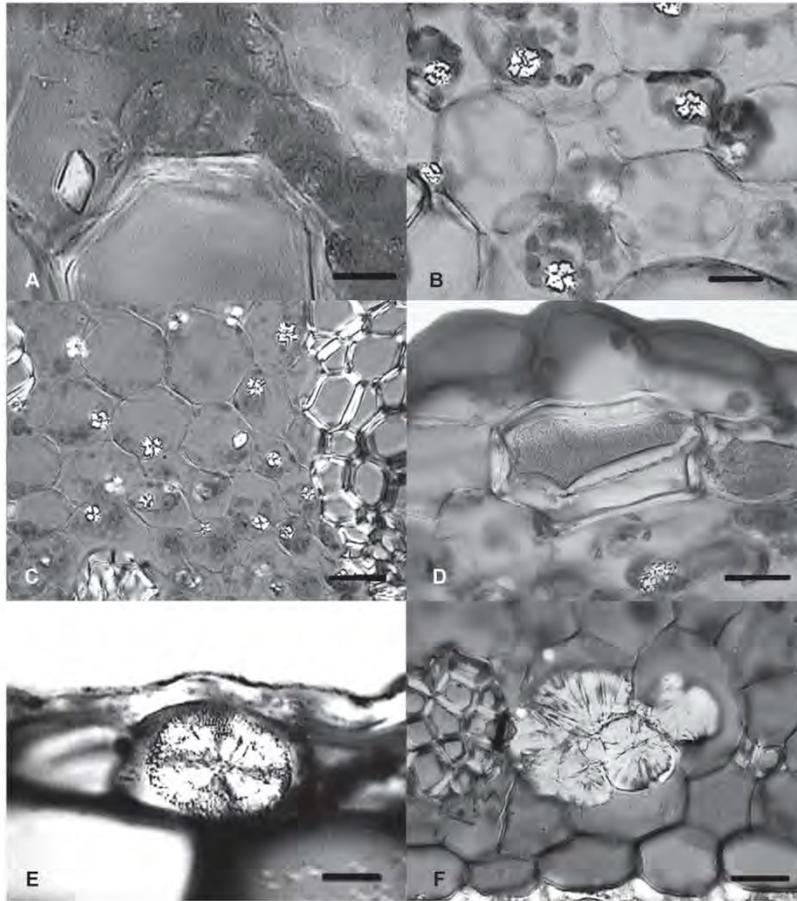


Fig. 3. Cristales en Oncidiinae. Secciones transversales, con luz polarizada. A. Prismas, *Oncidium hymenanthum*. B. Drusas, *Oncidium oblongatum*. C. Drusas, *Oncidium ghiesbreghtianum*. D. Arenas, *Oncidium warmingii*. E. Concéntrico, *Rossioglossum ampliatum*. F. Placas radiales, *Cuittlauzina convalarioides*. Barras=1µm.

Fig. 3. Crystals in Oncidiinae. Transversal sections, with polarized light. A. Prisms, *Oncidium hymenanthum*. B. Druses, *Oncidium oblongatum*. C. Druses, *Oncidium ghiesbreghtianum*. D. Sand, *Oncidium warmingii*. E. Concentric, *Rossioglossum ampliatum*. F. Radial plates, *Cuittlauzina convalarioides*. Bars=1µm.

formando hileras a lo largo de los haces vasculares y/o de los haces de fibras (Cuadro 1). Se observó que 89.3% de las especies estudiadas contienen estérgmatos asociados a los haces vasculares (Fig. 4A, 5A, 5B; Cuadro 1). En los clados C, E, F, G, H, I y J todas las especies tienen estérgmatos en sus haces vasculares. Por otro lado, sólo algunas especies de los clados A y B tienen haces vasculares sin estérgmatos, mientras que todas las especies del clado D tienen haces vasculares sin estérgmatos (Fig. 4B). Entre los géneros con más de una especie

estudiada, todos excepto *Ornithocephalus*, presentan estérgmatos en sus haces vasculares; asimismo, la presencia de estérgmatos es variable en *Trichocentrum* y *Trichopilia* (Cuadro 2).

El 75.4% de las especies tienen estérgmatos asociados a los haces de fibras (Fig. 4A, 4C, 5C, 5D; Cuadro 1). Estos haces de fibras pueden tener una posición adaxial y/o abaxial (Fig. 4C, 5C). Notoriamente 12 especies que tienen haces de fibras adaxiales, todas tienen estérgmatos y siempre se organizan en un estrato (Fig. 4C, 5D; Cuadro 1). Estas especies

CUADRO 2

Diversidad de cristales y estérgmatos en géneros con varias especies

TABLE 2

Diversity of crystals and stegmata in genera with multiple species

Género	Oxalatos de calcio						Estérgmatos		
	Rafidios	Prismas	Drusas	Arena	Con.	Rad.	Haz vascular	Haces de fibras Ada.	Aba.
Clado A									
<i>Trichocentrum</i> (15)	P	A	A	A	A	A	V	P	V
Clado B									
<i>Psychopsis</i> (2)	P	A	A	A	A	A	P	A	P
<i>Trichopilia</i> (5)	P	V	A	A	A	A	V	A	P
Clado C									
<i>Lockhartia</i> (2)	P	A	A	A	A	A	P	A	P
Clado D									
<i>Ornithocephalus</i> (6)	P	A	A	A	A	A	A	A	A
Clado E									
<i>Oncidium</i> (29)	P	V	V	V	A	A	P	A	P
Clado F									
<i>Cyrtochilum</i> (3)	P	P	V	A	A	A	P	A	V
<i>Otoglossum</i> (2)	P	P	V	A	A	A	P	A	V
Clado G									
<i>Ada</i> (3)	P	A	A	A	A	A	P	A	P
<i>Brassia</i> (4)	P	V	A	A	A	A	P	A	P
<i>Mesospinidium</i> (2)	P	A	A	A	A	A	P	A	A
<i>Miltonia</i> (3)	P	V	V	V	A	V	P	A	P
Clado H									
<i>Comparettia</i> (3)	P	P	A	A	A	A	P	A	P
<i>Ionopsis</i> (2)	P	A	A	A	A	A	P	A	P
<i>Leochilus</i> (4)	P	V	A	A	A	A	P	A	P
<i>Macroclinium</i> (2)	P	V	A	A	A	A	P	A	P
<i>Notylia</i> (3)	P	V	A	A	A	A	P	A	P
<i>Rodriguezia</i> (4)	P	A	A	V	A	A	P	A	P
Clado I									
<i>Erycina</i> (5)	P	V	A	A	A	A	P	A	P
<i>Rhynchostele</i> (5)	P	V	V	A	A	A	P	A	P
<i>Tolumnia</i> (4)	P	V	A	A	A	A	P	A	P
Clado J									
<i>Cuitlauzina</i> (7)	P	P	V	V	A	V	P	P	P
<i>Rossioglossum</i> (5)	P	A	A	A	A	A	P	A	P

El número entre paréntesis corresponde a las especies estudiadas en cada género. A=ausencia, P=presencia, V=variable.

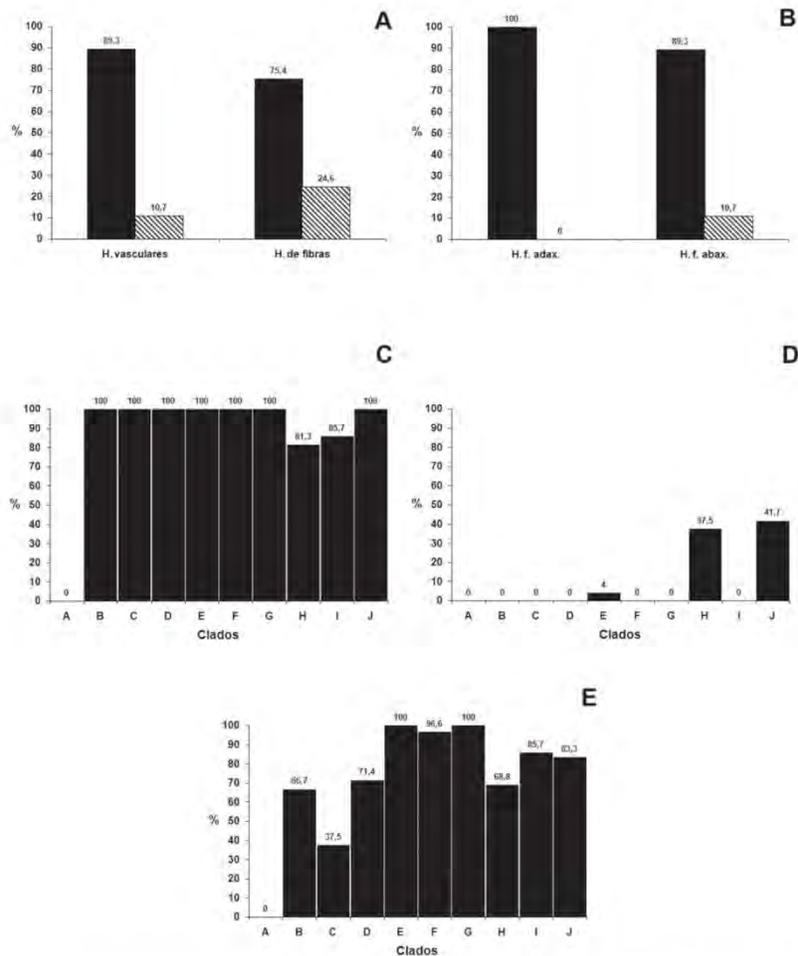


Fig. 4. Distribución de estégmatos en Oncidiinae y porcentaje de especies por clados con estégmatos (ver Apéndice). A. Haces vasculares y haces de fibras. B. Haces vasculares. C. Haces de fibras adaxiales y abaxiales (barra negra=presencia, barra con diagonales=ausencia). D. Haces de fibras adaxiales. E. Haces de fibras abaxiales.

Fig. 4. Distribution of stegmata in Oncidiinae and percentage of species by clades with stegmata (see Appendix). A. Vascular bundles and fibers bundles. B. In vascular bundles. C. Adaxial and abaxial fibers bundles. (black bar=presence, bar with diagonals=absence), D. In adaxial fibers bundles. E. In abaxial fibers bundles.

corresponden a los clados A, H y J (Fig. 4D). De las especies que tienen haces de fibras abaxiales, 89.3% tienen estégmatos (Fig. 4C); excepto el clado D, los restantes nueve clados estudiados los presentan. Todas las especies del clado C y H siempre tienen estégmatos en estos haces, mientras que sólo 37.5% de las especies del clado F tienen estégmatos en sus haces de fibras abaxiales (Fig. 4E). Excepto

Ornithocephalus (clado D), *Mesospinidium* (clado G), *Cyrtochilum* y *Otoglossum* (clado F) y *Trichocentrum* (clado A), todos los géneros con más de una especie estudiada presentan estégmatos en sus haces de fibras abaxiales (Cuadro 2). La distribución de los haces de fibras abaxiales, cuando se presentan, muestran una gran variación. Se pueden encontrar en uno, dos o tres estratos (Cuadro 1). Los

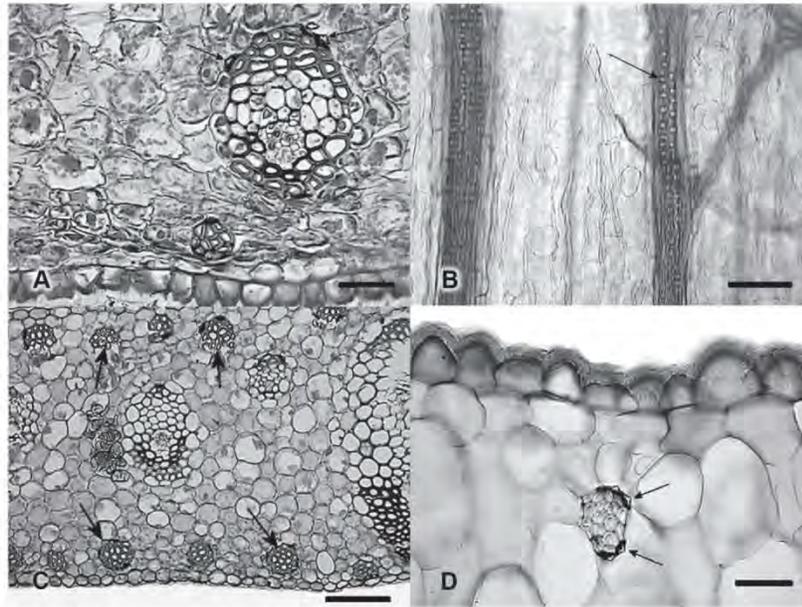


Fig. 5. Estérgmatos en Oncidiinae. A. Haces vasculares, *Cuittlauzina pendula* (flechas), sección transversal. B. Haces vasculares, *Ada glumacea* (flecha), vista superficial. C. Haces de fibras adaxiales y abaxiales, *Cuittlauzina egertonii* (flechas), sección transversal. D. Haz de fibras adaxial, *Aurinocidium pulvinatum* (flechas), sección transversal. Barra en A, D=10 μ m; en B, C=50 μ m.

Fig. 5. Stegmata in Oncidiinae. A. Vascular bundles, *Cuittlauzina pendula* (arrows), transversal section. B. Vascular bundles, *Ada glumacea* (arrow), superficial view. C. Adaxial and abaxial fiber bundles, *Cuittlauzina egertonii* (arrows), transversal section. D. Adaxial fiber bundle, *Aurinocidium pulvinatum* (arrows), transversal section. Bars in A, D=10 μ m; in B, C=50 μ m.

géneros con más de una especie estudiada de los clados C, H y J, más *Psychopsis* del clado B, mantienen constante el número de estratos. Por otra parte, el número de estratos es variable en las especies de *Ada*, *Brassia* y *Miltonia* (clado G), *Cyrtochilum* (clado F), *Erycina* y *Tolumnia* (clado I), *Oncidium* (clado E), *Trichocentrum* (clado A) y *Trichopilia* (clado B) (Cuadro 1). Al examinar el número de estratos de los haces de fibras abaxiales y relacionarlos con la presencia de estérgmatos, se encontró que los haces de fibras abaxiales distribuidos en un estrato con estérgmatos están en 64 especies, los distribuidos en dos estratos se encontraron en 11 especies y los distribuidos en tres estratos están en 29 especies. No se encontró correlación significativa entre el número de estratos de haces de fibras abaxiales con estérgmatos y el

número de especies que los presentan (-0.072, $p > 0.05$).

DISCUSIÓN

Cristales: Si bien los rafidios, estiloides y drusas se reportan como las tres formas cristalinas comunes para monocotiledóneas (Prychid & Rudall 1999), sólo los rafidios están presentes en todas las especies estudiadas de Oncidiinae, los estiloides están ausentes, mientras que las drusas están presentes en algunas especies, principalmente del clado E. Esta subtribu se caracteriza por presentar una gran diversidad de formas cristalinas, como rafidios, prismas, drusas, arenas, concéntricos y placas radiales. Estas dos últimas formas son reportadas por

primera vez para Oncidiinae y para Orchidaceae. Los cristales concéntricos son distintivos en la epidermis de *Rossioglossum ampliatum*. Las placas radiales son características de las hojas de *Cuitlauzina*, excepto *C. pendula* La Llave ex Lex. (clado J), aunque también se observaron en *Miltonia spectabilis* (clado G), lo que sugiere que se originaron temprano en la evolución de Oncidiinae (clado J) y de manera paralela, más adelante en uno de los clados derivados (clado G).

De acuerdo a Prychid & Rudall (1999), la presencia de rafidios es un carácter común en las orquídeas, particularmente en las epífitas (Stern & Carlswald 2004). Esto se cumple también en Oncidiinae ya que todas las especies estudiadas presentaron rafidios; aunque su forma es constante, su tamaño no lo es. Se les encuentra en las células del mesófilo de la hoja, a menudo en idioblastos cristalinos como en muchas otras monocotiledóneas (Rudall *et al.* 1998). El único reporte encontrado de rafidios a nivel de las células epidérmicas de la hoja para Orchidaceae es en *Myoxanthus*, carácter que permite distinguirlo de otros géneros de Pleurothallidinae (Pridgeon *et al.* 2001). El clado representado por *Fernandezia-Hintonella-Ornithocephalus-Pachyphyllum-Telipogon* (D) y el clado *Lockhartia* (C), sólo presentan rafidios y este carácter fortalece su reconocimiento como clados hermanos (Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa). El clado *Trichocentrum* (A) también presenta esta condición, lo que es congruente con la hipótesis de que estos tres clados están cercanamente relacionados y tienen una posición basal en Oncidiinae (Fig. 6).

Los cristales prismáticos se presentan en los clados B, E, F, G, H, I y J de Oncidiinae (Fig. 6). La presencia de prismas en los clados basales B y J, sugiere que esta forma cristalina ya estaba presente desde los grupos ancestrales de la subtribu y se mantuvo en la evolución de Oncidiinae. La ausencia de prismas en los clados C y D puede ser una pérdida secundaria. Como un carácter constante, los cristales prismáticos están presentes en *Caucaea*, *Cyrtochilum*, *Miltoniopsis* y *Otoglossum* (clado F); su presencia es un carácter distintivo, aunque

no exclusivo a ellos y apoya la propuesta de asumirlos como miembros del clado *Cyrtochilum*, reconocido por Williams *et al.* (2001a, 2001b) y Sandoval-Zapotitla *et al.* (en prensa). Además de éste, los clados con mayor abundancia de prismas son el clado *Oncidium* (E) donde un 86% de sus especies los contienen y el clado *Cuitlauzina* (J) (Sosa *et al.* 2001, Williams *et al.* 2001b) con un 58%. Las especies de ambos clados habitan en climas fríos, en altitudes hasta los 3400 m y tienden a presentar una mayor proporción de prismas.

Las drusas, si bien son raras entre las monocotiledóneas, dentro de Orchidaceae sólo se han reportado en *Dendrobium aloifolium* (Blume) Rchb.f (Carlswald *et al.* 1997), en algunas especies de *Rhynchostele* (Rojas-Leal 1993, Soto *et al.* 1993) y en la subtribu Ponerrinae de la subfamilia Epidendroideae (Cervantes 2009). En este trabajo se amplía a 12 el número de géneros de Oncidiinae que las presentan. Los resultados muestran que estos cristales son característicos de la mayoría de los miembros del clado *Oncidium* (E) (Fig. 6). Estas especies habitan en ambientes de frescos a fríos y se distribuyen en un intervalo de altitud que va de los 500 a los 3100m; asimismo, tienden a tener una mayor proporción de drusas y prismas. En menor proporción, las drusas también están presentes en algunas especies de los clados *Cyrtochilum* (F), *Miltonia* (G), *Rodriguezia* (H), en el formado por *Erycina-Rhynchostele-Tolumnia* (I), (Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa) y *Cuitlauzina* (Sosa *et al.* 2001, Williams *et al.* 2001b). Los miembros de los clados A, B, C y D no contienen drusas y su ausencia es significativa lo que apoya el reconocerlos como clados cercanamente relacionados (Fig. 6). Su presencia en una especie del clado J, sugiere que las drusas se originaron tempranamente en Oncidiinae. Por otro lado, su presencia en los clados derivados E, F, G, H e I (Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa) apoya el reconocerlos como clados cercanamente relacionados.

Los cristales en arena se presentan sólo en algunas especies de los clados E, G, H y J (Fig. 6). La presencia de cristales tipo arena en las

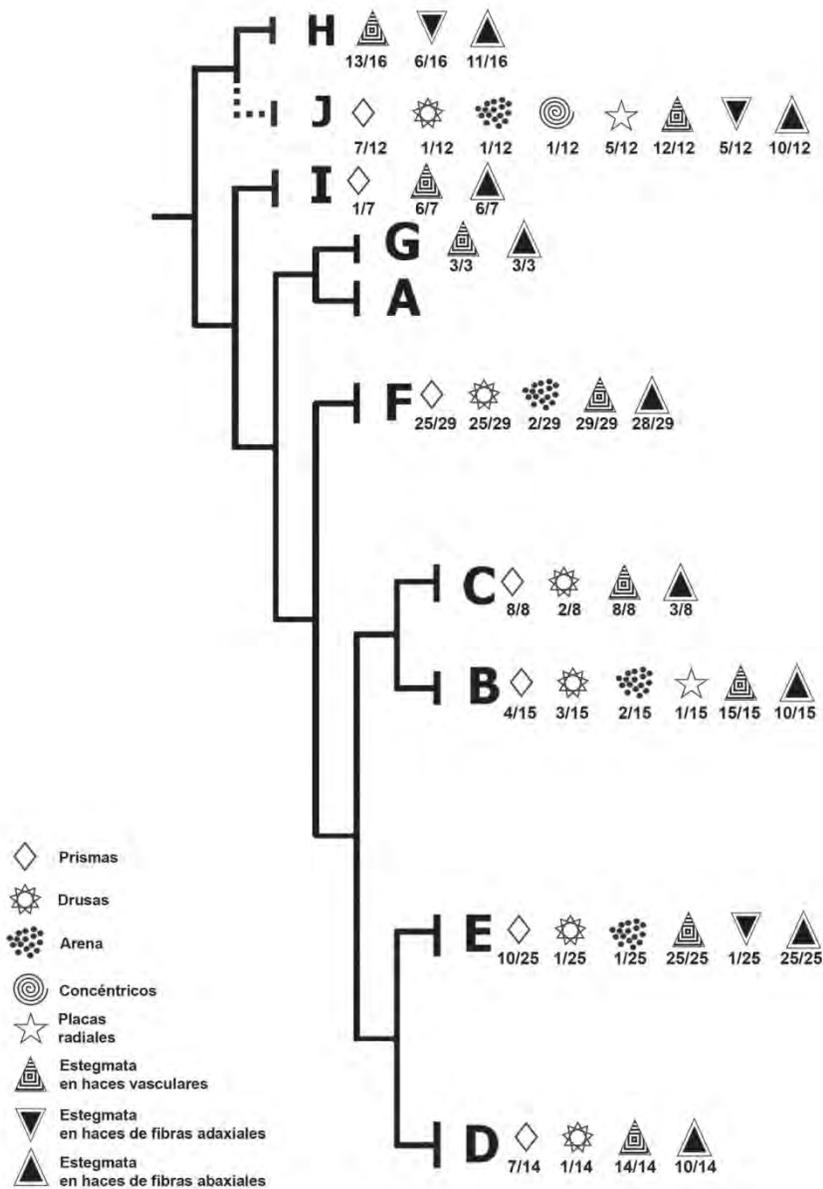


Fig. 6. Inclusiones minerales sin optimizar en la hipótesis filogenética para Oncidiinae modificada a partir de Sandoval *et al.* (en prensa).

Número superior=especies que contienen una forma particular de cristal. Número inferior=# especies estudiadas por clado. La posición del clado J es asignada de acuerdo a la hipótesis filogenética para Oncidiinae propuesta por Williams *et al.* (2001b). Los rafidios están presentes en todas las especies estudiadas de Oncidiinae, por lo que no se muestran.

Fig. 6. Mineral inclusions are displayed without optimization in the phylogenetic hypothesis for Oncidiinae modified from Sandoval *et al.* (in press).

The upper number indicates the species that contain that particular kind of crystal and the lower indicates the number of species studied for each clade. The position of clade J is assigned according to the phylogenetic hypothesis for Oncidiinae proposed by Williams *et al.* (2001b). Raphides are present in all species studied Oncidiinae therefore not shown.

células epidérmicas de las hojas es exclusiva de *Cuittlauzina pygmaea*, miembro del clado basal *Cuittlauzina* (J); asimismo, se reportan por primera vez para Oncidiinae. La presencia de cristales en arena a nivel de las células del mesófilo es compartida en algunas especies de los clados E, G y F, reconocidos como clados derivados en Oncidiinae (Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa). Su presencia en una especie del clado J sugiere que las arenas se originaron tempranamente en la subtribu y más tarde, en forma independiente en otros clados dentro de Oncidiinae. La ausencia de estos cristales en los miembros del clado *Cyrtochilum* (F) y del clado *Erycina-Rhynchostele-Tolumnia* (I), también clados derivados, pudiera ser interpretada como una pérdida secundaria o una reversión ya que los clados A, B, C y D que se resuelven como basales (Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa), no los presentan. Dos de las especies de los clados E y G tienen arenas y sólo una de los clados H y J los presentan, lo que indica que esta forma de cristal es escasa en Oncidiinae.

Aún cuando se observó una diversidad de formas cristalinas dentro de la subtribu, su forma y ubicación es constante para algunos clados e incluso para algunos géneros. A nivel de clados, el clado F muestra constancia para los prismas y el clado E para prismas y drusas; los clados G y J son los más diversos, por lo que se sugiere estudiar un mayor número de especies. A nivel de género, *Oncidium* es constante en prismas y drusas. Dentro de algunos otros géneros las formas de cristales son variadas, por ejemplo *Cuittlauzina*, *Miltonia* y *Oncidium* presentan tres o más formas de cristales.

Excepto por el clado J que habita en ambientes fríos y presenta la mayor diversidad de formas cristalinas dentro de Oncidiinae, la mayoría de las especies de los clados A, B, C y D resueltos como basales (Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa), generalmente ocupan ambientes cálidos a templados. No obstante, algunos de los miembros del clado D (*Telipogon* y *Pachyphyllum*, que suman alrededor de 300 especies) habitan principalmente en ambientes fríos (bosques montanos) de América tropical. A partir de las especies estudiadas, se observó

que estos clados basales tienden a mostrar una menor diversidad y abundancia de formas cristalinas. Por otro lado, los clados E, F, G, H e I resueltos como derivados (excepto algunas especies de los clados F e I), generalmente habitan ambientes templados a fríos y tienden a presentar una mayor diversidad y abundancia de formas cristalinas. Se requiere ampliar el muestreo de los géneros para verificar estas tendencias.

Estérgmatos: Los estérgmatos están presentes en la mayoría de las especies de Oncidiinae estudiadas. Estos resultados apoyan los registros de estérgmatos para los miembros de la tribu Maxillarieae subfamilia Epidendroideae, a la cual pertenece Oncidiinae (Ayensu & Williams 1972, Williams 1974, Sandoval-Zapotitla 1993, Sandoval-Zapotitla & Terrazas 2001, Stern & Carlswald 2006). Sin embargo, es importante subrayar que varias especies de otras tribus y subtribus de Epidendroideae no presentan estérgmatos (Prychid *et al.* 2004).

El clado D carece de estérgmatos. La presencia de estérgmatos en los haces vasculares y en los haces de fibras adaxiales y abaxiales es característico de los clados A, J y H; los dos primeros son clados basales, lo que indica que esta condición surgió tempranamente en la evolución de la subtribu (Fig. 6). El resto de los clados sólo tienen estérgmatos en los haces vasculares y en los haces de fibras abaxiales, lo que pudiera significar que la ausencia de haces de fibras adaxiales y por lo tanto de estérgmatos en esta posición, es una pérdida secundaria en los clados derivados de la subtribu. La presencia de haces de fibras adaxiales con estérgmatos en uno de los miembros del clado H, también derivado, pudiera representar una reversión desde los clados basales.

La mayoría de los clados de Oncidiinae tienen haces de fibras abaxiales con estérgmatos, excepto el clado D; esto indica que tal condición es un carácter tempranamente derivado y común en la subtribu, y pudiera significar que ya estaba presente desde el ancestro de la subtribu. La ausencia de haces de fibras abaxiales con estérgmatos en el clado D podría representar una pérdida secundaria (Fig. 6).

Todas las especies del clado *Lockhartia* (C) y *Rodriguezia* (H) tienen haces de fibras abaxiales con estégmatos; asimismo, la mayoría de las especies del clado *Trichopilia* (B), *Oncidium* (E), (Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa) y del clado *Cuittlauzina* (J) (Sosa *et al.* 2001, Williams *et al.* 2001b), también tienen haces de fibras abaxiales con estégmatos. La mayoría de las especies del clado F tienen haces de fibras abaxiales sin estégmatos; sin embargo, aún cuando las especies de este clado tienen hojas con características similares a las de las especies de los clados donde se presentan las fibras abaxiales con estégmatos, y que habitan en ambientes y altitudes similares, no los presentan. Se desconoce las condiciones micro-climáticas, así como los mecanismos involucrados en la fijación de dióxido de sílice y la formación de los estégmatos en las orquídeas; asimismo, se desconocen las ventajas adaptativas que tiene la presencia de estégmatos en las hojas de las orquídeas, particularmente los asociados a los haces de fibras, por lo que estos temas son necesarios de explorar.

A nivel de género, únicamente en *Cyrtochilum* y *Otoglossum* (F) se observó variabilidad entre sus especies respecto a los estégmatos de los haces de fibras abaxiales. En otros géneros la variabilidad se ve reflejada en la presencia de los haces de fibras. Por ejemplo, las cinco especies de *Erycina* (I), *E. cristagalli* (Rchb.f.) N.H.Williams & M.W.Chase, *E. pumilio* (Rchb.f.) N.H.Williams & M.W.Chase y *E. pusilla* (L.) N.H.Williams & M.W.Chase, no tienen haces de fibras abaxiales ni estégmatos. Esta condición confirma su cercana relación e integración como un subclado dentro del clado *Erycina* (I); *E. echinata* (Kunth) Lindl. y *E. hyalinobulbon* (La Llave & Lex.) N.H.Williams & M.W.Chase, que tienen haces de fibras abaxiales y estégmatos, condición que apoya la propuesta de reconocerlos como taxa hermanos dentro del clado *Erycina* (I) (Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa). Además, todas las especies de *Erycina* tienen haces vasculares con estégmatos. De 15 especies estudiadas de *Trichocentrum* (A), *T. caloceras* Endres & Rchb.f., *T. candidum* Lindl., *T. cavendishianum*

(Bateman) M.W.Chase & N.H.Williams, *T. fuscum* Lindl. y *T. pfavii* Rchb.f. no tienen haces de fibras abaxiales ni estégmatos. Otros autores confirman la variabilidad de este carácter en el género y registran a *T. albococcineum* Linden y a *T. hoegei* Rchb.f., sin haces de fibras ni estégmatos (Sandoval-Zapotitla & Terrazas 2001, Stern & Carlswald 2006). Por otro lado, *T. caloceras*, *T. candidum* y *T. fuscum* no tienen estégmatos sobre sus haces vasculares, por lo tanto *Trichocentrum* es variable para estos caracteres.

Los haces de fibra abaxiales en *Miltoniopsis warscewiczii* (Rchb.f.) Garay & Dunst. (F) carecen de estégmatos; no obstante, están presentes en sus haces vasculares. Stern & Carlswald (2006) reportan que *Miltoniopsis roezlii* (Rchb.f.) God.-Leb. no tiene haces de fibras; *Miltoniopsis* incluye seis especies, por lo que se requiere estudiar las cuatro especies restantes para concluir sobre la condición de este carácter en todo el género.

Cuittlauzina es un género con seis especies (Dressler & Williams 2003, Chase *et al.* 2008). A excepción de *C. pendula* y *C. pygmaea* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams, cuyas hojas no tienen haces de fibras adaxiales, las otras especies se caracterizan por tener haces de fibras adaxiales y abaxiales con estégmatos y haces vasculares también con estégmatos. Los estégmatos en este conjunto de especies están dispuestos en tres sitios distintos dentro de sus hojas, lo que representa una mayor cantidad de sitios de depósito de dióxido de sílice y formación de estégmatos. La constancia de esta condición sugiere que está genéticamente fija en *Cuittlauzina*.

Osmoglossum y *Dignathe* han sido transferidos a *Cuittlauzina* (Dressler & Williams 2003, Chase *et al.* 2008). Además de su cercana relación (Sosa *et al.* 2001), la presencia de estégmatos en tres sitios y otros caracteres anatómico-foliares apoyan su transferencia a *Cuittlauzina*.

Particularmente relevante es la ausencia de estégmatos en los haces vasculares, así como en haces de fibras adaxiales, abaxiales y estégmatos en los miembros del clado D

(Sandoval-Zapotitla *et al.* en prensa). La ausencia de estégmatos en las hojas de *Hintonella mexicana* Ames, *Ornithocephalus inflexus* Lindl. y *Stellilabium* sp., también fue reportado por Stern & Carlswald (2006); estos últimos autores reportan que *Telipogon pulcher* Rchb.f. tiene estégmatos con cuerpos de sílice cónicos y superficie rugosas; no obstante, en este estudio se observó que *T. costaricensis* Schltr. no tiene estégmatos, lo que sugiere que es necesario hacer una revisión de este carácter en otras especies antes de definir la condición de estégmatos para el género. La ausencia de haces de fibras y de estégmatos también en sus haces vasculares en estos géneros, apoyan la propuesta de reconocerlos como miembros de un clado monofilético en Oncidiinae, como sugieren Sandoval-Zapotitla *et al.* (en prensa).

Este trabajo documenta de manera integral la diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae. La presencia y ubicación de las diferentes formas cristalinas en Oncidiinae son caracteres que pueden ser de importancia en sistemática a diferentes niveles, por ejemplo clados, géneros o especies. Se definen y reportan los cristales concéntricos y las placas radiales como dos nuevas formas de cristales en Oncidiinae.

La presencia de estégmatos en los haces vasculares y los haces de fibras abaxiales es un carácter común en la mayoría de los clados de Oncidiinae, excepto el clado (D) *Fernandezia-Hintonella-Ornithocephalus-Pachyhyllum-Telipogon*. Estos caracteres al parecer surgieron temprano en la evolución de la subtribu y se han mantenido a lo largo de su diversificación. La presencia de estégmatos en los haces vasculares y haces de fibras es constante para la mayoría de los géneros con más de una especie estudiada, pero variable en los géneros *Cyrtochilum*, *Otoglossum*, *Trichocentrum* y *Trichopilia*. A medida que se re amplió la representatividad de Oncidiinae, se contará con más evidencias que permitan ampliar los conocimientos sobre las características, la importancia sistemática y adaptativa, así como la evolución de los contenidos minerales en Oncidiinae.

AGRADECIMIENTOS

La primera autora agradece al Postgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por el apoyo otorgado para la realización de esta investigación y al CONACYT por la beca (No. 199595) otorgada para sus estudios de doctorado. El Jardín Botánico del Instituto de Biología, UNAM permitió el uso de su equipo e instalaciones para la realización del trabajo. El Jardín Botánico Lankester, Universidad de Costa Rica brindó facilidades para obtener material biológico y bibliográfico. Concepción Guzmán Ramos y Patricia Zendejas López apoyaron con la elaboración de las preparaciones histológicas, Bárbara Estrada brindó apoyo logístico. Alejandro Vallejo Zamora y Julio Cesar Montero apoyaron con la edición de imágenes. Finalmente, se agradece a cuatro revisores anónimos por sus valiosos comentarios y sugerencias.

RESUMEN

Las inclusiones minerales en las plantas, han sido utilizadas como herramientas de diagnóstico en la identificación taxonómica. Se analizaron y compararon las inclusiones minerales en las hojas de 140 especies de Oncidiinae (Epidendroideae: Orchidaceae). Las secciones transversales de hojas se observaron para describir las inclusiones minerales con el apoyo de la microscopía de luz en campo claro, contraste de fases y polarización. Los cristales generalmente están presentes en las células del mesófilo, y sólo dos especies los presentan en las células epidérmicas. Se encontraron cristales de oxalato de calcio de diferentes formas y depósitos de dióxido de sílice en forma de estégmatos. Las formas cristalinas más comunes son rafidios, prismas y drusas. Sin embargo, algunas especies tienen cristales en arena, concéntricos o en placas radiales. En esta investigación se reportan las dos últimas por primera vez para Oncidiinae y también para Orchidaceae. Los estégmatos son cónicos con superficie rugosa, generalmente formando hileras a lo largo de las fibras. Comúnmente se presentan en los haces vasculares y en los haces de fibras abaxiales. Sin embargo, existen especies cuyos haces de fibras no tienen estégmatos, así como especies sin haces de fibras ni estégmatos. Se discute la importancia taxonómica de estas inclusiones minerales para los diferentes clados, géneros y/o especies de Oncidiinae.

Palabras clave: hoja, cristales, oxalatos de calcio, rafidios, sílice, estégmatos, Orchidaceae, Oncidiinae.

REFERENCIAS

- Ayensu, E.S. & N.H. Williams. 1972. Leaf anatomy of *Palumbina* and *Odontoglossum* subgenus *Osmoglossum*. Amer. Orchid Soc. Bull. 41: 687-696.
- Barrera, E.H. & R.R. Cárdenas. 1997. El Microscopio Óptico. Universidad Nacional Autónoma de México, Campus-Iztacala, México, D.F. México.
- Carlsward, B.S., W.L. Stern, W.S. Judd & T.W. Lucansky. 1997. Comparative leaf anatomy and systematics in *Dendrobium* sections *Aporum* and *Rhizobium* (Orchidaceae). Int. J. Plant. Sci. 158: 332-342.
- Cervantes, L.M. 2009. Estudio de la anatomía foliar de la subtribu Ponerinae (Orchidaceae, Epidendroideae) en un contexto filogenético. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. México, México.
- Chase, M.W. & J.D. Palmer. 1988. Chloroplast DNA variation, geographical distribution and morphological parallelism in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). Am. J. Bot. 75: 163-164.
- Chase, M.W., N.H. Williams, K.M. Neubig & W.M. Whitten. 2008. Taxonomic transfers in Oncidiinae to accord with Genera Orchidacearum, Volume 5. Orchids 21: 20-31.
- Chase, M.W., N.H. Williams & W.M. Whitten. 2009. Oncidiinae Nomenclature. Generic changes in Genera Orchidacearum. Volume 5. Orchids 12: 228-238.
- Davies, K. 1999. A preliminary survey of foliar anatomy in *Maxillaria*. Lindleyana 14: 126-135.
- Dressler, R. 1993. Phylogeny and Classification of the Orchid Family. Dioscorides Press, Oregon. EEUU.
- Dressler, R. & N.H. Williams. 2003. New combinations in Mesoamerican Oncidiinae (Orchidaceae). Selbyana 24: 44-45.
- Franceschi, V.R. & H.T. Horner Jr. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. Bot. Rev. 46: 361-427.
- Franceschi, V.R. & P.A. Nakata. 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and function. Ann. Rev. Plant. Biol. 56: 41-71.
- Hodson, M.J., P.J. White, A. Mead & M.R. Broadley. 2005. Phylogenetic variation in the silicon composition in plants. Ann. Bot. 96: 1027-1046.
- Horner, H.T. & B.L. Wagner. 1995. Calcium oxalate crystal formation in higher plants, p. 53-72. In S.R. Khan. Calcium Oxalate in Biological Systems. CRC, Boca Raton, Florida, EEUU.
- Lersten, N.R. & H.T. Horner. 2000. Calcium oxalate crystal types and trends in their distribution patterns in leaves of *Prunus* (Rosaceae: Prunoideae). Plant. Syst. Evol. 224: 83-96.
- Møller, J.D. & H. Rasmussen. 1984. Stegmata in Orchidales: Character state distribution and polarity. Bot. J. Linn. Soc. 89: 53-76.
- Pridgeon A.M., R. Solano & M.W. Chase. 2001. Phylogenetic relationships in Pleurothallidinae (Orchidaceae): combined evidence from nuclear and plastid DNA sequences. Am. J. Bot. 88: 2286-2308.
- Prychid, C.J. & P.J. Rudall. 1999. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: A review of their structure and systematics. Ann. Bot. London 84: 725-739.
- Prychid, C.J., P.J. Rudall & M. Gregory. 2004. Systematics and biology of silica bodies in monocotyledons. Bot. Rev. 69: 377-440.
- Rincón, S.A. & N. Reyes. 1991. Manual de Microscopía Óptica. Asociación de Químicos del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, D.F. México, México.
- Rojas-Leal, A. 1993. Anatomía foliar de *Lemboglossum* Halbinger (Orchidaceae: Oncidiinae) y géneros relacionados. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. México, México.
- Rudall, P.J., M.W. Chase, D.F. Cutler, J. Rusby & A. Bruijn. 1998. Anatomical and molecular systematics of Asteliaceae and Hypoxidaceae. Bot. J. Linn. Soc. 127: 1-42.
- Sandoval-Zapotitla, E. 1993. Anatomía foliar de *Cuittlauzina pendula*. Orquídea (Méx.) 13: 181-190.
- Sandoval-Zapotitla, E. & T. Terrazas. 2001. Leaf anatomy of 16 taxa of the *Trichocentrum* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). Lindleyana 16: 81-93.
- Sandoval-Zapotitla, E., A. Rojas, C. Guzmán, L. Carmona, R.M. Ponce, C. León, C. Loyola, M.A. Vallejo & A. Medina. 2005. Técnicas Aplicadas al Estudio de la Anatomía Vegetal. Cuadernos del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. México, México.
- Sandoval-Zapotitla, E., J. García-Cruz, T. Terrazas & J.L. Villaseñor. 2010. Relaciones filogenéticas de la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae) inferidas a partir de caracteres estructurales y moleculares (ITS y *matK*): un enfoque combinado. En prensa.

- Solereder, H. & F.J. Meyer. 1930. Systematische Anatomie der Monokotyledonen. VI Microspermae. Gebrüder Borntraeger, Berlin (English translation, 1969, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem).
- Sosa, V., M.W. Chase, G. Salazar, W.M. Whitten & N.H. Williams. 2001. Phylogenetic position of *Dignathe* (Orchidaceae: Oncidiinae): evidence from nuclear ITS ribosomal DNA sequences. *Lindleyana* 16: 94-101.
- Soto, M.A., G.A. Salazar & A. Rojas. 1993. Nomenclatural changes in *Rhynchostele*, *Mesoglossum*, and *Lembo-glossum* (Orchidaceae, Oncidiinae). *Orquidea* (Méx.) 13: 145-152.
- Stern, W.L. 1997a. Vegetative anatomy of subtribu Oncidiinae (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 124: 121-136.
- Stern, W.L. 1997b. Vegetative anatomy of subtribu Habenariinae (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 125: 211-227.
- Stern, W.L. & B.S. Carlswald. 2004. Vegetative constants in the anatomy of epiphytic orchids. *Orchid Rev.* 112: 119-122.
- Stern, W.L. & B.S. Carlswald. 2006. Comparative vegetative anatomy and systematics of Oncidiinae (Maxillarieae, Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 152: 91-107.
- Stern, W.L. & W.S. Judd. 2001. Comparative anatomy and systematics of Catasetinae (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 136: 153-178.
- Stern, W.L., M. Morris, W.S. Judd, A.M. Pridgeon & R.L. Dressler. 1993. Comparative vegetative anatomy and systematics of Spiranthoideae (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 113: 161-197.
- Vovides, A.P. 1999. Microscopia Óptica para las Ciencias Biológicas. Serie Ciencias Naturales. Universidad de Ciencias y Artes del Estado de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez, México.
- Webb, M.A. 1999. Cell-mediated crystallization of calcium oxalate in plants. *Plant Cell.* 11: 751-761.
- Williams, N.H. 1974. The value of plant anatomy in orchid taxonomy, p. 281-298. *In* M. Ospina. Proceedings of the Seventh World Orchid Conference. Medellín, Colombia.
- Williams, N.H., M.W. Chase, T. Fulcher & W.M. Whitten. 2001a. Molecular systematics of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtorchilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, and *Trichocentrum* and a new genus (Orchidaceae). *Lindleyana* 16: 113-139.
- Williams, N.H., M.W. Chase & W.M. Whitten. 2001b. Phylogenetic positions of *Miltoniopsis*, *Caucaea*, a new genus, *Cyrtorchiloides*, y *Oncidium phymatochilum* (Orchidaceae: Oncidiinae) based on nuclear and plastid DNA sequence data. *Lindleyana* 16: 272-285.
- Yukawa, T. & W.L. Stern. 2002. Comparative vegetative anatomy and systematic of *Cymbidium* (Cymbidieae: Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 138: 419.

APÉNDICE

Lista de especies de Oncidiinae incluidas en este trabajo

APPENDIX

List of species Oncidiinae including in this work

El material revisado proviene de colecciones institucionales, como la Asociación Mexicana de Orquideología (AMO); Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero, Xalapa, Veracruz, México; Jardín Botánico Lankester, Cartago, Costa Rica (JBL). Colecciones particulares de Alexander Rojas (AR), Andrés Vovides (AV), Weimann Bussey (WB), C. Javier García Cruz (JGC), Diego Bogarín (DB), Eduardo A. Pérez García (EAP), Elvira Yañes Guerrero (EYG), Eric Hágsater (EH), Estela Sandoval Zapotitla (ESZ), Franco Pupulin (FP) Gerardo A. Salazar (GAS), Ignacio Aguirre-Olavarrieta (IA), Juan José Zúñiga (JJZ), Jorge Lamas Walz (JLW), Miguel Ángel Soto Arenas (MAS), Oscar Francke (OF), Pesach Lubinsky (PL), Philip J. Brewster (PJB), R. Leleu (RL), Rafael Valverde (RAVA), Robert Dressler (RD), Rolando Jiménez Machorro (RJM), Sandro Cusi (SC), Teodoro Platas Hernández (TPH) y Harry Zelenko (HZ).

Especie	Referencia	Especie	Referencia
Clado A			
<i>Aurinocidium pulvinatum</i> (Lindl.) Romowicz & Szlach.	EH Hort	<i>C. confertum</i> (Rchb.f.) Dalström	RD Hort
<i>Trichocentrum andreanum</i> (Cogn.) R. Jiménez & Carnevali	ESZ 003	<i>C. macranthum</i> (Lindl.) Kraenzl.	SC Hort
<i>T. ascendens</i> (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams	RJM 857	<i>Miltoniopsis warszewiczii</i> (Rchb.f.) Garay & Dunst.	JBL 2908
<i>T. bicallosum</i> (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams	MAS 3236	<i>Otoglossum chiriquense</i> (Rchb.f.) Garay & Dunst.	MAS Hort
<i>T. caloceras</i> Endres & Rchb.f.	RAVA 510	<i>O. globuliferum</i> (Kunth) N.H. Williams & M.W. Chase	FP 5296
<i>T. candidum</i> Lindl.	GAS 5123	Clado G	
<i>T. cavendishianum</i> (Bateman) M.W. Chase & N.H. Williams	GAS 4707	<i>Ada aurantiaca</i> Lindl.	JBL 2968
<i>T. cebolleta</i> (Jacq.) M.W. Chase & N.H. Williams	EAP 286	<i>A. chlorops</i> (Endres & Rchb.f.) N.H. Williams	JBL 13452
<i>T. flavovirens</i> (L.O. Williams) M.W. Chase & N.H. Williams	RL Hort	<i>A. glumacea</i> (Lindl.) N.H. Williams	EH 8819
<i>T. fuscum</i> Lindl.	OF Hort	<i>Aspasia epidendroides</i> Lindl.	WB Hort
<i>T. luridum</i> (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams	EH Hort	<i>Brassia arcuigera</i> Rchb.f.	JBL 3758
<i>T. microchilum</i> (Bateman ex. Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams	EH 4286	<i>B. caudata</i> (L.) Lindl.	OF Hort
<i>T. pfavii</i> Rchb.f.	RAVA 512	<i>B. signata</i> Rchb.f.	MAS 4399
<i>T. splendidum</i> (A.Rich. ex Duch.) M.W. Chase & N.H. Williams	MAS Hort	<i>B. verrucosa</i> Bateman ex Lindl.	ESZ 28

APÉNDICE (Continuación)
Lista de especies de *Oncidiinae* incluidas en este trabajo

APPENDIX (Continued)
List of species *Oncidiinae* including in this work

Especie	Referencia	Especie	Referencia
<i>T. stramineum</i> (Bateman ex Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams	JGC 668	<i>Cischweinfia dasyandra</i> (Rchb.f.) Dressler & N.H. Williams	RAVA Hort
<i>T. teres</i> (Ames & C.Schweinf.) M.W. Chase & N.H. Williams	RAVA Hort	<i>Mesospidium horichii</i> I.Bock	FP 5357
Clado B		<i>M. panamense</i> Garay	JBL 1661
<i>Psychopsis krameriana</i> (Rchb.f.) H.G.Jones	JBL 13825	<i>Miltonia candida</i> Lindl.	MAS Hort
<i>P. papilio</i> (Lindl.) H.G. Jones	MAS Hort	<i>M. phymatochila</i> (Lindl.) N.H. Williams & M.W. Chase	HZ Hort
<i>Trichopilia maculata</i> Rchb.f.	JBL 11683	<i>M. spectabilis</i> Lindl.	MAS Hort
<i>T. marginata</i> Henfr.	JBL 11273	<i>Systemoglossum acuminatum</i> Ames & Schweinf.	DB 2664
<i>T. suavis</i> Lindl.	JBL 03130	Clado H	
<i>T. tortilis</i> Lindl.	MAS 4822	<i>Capanemia superflua</i> (Rchb.f.) Garay	OF Hort
<i>T. turialbae</i> Rchb.f.	RAVA Hort	<i>Comparettia falcata</i> Poepp. & Endl.	EAP 391
Clado C		<i>C. macrolepton</i> Rchb.f. & Triana	RD Hort
<i>Lockhartia amoena</i> Endres & Rchb.f.	JBL 07707	<i>Comparettia tuerckheimii</i> (Schltr.) M.W. Chase & N.H. Williams	MAS 4922
<i>L. oerstedii</i> Rchb.f.	DB 9399	<i>Ionopsis satyrioides</i> (Sw.) Rchb.f.	OF Hort
<i>L. oerstedii</i> Rchb.f.	MAS 2787	<i>I. utricularioides</i> (Sw.) Lindl.	RJM Hort
Clado D		<i>Leochilus carinatus</i> (Knowles & Westc.) Lindl.	ESZ 46
<i>Fernandezia tica</i> Mora-Ret. & García-Castro	RD 6706	<i>L. crocodiliceps</i> (Rchb.f.) Kraenzl.	ESZ 45
<i>Hintonella mexicana</i> Ames	SC Hort	<i>L. oncioides</i> Knowles & Westc.	GAS Hort
<i>Ornithocephalus bicornis</i> Lindl. ex Benth.	DB 144	<i>L. tricuspidatus</i> (Rchb.f.) Kraenzl.	JJZ Hort
<i>O. inflexus</i> Lindl.	TPH 265	<i>Macroclinium bicolor</i> (Lindl.) Dodson	MAS 4951
<i>O. iridifolius</i> Rchb.f.	TPH 311	<i>M. leazarzanum</i> (Hágsater & R. González) Dodson	ESZ 10
<i>O. lankesteri</i> Ames	HZ Hort	<i>Notylia barkeri</i> Lindl.	ESZ 17
<i>O. tripterus</i> Schltr.	MAS 4978	<i>N. leucantha</i> Salazar	IAO 1193
<i>O. sp.</i>	BJL 8870	<i>N. orbicularis</i> A. Rich. & Galeotti	ESZ 8

APÉNDICE (Continuación)
Lista de especies de *Oncidiinae* incluidas en este trabajo

APPENDIX (Continued)
List of species *Oncidiinae* including in this work

Especie	Referencia	Especie	Referencia
<i>Pachyphyllum hispidulum</i> (Rchb.f.) Garay & Dunst.	DB 2716	<i>Notyliopsis beatricis</i> P. Ortiz	JBL Hort
<i>T. costaricensis</i> Schltr.	AR Hort	<i>Oncidium flexuosum</i> Lodd.	MAS Hort
<i>Telipogon erratus</i> (Dressler) N.H. Williams & Dressler	JBL 11856	<i>Papperitzia leiboldii</i> (Rchb.f.) Rchb.f.	RJM 1422
Clado E		<i>Rodriguezia compacta</i> Schltr.	JJZ Hort
<i>Oncidium alexandrae</i> (Bateman) M.W. Chase & N.H. Williams	MAS 6401	<i>R. dressleriana</i> R. González	GAS 2092
<i>O. brachyandrum</i> Lindl.	EAP 155	<i>R. lanceolata</i> Ruiz & Pav.	OF Hort
<i>O. cirrhosum</i> (Lindl.) Beer	EH 8879	<i>R. sp.</i>	MAS Hort
<i>O. constrictum</i> (Lindl.) Beer	JBL 2070	<i>Trizeuxis falcata</i> Lindl.	JBL Hort
<i>O. cheiroporum</i> Rchb.f.	MAS 5587	<i>Warmingia zamorana</i> Dodson	JBL Hort
<i>O. epidendroides</i> (Kunth) M.W. Chase & N.H. Williams	RD Hort	<i>Zelenkoa omusta</i> (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams	HZ Hort
<i>O. fimbriatum</i> Lindl.	MAS Hort	Clado I	
<i>O. ghiesbreghtianum</i> A. Rich. & Galeotti	MAS 4101	<i>Erycina cristagalli</i> (Rchb.f.) N.H. Williams & M.W. Chase	RAVA Hort
<i>O. heteranthum</i> Poepp. & Endl.	EH 8275	<i>E. echinata</i> (Kunth) Lindl.	ESZ 13
<i>O. hintonii</i> L.O. Williams	ESZ 011	<i>E. hyalinobulbon</i> (La Llave & Lex.) N.H. Williams & M.W. Chase	PL 702
<i>O. hymenanthum</i> (Schltr.) M.W. Chase & N.H. Williams	JJZ Hort	<i>E. pumilio</i> (Rchb.f.) N.H. Williams & M.W. Chase	RD 6669
<i>O. leleui</i> R. Jiménez & Soto Arenas	ESZ 012	<i>E. pusilla</i> (L.) N.H. Williams & M.W. Chase	RJM Hort
<i>O. leucochilum</i> Bateman ex Lindl.	MAS 3565	<i>Rhynchostele beloglossa</i> (Rchb.f.) Dressler & N.H. Williams	TPH 283
<i>O. luteo-purpureum</i> (Lindl.) Beer	MAS Hort	<i>R. bictoniensis</i> (Bateman) Soto Arenas & Salazar	GAS 2648
<i>O. karwinskii</i> (Lindl.) Lindl.	RJM 770	<i>R. maculata</i> ((La Llave & Lex.) Soto Arenas & Salazar	MAS 4500
<i>O. marshallianum</i> Rchb.f.	MAS Hort	<i>R. madrensis</i> (Rchb.f.) Soto Arenas & Salazar	MAS 4374
<i>O. minaxoides</i> (Kraenzl.) M.W. Chase & N.H. Williams	EH 8917	<i>R. londesboroughiana</i> (Rchb.f.) Soto Arenas & Salazar	MAS 2197

APÉNDICE (Continuación)

Lista de especies de Oncidiinae incluidas en este trabajo

APPENDIX (Continued)

List of species Oncidiinae including in this work

Especie	Referencia	Especie	Referencia
<i>O. oblongatum</i> Lindl.	<i>GAS</i> 4774	<i>Tolumnia guttata</i> (L.) Nir	<i>JBL</i> 11413
<i>O. oliganthum</i> (Rchb.f.) L.O. Williams ex Correll	<i>MAS</i> 3310	<i>T. pulchella</i> (Hook.) Raf.	<i>JBL</i> 11677
<i>O. ornithorhynchum</i> Kunth	<i>RJM</i> 626	<i>T. triquetra</i> (Sw.) Nir	<i>JBL</i> 11680
<i>O. pictoides</i> M.W. Chase & N.H. Williams	<i>JJZ</i> Hort	<i>T. variegata</i> (Sw.) Braem	<i>RJM</i> 969
<i>O. planilabre</i> Lindl.	<i>SC</i> Hort	Clado J	
<i>O. praetextum</i> Rchb.f.	<i>MAS</i> Hort	<i>Cuitlauzina candida</i> (Lindl.) Dressler & N.H. Williams	<i>MAS</i> 3496
<i>O. reichenheimii</i> (Linden & Rchb.f.) Garay & Stacy	<i>OF</i> Hort	<i>C. convallarioides</i> (Schltr.) Dressler & N.H. Williams	<i>EYG</i> Hort
<i>O. sphacelatum</i> Lindl.	<i>ESZ</i> 018	<i>C. egertonii</i> (Lindl.) Dressler & N.H. Williams	<i>MAS</i> 2862
<i>O. uniflorum</i> Booth ex Lindl.	<i>MAS</i> 6425	<i>C. egertonii</i> (Lindl.) Dressler & N.H. Williams	<i>RL</i> Hort
<i>O. varicosum</i> Lindl.	<i>MAS</i> Hort	<i>C. pendula</i> La Llave ex Lex.	<i>MAS</i> 4208
<i>O. warmingii</i> Rchb.f.	<i>EH</i> 11147	<i>C. pulchella</i> (Bateman ex Lindl.) Dressler & N.H. Williams.	<i>MAS</i> 1952
<i>O. wentworthianum</i> Bateman ex Lindl.	<i>GAS</i> 2301	<i>C. pygmaea</i> (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams	<i>EH</i> 5181
Clado F		<i>Rossioglossum ampliatum</i> (Lindl.) M.W. Chase & N.H. Williams	<i>JLW</i> Hort
<i>Caucaea phalaenopsis</i> (Lindl. ex Rchb.f.) N.H. Williams & M.W. Chase	<i>EH</i> 10527	<i>R. grande</i> (Lindl.) Garay & G.C. Kenn.	<i>GAS</i> Hort
		<i>R. krameri</i> (Rchb.f.) M.W. Chase & N.H. Williams	<i>RAVA</i> Hort
<i>Cyrtochiloides ochmatochila</i> (Rchb. f.) N.H. Williams & M.W. Chase	<i>RJM</i> 2394	<i>R. oerstedii</i> (Rchb.f.) M.W. Chase & N.H. Williams	<i>EH</i> 6356
<i>Cyrtochilum cimiciferum</i> (Rchb.f.) Dalström	<i>EH</i> 10535	<i>R. schlieperianum</i> (Rchb.f.) Garay & G.C. Kenn.	<i>RAVA</i> 504

CAPÍTULO 5



EVOLUCION DE CARACTERES ESTRUCTURALES DE ONCIDIINAE

Resumen:

En el presente capítulo se presenta un conjunto de análisis con el propósito de explorar posibles patrones evolutivos en 37 caracteres estructurales de Oncidiinae. Estos caracteres fueron optimizados sobre uno de los dos árboles más parsimoniosos obtenidos, a partir de un análisis cladístico simultáneo a partir de datos moleculares y caracteres estructurales. Se discuten las posibles relaciones entre los caracteres estructurales, así como su correlación con los ambientes altitudinales, climáticos y tipos de vegetación de los clados definidos para Oncidiinae y su efecto en la diversificación de la subtribu.

Introducción

En términos florísticos, las Oncidiinae forman un elemento importante en las regiones tropicales del Nuevo Mundo. Se distribuyen desde Sinaloa y Tamaulipas en México hasta Misiones en Argentina, pasando por el extremo sur de Perú así como a través del Caribe, incluyendo el sur de Florida en Estados Unidos (Chase 1986a). Típicamente son epífitas y unas cuantas son terrestres y litófitas; se les encuentra desde el nivel del mar hasta los 3200 metros de altitud en los páramos de alta montaña. Las Oncidiinae son raras dentro de las Orchidaceae por su diversidad en su morfología floral y vegetativa, historia de vida, hábitat y número cromosómico, lo cual hace de ellos un grupo ideal para estudios evolutivos de muchos tipos (Chase y Palmer 1977). A través de un análisis filogenético con datos moleculares y estructurales (Sandoval *et al.* en prensa), esta subtribu se resuelve como monofilética y se identifican nueve grupos resueltos y con un soporte significativo.

Se ha demostrado que los caracteres estructurales morfológicos y anatómicos son valiosos para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas y la clasificación en diversos grupos vegetales (Freudenstein y Rasmussen 1999, Scotland *et al.* 2003, Wiens 2004). Para Orchidaceae, su importancia se ha registrado en varios de sus grupos (Pridgeon 1987, Freudenstein y Rasmussen 1999, Stern *et al.* 1993a, 1993b, Stern y Judd 2001, 2002, Sandoval *et al.* en prensa). Además de las relaciones filogenéticas en diversos grupos de Orchidaceae, algunos autores han abordado aspectos sobre la evolución de los caracteres estructurales (Dressler y Dodson 1960, Burns-Balogh y Funk 1986, Freudenstein y Rasmussen 1999, Gravendeel y Vogel 2002, Gravendeel *et al.* 2004, García-Cruz y Sosa 2005, Sosa 2007, Figueroa *et al.* 2008, Cervantes 2009).

Actualmente los métodos de análisis más utilizados para inferir los posibles patrones de evolución de los caracteres son dos. En el primero a partir de una filogenia basada en datos independientes, por ejemplo datos moleculares, se realiza la optimización (ACCTRAN/DELTRAN) de los caracteres que se desea inferir su evolución. Además de su valor diagnóstico, Cabrera (2008) reconoce que los estudios acerca de la evolución de los caracteres morfológicos basados en hipótesis filogenéticas explícitas y robustas, generadas a partir de datos moleculares (Soltis *et al.* 1999, Brooks y MacLennan 2002), son frecuentemente una fuente de información independiente y útil, que consolida y evita un pensamiento circular en el entendimiento de la evolución de los grupos (Givnish y Sytsma 2000). Además, existe una serie de análisis filogenéticos para determinar cuantitativamente la correlación filogenética y los estados de carácter ancestrales (Martins 1996).

El uso de datos filogenéticos moleculares es esencial porque ellos proporcionan información independiente para la reconstrucción de los estados ancestrales, haciendo posible que las cuantificaciones de las homoplasias estructurales sean explícitas (Donoghue y Sanderson 1992, 1994, Donoghue y Ree 2000). Además, permiten el uso de métodos comparativos para probar transformaciones correlacionadas entre dos caracteres en evolución (Givnish *et al.* 2005). Por esta razón, las inferencias filogenéticas basadas en datos moleculares sirven como marco de referencia para evaluar los patrones de evolución de los caracteres morfológicos (Donoghue 1989, Brooks y McLennan 2002), la reconstrucción de estados ancestrales (Cunningham *et al.* 1998) y el avance hacia el entendimiento sobre su origen y diversificación (Brooks y McLennan 2002).

El otro método consiste en realizar un análisis filogenético combinando, con tantas evidencias como sea posible, en donde se incluyen también aquellos caracteres que se quiere inferir su evolución; esto es conocido como análisis filogenético combinado o de “evidencia total”. Así, se infiere el patrón

de evolución de los caracteres seleccionados a partir de su optimización (ACCTTRAN/DELTRAN). Algunos autores han adoptado éste método para inferir los posibles patrones de evolución de ciertos caracteres morfológicos (García-Cruz y Sosa 2005, Figueroa *et al.* 2008, Cervantes 2009).

Si bien la utilidad de los datos moleculares para la reconstrucción de las relaciones filogenéticas de varios grupos de orquídeas ha sido demostrado (Kores *et al.* 2000, Whitten *et al.* 2000, Gravendeel *et al.* 2001, Kores *et al.* 2001, Pridgeon *et al.* 2001, Williams *et al.* 2001a, 2001b, Salazar *et al.* 2003, Gravendeel *et al.* 2004, van den Berg *et al.* 2005, Figueroa *et al.* 2008, Cervantes 2009), no en todos los casos las relaciones entre los taxa quedan completamente resueltas, por lo que es importante incluir otras fuentes de evidencias.

El marco conceptual que se toma en este trabajo como base para explorar los posibles patrones evolutivos de los caracteres estructurales, es la propuesta filogenética obtenida a partir del análisis combinado y simultáneo (ITS, *matK*, caracteres estructurales) para 52 taxa de Oncidiinae (Sandoval *et al.* en prensa). A partir de un análisis previo se mostró que esta hipótesis filogenética es más robusta que la propuesta obtenida previamente sólo con caracteres moleculares, ya que se resuelven más relaciones al interior de la subtribu. Se propone que al reunir un mayor número de evidencias y realizar análisis combinados y simultáneos, es posible recuperar “señal filogenética secundaria”. El hecho de que la combinación de matrices genere resultados diferentes de los obtenidos cuando se hacen los análisis por separado se puede explicar porque caracteres no corroborados en las matrices particulares se corroboran al incrementar el número de observaciones, es decir caracteres homoplásicos en los análisis parciales se corroboran como sinapomorfias en los análisis simultáneos (Nixon y Carpenter 1996).

Esta aproximación a partir de un análisis simultáneo, permite la interacción de caracteres estructurales y moleculares en el análisis, maximiza el contenido de información así como el poder explicativo de las hipótesis aceptadas y el principio de corroboración de observaciones se hace más riguroso cuando hay mayor heterogeneidad en la fuente de información (Mickey y Farris 1981, Farris 1983, Kluge 1989, Eernise y Kluge 1993, Nixon y Carpenter 1996) e impone una prueba estricta sobre la hipótesis de homología primaria a través de la congruencia de caracteres. Para de Pinna (1991), la única forma de poner a prueba una posible homología es la prueba de congruencia entre caracteres en un análisis cladístico; además, esta es la única forma de conocer si algunos caracteres son filogenéticamente informativos o no.

Las variables climáticas definen las áreas de distribución, los límites de supervivencia y los pisos altitudinales de vegetación e influyen, a una escala menor, en la distribución de especies y comunidades (Woodward y Williams 1987). En algunos ecosistemas es posible observar cierta convergencia, ya que varios caracteres ecomorfológicos de las especies son semejantes (Cabrera 2002). Esto apoya la hipótesis de que bajo similares regímenes climáticos, las respuestas adaptativas de las plantas son similares, dando como resultado ecosistemas estructural y funcionalmente semejantes (Cody y Mooney 1978).

Los componentes ecológicos y climáticos son determinantes en la distribución de las especies y es a partir de un ajuste entre el ambiente y los caracteres estructurales fisiológicos y bioquímicos que las plantas logran tener éxito en un ambiente ecológico determinado (Bidwell 1979). En los ambientes ecológicos factores como la sequía, temperatura, radiación solar y viento son algunas de las principales presiones selectivas que determinan la distribución ecológica y diversidad de las especies. En las plantas epífitas, particularmente la sequía afecta significativamente el éxito reproductivo y supervivencia de las especies, por lo que a través de la selección natural, se han favorecido ciertos mecanismos que permiten que las plantas eviten o toleren el estrés hídrico (Benzing 1990). Estos mecanismos pueden ser fisiológicos, estructurales o bioquímicos. Algunas de las plantas que se encuentran en micro hábitats xéricos y que además son perennes, muestran caracteres morfológicos y anatómicos que les permiten adaptarse a condiciones donde prevalece la deficiencia de agua y la acentuada exposición al sol. Existen varias formas de hacer frente a estos desafíos; por ejemplo, las plantas efímeras son capaces de germinar, crecer, producir semillas y morir en unas cuantas semanas. Su ciclo de vida completo puede ocurrir en la primavera, en el otoño o después de una lluvia fuerte, como es el caso de las epífitas de ramita del clado *Rodriguezia* (Chase y Palmer 1997). Otras especies son deciduas, sus hojas se caen en la estación seca o frecuentemente son reemplazables, siendo desprendidas aún cuando sean solo de unas cuantas semanas de edad, como en el caso de *Rhynchostele londesboroughiana* o *Telipogon costaricense*. Entre los caracteres estructurales, una epidermis e hipodermis con paredes celulares engrosadas, cubiertas por una densa cutícula cerosa y apéndices epidérmicos como tricomas o papilas pueden ser abundantes. Estos caracteres son selectivamente ventajosos porque son efectivos en bloquear la alta radiación solar (Dickison 2000); también son buenos para disuadir la mordedura de los insectos y el depósito de huevecillos (Benzing 1986). La superficie exterior de las hojas xeromórficas es reducida, al reducir su tamaño o al modificarse hacia formas cilíndricas reduce la superficie de transpiración y la subsecuente pérdida de agua. Para reducir

mucho más la pérdida de agua, los estomas pueden estar sumidos, restringidos a criptas bien protegidas, pueden desarrollar cámaras supra estomáticas o pueden desarrollar células oclusivas con paredes tangenciales internas engrosadas. En la hoja, el mesofilo esponjoso puede estar ausente y substituido solo por parénquima en empalizada. El volumen y el área superficial del apoplasto de la hoja disminuyen y así se puede perder menos agua desde cada célula al apoplasto. Otro mecanismo para evitar la pérdida de agua es la presencia de células de paredes delgadas almacenadoras de agua; ellas pueden ocurrir ya sea como células hipodérmicas o como parte del parénquima en el mesofilo (Mauseth 1988). En algunas especies, las células almacenadoras de agua se modifican y adquieren una apariencia particular desarrollando engrosamientos en sus paredes secundarias (Pridgeon 1987).

También se han reportado mecanismos bioquímicos; por ejemplo la elaboración de azúcar de bajo peso molecular, la cual se puede elaborar en épocas de sequía; su presencia abate directamente el potencial del agua dentro del citoplasma, lo que contribuye a la retención del agua. Otro mecanismo es la síntesis de ciertas proteínas que enlazan el agua y al mantenerse sin ser desnaturalizadas durante la sequía, evitan la deshidratación (Bidwell 1979). Estos son mecanismos que ayudan a la retención del agua, reportados para la caña de azúcar u otros grupos de plantas, aspectos que no se han estudiado en *Oncidiinae*.

El presente análisis tiene como objetivo documentar de forma objetiva si existe una asociación entre caracteres y a su vez determinar si existe una correlación entre estos y los factores ambientales que permitan inferir posibles eventos adaptativos. Por otro lado, pretende revelar los principales patrones evolutivos de los caracteres estructurales dentro de la subtribu. Con esto presentaré un conjunto de hipótesis de la relación estructura/función que puede servir como un punto de inicio para estudios empíricos más detallados sobre los aspectos biomecánicos y ecofisiológicos de las *Oncidiinae*.

Materiales y Métodos:

Selección de caracteres. Se seleccionaron los mismos 37 caracteres que se presentaron en el capítulo dos de esta tesis (Anexo 1); de ellos ocho son morfológico-vegetativos y 29 son anatómico foliares. Como ya se mencionó, la selección de los caracteres anatómicos se realizó tomando en cuenta trabajos anatómicos previos realizados para algunas especies de la subtribu (Ayensu y Williams 1972, Williams 1974, Chase 1986a, Rojas-Leal 1993, Sandoval-Zapotitla 1993, 1999, Sandoval-Zapotitla y Terrazas 2001, Stern y Carlsward 2006). El análisis de los ocho caracteres morfológico-vegetativos (1 - 8) se basó en la observación de plantas vivas de los invernaderos del Jardín Botánico Francisco Javier

Clavijero en Xalapa, Veracruz, México; de la Asociación Mexicana de Orquideología (AMO) en el Distrito Federal, México; del Jardín Botánico Lankester de la Universidad de Costa Rica, así como de colecciones particulares y se complementaron con información obtenida de la literatura. A partir de la literatura, se recopiló el valor del largo de las hojas de los taxa estudiados. Aún cuando no se optimizó este carácter, se incluyó para analizar si existe una relación con algún otro carácter estructural optimizado; la media aritmética de largo de hojas \pm una desviación estándar de cada clado fueron graficados.

Reconstrucción de la evolución de los caracteres. El análisis evolutivo de los 37 caracteres estructurales (morfológicos y anatómicos) se realizó bajo las optimizaciones ACCTRAN y DELTRAN como está implementado en WinClada ver. 1.00.08 (Nixon 2002) sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos por Sandoval *et al.* (en prensa). Para la explicación de la evolución de los caracteres, en el caso de aquellos caracteres en donde cambia la explicación de la evolución según sea la optimización, se decidió por la explicación DELTRAN para aquellos caracteres que mostraron menos de cinco cambios en la subtribu y una ACCTRAN para los que mostraron cinco o más dentro de la subtribu. Para cada carácter se analizó su distribución en los diferentes clados.

Para propósitos del presente trabajo, se utiliza la siguiente nomenclatura para referirnos a cada uno de los clados. Para *Trichocentrum*, clado A; para los géneros *Psychopsis-Trichopilia*, clado B; para *Lockhartia*, clado C; para los géneros *Fernandezia-Ornithocephalus-Telipogon*, clado D; para *Oncidium*, clado E; para los géneros *Cyrtochiloides-Cyrtochilum-Miltoniopsis-Otoglossum*, clado F; para los géneros *Ada-Aspasia-Brassia-Cischweinfia-Mesospinidium-Miltonia-Systeloglossum*, clado G; para los géneros *Capanemia-Comparettia-Ionopsis-Macroclinium-Notylia-Oncidium-Rodriguezia-Zelenkoa*, clado H; para los géneros *Erycina-Rhynchoatele-Tolumnia*, clado I.

Parámetros ambientales evaluados. Se revisaron los gradientes altitudinales en donde se distribuye cada taxa, a partir de los taxa que representan cada clado, se estimó la media aritmética \pm una desviación estándar, del gradiente altitudinal de cada clado; así mismo, se obtuvieron datos del clima y humedad de cada taxa y se hizo un censo para cada clado. Esta información se obtuvo a partir de la literatura.

Resultados:

Evolución de los caracteres estructurales

Se presenta un cladograma con la distribución de los estados de carácter para cada carácter. En el Cuadro 5.1 se resume la condición (plesiomórfica/apomórfica) de los 37 caracteres morfológicos analizados desde un punto de vista evolutivo y a partir de la filogenia de Oncidiinae generada (Sandoval *et al.* en prensa), de acuerdo a un criterio de optimización ACCTRAN o DELTRAN según sea el caso.

A continuación se desglosa el posible patrón de evolución de cada uno de estos caracteres. Del 1 al 8 son morfológicos y del 9 al 37 son anatómico foliares.

1. Ramificación del tallo (Fig. 5.1A): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es la ramificación simpodial y la condición derivada o novedad evolutiva es la ramificación monopodial, presente en el clado D formado por *Fernandezia/Ornithocephalos/Telipogon* (1), en donde se resuelve como una sinapomorfía.
2. Tipo de tallo (Fig. 5.1B): la condición plesiomórfica y conservada para Oncidiinae es un tallo tipo pseudobulbo y la condición derivada es un tallo tipo rollizo, en el clado C y D (1). Al interior del clado D, se deriva en *Ornithocephalus* un cambio (reversión) hacia la condición de tallo tipo pseudobulbo (2).
3. Crecimiento del pseudobulbo (Fig. 5.1C): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es un pseudobulbo extendido; desde este estado se derivan dos estados: primero, un pseudobulbo reducido y se origina de forma independiente pues se observa en los clados *Trichocentrum cebolleta/T. pfavii* (1), *Ornithocephalus* (2), *Capanemia* (3), *Macroclinium bicolor* (4), en el clado *Comparettia/Ionopsis* (5), *Tolumnia* (6) y *Erycina cristagalli/E. pusilla* (7). Segundo, la ausencia de un pseudobulbo, como se observa en el clado *Lockhartia/Telipogon* (8), excepto *Ornithocephalus*.
4. Número de entrenudos en el tallo (Fig. 5.1D): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es un entrenudo por módulo en el tallo y la derivada es dos o más entrenudos por módulo en los clados C y D (1); al interior del clado D se deriva en *Ornithocephalus* un cambio hacia la condición de un entrenudo por módulo (2).
5. Ubicación de las hojas en el tallo (Fig. 5.2A): la condición plesiomórfica y conservada para Oncidiinae es la ubicación de las hojas en el ápice del tallo y la derivada es su ubicación a lo largo del tallo, como en los clados C y D (1); al interior del clado D se deriva en *Ornithocephalus* un cambio hacia la condición de hojas ubicadas hacia el ápice del tallo (2).

6. Disposición de las hojas en el tallo (Fig. 5.2B): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es una disposición de las hojas que no es dística ni en abanico y que hemos presentado como “otros”; la condición derivada es una disposición de las hojas con arreglo dístico, como en los clados C y D (1); al interior del clado D, se da un cambio hacia la disposición de las hojas en forma de abanico, como en *Ornithocephalus* (2). De forma independiente, la disposición de las hojas en forma de abanico también se origina en *Macroclinium bicolor* (3), el clado *Tolumnia* (4) y *Erycina pumilio/E. pusilla* (5).

7. Suculencia de la lámina foliar (Fig. 5.2C): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es una lámina foliar no suculenta y la condición derivada es una lámina foliar suculenta, que de forma independiente se origina en el clado A (1) y en el clado D (2). Bajo la optimización ACCTAN los clados H e I (3) también presentan una lámina foliar suculenta. Hacia adentro del clado H hay una reversión hacia una lámina no suculenta como se observa en *Oncidium flexuosum* (4) y el clado *Rodriguezia/Notylia* (5). Dentro del clado I, también esta reversión se da en el clado *Rhynchostele/Erycina* (6).

8. Perfil de lámina en sección transversal (Fig. 5.2D): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es una lámina foliar dorso-ventralmente extendida; a partir de ésta se derivan cuatro estados: lámina rolliza en *Trichocentrum cebolleta* (1), *Capanemia* (2) e *Ionopsis satyrioides* (3); lámina basalmente conduplicada en *Lockhartia* (4), resuelto como una sinapomorfia; lámina unifacial en *Ornithocephalus* (5), *Macroclinium* (6) y *Erycina pumilio/E. pusilla* (7) y lámina marginalmente conduplicada en el clado *Tolumnia* (8), resuelto como una sinapomorfia.

9 y 10. Apéndices epidérmicos adaxiales y abaxiales como papilas en lámina (Fig. 5.3A): el comportamiento de los apéndices en ambas epidermis es el mismo por lo que se explica como uno solo. Bajo la optimización DELTRAN, la ausencia de las papilas es la condición plesiomórfica para la subtribu y la condición derivada su presencia, de forma independiente se presenta en los clados A (1), B (2), *Capanemia/Zelenkoa* (3) y *Erycina echinata/E. hyalinobulbon* (5).

11. Tricomas no glandulares en epidermis adaxial (Fig. 5.3B): el estado plesiomórfico en Oncidiinae es la presencia de tricomas no glandulares en la epidermis adaxial. La condición derivada es la ausencia de los tricomas no glandulares, que de forma independiente se derivan en los clados D (1), en *Macroclinium bicolor* (2) y en *Erycina pumilio/E. pusilla* (3).

12. Glándulas: la condición plesiomórfica y conservada para Oncidiinae es la ausencia de glándulas, que se resuelve como una simplesiomorfia.

13. Ubicación de estomas en la lámina foliar (Fig. 5.3C): una hoja hipostomática es la condición plesiomórfica y conservada en Oncidiinae. Temprano en la evolución de la subtribu hay un cambio

hacia una hoja anfistomática, donde los estomas están ubicados en ambas epidermis, como una condición derivada presente en el clado A (1), resuelto como una sinapomorfia, una novedad evolutiva.

14. Collar cuticular en estoma (Fig. 5.3D): el estado plesiomórfico y conservado en Oncidiinae es la presencia de collar cuticular y la condición derivada es su ausencia. La ausencia de collar cuticular sucede en *Ornithocephalus inflexus* (1) y de forma independiente en el clado *Erycina* (2).

15. Apertura del collar cuticular en estoma (Fig. 5.4A): la condición plesiomórfica es una apertura longitudinal y paralela al eje longitudinal de las células oclusivas, mientras que la condición derivada es una apertura transversal, presente en *Trichocentrum splendidum* (1) y de forma independiente en *Trichopilia maculata* (2).

16. Pared lateral interna de las células oclusivas (Fig. 5.4B): la condición plesiomórfica y conservada es una pared lateral interna muy engrosada, con más de 2.5 μm de grosor y la condición derivada es una pared interna poco engrosada, hasta de 2.5 μm de grosor con sólo dos cambios. Este estado derivado está presente en *Oncidium ghiesbreghtianum* (1) y de forma independiente en el clado *Rhynchostele/Erycina* (2).

17. Hipodermis adaxial en lámina (Fig. 5.4C): el estado plesiomórfico es la ausencia de hipodermis adaxial en los clados A (1) y B (2). La condición derivada es la presencia de una hipodermis adaxial en el clado *Lockhartia/Erycina* (3). Al interior de este gran clado hay varios cambios. De forma independiente hay una reversión a la condición ancestral de ausencia de hipodermis adaxial en los clados *Ornithocephalus/Telipogon* (4), *Comparettia/Ionopsis* (5) y en el clado I (6), excepto *Rhynchostele* (7).

18. Paredes celulares de la hipodermis adaxial (Fig. 5.4D): una vez que está presente una hipodermis adaxial, la condición ancestral para Oncidiinae es una hipodermis adaxial de paredes delgadas, de menos de 2.5 μm en el clado *Lockhartia/Erycina* (1). A partir de este estado, se deriva una hipodermis adaxial de paredes engrosadas, de 2.5 μm o más, en los clados *Oncidium* (2) y de forma independiente en *Cyrtochilum/Miltoniopsis* (3), *Miltonia* (4), *Systeloglossum* (5) y en *Ada/Mesospinidium* (6).

19. Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial (Fig. 5.5C): una vez que está presente una hipodermis adaxial, la condición ancestral para Oncidiinae es una hipodermis adaxial con estratos celulares continuos, como se presenta en el clado *Lockhartia/Erycina* (1). A partir de este estado, se derivan dos estados: la pérdida de la hipodermis adaxial, como se observa en los clados *Ornithocephalus-Telipogon* (2) y de forma independiente en los clados *Comparettia/Ionopsis* (3), *Tolumnia* (4) y *Erycina* (5) y una hipodermis adaxial con estratos celulares discontinuos, como se

observa en el clado *Oncidium* (6) y en *Oncidium flexuosum/Zelenkoa* (7). Bajo una optimización DELTRAN, la interpretación de la evolución de este carácter para el clado *Tolumnia/Erycina* es diferente, ahora la condición ancestral es una hipodermis adaxial continua y de forma independiente se pierde en los clados *Tolumnia* (4) y *Erycina* (5).

20. Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial (Fig. 5.5D): una vez que está presente una hipodermis adaxial, la condición ancestral para Oncidiinae es una hipodermis adaxial con tres estratos celulares en el clado *Lockhartia/Erycina* (1). Al interior de este clado se observa un cambio hacia una hipodermis adaxial con dos estratos (2). Posterior en la evolución el clado E se deriva hacia una hipodermis adaxial con un estrato (3) y de forma independiente en *Aspasia epidendroides* (4), *Mesospinidium panamense* (5), *Brassia caudata* (6), el clado H (7) y *Rhynchostele* (8).

21. Hipodermis abaxial (Fig. 5.5C): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es la ausencia de hipodermis abaxial en los clados A, B, C y D (1). La condición ancestral para el clado *Oncidium/Erycina* (2) es la presencia de una hipodermis abaxial. Al interior de este gran clado, hay eventos independientes hacia la ausencia de una hipodermis abaxial en los clados *Oncidium ghiesbreghtianum/Oncidium reichenheimii* (3), *Aspasia/Brassia* (4), excepto *Brassia caudata* y *B. gireoudiana*, *Capanemia/Erycina* (5).

22. Células del mesofilo como parénquima en empalizada (Fig. 5.5D): la condición plesiomórfica y conservada para Oncidiinae es la ausencia de parénquima en empalizada en el mesofilo y la condición derivada es la presencia de parénquima en empalizada que surge de forma independiente en los clados *Comparettia/Ionopsis* (1), dentro del clado H y en *Tolumnia* (2), dentro del clado I.

23. Células con engrosamientos secundarios en hipodermis adaxial (Fig. 5.6A): una vez que está presente una hipodermis adaxial, la condición ancestral para Oncidiinae es una hipodermis adaxial sin células con engrosamientos secundarios en el clado *Lockhartia/Erycina* (1); a partir de éste deriva una hipodermis adaxial con células con engrosamientos secundarios en *Oncidium cheirophorum* (2) y de forma independiente en *Systeloglossum acuminatum* (3) y *Notylia barkerii* (4).

24. Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo (Fig. 5.6B): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es la ausencia de células con engrosamientos secundarios en el mesofilo, mientras que la presencia de estas células es la condición derivada y se origina de forma independiente en los clados A (1), en *Ornithocephalus* (2), *Systeloglossum* (3), *Brassia caudata* (4) y *Tolumnia* (5).

25. Células buliformes (Fig. 5.6C): la condición ancestral para Oncidiinae es la ausencia de células buliformes en el clado A (1). La condición derivada es la presencia de células buliformes en el clado

Psychopsis/Erycina (2). Al interior de este clado, de forma independiente, se da un cambio, una reversión hacia la ausencia de células buliformes en los clados *Ornithocephalus/Telipogon* (3), *Rodriguezia/Ionopsis* (4) y *Erycina cristagalli/E. pusilla* (5).

26. Ubicación de las células buliformes (Fig. 5.6D): La ausencia de las células buliformes se manifiesta temprano en la evolución de Oncidiinae. Una vez que se originan las células buliformes dentro de la subtribu, siempre están en la zona central adaxial, como en el clado *Psychopsis/Erycina* (1), lo que representa una condición conservada para la subtribu. De forma independiente se pierden en los clados *Ornithocephalus/Telipogon* (2), *Rodriguezia/Ionopsis* (3) y *Erycina cristagalli/E. pusilla* (4).

27. Zona central abaxial de la lámina (Fig. 5.7A): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es una zona central abaxial carinada y la condición derivada es una zona central abaxial convexa en los clados *Trichocentrum cebolleta/T. pfavii* (1) y de forma independiente en *Oncidium ghiesbreghtianum/O. reichenheimii* (2) y en el clado *Otoglossum/Erycina* (3). Hacia adentro de este clado hay una reversión hacia una zona central carinada en los clados *Cischweinfia/Brassia* (4), *Rodriguezia/Notylia* (5) y en el clado I (6).

28. Número de estratos de haces vasculares en la zona central de la lámina (Fig. 5.7D): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es un estrato de haces vasculares en la zona central y la condición derivada es dos estratos en el clado A (1) y se origina de forma independiente en *Ornithocephalus* (2) y en *Erycina pumilio/E. pusilla* (3).

29. Número de estratos de haces vasculares en la lámina (Fig. 5.7C): la condición plesiomórfica y conservada para Oncidiinae es un estrato de haces vasculares y la condición derivada es dos o más estratos en el clado A (1), donde se resuelve como una sinapomorfía.

30. Haces de fibras adaxiales en la lámina: la única condición para Oncidiinae es la ausencia de haces de fibras adaxiales, por lo que se resuelve como una simpliesiomorfía.

31. Haces de fibras abaxiales en la lámina (Fig. 5.7D): la condición plesiomórfica en Oncidiinae es la presencia de haces de fibras abaxiales y la condición derivada es la ausencia de ellos en *Trichocentrum pfavii* (1) y de forma independiente en el clado D (2) y en *Erycina cristagalli/E. pusilla* (3).

32. Número de estratos de haces de fibras abaxiales (Fig. 5.8A): la condición plesiomórfica en Oncidiinae es de tres o más estratos en los haces de fibras abaxiales en los clados A-E (1). Al interior de este clado se deriva el estado de haces de fibras abaxiales en un estrato en el clado C (2). La condición ancestral del clado *Otoglossum/Erycina* (3) es haces de fibras abaxiales en dos estratos. Hacia el interior de este clado se derivan dos cambios: haces de fibras abaxiales en un estrato en los

clados *Aspasia/Brassia* (4), *Comparettia/Ionopsis* (5) y en clado I (6) y haces de fibras abaxiales en tres o más estratos en el clado *Rodriguezia/Notylia* (7).

33. Estérgmatos en los haces vasculares (Fig. 5.8B): la condición plesiomórfica y conservada para Oncidiinae es la presencia de estérgmatos en los haces vasculares y la condición derivada es su ausencia en el clado D (1), que se resuelve como una sinapomorfía.

34. Estérgmatos en los haces de fibras abaxiales (Fig. 5.8C): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es la presencia de estérgmatos en los haces de fibras abaxiales. La condición derivada es la ausencia de estérgmatos en haces de fibras abaxiales en *Oncidium cheiroporum* (1) y de forma independiente en el clado F (2).

35. Cristales prismáticos en el mesofilo (Fig. 5.8D): la condición plesiomórfica para Oncidiinae es la ausencia de cristales prismáticos y la condición derivada es su presencia en el clado E (1) y de forma independiente en los clados F (2), *Oncidium flexuosum/Zelenkoa* (3), *Rhynchostele londesboroughiana* (4) y *Erycina pumilio/E. pusilla* (5).

36. Cristales como drusas en el mesofilo (Fig. 5.9A): la condición plesiomórfica en Oncidiinae es la ausencia de drusas y la condición derivada su presencia en los clados E (1) y *Rhynchostele beloglossa/R. bictoniensis* (2).

37. Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal (Fig. 5.9B): la condición plesiomórfica en Oncidiinae es la ausencia de espacios aéreos y la condición derivada su presencia. La condición ancestral para los clados E-I (1) es la ausencia de espacios aéreos; al interior de este clado se deriva el estado de presencia de espacios aéreos en los clados E y F (2) y de forma independiente en *Miltonia candida* (3) y en el clado *Rhynchostele beloglossa/R. bictoniensis* (4). Hay una reversión hacia la ausencia de los espacios aéreos en los clados *Cischweinfia/Brassia* (5), H e I (6), excepto el clado *Rhynchostele beloglossa/R. bictoniensis* (4).

Patrones de evolución de los caracteres estructurales en Oncidiinae

La evolución de los caracteres estructurales en Oncidiinae ha sido gradual. Esto parece haber tenido una progresión moderada manifestada en el menor número de cambios, hacia las diferenciaciones estructurales de los clados topográficamente de posición basal e intermedia (A, B, C, E, F y G) y desde ahí, excepto por el clado D, se pudieron dar diferenciaciones más rápidas, con un mayor número de cambios estructurales esenciales en la formación de nuevos grupos como los clados H e I, más derivados (Fig. 5.10). En la filogenia de Oncidiinae, ciertos ajustes en la morfología tales

como la reducción del pseudobulbo, el perfil de la lámina en la hoja y en los mecanismos fisiológicos como quizás tazas fotosintéticas aceleradas o de asimilación de carbohidratos por la ruta CAM en las hojas suculentas, pudieron ser esenciales para el origen de nuevos grupos taxonómicos. Tales ajustes estructurales parecen haber sido vitales en la diversificación de la subtribu a nivel de todas sus ramas.

Los cambios en la evolución de los caracteres se resumen en el Anexo 5. De los caracteres estructurales analizados, la hipodermis adaxial, con sus paredes celulares y el número de estratos celulares tienen un patrón de evolución dinámico (con 10 y 11 cambios respectivamente) dentro de la subtribu Oncidiinae. Cabe resaltar que el comportamiento evolutivo de estos caracteres se mantiene con otros caracteres más, también de la hipodermis adaxial y además, para el caso del número de estratos celulares, con la hipodermis abaxial y con los cristales como drusas (Sandoval *et al.* en prensa).

Seis caracteres tienen un patrón de evolución moderado (con siete a nueve cambios) dentro de la subtribu; estos caracteres son el tipo de pseudobulbo, el perfil de la lámina en sección transversal, la distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial, las células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial, la forma de la zona central abaxial y el número de estratos de haces de fibras abaxiales.

En Oncidiinae se interpreta que 27 caracteres tienen un patrón de evolución relativamente lento (con uno a seis cambios) en la subtribu. Esto sugiere un proceso con alta inercia filogenética, debido al reducido número de cambios y a su constancia dentro de la subtribu.

Las glándulas y los haces de fibras adaxiales no tienen relevancia en la reconstrucción de la filogenia de la subtribu, ya que no mostraron cambios. Dado que estos dos caracteres son compartidos en toda la subtribu y con el ancestro inmediato, se resuelven como simplesiomorfías.

Distribución ambiental y altitudinal de especies de Oncidiinae

A partir de una revisión bibliográfica, se encontró que las especies de Oncidiinae habitan en un amplio gradiente ambiental y altitudinal. Se les encuentra desde ambientes cálidos hasta fríos, húmedos, estacionalmente húmedos o secos (Fig. 5.11A). Así mismo, tienen una distribución altitudinal que va desde el nivel del mar hasta los 3 200 metros sobre el nivel del mar (m s.n.m.); sin embargo, cuando consideramos el promedio altitudinal (más una desviación estándar) (Fig. 5.10C), se observa que hay un patrón de distribución altitudinal característico de algunos grupos. Por ejemplo, los clados A, B, G, H e I suelen encontrarse preferentemente en altitudes menores a los 1 200 m s.n.m., estas especies preferentemente se encuentran en ambientes cálidos a templados, secos, estacionalmente

secos o húmedos. Los clados C, D, E y F, tienen la tendencia a dispersarse a altitudes mayores a los 1 200 m s.n.m; dentro de ellos, los clados D y E, ocupan ambientes templados a fríos, húmedos o estacionalmente secos, mientras que los clados C y F, ocupan ambientes cálidos a templados y húmedos.

Largo de hojas

En general el tamaño de las hojas de las especies estudiadas es variable; sin embargo, cuando consideramos el promedio de su longitud (más una desviación estándar), se revela un patrón entre los clados respecto al tamaño de las hojas. Los clados C, D, H e I tienen hojas generalmente cortas, de menos de 15 cm de largo. Los clados A, B, E y G tienen hojas entre 15 y 30 cm de largo y finalmente el clado F tienen las hojas más largas, de 30 a 50 cm de largo (Fig. 5.11B)

Discusión

Morfología y anatomía.

Las variaciones en los caracteres estructurales parecen, al menos en parte, ser convergencias correlacionadas con variaciones en los ambientes donde habitan las especies de Oncidiinae. En el transcurso de su evolución, sus especies desarrollaron diversos mecanismos morfológicos o anatómicos, que independientes o correlacionados, les permitieron adaptarse a las distintas condiciones ambientales donde prosperan. Así, quizá superaron el efecto de la presión provocada por factores ambientales limitantes y escaparon de los efectos de condiciones ambientales extremas, resultado principalmente del estrés hídrico (sequía), lumínico (radiación), resistencia mecánica (incidencia a fuertes vientos y desgarre o daño físico de sus hojas) o prevención contra la herbivoría, entre otros (Benzing 1990).

El tipo de ramificación monopodial en el tallo, se correlaciona fuertemente con el desarrollo de un tallo tipo rollizo, que incluye varios entrenudos, con hojas generalmente suculentas, distribuidas a lo largo del tallo y con disposición dística. Una ramificación simpodial generalmente se correlaciona con un tallo tipo pseudobulbo, de un solo entrenudo, con hojas ubicadas en el ápice. Estos dos ensamblajes estructurales han permitido que los taxa habiten en condiciones ambientales variadas. El tipo de ramificación monopodial es típico de aquellos clados que tempranamente derivaron y radiaron hacia ambientes templados a fríos y húmedos, en altitudes por encima de los 1,900 m s.n.m. Por otro lado, las especies con una ramificación simpodial han conservado esta condición plesiomórfica en la subtribu y

a través del desarrollo de diversas estrategias anatómicas (como la presencia de papilas epidérmicas, hipodermis, células con engrosamientos secundarios, haces de fibras, cristales, etc.) les han llevado a adaptarse a distintos ambientes climáticos y altitudinales.

Respecto al perfil de la lámina, no se encontró una anatomía foliar específica para cada uno de los cinco perfiles de láminas definidos para Oncidiinae. Esta misma tendencia fue observada en la familia Arecaceae para sus diferentes tipos de hoja (Horn *et al.* 2009). A partir del análisis de los 29 caracteres anatómicos en los taxa de Oncidiinae, se dedujo que la anatomía foliar no está fuertemente correlacionada con el tipo de perfil de la lámina, correlación que si se ha observado para otras monocotiledóneas (Tomlinson 1961). Dentro de Oncidiinae, láminas con cuatro diferentes perfiles (dorso-ventralmente extendidas, marginalmente conduplicadas, uni-facial y rollizas) comparten la presencia de células con engrosamientos secundarios en el mesofilo mientras que las láminas de los cinco perfiles presentan haces de fibras no vasculares. En general, el mismo perfil de la lámina en ocasiones se comporta como un carácter homoplásico dentro de algunos clados definidos para la subtribu; en otras, se comporta como sinapomorfias que apoyan la conformación de un clado. Así mismo, no hay una clara relación entre el perfil de lámina y el tamaño de la hoja. No obstante, se pueden observar ciertas tendencias; las hojas con lámina conduplicada son las más pequeñas, mientras que las hojas con lámina dorso-ventralmente extendida son las más grandes dentro de la subtribu.

Estrés hídrico

En las plantas vasculares, los caracteres asociados a la tolerancia al estrés hídrico son diversos (Benzing 1990, Mauseth 1988). Dentro de Oncidiinae se encuentra la presencia de un tallo tipo pseudobulbo, la ubicación y disposición de las hojas en el tallo, la succulencia de la hoja y el perfil de la lámina foliar, los tricomas no glandulares en la epidermis adaxial, la ubicación de los estomas, el collar cuticular, la pared lateral interna de las células oclusivas, los atributos de la hipodermis adaxial, la presencia de células con engrosamientos secundarios en hipodermis y mesofilo y las células buliformes. De forma individual o en conjunto, estos caracteres han evolucionado dentro de los diferentes clados de la subtribu para permitir su adaptación a los ambientes epífitos donde predomina el estrés hídrico.

La presencia de un pseudobulbo extendido es la condición plesiomórfica y conservada para Oncidiinae. Si bien la mayoría de sus especies generalmente viven en ambientes húmedos, en su micro hábitat están expuestas a un suministro discontinuo de agua e intensos periodos de sequía. Su

supervivencia se favorece por poseer pseudobulbos que les brindan la posibilidad de almacenar cantidades adicionales de agua. Temprano en su evolución ocurrió un cambio hacia la reducción del pseudobulbo y la transferencia de su función de almacenamiento de agua a otras estructuras, como fue el desarrollo de hojas suculentas con un mesofilo voluminoso, el desarrollo de una hipodermis adaxial con células de paredes delgadas ubicadas en varios estratos, de células con engrosamientos secundarios o de células buliformes que pueden presentarse en conjunto o de forma individual en un taxa o grupos de especies. Las especies del clado A generalmente han derivado hacia el desarrollo de pseudobulbos reducidos y hojas suculentas, mesofilo voluminosos que incluye células con engrosamientos secundarios, como estrategias de almacenamiento adicional de agua. Por otro lado, las especies del clado H tienen otra combinación de caracteres para este propósito, algunas especies tienen pseudobulbos reducidos o extendidos con hojas generalmente suculentas e hipodermis adaxial con células de paredes delgadas distribuidas en un estrato continuo.

Otro mecanismo desarrollado por algunas especies de Oncidiinae para la tolerancia al estrés hídrico y también presentes en otras plantas xeromórficas (Mauseth 1988), es la reducción de la proporción superficie/volumen externa de sus hojas, a través de la modificación del perfil de la lámina en sección transversal. Si bien la condición plesiomórfica en la subtribu es una lámina dorso-ventralmente extendida, a partir de esta condición, en diferentes momentos de la historia evolutiva de la subtribu, se derivan varios perfiles de lámina que llevan a reducir la superficie adaxial desde un 30 a un 95%. Por ejemplo, los cambios ocurridos llevaron al desarrollo de láminas rollizas en taxa no cercanamente relacionados, *Trichocentrum cebolleta* (clado A), *Capanemia superflua* y *Ionopsis satyrioides* (clado H), láminas conduplicadas, carácter que se resolvió como una sinapomorfía para el clado C, láminas uni-faciales en varios taxa también no cercanamente relacionados *Ornithocephalus* (clado D), *Macroclinium bicolor* (clado H), *Erycina pumilio* y *E. pusilla* (clado I) y lámina marginalmente conduplicada, que se resolvió como una sinapomorfía para *Tolumnia* dentro del clado I. Estos cambios de perfil en la lámina se resuelven como convergencias que generalmente están correlacionadas a ambientes cálidos y secos expuestos a la incidencia de altas temperaturas y radiación solar, a una altitud promedio de 500 m s.n.m. o a ambientes generalmente húmedos pero con un microambiente estacionalmente seco, como es el caso de muchas especies epífitas que habitan en altitudes mayores a los 1 500 m s.n.m.

Respecto a la succulencia de las hojas, la condición plesiomórfica y conservada en la subtribu es una hoja no suculenta; temprano en la evolución de la subtribu ocurrió un cambio hacia las hojas

suculentas, que se manifiesta en cuatro de los nueve clados (A, D, H e I). Dentro del clado I, encontramos taxa que tienen hojas no suculentas (*Rhyncho스테le* y *Erycina*). La presencia de hojas suculentas está correlacionada a ambientes cálidos y secos y en algunos casos, a la presencia de células con engrosamientos secundarios en el mesofilo (clado A y *Tolumnia* del clado I). Estas células funcionan como reservorios adicionales de agua que pueden liberar cuando el suministro interno de la misma es bajo, sin poner en riesgo físico los tejidos internos de la planta (Bidwell 1979, Olatunji y Nengim 1980, Benzing 1986, 1990, Pridgeon, 1986, Mohana Rao y Khasim 1987, Sinclair 1987). La presencia de estas células se ha reportado en varias especies de orquídeas epífitas (Pridgeon 1982, 1986, 1987). La suculencia de la hoja también está relacionada con la presencia de una hipodermis adaxial de paredes delgadas y de pseudobulbos extendidos (clado H).

La presencia de un collar cuticular es otro carácter propuesto para tolerar el estrés hídrico en las orquídeas (Ely *et al.* 2007). Su presencia es la condición plesiomórfica para la subtribu y sólo en el clado *Erycina* (clado I) hay un cambio derivando a la ausencia de un collar. El clado *Erycina* es el más derivado de la subtribu, mostrando que de forma reciente algún mecanismo ha propiciado su pérdida y el reemplazamiento de su función para tolerar el estrés hídrico en otras estructuras tales como la presencia de hojas de tamaño relativamente pequeño, un pseudobulbo, estomas sólo en la epidermis abaxial y parénquima esponjoso.

El desarrollo de una hipodermis adaxial surgió en los clados (C, D, E, F, G y H). El número de estratos y sus paredes celulares presentan más de nueve cambios en la subtribu. Estos cambios estructurales están asociados a un cambio en la distribución altitudinal de los taxa dentro de la subtribu. Cuatro de los cinco clados (A, B, H, I) que se localizan por debajo de los 1,500 m s.n.m. suelen no desarrollar una hipodermis, mientras que los taxa que se localizan desde los 1,500 m s.n.m. o más, generalmente desarrollan una hipodermis como posible mecanismo para acumulación, disponibilidad interna de agua y como estabilizadores de la fotosíntesis a través del incremento de la capacidad fotosintética durante las estaciones secas (Schmidt y Kaiser citados en Benzing 1990). Cuando se presenta, la condición inicial es una hipodermis con tres estratos celulares, como se observa en el clado C y en *Fernandezia tica* del clado D. Además, estas especies tienen células hipodérmicas continuas, de paredes delgadas, presentan células buliformes, tienen hojas pequeñas, con un tamaño promedio de 3.5 cm de largo y con una distribución dística a lo largo del tallo, habitan en bosques tropicales, bosques de *Quercus* húmedos o bosques mesófilos de montaña, a una altitud promedio de 1,500 m s.n.m., en ambientes desde cálidos hasta templados o fríos, húmedos y expuestos a una alta insolación.

El cambio hacia una hipodermis con dos estratos se dio en los clado F y G. Sus especies tienen un tamaño de hoja entre 15 a 40 cm siendo las más grandes de la subtribu, habitan en bosques tropicales, bosques mesófilos de montaña o bosques templados, en ambientes desde cálidos, templados a fríos y húmedos o estacionalmente secos, a una altitud promedio entre 1,000 a 1,700 m s.n.m.

A partir de la condición biestratificada, se derivó una hipodermis adaxial con un estrato, como se registró en el clado E. No obstante de que sus especies crecen en ambientes variados, mantienen dicha condición por lo que este carácter parece tener alta inercia filogenética dentro del clado. Sus especies tienen hojas de tamaño mediano (hasta 20 cm), habitan en bosques tropicales, de montaña bajas, en bosques de *Pinus-Quercus*, en ambientes de templados a fríos y húmedos o estacionalmente secos, a una altitud promedio de 1,800 m s.n.m. En los ambientes donde crecen estas especies, durante la mayor parte del año la humedad no parece ser un factor limitante severo, excepto en las estaciones secas; sin embargo, la mayor parte del tiempo pudieran estar expuestas a la incidencia del viento, factor entre otros, que podría generar estrés hídrico. La hipodermis de estas especies además tiene células discontinuas con paredes engrosadas (grosor de 2.5 μm o más). Los atributos de la hipodermis adaxial se han postulado como adaptaciones al estrés hídrico (Benzing 1990, Ely *et al.* 2007) o como estabilizadores de la fotosíntesis a través del incremento de la capacidad fotosintética durante la sequía (Schmidt y Kaiser citados en Benzing 1990). El estrés hídrico pudiera estar superado también con el desarrollo de un pseudobulbo extendido, de tricomas adaxiales, de estomas restringidos a la epidermis abaxial, de un collar cuticular, de paredes laterales internas engrosadas en las células oclusivas y de una hipodermis abaxial. De forma independiente una hipodermis adaxial con un estrato se deriva en varios miembros de los clados G, H e I, cuyas especies tienen hojas de tamaños diferentes y habitan en ambientes variados, en altitudes que van de los 25 a los 2,012 m s.n.m. No obstante que estas especies tienen hojas de diversos tamaños y habitan en ambientes distintos, comparten además otros atributos anatómicos como adaptaciones para tolerar el estrés hídrico.

Otras especies de orquídeas (*Maxillaria miniata* (Lindl.) L.O. Williams y *Pleurothallis cardiantha* Rehb.f.), exhiben caracteres xeromórficos en sus órganos vegetativos. Ambas especies compensan las limitaciones de agua y nutrientes, particularmente durante los breves períodos de sequía, desarrollando la combinación de diferentes estructuras de almacenamiento de agua y carbohidratos. *Maxillaria miniata* presenta pseudobulbos como principales reservorios hídricos, hojas delgadas cartáceas, células epidérmicas de paredes engrosadas, hipodermis adaxial biestratificada y abaxial uniestratificada, clorénquima homogéneo con haces bien desarrollados, abundante esclerénquima, y

cristales asociados a epidermis y esclerénquima. En contraste, *Pleurothallis cardiantha* presenta hojas suculentas a coriáceas, epidermis adaxial papilosa, mesofilo heterogéneo, haces pequeños, poco desarrollados e hipodermis acuífera pluriestratificada en ambas caras, que junto con los idioblastos acuíferos del clorénquima constituyen los tejidos de reserva de agua (Ely *et al.* 2007).

Estrés lumínico

Si consideramos que la mayoría de las especies de Oncidiinae son epífitas que habitan en ambientes donde la radiación solar pudiera ser una limitante, estas especies han desarrollado caracteres estructurales que parecen ser ventajas adaptativas para resolver el estrés lumínico. Por ejemplo, la presencia de láminas dorso-ventralmente extendidas, que es la condición plesiomórfica para la subtribu. Estas hojas generalmente están correlacionadas con caracteres que mantienen la lámina en una posición erguida (hipodermis con células engrosadas, haces de fibras en varios estratos, etc.), exponiendo la mayor parte de su superficie foliar a la radiación solar, posiblemente incrementando su capacidad fotosintética. Como un carácter derivado, *Tolumnia* (clado H) ha evolucionado hacia un perfil de lámina marginalmente conduplicada, este perfil de lámina está correlacionado con la suculencia y presencia de parénquima en empalizada, cuyas células están compactas y dispuestas en varios estratos, con abundantes cloroplastos y sin espacios intercelulares; estos caracteres están asociados a una eficiente captación de radiación solar (Mauseth 1988).

Las especies que derivaron hacia un perfil de lámina uni-facial, lo han hecho de manera independiente en varios clados no cercanamente relacionados (D, H, I), esta misma tendencia también ha sido observada en otro grupo de monocotiledóneas (Tomlinson 1961, Horn *et al.* 2009). Los taxa que poseen este tipo de hoja generalmente se encuentran en vegetaciones abiertas o climas secos o estacionalmente secos (Dransfield *et al.* 2008), hábitats donde su anatomía distintiva confiere beneficios adaptativos (Smith *et al.* 1997, Evans y Vogelmann 2006, Horn *et al.* 2009). Las hojas con láminas uni-faciales contienen estomas y mesofilo en empalizada, generalmente ubicados en ambas superficies; esta organización estructural puede maximizar la distribución del dióxido de carbono (Mott *et al.* 1982, Slaton y Smith 2002) y la luz (Vogelmann y Martin 1993, Vogelmann *et al.* 1996) dentro de la lámina. En ambientes con alta luminosidad, las hojas uni-faciales son capaces de lograr mayores rangos de fotosíntesis por unidad de biomasa en comparación con las hojas dorsi-ventrales (Smith *et al.* 1997).

Otros caracteres presentes en las especies de Oncidiinae, que además de otras funciones contribuyen a tolerar el estrés lumínico son la ubicación y disposición de las hojas en el ápice del tallo, las papilas adaxiales y abaxiales, la presencia de una hipodermis adaxial y los haces de fibras abaxiales. Estos caracteres pudieron verse favorecidos y seleccionados para contribuir a resolver el estrés lumínico, ya que están presentes en varias de las especies de Oncidiinae. La mayoría de las especies de Oncidiinae tienen sus hojas ubicadas en el ápice del tallo para captar mayor cantidad de radiación solar; además, algunas especies de *Ornithocephalus* (clado D), *Macroclinium* (clado H) y *Erycina* (clado I) derivaron hacia un hábito psigmoide y distribuyen sus hojas como abanico, permitiendo una mayor captación de radiación solar.

Resistencia mecánica

Las plantas vasculares han desarrollado el esclerénquima como el principal tejido que confiere soporte mecánico interno a sus órganos (Mauseth 1988, Dickison 2000) y las epífitas no son la excepción. A nivel de sus hojas y tallos, se observa el desarrollo de esclerénquima principalmente en los haces de fibras vasculares y no vasculares. Otros mecanismos que también confieren soporte mecánico son el desarrollo de paredes lignificadas en las células de la epidermis, de la hipodermis o del mesofilo.

Los haces de fibras funcionan como esqueletos internos, estas células refuerzan las hojas tanto material y conjuntamente a través de sus propiedades estructurales y asumen mucho de la capacidad de carga que lleva la lámina (Vincent 1982, 1991, Read y Stokes 2006).

Dentro de Oncidiinae, el desarrollo de haces de fibras no vasculares abaxiales es un carácter plesiomórfico y sólo en dos de sus clados (D e I) derivó la pérdida de los mismos. Cuando se presentan, su número de estratos ha cambiado en diversos momentos de la evolución de la subtribu. El número de estratos guarda una relación con algunos de los clados resueltos para la subtribu. La condición plesiomórfica es tres o más estratos y está presente en cuatro clados (A, B, E, H).

Tres o más estratos es un carácter común a los taxa del clado E, por lo que pudiera existir inercia filogenética; sus especies tienen hojas relativamente grandes (12 a 32 cm), crecen en ambientes templados a fríos, desde húmedos a estacionalmente secos, a una altitud promedio cercana a los 2,000 m s.n.m. Bajo estas condiciones ambientales, la presencia de haces de fibras en varios estratos parece ser una adaptación para resistir la incidencia de fuertes vientos, como ha sido reportado en otras monocotiledóneas (Rundel *et al.* 1998, Horn *et al.* 2009).

La derivación hacia la condición de un estrato de haces de fibras abaxiales se dio temprano en la evolución de Oncidiinae, en el clado C y posteriormente de forma independiente en tres clados más (G, H, I). Excepto por el clado G, los otros clados con un estrato de haces de fibras abaxiales tienen hojas relativamente pequeñas, menos de 14 cm que requieren de poco soporte mecánico. Parece existir una relación entre el tamaño de las hojas y el número de estratos de los haces de fibras abaxiales no vasculares, ya que a menor tamaño de hoja menor número de estratos y viceversa. Finalmente, la pérdida de los haces de fibras abaxiales también es derivada, como se puede observar en alguna de las especies de tres clados (A, D, I). En dos de ellos como un carácter constante (D y *Erycina cristagalli*/*E. pusilla* del clado I). Esta función de soporte se ve reemplazada por el desarrollo de una zona abaxial central carinada (clado D y *Erycina cristagalli*/*E. pusilla*) que también cumple una función biomecánica en las plantas; o a través de la reducción en el tamaño de sus hojas, disminuyendo el requerimiento de soporte mecánico. Si consideramos que la síntesis de lignina para el reforzamiento de la pared de las fibras requiere una alta inversión de recursos (Chabot y Hicks 1982, Chapin 1989, Niklas 1992, 1997), el desarrollo de otras estrategias que también confieren soporte biomecánico y que además reducen la necesidad de un alto volumen de tejido lignificado para el soporte estructural, puede postularse como una ventaja adaptativa dentro de las Oncidiinae. La ausencia de fibras dentro de la lámina o un reducido volumen de ellas tiene el beneficio potencial adicional de incrementar la fracción de masa relativa de tejido clorenquimatoso en el mesofilo, el cual está asociado con una más alta tasa fotosintética (Garnier *et al.* 1999, Niinemets *et al.* 2007).

La hipodermis y la condición de sus paredes celulares también cumplen una función biomecánica en las plantas (Horn *et al.* 2009). La condición inicial en la hipodermis adaxial para la subtribu fue células de paredes delgadas y esto caracteriza a la mayoría de las especies de Oncidiinae. A partir de este estado, se dio un cambio hacia la condición de hipodermis con paredes engrosadas que caracterizan al clado E, lo que se correlaciona con la distribución discontinua de sus células. Ambas condiciones pudieran dar resistencia y flexibilidad a la hoja al mismo tiempo, lo que pudiera significar una ventaja adaptativa en especies expuestas a la incidencia de fuertes vientos, propios de los ambientes de alta montaña (cerca de los 2,000 m s.n.m.) en donde habitan. Estos caracteres parecen ser constantes en el clado y tener inercia filogenética, ya que aún cuando algunas de sus especies habitan en lugares de menor altitud y menor incidencia de viento, también desarrollan paredes engrosadas y discontinuas en la hipodermis. La condición de paredes engrosadas también está presente en otras especies de los clados F y G, cuyas especies tienen hojas de tamaño promedio relativamente grande

(15-41 cm), viven en bosques tropicales, bosques de tierras bajas y bosque mesófilo de montaña, en ambientes cálidos a templados, húmedos o estacionalmente secos, a una altitud promedio de 1,407 m s.n.m. Posiblemente estas especies no están expuestas a fuertes vientos; sin embargo, dado que habitan en sitios parcialmente sombreados, la presencia de paredes engrosadas puede funcionar como soporte mecánico que les permite mantener erguidas a sus hojas como una ventaja adaptativa para hacer eficiente la captación de luz y la actividad fotosintética.

Cambios evolutivos en los caracteres

En la subtribu Oncidiinae se observan principalmente cuatro escenarios de adaptación como los definen Brooks y McLennan (2002), para responder a las diferentes presiones ambientales. Estos escenarios de adaptación consideran las posibles relaciones entre los caracteres o estados de carácter y los taxa; así encontramos cuatro escenarios: 1. Conservación filogenética del nicho; 2. Adaptación convergente; 3. Adaptación divergente; 4. Diversificación.

La conservación filogenética del nicho es cuando taxa relacionados mantienen caracteres o estados similares durante su evolución. Es decir un mismo carácter o estado se mantiene constante dentro de grupos relacionados que muestran alta inercia filogenética, independientemente de las condiciones ambientales, y puede o no responder a una misma presión ambiental. Ejemplos de ellos son la ramificación simpodial, la presencia de un tallo tipo pseudobulbo con un solo entrenudo, las hojas ubicadas hacia el ápice del tallo, los estomas ubicados sólo en la superficie abaxial, entre otros (Cuadro 2).

Se habla de adaptación convergente cuando ciertos caracteres o estados similares se presentan en varios grupos de especies filogenéticamente no relacionados y de igual forma funciona para responder a una presión ambiental similar. Por ejemplo, la disposición de las hojas como abanico en el tallo para una mayor captación de luz; la presencia de papilas adaxiales y abaxiales también para una mayor captación de luz; la succulencia de la lámina foliar para disponibilidad de agua en los tejidos internos de la hoja; la presencia de células con engrosamientos secundarios en el mesófilo como reservorios adicionales de agua para tolerar el estrés hídrico en la época de secas (Cuadro 2).

El tercer escenario de adaptación es la adaptación divergente y se da cuando taxa relacionados presentan caracteres o estados de carácter no similares para responder a una similar presión ambiental. Por ejemplo, dentro del clado I, *Tolumnia* ha reducido la superficie de evapotranspiración a través del desarrollo de hojas con láminas marginalmente conduplicadas, mientras que *Erycina* y *Rhynchostele*

almacenan cantidades adicionales de agua a través del desarrollo de células con engrosamientos secundarios, ambos mecanismos para tolerar el estrés hídrico. La mayoría de los caracteres analizados en esta subtribu caen dentro de este escenario de adaptación y los clados que presentan este escenario son los D, E, F, G, y con mayor frecuencia los H e I (Cuadro 2).

El cuarto escenario es la diversificación, se presenta cuando taxa no cercanamente relacionados tienen caracteres o estados de carácter distintos. Ejemplos de ellos son el perfil de la lámina foliar y el número de estratos celulares en la hipodermis adaxial. Sólo dos de los caracteres analizados están en esta categoría de escenario (Cuadro 2).

Es interesante observar que los clados con mayor número de cambios, respecto al total de caracteres estructurales analizados, son los clados D, H e I, mientras que los restantes seis clados registran un menor número de cambios. Si anagénesis es un reflejo del rango de cambios adaptativos a lo largo de una rama y si el número de homologías que distingue a un grupo monofilético representa un índice de anagénesis avanzada (Patterson 1982), entonces los clados monofiléticos D, H e I, con mayor número de cambios adaptativos y homologías son clados avanzados, mientras que el resto de los clados con menor número de cambios adaptativos y menos homologías, son más conservados.

Llama la atención que los taxa del clado I con 40 cambios, ocupan una amplia diversidad ambiental; por ejemplo, *Tolumnia* crece en ambientes cálidos, secos y con alta insolación, *Rhynchostele* en ambientes de cálidos a templados húmedos o estacionalmente húmedos y sombríos, mientras que *Erycina* se encuentra en una amplia variación ambiental, pues hay especies que crecen en ambientes cálidos y secos (*E. cristagalli*, *E. echinata*), hasta especies de ambientes húmedos (*E. hyalinobulbon*, *E. pumilio*, *E. pusilla*). En este clado, sólo 27% de los caracteres analizados parecen tener inercia filogenética porque se mantienen sin cambios. Por otro lado, las condiciones ambientales y altitudinales contrastantes dentro del clado pudieran estar influyendo significativamente en la diversidad estructural observada en el resto de los caracteres analizados dentro de este clado.

El clado H con 30 cambios también incluye especies que habitan ambientes contrastantes, desde templados a cálidos, húmedos o secos con una amplia distribución altitudinal, desde el nivel del mar hasta los 2,500 m s.n.m. Los taxa de este clado se caracterizan por tener historias de vida corta, es decir, alcanzan la edad reproductiva en una sola estación, mientras que el resto de las Oncidiinae requiere varios años (Chase y Palmer 1997). Esta condición se ha interpretado como una adaptación a las adversas condiciones ambientales en las que crecen estas especies, adaptaciones que han estado

acompañadas de cambios en sus caracteres estructurales, ya que poco más del 50% de los caracteres analizados fueron variables dentro del clado.

Por otro lado, el clado D con 25 cambios se caracteriza por presentar una ramificación monopodial, succulencia en la hoja, ausencia de tricomas, de haces de fibras abaxiales y de estérgatos en haces vasculares. Estas especies han podido invadir tierras altas (hasta los 3,200 metros), en donde las condiciones ambientales suelen ser extremosas; no obstante, bajo estas condiciones ambientales extremas más del 50% de los caracteres analizados parecen tener inercia filogenética ya que se mantuvieron sin cambios dentro del clado.

El presente estudio permite ilustrar cómo la información morfológica y anatómica puede ser analizada desde una perspectiva evolutiva a través del uso de una metodología explícita, en combinación con un entendimiento filogenético robusto del grupo en estudio. De esta manera, las tendencias evolutivas dentro de la subtribu pueden ser percibidas de forma clara. Se ha demostrado que a pesar de las homoplasias, se puede reconocer que a medida que las Oncidiinae han evolucionado, se han realizado cambios progresivos en sus caracteres estructurales. Algunos cambios han permitido la tolerancia al estrés hídrico o lumínico o parecen ser de significancia biomecánica, lo que ha permitido que las especies invadan nuevos hábitat en latitudes y altitudes mayores, de tal forma que su distribución geográfica no se ve limitada a los ambientes donde se originó la subtribu.

Conclusiones:

De forma global, este análisis indica como la evolución correlacionada entre un número de caracteres estructurales ha producido sorprendentes similitudes en la morfología y anatomía entre linajes no relacionados de Oncidiinae. Lo anterior lleva a pensar que tales similitudes más bien son resultado de convergencias anatómicas que pudieran operar como unidades funcionales alternativas en una sintonía organizada entre dos o más caracteres involucrados y para distintos taxa.

La radiación desde los ambientes cálidos y secos o estacionalmente secos a los templados o fríos y húmedos ha promovido la especiación en Oncidiinae. Esta es una faceta importante en la macroevolución de la subtribu, porque la mayoría de los cambios estructurales registrados parecen ser adaptaciones divergentes. Ejemplos de esto ocurre en los clados *Fernandezia/ Ornithocephalus/ Telipogon* (D), *Rodriguezia* (H) y el clado *Erycina/Rhynchostele/Tolumnia* (I), que tienen el mayor número de cambios estructurales registrados para la subtribu. Así mismo, la evolución del perfil de la lámina en las Oncidiinae proporciona un claro ejemplo de la importancia de la diversificación

estructural como un mecanismo macroevolutivo para responder a los cambios ambientales a través del tiempo.

A lo largo de la evolución de los caracteres estructurales en Oncidiinae, se desarrollaron estrategias evolutivas que permitieron la diversificación de sus especies para ocupar distintos ambientes climáticos y altitudinales.

Las adaptaciones divergentes, la conservación filogenética del nicho y las adaptaciones convergentes parecen ser los principales escenarios de adaptación en la subtribu Oncidiinae.

Cuadro 5.1. Condición de los caracteres estructurales analizados en la filogenia de Oncidiinae, de acuerdo a un criterio de optimización ACCTRAN o DELTRAN según fue el caso.

Carácter	Plesiomórfica	Apomórfica
Ramificación del tallo	Simpodial	Monopodial
Tipo de tallo	Pseudobulbo	Rollizo
Crecimiento del pseudobulbo	Muy evidente	Reducido, Ausente
Variación del número de entrenudos en el tallo por módulo	Uno	Dos o más
Ubicación de las hojas en el tallo	Hacia el ápice	A lo largo
Disposición de las hojas en el tallo	Otros	Dísticas, En forma de abanico
Suculencia de la lámina	No suculenta	Suculenta
Perfil de la lámina en sección transversal	Dorso-ventralmente extendida	Rolliza Conduplicada Uni-facial Marginalmente conduplicada
Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en la lámina foliar	Presentes	Ausentes
Apéndices epidérmicos abaxiales como papilas en la lámina foliar	Presentes	Ausentes

Carácter	Plesiomórfica	Apomórfica
Tricomas no glandulares en epidermis adaxial en la lámina foliar	Presentes	Ausentes
Glándulas	Ausentes	-
Ubicación de estomas en la lámina foliar	Hipostomática	Anfistomática
Collar cuticular en estoma	Presente	Ausente
Apertura del collar cuticular en estoma	Longitudinal	Transversal
Grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas (μm)	Más de 2.5 en grosor	Hasta de 2.5 en grosor
Hipodermis adaxial en la lámina foliar	Ausente	Presente
Grosor de las paredes celulares de la hipodermis adaxial (μm)	Menos de 2.5	De 2.5 o más
Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial	Continuos	Discontinuos
Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial	Tres	Dos, Uno
Hipodermis abaxial	Ausente	Presente
Células del mesofilo como parénquima en empalizada	Ausentes	Presentes
Células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial	Ausentes	Presentes
Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo	Ausentes	Presentes
Células buliformes	Ausentes	Presentes
Ubicación de las células buliformes	Zona central adaxial	-
Zona central abaxial de la lámina foliar	Carinada	Convexa

Carácter	Plesiomórfica	Apomórfica
Número de estratos de haces vasculares en la zona central	Uno	Dos
Número de estratos de haces vasculares en la lámina	Uno	Dos o más
Haces de fibras adaxiales en la lámina foliar	Ausentes	-
Haces de fibras abaxiales en la lámina foliar	Presentes	Ausentes
Número de estratos de haces de fibras abaxiales	Tres o más	Dos, Uno
Estérgmatos en los haces vasculares	Presentes	Ausentes
Estérgmatos en los haces de fibras abaxiales	Presentes	Ausentes
Cristales prismáticos en el mesofilo	Ausentes	Presentes
Cristales como drusas en el mesofilo	Ausentes	Presentes
Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal	Ausentes	Presentes

Cuadro 5.2. Escenarios de adaptación para los 37 caracteres estructurales de *Oncidiinae*.

TAXA	
CARACTERES	RELACIONADOS
SIMILARES	<p><u>Conservación filogenética del nicho</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Ramificación simpodial en el tallo Tallo tipo pseudobulbo Un entrenudo en el tallo Hojas hacia el ápice del tallo Tricomas no glandulares Hojas hipostomáticas Presencia de collar cuticular Pared lateral interna de las células oclusivas muy engrosada Hipodermis adaxial Parénquima en empalizada en el mesofilo Un estrato de haces vasculares en la lámina Haces de fibras abaxiales Presencia de estégmatos en haces vasculares y en haces de fibras no vasculares Cristales como drusas
NO SIMILARES	<p><u>Adaptación divergente</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Pseudobulbo extendido/reducido, clado I Lámina succulenta/no succulenta, clados H e I Perfil de lámina foliar, clados D, H e I Epidermis adaxial y abaxial con papilas/sin papilas, clados H e I Epidermis adaxial con tricomas/sin tricomas, clado I Collar cuticular presente/ausente, clado I Pared lateral interna de céls. Oclusivas muy engrosada/poco engrosada, clado I Hipodermis adaxial presente/ausente, clados H e I Paredes celulares en hipodermis adaxial delgadas/engrosadas, clados F y G Distribución, estratos celulares en hip. adaxial continuos/discontinuos, clado H Hipodermis abaxial presente/ausente, clados E, G, H e I Mesofilo como parénquima en empalizada presente/ausente, clado H e I Células con engrosamientos sec. en mesofilo presentes/ausentes, clados G e I Células bulbiformes presentes/ausentes en clado H e I. Zona central carinada/conveza, clado H Número de estartos celulares de haces de fibras abaxiales, clados G, H e I.
	<p><u>NO RELACIONADOS</u></p> <p><u>Adaptación convergente</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Reducción del pseudobulbo Hojas dispuestas como abanico Suculencia de la lámina foliar Perfil de lámina unifacial o rolliza Papilas adaxiales y abaxiales Paredes celulares de la hipodermis adaxial engrosadas Estratos celulares discontinuos en la hipodermis adaxial Hipodermis abaxial Células con engrosamientos secundarios en hipodermis adaxial Células con engrosamientos secundarios en mesofilo Dos estratos de haces vasculares en la zona central Cristales prismáticos Espacios aéreos. <p><u>Diversificación</u></p> <ul style="list-style-type: none"> Perfil de lámina foliar Número de estratos celulares en hipodermis adaxial

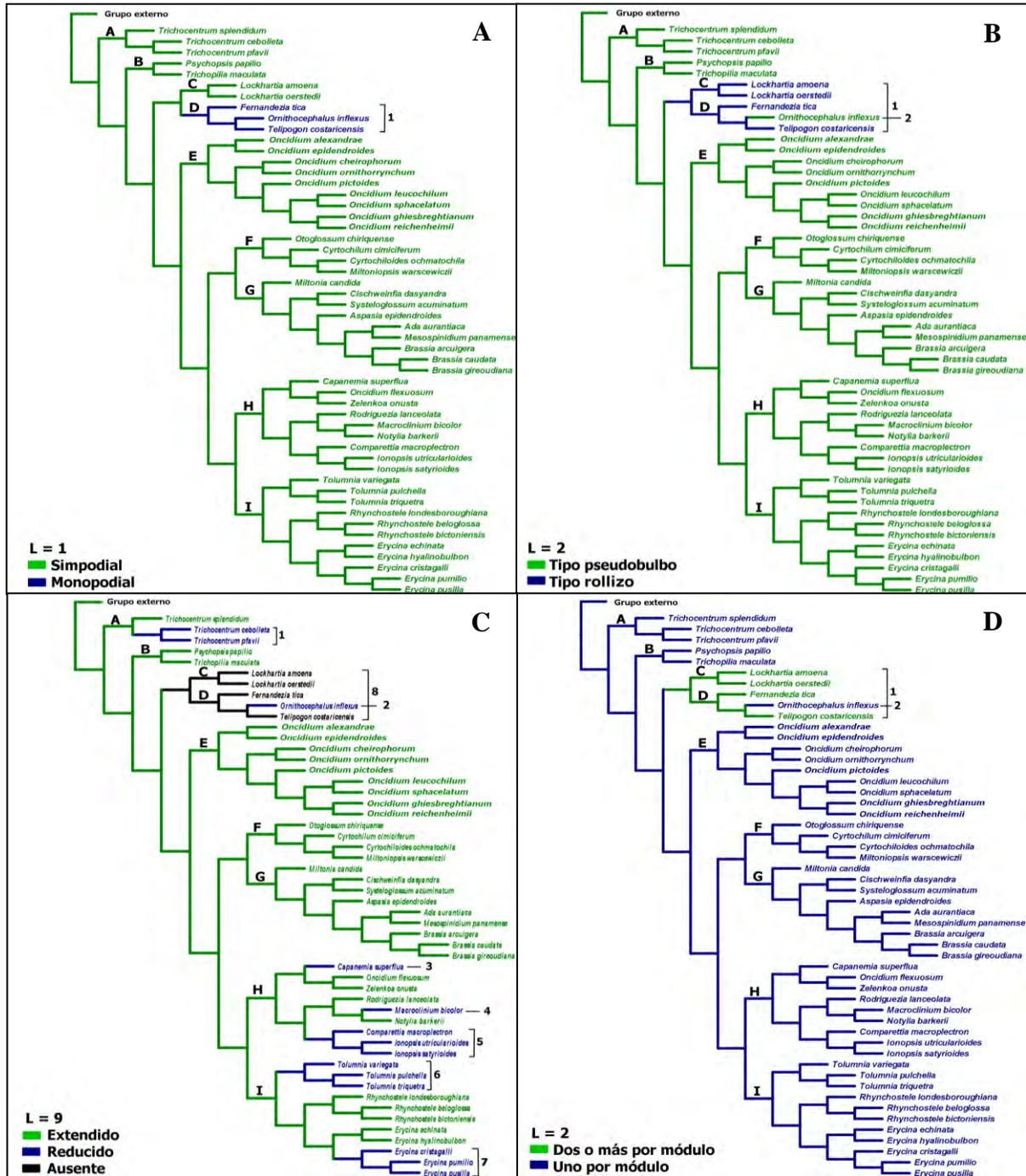


Figura 5.1. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Ramificación del tallo. B. Tipo de tallo. C. Crecimiento de pseudobulbo. D. Número de entrenudos en el tallo.

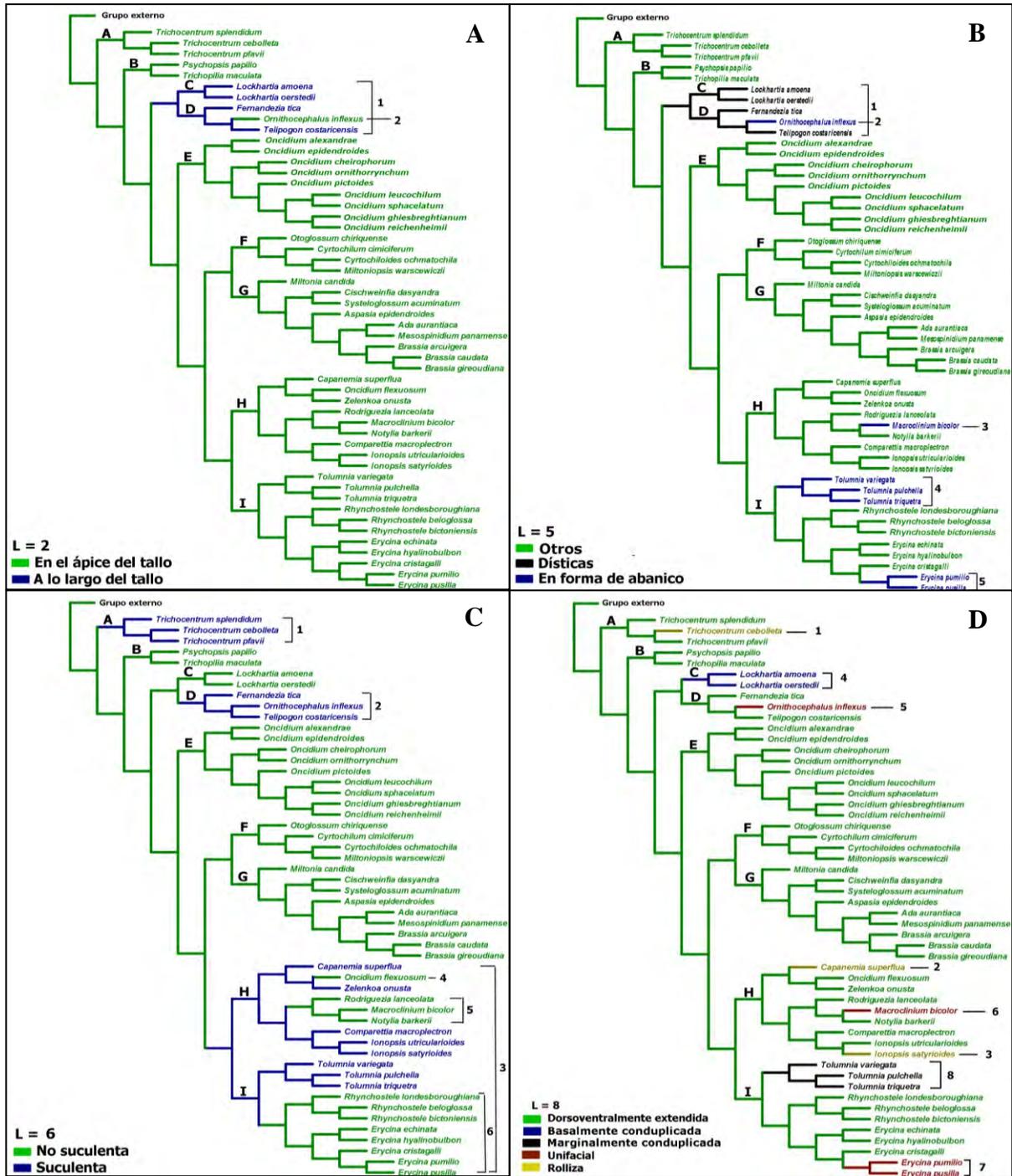


Figura 5.2. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Ubicación de las hojas en el tallo. B. Disposición de las hojas en el tallo. C. Suculencia de la lámina foliar. D. Perfil de la lámina en sección transversal.

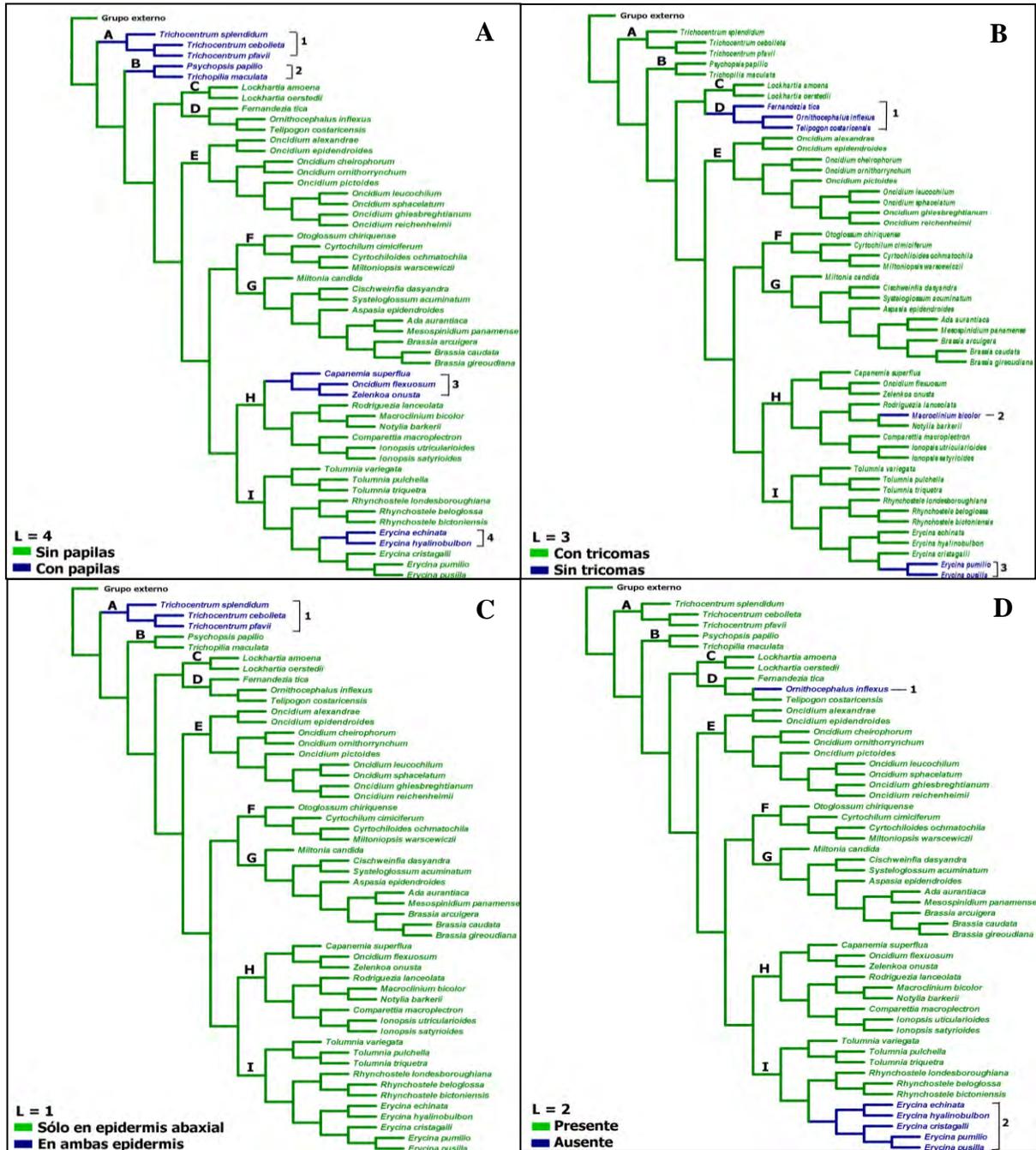


Figura 5.3. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en la lámina foliar. B. Tricomas no glandulares en epidermis adaxial. C. Ubicación de estomas en la lámina foliar. D. Collar cuticular en estoma.

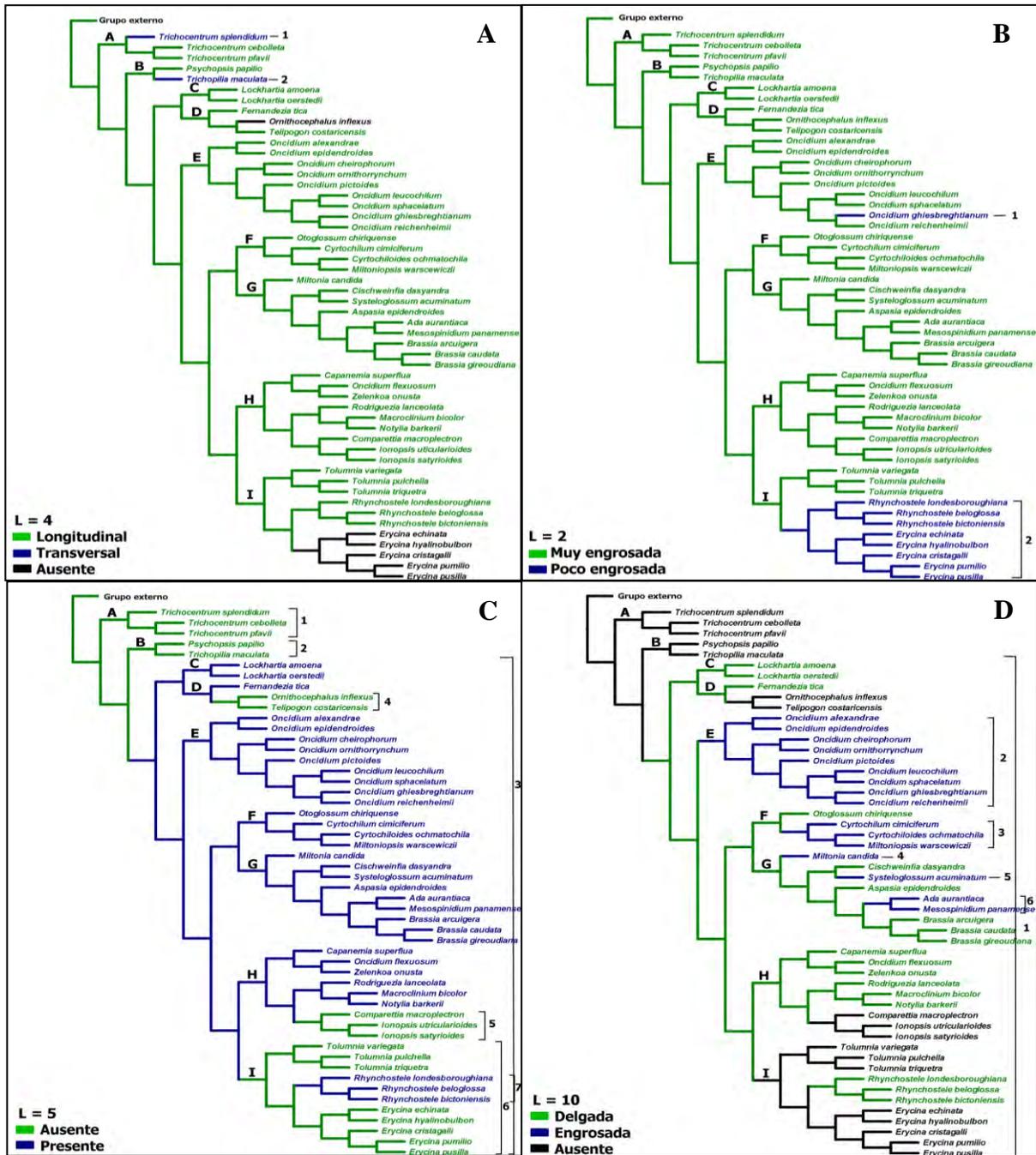


Figura 5.4. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Apertura del collar cuticular en estoma. B. Grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas. C. Hipodermis adaxial en la lámina foliar. D. Grosor de las paredes celulares de la hipodermis adaxial.

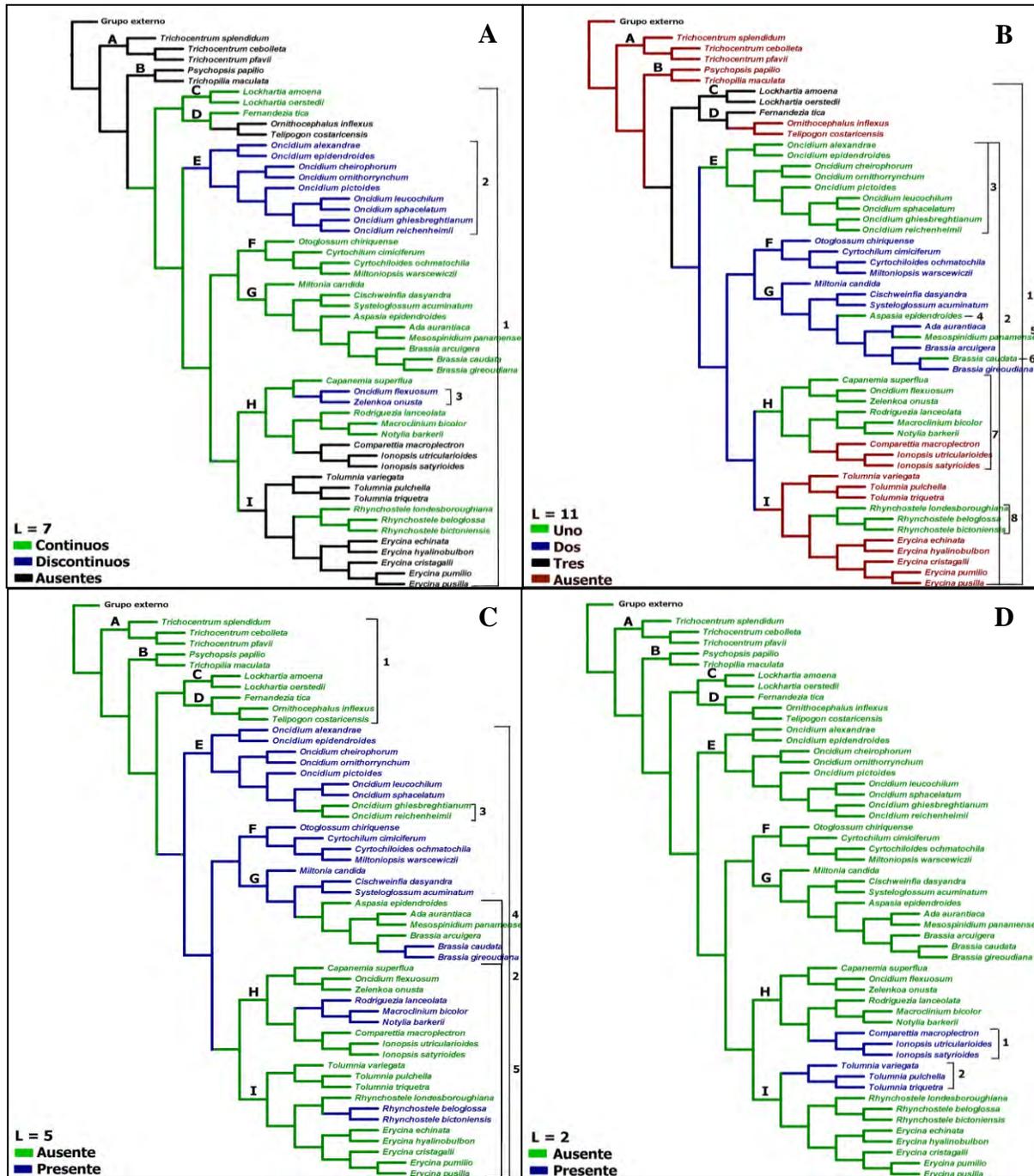


Figura 5.5. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial. B. Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial. C. Hipodermis abaxial. D. Células del mesofilo como parénquima en empalizada.

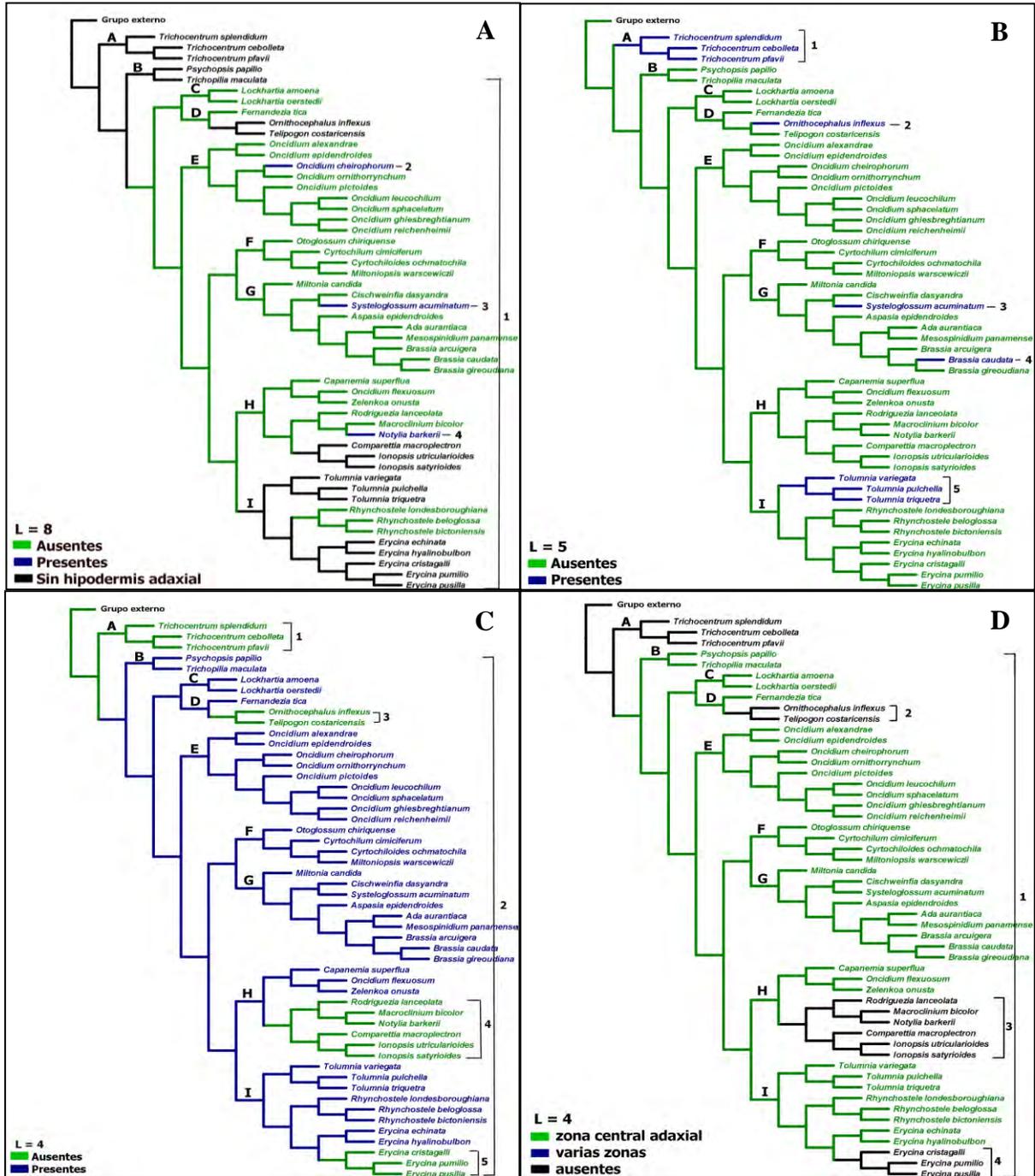


Figura 5.6. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial. B. Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo. C. Células buliformes. D. Ubicación de las células buliformes.

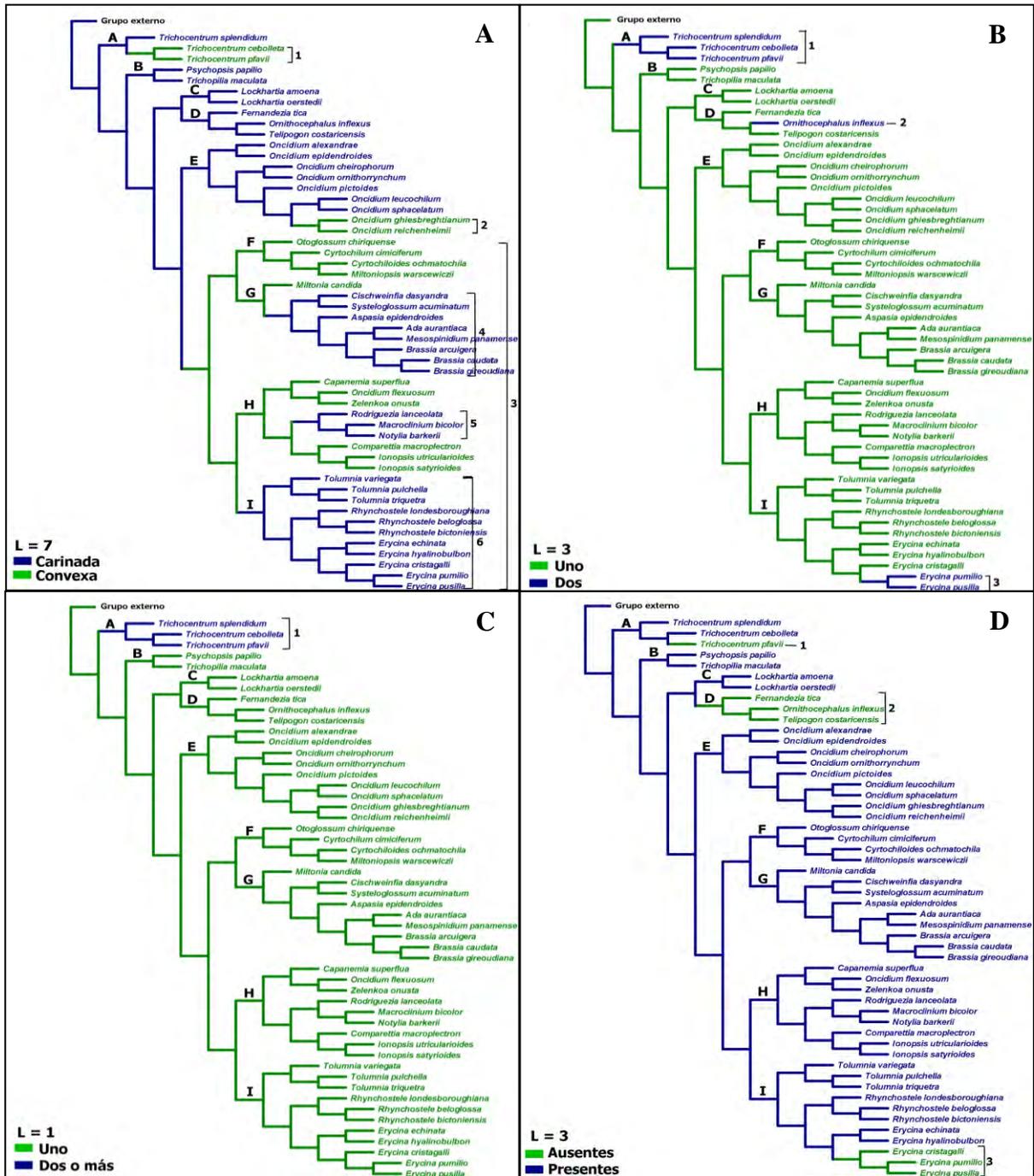


Figura 5.7. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Zona central abaxial de la lámina foliar. B. Número de estratos de haces vasculares en la zona central. C. Número de estratos de haces vasculares en la lámina. D. Haces de fibras abaxiales en la lámina.

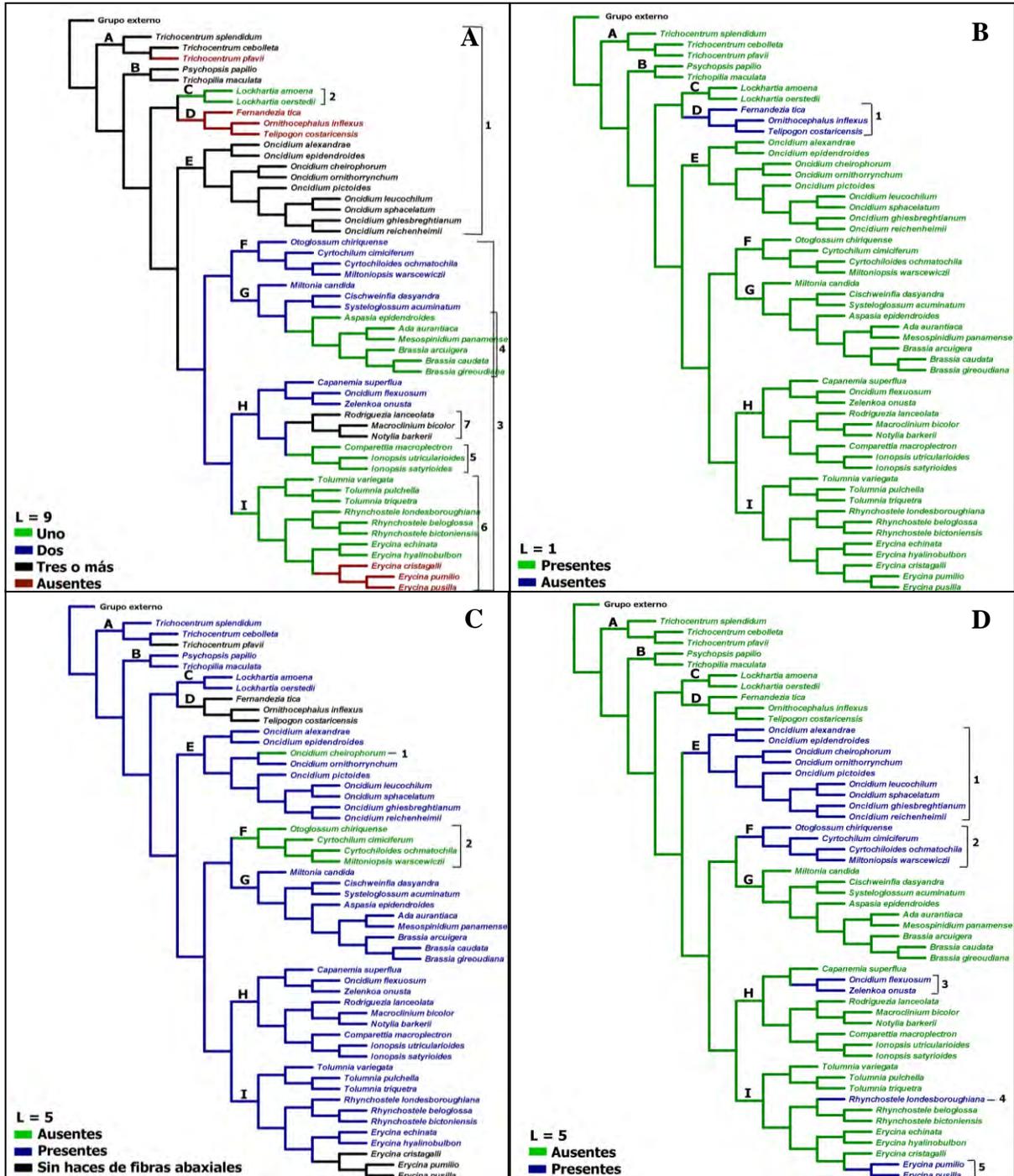


Figura 5.8. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Número de estratos de haces de fibras abaxiales. B. Estégnatos en los haces vasculares. C. Estégnatos en los haces de fibras abaxiales. D. Cristales prismáticos en el mesofilo.

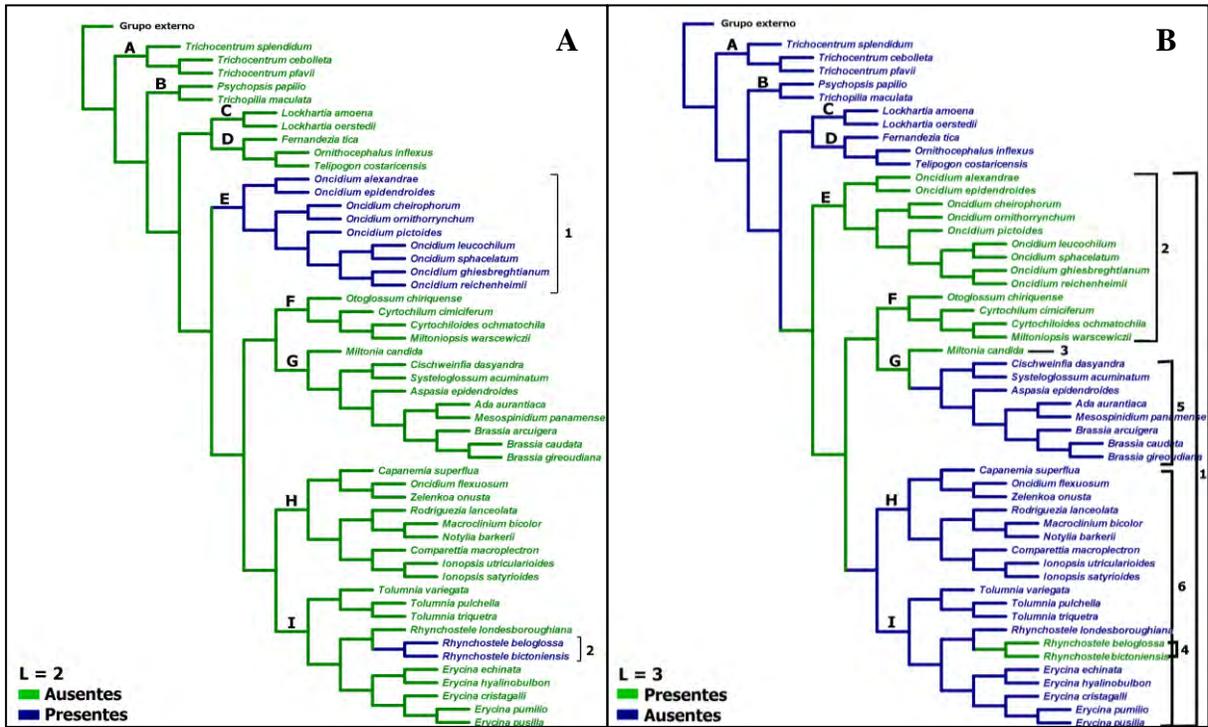


Figura 5.9. Evolución de caracteres morfológicos en Oncidiinae usando el criterio de máxima parsimonia. Inferencia apoyada sobre uno de dos árboles más parsimoniosos obtenidos a partir del análisis cladístico de la subtribu Oncidiinae, basada en dos regiones nucleares y caracteres estructurales. L = número de cambios en la subtribu. Las barras y corchetes (con números a la derecha) indican clados discutidos en el texto. A. Cristales como drusas en el mesofilo. B. Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal.

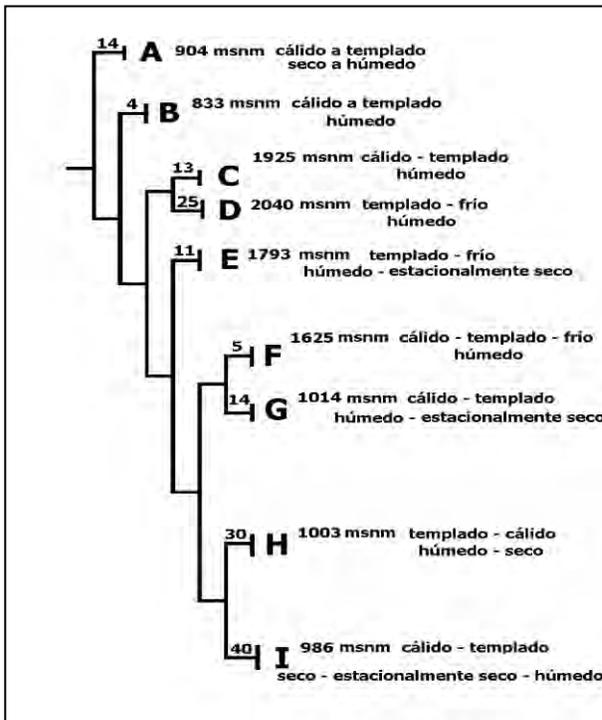


Figura. 5.10. Gradiente altitudinal y parámetros ambientales de cada clado recuperado para Oncidiinae; los números por encima de las ramas indican el número de cambios respecto a los 37 caracteres estructurales analizados.

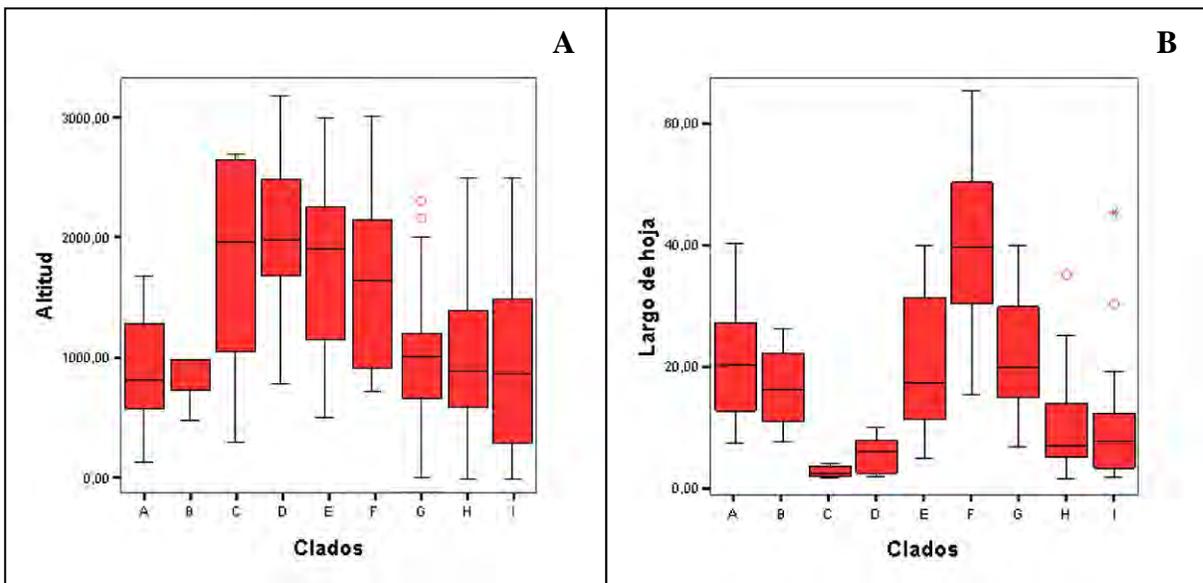


Figura 5.11. A y B Gráfica de caja. A. Intervalos de altitud de los nueve clados obtenidos para Oncidiinae, media, una desviación estándar e intervalo (mínimo-máximo). B. Intervalos de longitud de hoja de los nueve clados obtenidos para Oncidiinae, media, una desviación estándar e intervalo (mínimo-máximo).

CAPÍTULO 6



CONCLUSIONES GENERALES

Este trabajo analiza desde el punto de vista filogenético la importancia que 37 caracteres estructurales tienen en la sistemática de Oncidiinae, permitió la evaluación de caracteres tradicionalmente enfatizados y la corroboración de algunos de ellos como caracteres sistemáticamente informativos. Es el primer trabajo en analizar desde un punto de vista sistemático y a nivel de la lámina foliar, los tricomas no glandulares, el collar cuticular y su apertura, el grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas, la forma de la zona central abaxial, los contenidos minerales y los espacios aéreos en el mesofilo de la región basal en la subtribu; así mismo, es el primero en analizar los posibles patrones evolutivos para los 37 caracteres estructurales a partir de una propuesta filogenética robusta.

A excepción de las glándulas y de los haces de fibras adaxiales, que no son sistemáticamente informativos, el resto de los caracteres estructurales estudiados mostraron ser útiles porque apoyan sistemas de clasificación previos. El análisis filogenético, permitió obtener una hipótesis filogenética en donde se resuelven relaciones de hermandad, que no habían sido reportadas en trabajos previos de Williams *et al.* (2001a, 2001b). Esta hipótesis apoya el postulado de considerar a Oncidiinae como un grupo monofilético, apoyado por la presencia de papilas epidérmicas adaxiales y abaxiales en la hoja. La inclusión de los géneros *Ornithocephalus* y *Telipogon* como miembros de esta subtribu también es apoyado. Los géneros *Brassia*, *Erycina*, *Lockhartia*, *Tolumnia* y *Trichocentrum* se recuperan monofiléticos como lo había sugerido Williams *et al.* (2001a); no obstante *Brassia* no es apoyada por los caracteres estructurales ahora analizados. También se ratifica el reconocimiento de *Cyrtochilum* y la reubicación de varias especies de *Oncidium* en otros géneros.

El análisis combinado recuperó una filogenia estable, con sólo dos árboles más parsimoniosos con una diferencia mínima entre ellos, la posición de *Oncidium pictoides*. La gran diferencia entre el presente análisis y el realizado por Williams (2001a), es que en el primero se recuperan cuatro relaciones de hermandad que no se establecen en el segundo. A través de los análisis combinados y simultáneos, se pone en evidencia que los caracteres estructurales son significativos en la filogenia de Oncidiinae e importantes en el establecimiento de las relaciones de sus grupos y se muestra que aportan información valiosa para producir clasificaciones naturales a diferencia de los reproductivos con los cuales se habían generado clasificaciones artificiales. Se concluye que varios de los clados en Oncidiinae están soportados por caracteres estructurales. A través de este estudio se demuestra que el reunir un mayor número de evidencias y realizar análisis combinados y simultáneos, permite recuperar “señal filogenética secundaria” y maximizar el poder explicativo de los datos utilizados y la aceptación o rechazo de las hipótesis resultantes en el análisis filogenético, como Nixon y Carpenter (1996) lo propusieron. La filogenia obtenida puede ser considerada como una hipótesis robusta de relaciones evolutivas en Oncidiinae, debido a su alta resolución y soporte Jackknife obtenidos para la mayoría de los clados resueltos. Este estudio por lo tanto confirma la efectividad de combinar conjuntos de datos independientes para los estudios filogenéticos, como Qiu y colaboradores (1999) propusieron. Los resultados del presente estudio destacan la importancia que los caracteres estructurales tienen al ratificar las relaciones filogenéticas de Oncidiinae y sugieren que estos caracteres deberían ser incluidos en estudios posteriores para evaluar las relaciones filogenéticas de otros grupos de Orchidaceae y de plantas en general.

Por otro lado, es el primer trabajo que documenta la diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae, destaca la diversidad y abundancia de las inclusiones minerales, así como su importancia en la sistemática de la subtribu. Oncidiinae se caracteriza por tener una amplia diversidad de formas cristalinas. La presencia y ubicación de las diferentes formas cristalinas en Oncidiinae son caracteres que pueden ser sistemáticamente informativos a diferentes niveles, clados, géneros o especies. Se definen y reportan los cristales concéntricos y las placas radiales como dos nuevas formas de cristales para Oncidiinae.

La presencia de estégmatos en los haces vasculares y en los haces de fibras abaxiales es un carácter común a la mayoría de los clados de Oncidiinae y su presencia es constante para la mayoría de los géneros con más de una especie estudiados; no obstante, es la primera vez que se reporta la ausencia de estégmatos en los haces de fibras abaxiales de algunos taxa. Estos caracteres surgieron

tempranamente y se han mantenido a través de la evolución de Oncidiinae; no obstante, la presencia de estégnatos en los haces vasculares y haces de fibras es variable en los géneros *Cyrtochilum*, *Otoglossum*, *Trichocentrum* y *Trichopilia*.

Del análisis sobre los patrones de evolución de los 37 caracteres estructurales se concluye que la mayoría han tenido cambios a lo largo de la evolución de la subtribu mientras que seis caracteres relacionados con el tipo de tallo, el perfil de la lámina, atributos de la hipodermis adaxial y de las fibras abaxiales han tenido un mayor número de cambios. Los cambios que estos caracteres han manifestado han sido postulados como ventajas adaptativas en los diferentes grupos de Oncidiinae haciendo posible que invadan nuevos ambientes y contribuyendo a la diversificación en la subtribu. Las Oncidiinae, como muchas otras orquídeas epífitas, han desarrollado especializaciones vegetativas para almacenar agua y restringir la transpiración; la succulencia es común entre las monocotiledóneas como un mecanismo desarrollado para cubrir las demandas de las condiciones xéricas, pero dentro de las orquídeas, esto ocurre con una diversidad inigualada. A su vez, la succulencia del tallo ha llevado a la selección de otros mecanismos de supervivencia, como la presencia de hojas efímeras o un patrón de crecimiento donde las hojas con vainas cortas son reunidas sobre la parte más delgada del tallo, usualmente la punta del pseudobulbo. La combinación de estos mecanismos opera simultáneamente en algunas especies de Oncidiinae. Desde el punto de vista evolutivo, la organización vegetativa de las orquídeas parece ilustrar la importancia de las restricciones históricas y estructurales para el desarrollo filogenético de órganos especializados.

La subtribu Oncidiinae ha desplegado sus caracteres estructurales en tres escenarios de adaptación, principalmente como una adaptación divergente donde taxa relacionados muestran caracteres distintos para resolver similares presiones de selección; al mismo tiempo otros caracteres están operando en la conservación filogenética del nicho ya que caracteres similares se presentan en taxa relacionados que no necesariamente habitan en las mismas condiciones ambientales y finalmente otros caracteres más se expresan como adaptaciones convergentes ya que taxa no relacionados presentan caracteres o estados de carácter similares.

Muchos clados (tanto ancestrales como derivados) están ampliamente restringidos a las regiones templadas, posiblemente esto sea una tendencia hacia la conservación del nicho ecológico. A lo largo de la evolución de los caracteres estructurales en Oncidiinae, se desarrollaron estrategias evolutivas que permitieron la diversificación de sus especies para ocupar distintos ambientes climáticos y altitudinales.

Este estudio proporcionó un conjunto concreto y explícito de caracteres, estados y su codificación que forman una base sólida para continuar el trabajo sistemático. Así mismo, permitió la evaluación de caracteres tradicionalmente enfatizados tales como las papilas adaxiales y abaxiales, ubicación de estomas, atributos de las hipodermis adaxial y abaxial, tipo de parénquima en el mesofilo, presencia y ubicación de las células con engrosamientos secundarios en la hipodermis y/o en el mesofilo así como de las células buliformes, presencia, ubicación y número de estratos de haces de fibras adaxiales y abaxiales y la corroboración de algunos de ellos como caracteres sistemáticamente informativos. Se propone que caracteres anteriormente no considerados como sistemáticamente informativos tales como tipo de ramificación del tallo, tipos de tallo, crecimiento del pseudobulbo, disposición de las hojas en el tallo, succulencia y perfil de la lámina foliar, presencia y apertura del collar cuticular, tricomas no glandulares, grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas, número de estratos de haces vasculares, forma de la zona central abaxial de la lámina foliar, contenidos minerales y espacios aéreos en el mesofilo de la región basal, sean utilizados junto con otros datos y se sometan a futuros análisis filogenéticos.

Estos análisis nos revelaron una nueva dirección hacia dónde dirigir futuras investigaciones. Por ejemplo, dentro de la misma hoja, el análisis de caracteres epidérmicos, como la forma de las células epidérmicas y el contorno de su paredes anticlinales en vista superficial, el patrón de venación y/o el tipo de venas transversales, el tipo de células de la vaina de las venas transversales, así como algunos caracteres morfológicos y anatómicos del tallo (textura, rebordes u otras ornamentaciones, tejido dérmico, fundamental y vascular) y de la raíz (velamen, tilosomas, espacios supraendodermiales, etc.), podría arrojar otro conjunto de caracteres potencialmente informativos para ponerlos a prueba a través de los análisis cladísticos y conocer el posible valor que estos caracteres tienen en la filogenia de Oncidiinae. Se proponen estos caracteres porque son caracteres sistemáticamente informativos para otros grupos de Orchidaceae, pero que no han sido analizados en Oncidiinae.

Otro aspecto para analizar está relacionado con los grupos taxonómicos que se resolvieron, pero que recibieron un soporte bajo. A partir de este análisis se sugiere sean reanalizados añadiendo otros caracteres y/o más taxa.

La subtribu Oncidiinae es tan diversa y numerosa que incluye además otros grupos de taxa recientemente redefinidos, tales como el clado *Cuitlauzina*, otros grupos de taxa raros y pobremente estudiados como *Ticoglossum*, o grupos tan amplios y diversos tales como el género *Oncidium* que resultó ser polifilético, que demandan de un análisis específico con un mayor número de taxa.

Hacia el interior de algunos clados, las ramas que definen las relaciones entre sus taxa no recibieron soportes significativos. Para estos casos, se sugiere la adición de un muestreo más amplio de taxa y/o la adición de otros caracteres que permitan mejorar el soporte de sus relaciones. Oncidiinae incluye varios géneros numerosos, las relaciones entre sus especies siguen siendo inciertas y es entonces prioritario realizar análisis cladísticos específicos a nivel de géneros.

Estudios fisiológicos y de desarrollo son notoriamente escasos. Estos estudios pudieran contribuir en muchos aspectos, al conocimiento de la biología de las orquídeas, o en un sentido más amplio en la biología de las epífitas y del xeromorfismo en general. Particularmente los estudios de desarrollo pudieran aportar nuevas evidencias que contribuyan en la definición exacta y mejor delimitación de los estados de carácter así como en la incorporación de nuevos caracteres hasta ahora no analizados.



LITERATURA CITADA:

- Benzing, D.H. 1986. Foliar specializations for animal-assisted nutrition in Bromeliaceae. Pages 235-256 In B.E. Juniper y T.R.E. Southwood (Eds.). *Insects and the plant surface*. London.
- Benzing, D.H. 1990. *Vascular Epiphytes: General Biology and Related Biota*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bidwell, R.G.S. 1979. *Fisiología vegetal*. A.G.T. México, D.F. México.
- Brooks, D.R. y D.A. McLennan. 2002. *The Nature of diversity: an evolutionary voyage of discovery*. The University of Chicago Press, Chicago. 668 p.
- Burns-Balogh, P. y V.A. Funk. 1986. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae. *Smithsonian Contributions to Botany* 61: 1-79.
- Cabrera, H.M. 2002. Respuestas ecofisiológicas de plantas en ecosistemas de zonas con clima mediterráneo y ambientes de alta montaña. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 625-637.
- Cabrera, L.I.M. 2008. *Filogenia molecular y clasificación de Araceae y Lemnaceae (Monocotiledóneas: Alismatales)*. Tesis Doctoral. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. México.
- Chabot, B.F., y D.J. Hicks. 1982. The ecology of leaf life spans. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 229-259.
- Chapin, F.S. III. 1989. The cost of tundra plant structures: Evaluation of concepts and currencies. *American Naturalist* 133: 1-19.
- Chase, M.W. 1987. Systematic implications of pollinarium morphology in *Oncidium* Sw., *Odontoglossum* Kunth, and allied genera (Orchidaceae). *Lindleyana* 2: 8-28.
- Chase, M.W., M.R. Duvall, H.G. Hills, J.G. Conran, A.V. Cox, L.E. Eguiarte, J.T. Hartwell, M.F. Fay, L.R. Caddick, K.M. Cameron y S. Hoot. 1995. Molecular phylogenetics of Liliales. Pp. 109-137 In P.J. Rudall, P.J. Cribb, D.F. Cutler y C.J. Humphries (eds.), *Monocotyledons: Systematics and Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Cody, M.L. y H.A. Mooney. 1978. Convergence vs. nonconvergence in Mediterranean climate ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 9: 265-321.

- Cunningham, C.W., K.E. Omland and T.H. Oakley. 1998. Reconstructing ancestral character states: a critical reappraisal. *Tree* 13: 361–366.
- Dickison, W.C. 2000. *Integrative Plant Anatomy*. New York, USA.
- Donoghue, M.J. 1989. Phylogenies and the analysis of evolutionary sequences, with examples from seed plants. *Evolution* 43: 1137-1156.
- Donoghue, M.J. y M.J. Sanderson. 1992. The suitability of molecular and morphological evidence in reconstructing plant phylogeny. Pages 340-368 *In* P.S. Soltis, D.E. Soltis y J.J. Doyle (Eds.). *Molecular Systematics of Plants*. Chapman and Hall, New York, E.U.
- Donoghue, M.J., y M.J. Sanderson. 1994. Complexity and homology in plants. Pp. 393-421. *In* B. Hall (ed.). *Homology: The hierarchical basis of comparative biology*, Academic Press, San Diego, California, USA.
- Donoghue, M.J. y R.H. Ree. 2000. Homoplasy and developmental constraints: A model and an example from plants. *American Zoologist* 40: 759 – 769.
- Dransfield, J., N.W. Uhl, C.B. Asmussen, W.J. Baker, M.M. Harley y C.E. Lewis. 2008. *Genera palmarum: The evolution and classification of palms*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Dressler R.L. y M.W. Chase. 1995. Whence the orchids? Pages 217-226 *In* P.J. Rudall, P.J. Cribb, D.F. Cutler y C.J. Humphries (Eds.), *Monocotyledons: Systematics and Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Dressler R.L. y C.H. Dodson. 1960. Classification and phylogeny in the Orchidaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 47: 25-68.
- Dressler R.L. y N.H. Williams. 1975. El complejo *Oncidoglossum confusum*. *Orquidea* 4: 184-193.
- Eernisse, D.J. y A.G. Kluge. 1993. Taxonomic congruence versus total evidence, and ammonite phylogeny inferred from fossils, molecules, and morphology. *Molecular Biology and Evolution* 10: 1170-1195.
- Ely, F., F. Torres, F. Rada y Y. León. 2007. Estudio morfo-anatómico de dos orquídeas de una selva nublada tropical. *Interciencia* 32: 410-418.
- Esau, K. 1965. *Anatomy of Seed Plants*. 2nd edition. John Wiley and Sons, New York.
- Evans, J.R. y T.C. Vogelmann. 2006. Photosynthesis within isobilateral *Eucalyptus pauciflora* leaves. *New Phytologist* 171: 771-782.

- Farris, J.J. 1983. The logical basis of phylogenetic analysis. *In*: Platnick, N.I. y V. Funk (Eds.). *Advances in Cladistics 2*: 7-36. Columbia University Press, NY, EUA.
- Font Quer, P. 1982. *Diccionario de Botánica*. Ed. Labor. México.
- Garnier, E., J.L. Salager, G. Laurent, y L. Sonié. 1999. Relationships between photosynthesis, nitrogen and leaf structure in 14 grass species and their dependence on the basis of expression. *New Phytologist* 143: 119-129.
- Givnish, T.J. y K.J. Systma [Eds.]. 2000. *Molecular evolution and adaptive radiation*. Cambridge University Press, New York, USA.
- Givnish, T.J., J.C. Pires, S.W. Graham, M.A. McPherson, L.M. Prince, T.B. Patterson, H.S. Rai, E.R. Roalson, T.M. Evans, W.J Hahn, K.C. Millam, A.W. Meerow, M. Molvray, P. Kores, H.E. O'Brien, W.J. Kress, J. Hall y K.J. Sytsma. 2005. Repeated evolution of net venation and fleshy fruits among monocots in shaded habitats confirms *a priori* predictions: evidence from an *ndhF* phylogeny. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 272: 1481- 1490.
- Gravendeel, B., M.W. Chase, E.F. de Vogel, M.C. Roos, T.H.M. Mes y K. Bachmann. 2001. Molecular phylogeny of *Coelogyne* (Epidendroideae: Orchidaceae) based on plastid RFLPs, *matK* and nuclear ribosomal ITS sequences: evidence for polyphyly. *American Journal of Botany* 88: 1915-1927.
- Hagsater, E., M.A. Soto, G.A. Salazar, R.M. Jiménez, M.A. López y R.L. Dressler. 2005. *Las orquídeas de México*. Chinoín. México.
- Holtzmeier M.A., W.L. Stern y W.S. Judd. 1998. Comparative anatomy and systematic of Senghas's cushion species of *Maxillaria* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 127: 43-82.
- Holttum, R.E. 1955. Growth habits of monocotyledons: variations on a theme. *Phytomorphology* 5: 399-413.
- Horn, J.W., J.B. Fisher, P.B. Tomlinson, C.E. Lewis y K. Laubengayer. 2009. Evolution of lamina anatomy in the Palm Family (Arecaceae). *American Journal of Botany* 96: 1462-1486.
- Kluge, A.G. 1989. A concern from evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among *Epicrates* (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology* 38: 7-25.
- Kores, P.J., P.H. Weston, M. Molvray y M.W. Chase. 2000. Phylogenetic relationships

- within the Diurideae (Orchidaceae): inferences from plastid *matK* DNA sequences. Pages 449-456 *In* Wilson K.L. D.A. Morrison (Eds.) *Monocots: systematic and evolution*. Collingwood: CSIRO, 449-456.
- Kores, P.J., M. Molvray, P.H. Weston, S.D. Hopper, A.P. Brown, K.M. Cameron y M.W. Chase. 2001. A phylogenetic analysis of Diurideae (Orchidaceae) based on plastid DNA sequence data. *American Journal of Botany* 88: 1903-1914.
- Leitgeb, H. 1864. Die Luftwurzeln der Orchideen. *Denkschriften der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-naturwissenschaftlichen Klasse* 24: 179-222.
- Mauseth, J.D. 1988. *Plant Anatomy*. Benjamin/Cummings, Inc. Menlo Park, California.
- Meinecke, E.P. 1894. Beiträge zur Anatomie der Luftwurzeln der Luftwurzeln der Orchideen. *Flora* 78: 133-203.
- Mickevich, M.F. y J.J. Farris. 1981. The implications of congruence in Menidia. *Systematic Zoology* 30: 351-370.
- Möbius, M. 1887. Über der anatomischen Bau der Orchideen-blätter und dessen Bedeutung für das System dieser Familie. *Jahrbücher für Wissenschaftliche Botanik* 18: 530-607.
- Mohana Rao, P.R. y S.M. Khasim. 1987. Anatomy of some members of Coelogyninae (Orchidaceae). *Phytomorphology* 37: 191-199.
- Mott, K.A., A.C. Gibson y J. W. O' Leary. 1982. The adaptive significance of amphistomatic leaves. *Plant, Cell and Environment* 5: 455-460.
- Niinemets, Ü., A. Portsmouth, D. Tena, M. Tobias, S. Matesanz y F. Valladares. 2007. Do we underestimate the importance of leaf size in plant economics? Disproportional scaling of support costs within the spectrum of leaf physiognomy. *Annals of Botany* 100: 283-303.
- Niklas, K.J. 1992. *Plant biomechanics: An engineering approach to plant form and function*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Niklas, K.J. 1997. *The evolutionary biology of plants*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Olatunji, O.A. y R.O. Nengim. 1980. Occurrence and distribution of tracheoidal elements in the Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 80: 357-387.
- Patterson, C. 1982. Morphological characters and homology. Pages 21-74 *In* Friday (Eds.) *Systematics Association Special Volume No. 21 "Problems of Phylogenetic Reconstructio"*. Academic Press. New York.

- Pfizers, E.H. 1882. *Grundzüge einer vergleichenden Morphologie der Orchideen*. Heidelberg: Carl Winter's Universitätsbuchhandlung.
- Pridgeon, A.M. 1982. Diagnostic anatomical characters in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 69: 921-938.
- Pridgeon, A.M. 1986. Anatomical adaptations in Orchidaceae. *Lindleyana* 1: 90-101.
- Pridgeon, M.A., P.J.Cribb, M.W. Chase, F.N. Rasmussen. 2009. *Genera Orchidacearum* V. 5. Epidendroideae (Part Two). Oxford.
- Qiu, Y.L., J. Lee, F. Bernasconi-Quadroni, D.E. Soltis, P.S. Soltis, M. Zanis, E.A. Zimmer, Z. Chen, V. Savolainen y M.W. Chase. 1999. The earliest angiosperms: evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes. *Nature* 402: 404-407.
- Rasmussen, H. 1986. The vegetative architecture of orchids. *Lindleyana* 1: 42-50.
- Read, J. y A. Stokes. 2006. Plant biomechanics in an ecological context. *American Journal of Botany* 93: 1546-1565.
- Rudall, P.J. 1992. *Anatomy of Flowering Plants: An Introduction to Structure and Development*. 2nd edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- Rundel, P.W., M.R. Sharifi, A.C. Gibson y K.J. Esler. 1998. Structural and physiological adaptation to light environments in neotropical *Heliconia* (Heliconiaceae). *Journal of Tropical Ecology* 14: 789-801.
- Salazar, G.A., M.W. Chase, M.A. Soto Arenas y M. Ingrouille. 2003. Phylogenetics of Cranichideae with emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA sequences. *American Journal of Botany* 90: 777-795.
- Sinclair, R. 1987. Water relations in Orchids. Pages 63-119 *In* J. Arditti (Ed.), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives V*. Comstock Publ. Assoc. Cornell University Press. Ithaca, New York. 63-119.
- Slaton, M.R. y W.K. Smith. 2002. Mesophyll architecture and cell exposure to intercellular air spaces in alpine, desert, and forest species. *International Journal of Plant Sciences* 163: 937- 948.
- Smith, W.K., T.C. Vogelmann, E.H. De Lucia, D.T. Bell y K.A. Shepherd. 1997. Leaf form and photosynthesis. *Bioscience* 47: 785-793.
- Soltis, P.S., D.E. Soltis y M.W. Chase. 1999. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. *Nature* 402: 402-404.

- Stern, W.L. y M.W. Morris. 1992. Vegetative anatomy of *Stanhopea* (Orchidaceae) with special reference to pseudobulb water-storage cells. *Lindleyana* 7: 34-53.
- Stern, W.L., V.I. Cheadle y J. Thorsch. 1993a. Apostasiads, systematic anatomy, and the origins of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 111: 411-455.
- Stern, W.L. y W.M. Whitten. 1999. Comparative vegetative anatomy of Stanhopeinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 129: 87-103.
- Tomlinson, P.B. 1961. *Anatomy of the Monocotyledons, vol. II. Palmae*. Clarendon Press, Oxford.
- Van den Berg, C., D.H. Goldman, J.V. Freudenstein, A.M. Pridgeon, K.M. Cameron and M.W. Chase. 2005. An overview of the phylogenetic relationships within Epidendroideae inferred from multiple DNA regions and recircumscription of Epidendreae and Arethuseae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 92: 613-624.
- Vincent, J.F. 1982. The mechanical design of grass. *Journal of Materials Science* 17: 856-860.
- Vincent, J.F. 1991. Strength and fracture of grasses. *Journal of Materials Science* 26: 1947-1950.
- Vogelmann, T.C. y G. Martin. 1993. The functional significance of palisade tissue: Penetration of directional versus diffuse light. *Plant, Cell and Environment* 16: 65-72.
- Vogelmann, T.C., J.N. Nishio y W.K. Smith. 1996. Leaves and light capture: Light propagation and gradients of carbon fixation within leaves. *Trends in Plant Science* 1: 65-71.
- Woodward, F.I. y B.G. Williams. 1987. Climate and plant distribution at global and local scales. *Vegetatio* 69: 189-197.



ANEXO 1.

Caracteres estructurales y estados de carácter utilizados en el análisis cladístico combinando.

Caracteres morfológicos

1. Ramificación del tallo: 0. simpodial; 1. monopodial.
2. Tipos de tallo: 0. tipo pseudobulbo; 1. tipo rollizo.
3. Crecimiento del pseudobulbo: 0. Muy evidente; 1. reducido; 2. ausente.
4. Variación del número de entrenudos en el tallo por módulo: 0. dos o más por tallo; 1. uno por tallo.
5. Ubicación de las hojas en el tallo: 0. en el ápice del tallo; 1. a lo largo del tallo.
6. Disposición de las hojas en el tallo: 0. otros; 1. en forma de abanico; 2. dísticas.
7. Suculencia de la lámina foliar: 0. no suculenta; 1. suculenta.
8. Perfil de la lámina en sección transversal: 0. dorso-ventralmente extendida; 1. conduplicada; 2. marginalmente conduplicada; 3. uni-facial; 4. rolliza; 5. plegada.

Caracteres anatómico foliares

9. Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en la lámina foliar: 0. sin papilas; 1. con papilas.
10. Apéndices epidérmicos abaxiales como papilas en la lámina foliar: 0. sin papilas; 1. con papilas.
11. Tricomas no glandulares en epidermis adaxial en la lámina foliar: 0. con tricomas; 1. sin tricomas.
12. Glándulas: 0. ausentes; 1. presentes.
13. Ubicación de estomas en la lámina foliar: 0. hoja hipostomática; 1. hoja anfistomática.
14. Collar cuticular en estoma: 0. presente; 1. ausente.
15. Apertura del collar cuticular en estoma: 0. longitudinal y paralelo al eje longitudinal de las células oclusivas; 1. transversal al eje longitudinal de las células oclusivas y poro del estoma; 2. ausente.
16. Grosor de la pared lateral interna de las células oclusivas, visto en sección transversal: 0. muy engrosadas (más de 2.5 μm); 1. poco engrosadas (hasta de de 2.5 μm).
17. Hipodermis adaxial en la lámina foliar: 0. ausente; 1. presente.

18. Grosor de las paredes celulares de la hipodermis adaxial: 0. delgadas (menos de 2.5 μm); 1. engrosadas (de 2.5 μm o más); 2. ausentes.
19. Distribución de estratos celulares en la hipodermis adaxial: 0. continuos; 1. discontinuos; 2. ausentes.
20. Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial: 0. uno; 1. dos; 2. tres o más; 3. ausentes.
21. Hipodermis abaxial: 0. ausente; 1. presente.
22. Células del mesofilo como parénquima en empalizada: 0. ausente; 1. presente.
23. Células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial: 0. ausente; 1. presente; 2. sin hipodermis adaxial.
24. Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo: 0. ausente; 1. presente.
25. Células buliformes: 0. ausente; 1. presente.
26. Ubicación de las células buliformes: 0. diferenciadas sólo en la zona central adaxial; 1. diferenciadas en varias zonas además de la central adaxial; 2. ausentes.
27. Zona central abaxial de lámina foliar: 0. convexa; 1. carinada.
28. Número de estratos de haces vasculares en la zona central: 0. uno; 1. dos.
29. Número de estratos de haces vasculares en la lámina: 0. uno; 1. dos o más.
30. Haces de fibras adaxiales en la lámina: 0. ausentes; 1. presentes.
31. Haces de fibras abaxiales en la lámina: 0. ausentes; 1. presentes.
32. Número de estratos de haces de fibras abaxiales: 0. uno; 1. dos; 2. tres o más; 3. ausentes.
33. Estérgmatos en los haces vasculares: 0. presentes; 1. ausentes.
34. Estérgmatos en los haces de fibras abaxiales: 0. presentes; 1. ausentes; 2. sin haces de fibras abaxiales.
35. Cristales prismáticos en el mesofilo: 0. ausentes; 1. presentes.
36. Cristales como drusas en el mesofilo: 0. ausentes; 1. presentes.
37. Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal: 0. presente; 1. ausente.

ANEXO 2.

Especies de Oncidiinae incluidas en este estudio. Se indica el colector, número de colecta, el número de acceso en GenBank de las secuencias de ADN utilizadas (ITS y *matK*), excepto para *Oncidium alexandrae*, *O. epidendroides* (*matK*), *Tolumnia pulchella* y *T. triquetra* (ITS y *matK*).

	No. de colecta	ITS	<i>matK</i>
<i>Ada aurantiaca</i> Lindl.	JBL 02968	AF350518	AF350597
<i>Aspasia epidendroides</i> Lindl.	WB Hort	AF350521	AF350600
<i>Benzingia caudata</i> (Ackerman) Dressler.	JBL 13500	AY870027	AY869928
<i>Brassia arcuigera</i> Rchb.f.	JBL 3758	AF350522	AF350601
<i>Brassia caudata</i> (L.) Lindl.	OF Hort	AF350523	AF350602
<i>Brassia gireoudiana</i> Rchb.f. & Warsz.	JBL 8343	AF350524	AF350603
<i>Capanemia superflua</i> (Rchb.f.) Garay & Kennedy.	OF Hort	AF350549	AF350628
<i>Cischweinfia dasyandra</i> (Rchb.f.) Dressler & N.H.Williams.	RAVA Hort	AF350527	AF350606
<i>Comparettia macroplectron</i> Rchb.f. & Triana.	RD Hort	AF350541	AF350620
<i>Cyrtochiloides ochmatochila</i> (Rchb.f.) N.H.Williams & M.W.Chase.	RJM 2394	AF432946	AF433009
<i>Cyrtochilum cimiciferum</i> (Rchb.f.) Dalström.	EH 10535	AF350560	AF350639
<i>Cyrtopodium punctatum</i> (L.) Lindl.	JBL 13960	AF239412	AF239508
<i>Dichaea neglecta</i> Schltr.	PJB 50	AF239320	AF239416
<i>Erycina cristagalli</i> (Rchb.f.) N.H.Williams & M.W.Chase.	RAVA Hort	AF350540	AF350619
<i>Erycina echinata</i> (Kunth) Lindl.	ESZ 013	AF350537	AF350616
<i>Erycina hyalinobulbon</i> (La Llave & Lex.) N.H.Williams & M.W.Chase.	PL 702	AF350536	AF350615
<i>Erycina pumilio</i> (Rchb.f.) N.H.Williams & M.W.Chase.	RD 6669	AF350539	AF350618
<i>Erycina pusilla</i> (L.) N.H.Williams & M.W.Chase.	RJM Hort	AF350538	AF350617
<i>Fernandezia tica</i> Mora-Ret. & D.García.	RD 6706	DQ315821	DQ315889
<i>Ionopsis utricularioides</i> (Sw.) Lindl.	RJM Hort	AF350546	AF350625
<i>Ionopsis satyrioides</i> (Sw.) Rchb.f.	OF Hort	AF350547	AF350626
<i>Lockhartia amoena</i> Endres & Rchb.f.	JBL 07707	AF350515	AF350594
<i>Lockhartia oerstedii</i> Rchb.f.	DB 9399	AF350514	AF350593
<i>Macroclinium bicolor</i> (Lindl.) Dodson.	MAS 4951	AF350550	AF350629
<i>Maxillaria cucullata</i> Hook.	AV Hort	DQ210215	DQ209871
<i>Maxillaria hedwigiae</i> Hamer & Dodson.	JBL 9466	DQ210213	DQ209869
<i>Mesospinidium panamense</i> Garay.	JBL 01661	AF350526	AF350605
<i>Miltonia candida</i> Lindl.	MAS Hort	AF350517	AF350596
<i>Miltoniopsis warszewiczii</i> (Rchb.f.) Garay & Dunst.	JBL 2908	AF350556	AF350635
<i>Notylia barkeri</i> Lindl.	ESZ 017	AF350545	AF350624

<i>Oncidium alexandrae</i> (Bateman) M.W.Chase & N.H.Williams	MAS 6401	AF350785	N132
<i>Oncidium cheirophorum</i> Rchb.f.	MAS 5587	AF350567	AF350646
<i>Oncidium epidendroides</i> (Kunth) M.W.Chase & N.H.Williams	RD Hort	AF350777	N190
<i>Oncidium flexuosum</i> Lodd.	MAS Hort	AF350552	AF350631
<i>Oncidium ghiesbreghtianum</i> A.Rich. & Galeotti	MAS 4101	AF350563	AF350642
<i>Oncidium leucochilum</i> Batem ex. Lindl.	MAS 3565	AF350565	AF350644
<i>Oncidium ornithorhynchum</i> Kunth.	RJM 626	AF350566	AF350645
<i>Oncidium pictoides</i> M.W.Chase & N.H.Williams	JJZ Hort	AF350572	AF350651
<i>Oncidium reichenheimii</i> (Linden & Rchb.f.) Garay & Stacy.	OF Hort	AF350562	AF350641
<i>Oncidium sphacelatum</i> Lindl.	ESZ 018	AF350564	AF350643
<i>Ornithocephalus inflexus</i> Lindl.	TPH-265	AF350507	AF350586
<i>Otoglossum chiriquense</i> (Rchb.f.) Garay & Dunst.	MAS Hort	AF350561	AF350640
<i>Psychopsis papilio</i> (Lindl.) H.G.Jones.	MAS Hort	AF350582	AF350661
<i>Rhynchostele beloglossa</i> (Rchb.f.) Dressler & N.H.Williams.	TPH 283	AF350531	AF350610
<i>Rhynchostele bictoniensis</i> (Batem.) Soto Arenas & Salazar.	GAS 2648	AF350529	AF350608
<i>Rhynchostele londesboroughiana</i> (Rchb.f.) Soto Arenas & Salazar.	MAS 2197	AF350530	AF350609
<i>Rodriguezia lanceolata</i> Ruiz & Pav.	OF Hort	AF350542	AF350621
<i>Systeloglossum acuminatum</i> Ames & C.Schweinf.	DB 2664	AF350528	AF350607
<i>Telipogon costaricensis</i> Schltr.	AR Hort	DQ315860	AF350588
<i>Tolumnia pulchella</i> (Hook.) Raf.	JBL 11677	N351	N351
<i>Tolumnia triquetra</i> (Sw.) Nir	JBL11680	N408	N376
<i>Tolumnia variegata</i> (Sw.) Braem.	RJM 969	AF350533	AF350612
<i>Trichocentrum cebolleta</i> (Jacq.) M.W.Chase & N.H.Williams.	EAP 286	AF350573	AF350652
<i>Trichocentrum pfavii</i> Rchb.f.	RAVA 512	AF350575	AF350654
<i>Trichocentrum splendidum</i> (A.Rich.) M.W.Chase & N.H.Williams.	MAS Hort.	AF350576	AF350655
<i>Trichopilia maculata</i> Rchb.f.	JBL 11683	AF350579	AF350658
<i>Zelenkoa onusta</i> (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams.	HZ Hort	AF350555	AF350634

Colectores: AR= Alexander Rojas; AV = Andrés Vovides; WB. = Weimann Bussey; DB = Diego Bogarín; EAP = Eduardo A. Pérez García; EH = Eric Hágsater; ESZ = Estela Sandoval Zapotitla; EYG = Elvira Yañes Guerrero; FP = Franco Pupulin; GAS = Gerardo A. Salazar; IA = Ignacio Aguirre-Olavarrieta; JJZ= Juan José Zúñiga; JBL = Jardín Botánico Lankester; JGC = Javier García-Cruz; JLW = Jorge Lamas Walz; MAS = Miguel Ángel Soto Arenas; OF = Oscar Francke; PJB = Philip J. Brewster; PL = Pesach Lubinsky; RL = Robert Leleu; RD = Robert Dressler; RAVA = Rafael Valverde; RJM = Rolando Jiménez Machorro; SC = Sandro Cusi; TPH = Teodoro Platas Hernández; HZ = Harry Zelenko.

ANEXO 4.

Lista de especies incluidas en el análisis de diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae).

El material revisado proviene de colecciones institucionales, como la Asociación Mexicana de Orquideología (**AMO**); Jardín Botánico Francisco Javier Clavijero, Xalapa, Veracruz, México; Jardín Botánico Lankester, Cartago, Costa Rica (**JBL**). Colecciones particulares de Alexander Rojas (**AR**), Andrés Vovides (**AV**), Weimann Bussey (**WB**), C. Javier García Cruz (**JGC**), Diego Bogarín (**DB**), Eduardo A. Pérez García (**EAP**), Elvira Yañes Guerrero (**EYG**), Eric Hágsater (**EH**), Estela Sandoval Zapotitla (**ESZ**), Franco Pupulin (**FP**) Gerardo A. Salazar (**GAS**), Ignacio Aguirre-Olavarrieta (**IA**), Juan José Zúñiga (**JJZ**), Jorge Lamas Walz (**JLW**), Miguel Ángel Soto Arenas (**MAS**), Oscar Francke (**OF**), Pesach Lubinsky (**PL**), Philip J. Brewster (**PJB**), Robert Leleu (**RL**), Rafael Valverde (**RAVA**), Robert Dressler (**RD**), Rolando Jiménez Machorro (**RJM**), Sandro Cusi (**SC**), Teodoro Platas Hernández (**TPH**) y Harry Zelenko (**HZ**).

Espece	Referencia	Espece	Referencia
Clado A			
<i>Aurinocidium pulvinatum</i> (Lindl.) Romowicz & Szlach.	EH Hort	<i>C. confertum</i> (Rchb.f.) Dalström	RD Hort
<i>Trichocentrum andreanum</i> (Cogn.) R.Jiménez & Carnevali	ESZ 003	<i>C. macranthum</i> (Lindl.) Kraenzl.	SC Hort
<i>T. ascendens</i> (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams	RJM 857	<i>Miltoniopsis warszewiczii</i> (Rchb.f.) Garay & Dunst.	JBL 2908
<i>T. bicallosum</i> (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams	MAS 3236	<i>Otoglossum chiriquense</i> (Rchb.f.) Garay & Dunst.	MAS Hort
<i>T. caloceras</i> Endres & Rchb.f.	RAVA 510	<i>O. globuliferum</i> (Kunth) N.H.Williams & M.W.Chase	FP 5296
<i>T. candidum</i> Lindl.	GAS 5123	Clado G	
<i>T. cavendishianum</i> (Bateman)	GAS 4707	<i>Ada aurantiaca</i> Lindl.	JBL 2968

M.W.Chase & N.H.Williams			
<i>T. cebolleta</i> (Jacq.) M.W.Chase & N.H.Williams	EAP 286	<i>A. chlorops</i> (Endres & Rchb.f.) N.H.Williams	JBL 13452
<i>T. flavovirens</i> (L.O.Williams) M.W.Chase & N.H.Williams	RL Hort	<i>A. glumacea</i> (Lindl.) N.H.Williams	EH 8819
<i>T. fuscum</i> Lindl.	OF Hort	<i>Aspasia epidendroides</i> Lindl.	WB Hort
<i>T. luridum</i> (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams	EH Hort	<i>Brassia arcuigera</i> Rchb.f.	JBL 3758
<i>T. microchilum</i> (Bateman ex Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams	EH 4286	<i>B.caudata</i> (L.) Lindl.	OF Hort
<i>T. pfavii</i> Rchb.f.	RAVA 512	<i>B. signata</i> Rchb.f.	MAS 4399
<i>T. splendidum</i> (A.Rich. ex Duch.) M.W.Chase & N.H.Williams	MAS Hort	<i>B. verrucosa</i> Bateman ex Lindl.	ESZ 28
<i>T. stramineum</i> (Bateman ex Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams	JGC 668	<i>Cischweinfia dasyandra</i> (Rchb.f.) Dressler & N.H.Williams	RAVA Hort
<i>T. teres</i> (Ames & C.Schweinf.) M.W.Chase & N.H.Williams	RAVA Hort	<i>Mesospinidium horichii</i> I.Bock	FP 5357
Clado B		<i>M. panamense</i> Garay	JBL 1661
<i>Psychopsis krameriana</i> (Rchb.f.) H.G.Jones	JBL 13825	<i>Miltonia candida</i> Lindl.	MAS Hort
<i>P. papilio</i> (Lindl.) H.G.Jones	MAS Hort	<i>M. phymatochila</i> (Lindl.) N.H.Williams & M.W.Chase	HZ Hort
<i>Trichopilia maculata</i> Rchb.f.	JBL 11683	<i>M. spectabilis</i> Lindl.	MAS Hort
<i>T. marginata</i> Henfr.	JBL 11273	<i>Systemoglossum acuminatum</i> Ames & Schweinf.	DB 2664
<i>T. suavis</i> Lindl.	JBL 03130	Clado H	

<i>T. tortilis</i> Lindl.	MAS 4822	<i>Capanemia superflua</i> (Rchb.f.) Garay	OF Hort
<i>T. turialbae</i> Rchb.f.	RAVA Hort	<i>Comparettia falcata</i> Poepp. & Endl.	EAP 391
Clado C		<i>C. macroplectron</i> Rchb.f. & Triana	RD Hort
<i>Lockhartia amoena</i> Endres & Rchb.f.	JBL 07707	<i>Comparettia tuerckheimii</i> (Schltr.) M.W.Chase & N.H.Williams	MAS 4922
<i>L. oerstedii</i> Rchb.f.	DB 9399	<i>Ionopsis satyrioides</i> (Sw.) Rchb.f.	OF Hort
<i>L. oerstedii</i> Rchb.f.	MAS 2787	<i>I. utricularioides</i> (Sw.) Lindl.	RJM Hort
Clado D		<i>Leochilus carinatus</i> (Knowles & Westc.) Lindl.	ESZ 46
<i>Fernandezia tica</i> Mora-Ret. & García-Castro	RD 6706	<i>L. crocodiliceps</i> (Rchb.f.) Kraenzl.	ESZ 45
<i>Hintonella mexicana</i> Ames	SC Hort	<i>L. oncidioides</i> Knowles & Westc.	GAS Hort
<i>Ornithocephalus bicornis</i> Lindl. ex Benth.	DB 144	<i>L. tricuspидatus</i> (Rchb.f.) Kraenzl	JJZ Hort
<i>O. inflexus</i> Lindl.	TPH 265	<i>Macroclinium bicolor</i> (Lindl.) Dodson	MAS 4951
<i>O. iridifolius</i> Rchb.f.	TPH 311	<i>M. lexarzanum</i> (Hágsater & R.González) Dodson	ESZ 10
<i>O. lankesteri</i> Ames	HZ Hort	<i>Notylia barkeri</i> Lindl.	ESZ 17
<i>O. tripterus</i> Schltr.	MAS 4978	<i>N. leucantha</i> Salazar	IAO 1193
<i>O. sp.</i>	BJL 8870	<i>N. orbicularis</i> A.Rich. & Galeotti	ESZ 8
<i>Pachyphyllum hispidulum</i>	DB 2716	<i>Notyliopsis beatricis</i> P.Ortiz	JBL Hort

(Rchb.f.) Garay & Dunst.

T. costaricensis Schltr. AR Hort
Telipogon erratus(Dressler) JBL 11856
N.H.Williams & Dressler

Clado E

Oncidium alexandrae (Bateman) MAS 6401
M.W.Chase & N.H.Williams

O. brachyandrum Lindl. EAP 155

O. cirrhosum (Lindl.) Beer EH 8879

O. constrictum (Lindl.) Beer JBL 2070

O. cheirophorum Rchb.f. MAS 5587

O. epidendroides (Kunth) RD Hort

M.W.Chase & N.H.Williams

O. fimbriatum Lindl. MAS Hort

O. ghiesbreghtianum A.Rich. & MAS 4101
Galeotti

O. heteranthum Poepp. & Endl. EH 8275

O. hintonii L.O.Williams ESZ 011

O. hymenanthum (Schltr.) JJZ Hort

M.W.Chase & N.H.Williams

O. leleui R.Jiménez & Soto ESZ 012

Arenas

O. leucochilum Bateman ex MAS 3565

Lindl.

O. luteo-purpureum (Lindl.) MAS Hort

Oncidium flexuosum Lodd. MAS Hort

Papperitzia leiboldii (Rchb.f.) RJM 1422

Rchb.f.

Rodriguezia compacta Schltr. JJZ Hort

R. dressleriana R.González GAS 2092

R. lanceolata Ruiz & Pav. OF Hort

R. sp. MAS Hort

Trizeuxis falcata Lindl. JBL Hort

Warmingia zamorana Dodson JBL Hort

Zelenkoa onusta (Lindl.) HZ Hort

M.W.Chase & N.H.Williams

Clado I

Erycina cristagalli (Rchb.f.) RAVA Hort

N.H.Williams & M.W.Chase

E. echinata (Kunth) Lindl. ESZ 13

E. hyalinobulbon (La Llave & PL 702

Lex.) N.H.Williams &

M.W.Chase

E. pumilio (Rchb.f.) RD 6669

N.H.Williams & M.W.Chase

E. pusilla (L.) N.H.Williams & RJM Hort

M.W.Chase

Rhynchostele beloglossa TPH 283

(Rchb.f.) Dressler &

N.H.Williams

R. bictoniensis (Bateman) Soto GAS 2648

Beer		Arenas & Salazar	
<i>O. karwinskii</i> (Lindl.) Lindl.	RJM 770	<i>R. maculata</i> ((La Llave & Lex.) Soto Arenas & Salazar	MAS 4500
<i>O. marshallianum</i> Rchb.f.	MAS Hort	<i>R. madrensis</i> (Rchb.f.) Soto Arenas & Salazar	MAS 4374
<i>O. minaxoides</i> (Kraenzl.) M.W.Chase & N.H.Williams	EH 8917	<i>R. londesboroughiana</i> (Rchb.f.) Soto Arenas & Salazar	MAS 2197
<i>O. oblongatum</i> Lindl.	GAS 4774	<i>Tolumnia guttata</i> (L.) Nir	JBL 11413
<i>O. oliganthum</i> (Rchb.f.) L.O.Williams ex Correll	MAS 3310	<i>T. pulchella</i> (Hook.) Raf.	JBL 11677
<i>O. ornithorhynchum</i> Kunth	RJM 626	<i>T. triquetra</i> (Sw.) Nir	JBL 11680
<i>O. pictoides</i> M.W.Chase & N.H.Williams	JJZ Hort	<i>T. variegata</i> (Sw.) Braem	RJM 969
<i>O. planilabre</i> Lindl.	SC Hort	Clado J	
<i>O. praetextum</i> Rchb.f.	MAS Hort	<i>Cuitlauzina candida</i> (Lindl.) Dressler & N.H.Williams	MAS 3496
<i>O. reichenheimii</i> (Linden & Rchb.f.) Garay & Stacy	OF Hort	<i>C. convallarioides</i> (Schltr.) Dressler & N.H.Williams	EYG Hort
<i>O. sphacelatum</i> Lindl.	ESZ 018	<i>C. egertonii</i> (Lindl.) Dressler & N.H.Williams	MAS 2862
<i>O. uniflorum</i> Booth ex Lindl.	MAS 6425	<i>C. egertonii</i> (Lindl.) Dressler & N.H.Williams	RL Hort
<i>O. varicosum</i> Lindl.	MAS Hort	<i>C. pendula</i> La Llave ex Lex.	MAS 4208
<i>O. warmingii</i> Rchb.f.	EH 11147	<i>C. pulchella</i> (Bateman ex Lindl.) Dressler & N.H.Williams.	MAS 1952
<i>O. wentworthianum</i> Bateman ex Lindl.	GAS 2301	<i>C. pygmaea</i> (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams	EH 5181
Clado F		<i>Rossioglossum ampliatum</i> (Lindl.) M.W.Chase &	JLW Hort

<i>Caucaea phalaenopsis</i> (Lindl. ex Rchb.f.) N.H. Williams & M.W.Chase	EH 10527	N.H.Williams <i>R. grande</i> (Lindl.) Garay & G.C.Kenn. <i>R. krameri</i> (Rchb.f.) M.W.Chase & N.H.Williams	GAS Hort RAVA Hort
<i>Cyrtochiloides ochmatochila</i> (Rchb. f.) N.H. Williams & M.W. Chase	RJM 2394	<i>R. oerstedii</i> (Rchb.f.) M.W.Chase & N.H.Williams	EH 6356
<i>Cyrtochilum cimiciferum</i> (Rchb.f.) Dalström	EH 10535	<i>R. schlieperianum</i> (Rchb.f.) Garay & G.C.Kenn.	RAVA 504



ANEXO 5.

Número de cambios evolutivo registrado por carácter para cada clado. Los ocho primeros caracteres son morfológicos, los demás son anatómicos.

	Carácter	A	B	C	D	E	F	G	H	I	Total
1	Ramificación del tallo	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
2	Tipos de tallo	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2
3	Crecimiento del pseudobulbo	1	0	1	2	0	0	0	3	2	9
4	Variación del número de entrenudos en el tallo por módulo	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2
5	Ubicación de las hojas en el tallo	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2
6	Disposición de las hojas en el tallo	0	0	1	1	0	0	0	1	2	5
7	Suculencia de la lámina foliar	1	0	0	1	0	0	0	3	2	6
8	Perfil de lámina en sección transversal	1	0	1	1	0	0	0	3	2	8
9	Apéndices epidérmicos adaxiales como papilas en la lámina	1	1	0	0	0	0	0	1	1	4
10	Apéndices epidérmicos abaxiales como papilas en la lámina	1	0	1	0	0	0	0	1	1	4
11	Tricomos no glandulares en epidermis adaxial en la lámina	0	0	0	1	0	0	0	1	1	3
12	Glándulas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	Ubicación de estomas en la lámina foliar	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
14	Collar cuticular de estoma	0	0	0	1	0	0	0	0	1	2
15	Apertura del collar cuticular en estoma	1	1	0	1	0	0	0	0	1	4
16	Grosor de la pared lateral interna de las células oclusiva	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2
17	Hipodermis adaxial en la lámina foliar	0	0	1	1	0	0	0	1	2	5
18	Grosor de las paredes celulares de la hipodermis adaxial	0	0	1	1	1	1	3	1	2	10
19	Distribución de estratos celulares, en la hipodermis adaxial	0	0	1	1	1	0	0	2	2	7
20	Número de estratos celulares en la hipodermis adaxial	0	0	1	1	1	0	3	2	3	11
21	Hipodermis abaxial	0	0	0	0	1	0	2	1	1	5
22	Células del mesofilo como parénquima en empalizada	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
23	Células con engrosamientos secundarios en la hipodermis adaxial	0	0	1	1	1	0	1	2	2	8
24	Células con engrosamientos secundarios en el mesofilo	1	0	0	1	0	0	2	0	1	5
25	Células buliformes	0	1	0	1	0	0	0	1	1	4
26	Ubicación de las células buliformes	0	1	0	1	0	0	0	1	1	4
27	Zona central abaxial de la lámina foliar	1	0	0	0	1	1	1	2	1	7
28	Número de estratos de haces vasculares en la zona central	1	0	0	1	0	0	0	0	1	3
29	Número de estratos de haces vasculares en la lámina	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1

30	Haces de fibras adaxiales en la lámina	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	Haces de fibras abaxiales en la lámina	1	0	0	1	0	0	0	0	1	3
32	Número de estratos de haces de fibras abaxiales	1	0	1	1	0	1	1	2	2	9
33	Estérgmatos en los haces vasculares	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
34	Estérgmatos en los haces de fibras abaxiales	1	0	0	1	1	1	0	0	1	5
35	Cristales prismáticos en el mesofilo	0	0	0	0	1	1	0	1	2	5
36	Cristales como drusas en el mesofilo	0	0	0	0	1	0	0	0	1	2
37	Espacios aéreos en el mesofilo de la región basal	0	0	0	0	1	0	1	0	1	3
Total		14	4	13	25	11	5	14	30	40	156

