

## Anatomía foliar comparada y sistemática del clado-*Trichocentrum* con énfasis en *Cohniella* (Asparagales: Orchidaceae)

William Cetzal-Ix<sup>1</sup>, Eliana Noguera-Savelli<sup>2</sup>, Damelis Jáuregui<sup>3</sup> & Germán Carnevali<sup>4</sup>

1. El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal, Av. del Centenario, km 5.5, Chetumal, Quintana Roo 77000, México; rolito22@hotmail.com
2. El Colegio de la Frontera Sur, División de Conservación de la Biodiversidad, Departamento de Ecología y Sistemática Terrestre, San Cristóbal de Las Casas 29290, Chiapas, México; eliananoguera@gmail.com
3. Instituto de Botánica Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apartado postal 4579, Maracay 2101, Aragua, Venezuela; jaureguid@gmail.com
4. Herbario CICY, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. (CICY), Calle 43. No. 130. Col. Chuburná de Hidalgo, Mérida 97200, Yucatán, México; carneval@cicy.mx

Recibido 24-I-2013. Corregido 20-VI-2013. Aceptado 22-VII-2013.

**Abstract: Comparative foliar anatomy and systematics of the *Trichocentrum*-clade with emphasis in *Cohniella* (Asparagales: Orchidaceae).** The genera *Cohniella*, *Lophiarella*, *Lophiaris*, and *Trichocentrum* are included in the *Trichocentrum*-clade. These genera are distributed from Florida and Northern Mexico to Southern Brazil and Northern Argentina, growing in tropical deciduous forests or tropical rain forests and thorn scrub forests to pine-oak forest, from sea level to 1 700m. The leaf anatomical structure of 23 members of the *Trichocentrum*-clade was explored as a source of taxonomic and phylogenetic characters. A total of 11 species of *Cohniella*, three species of *Lophiarella*, seven species of *Lophiaris*, two species of *Trichocentrum*, and other four species were included as outgroup. Anatomical characters were studied by cross sections and paradermic observations of the middle portion of fresh leaves. Although anatomical characters were fairly homogeneous throughout the clade, twelve vegetative anatomical, phylogenetically informative characters were selected and coded for an analysis that was performed using an exhaustive search (implicit enumeration) implemented through TNT. The strict consensus of 2 692 most parsimonious trees resulted in a poorly resolved polytomy, which however recovers the *Trichocentrum*-clade with a monophyletic, strongly supported *Cohniella* nested within it with unifacial leaves and the presence of cellular inclusions in the epidermis as synapomorphies. We concluded that the anatomy characters alone are insufficient to assess the relationships amongst the genera of the *Trichocentrum*-clade. However, the two synapomorphies recovered for *Cohniella* strongly support its monophyly when these are analyzed in conjunction with other data sources (e.g., molecular and morphological characters). *Rev. Biol. Trop.* 61 (4): 1841-1858. Epub 2013 December 01.

**Key words:** cladistic analysis, leaf anatomy, *Cohniella*, *Lophiaris*, *Lophiarella*, *Trichocentrum*.

Oncidiinae es una subtribu neotropical de la familia Orchidaceae que incluye alrededor de 76 géneros y 1 600-1 700 especies (números modificados de Chase 2009). En esta subtribu se encuentran los géneros *Cohniella* Pfitzer (22 spp.), *Lophiarella* Szlachetko, Mytnik-Ejsmont & Romowicz (3 spp., sensu Carnevali, Cetzal-Ix, Balam, Leopardi, & Romero-González, 2013), *Lophiaris* Rafinesque (25 spp.) y *Trichocentrum* Poepping & Endlicher (25 spp.), los cuales constituyen

el clado-*Trichocentrum*. Actualmente, existen dos circunscripciones genéricas alternas para este clado; algunos autores reconocen un solo género usando una delimitación amplia para *Trichocentrum* (Williams, Chase, Fulcher & Whitten, 2001; Sosa, Chase, Salazar, Whitten, & Williams, 2001; Sandoval-Zapotitla & Terrazas, 2001; Chase, 2009; Neubig et al., 2012), mientras otros autores dividen al clado en los cuatro géneros antes mencionados (Pupulin, 1995; Carnevali, Cetzal-Ix, Balam,



& Romero-González, 2010; Cetzal-Ix & Carnevali, 2010; Szlachetko, Mytnik-Ejsmont, & Romowicz, 2006; Carnevali et al., 2013).

Los integrantes del clado-*Trichocentrum* se caracterizan por tener un número bajo de cromosomas ( $2n=26-36$ ) y por tener pseudobulbos unifoliados y cubiertos por vainas que carecen de limbo foliar y hojas carnosas (Chase, 2009). Por otro lado, en la circunscripción alterna, cada grupo se puede distinguir tanto por caracteres vegetativos como florales (ver clave taxonómica en Carnevali et al., 2010; Cetzal-Ix & Carnevali, 2011; Carnevali et al., 2013). Los representantes del clado-*Trichocentrum* se distribuyen desde el Sur de Florida y el Norte de México hasta el Sur de Brasil y Norte de Argentina, incluyendo las Antillas mayores (Pupulin & Carnevali, 2005; Carnevali et al., 2010; Cetzal-Ix & Carnevali, 2010; Balam, 2011). *Lophiarella* es el único género con distribución restringida al estar confinado al Suroeste de México y Noroeste de Mesoamérica (Carnevali et al., 2013). Las especies de estos géneros crecen en tierras bajas tropicales, desde bosques caducifolios y bosques húmedos tropicales hasta matorrales espinosos; aunque también pueden encontrarse en bosques de pino-encino, desde el nivel del mar hasta los 1 700m de elevación.

Los estudios de anatomía comparativa que han incluido representantes del clado-*Trichocentrum* han sido los de Sandoval-Zapotitla (1999), Sandoval-Zapotitla & Terrazas (2001) y Sandoval-Zapotitla, Terrazas & Vallejo (2003). Los análisis fenéticos presentados por estos autores muestran en común que los integrantes del clado-*Trichocentrum* forman un grupo (Grupo I), mientras que el resto de Oncidiinae forma otro diferente (Grupo II). En el estudio de Sandoval-Zapotitla (1999) el grupo I se divide a su vez en los subgrupos A para *Lophiaris* y *Lophiarella*, B para *Cohniella* y C para *Trichocentrum*+*Trichopilia tortilis* Lindl.

También hay estudios anatómicos filogenéticos basado en caracteres anatómicos obtenidos de representantes del clado-*Trichocentrum* (Stern & Carlswald, 2006; Sandoval-Zapotitla, García-Cruz, Terrazas & Villaseñor,

2010a). Stern & Carlswald (2006) analizaron las relaciones filogenéticas para 40 especies de Oncidiinae empleando ocho caracteres anatómicos vegetativos y uno morfológico; todos los miembros de Oncidiinae quedaron dentro de un clado sin resolución explicado por la presencia de una hipodermis adaxial y abaxial. Estos autores concluyeron que los caracteres anatómicos por sí solos son insuficientes para evaluar las relaciones genéricas dentro de Oncidiinae y por otra parte, indicaron que *Trichocentrum s.s.* presenta características anatómicas únicas por carecer de fibras extravasculares, hipodermis y estégmatos en las hojas anfistomáticas. Por su parte, Sandoval-Zapotitla et al. (2010a) analizaron 57 representantes de Oncidiinae y 29 caracteres anatómicos foliares, junto con ocho caracteres morfológicos y dos regiones de ADN (ITS y *matK*); en sus árboles Oncidiinae aparece como monofilético (definido por dos caracteres homoplásicos) y constituido por nueve clados, uno de los cuales contiene a los representantes del clado-*Trichocentrum* (definido por las hojas anfistomáticas y la presencia de dos o más estratos de haces vasculares).

Algunos autores (Sibley & Ahlquist, 1987; Scotland, Olmstead & Bennett, 2003) han enfatizado que los datos morfo-anatómicos son no informativos por presentar altos niveles de homoplasia, generan baja resolución y soporte para los clados en los análisis filogenéticos. Pero otros autores emplean estos caracteres combinándolos con datos morfológicos y de secuencias del ADN, para dilucidar relaciones a nivel genérico en conjunción (Sandoval-Zapotitla et al., 2010a; Noguera-Savelli & Jáuregui, 2011). El objetivo de este estudio fue investigar el poder de resolución taxonómica y de informatividad filogenética de los caracteres anatómicos dentro del clado-*Trichocentrum* y de manera particular, dentro del género *Cohniella*. Estudios posteriores analizarán este juego de caracteres, en combinación con otros provenientes de fuentes diferentes (e.g., morfología, ultra-estructura y secuencias de ADN) para obtener la mayor resolución posible en un análisis de evidencia total, siempre y cuando los juegos de información sean congruentes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Caracterización anatómica:** Los especímenes del material estudiado provinieron de plantas recolectadas en el campo y plantas cultivadas; adicionalmente, la información anatómica incluida para algunas de las especies provino de descripciones publicadas en Abreu & Peña (1982), Astudillo & Cabrera (1983) y Sandoval-Zapotitla & Terrazas

(2001) (Cuadro 1). Muestras de cada taxón fueron depositadas en el Herbario CICY, del Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, México.

Se utilizaron hojas maduras de plantas vivas, de las cuales se tomaron fragmentos de la porción media de la hoja y se fijaron en FAA (formaldehído 5%, ácido acético 5%, agua 40% y etanol 50%) (Sass, 1958). Los fragmentos fueron seccionados transversalmente

CUADRO 1

Lista de especies del clado-*Trichocentrum* y del grupo externo incluidos en este trabajo

TABLE 1  
List of species of *Trichocentrum*-clade and outgroup included in this work

Taxa	Recolector/herbario	Localidad	LP
<i>Cohniella ascendens</i> (Lindl.) Christenson	<i>W. Cetzal s.n.</i> (CICY)	México, Yucatán	1
<i>Cohniella biorbicularis</i> Balam & Cetzal	<i>G. Carnevali 7259</i> (CICY)	México, Veracruz	1
<i>Cohniella brachyphylla</i> (Lindl.) Cetzal & Carnevali	<i>G. Carnevali 7310</i> (CICY)	México, Chiapas	1
<i>Cohniella cebolleta</i> (Jacq.) Christenson	<i>G. Carnevali 7222</i> (CICY)	Venezuela, Zulia	1
<i>Cohniella cepula</i> (Hoffmans.) Carnevali & G.A. Romero	<i>G. Carnevali &amp; I. Ramírez 7367</i> (CICY)	Perú, Moyobambo	1
<i>Cohniella helicantha</i> (Kraenzl.) Cetzal & Carnevali	<i>G. Carnevali 7027</i> (CICY)	Panamá, Veraguas	1
<i>Cohniella lacera</i> (Lindl.) Cetzal	<i>G. Carnevali 7311</i> (CICY)	Panamá, Colón	1
<i>Cohniella leptotifolia</i> Cetzal & Carnevali	<i>G. Carnevali &amp; M. Gómez Juárez 6803</i> (CICY)	México, Sonora	1
<i>Cohniella nuda</i> (Bateman ex Lindl.) Christenson	<i>G. Carnevali 7222</i> (CICY)	Venezuela, Zulia	1
<i>Cohniella penbulla</i> Carnevali & Cetzal	<i>G. Carnevali &amp; I. Ramírez 6897</i> (CICY)	México, Jalisco	1
<i>Cohniella yucatanensis</i> Cetzal & Carnevali	<i>W. Cetzal 22</i> (CICY)	México, Yucatán	1
<i>Lophiarella flavovirens</i> (L.O. Williams) Carnevali & Balam	<i>Leleu 185</i> (AMO)	México, Guerrero	4
<i>Lophiarella microchila</i> (Bateman ex Lindl.) Szlach. et al.	<i>E. Hágsater 4286</i> (AMO)	México, Chiapas	4
<i>Lophiarella splendida</i> (A. Rich ex Duch.) Carnevali & Cetzal		Origen hortícola	4
<i>Lophiaris bicallosa</i> (Lindl.) Braem	<i>M. A. Soto 3236</i> (AMO)	México, Chiapas	4
<i>Lophiaris carthagenensis</i> (Jacq.) Braem	<i>G. Morillo s.n.</i>	Venezuela, Aragua	3
<i>Lophiaris cavendishiana</i> (Bateman) Braem	<i>G. Salazar 4707</i> (AMO)	México, Chiapas	4
<i>Lophiaris lanceana</i> (Lindl.) Braem	<i>Casaudoumeq s.n.</i>	Venezuela, Miranda	3
<i>Lophiaris lurida</i> (Lindl.) Braem	<i>R. Jiménez s.n.</i> (AMO)	México, Veracruz	4
<i>Lophiaris oerstedii</i> (Rehb. f.) R. Jiménez, Carnevali & Dressler	<i>W. Cetzal s.n.</i> (CICY)	México, Campeche	1
<i>Lophiaris straminea</i> (Bateman ex Lindl.) Braem	<i>J. García 668</i> (AMO)	México, Veracruz	4
<i>Trichocentrum candidum</i> Lindl.	<i>G. Salazar 5123</i> (AMO)	México, Veracruz	4
<i>Trichocentrum hoegei</i> Rehb. f.	<i>M. A. Soto s.n.</i> (AMO)	México, Oaxaca	4
<i>Chelyorchis ampliata</i> (Lindl.) Dressler & N.H. Williams	<i>C. Lamas s.n.</i> (AMO)	–	4
<i>Chelyorchis pardoi</i> Carnevali & G.A. Romero	<i>G. Carnevali s.n.</i>	Venezuela, Apure	2
<i>Grandiphyllum pulvinatum</i> (Lindl.) Docha Neto	<i>E. Hágsater 11794</i> (AMO)	Brasil, Río de Janeiro	4
<i>Trigonidium egertonianum</i> Bateman ex Lindl.	<i>W. Cetzal s.n.</i> (CICY)	México, Quintana Roo	1

La información analizada proviene de varias fuentes: 1) material revisado de colecciones de este estudio. 2-4) Literatura publicada (LP): 2. Abreu & Peña, 1982; 3. Astudillo & Cabrera, 1983; 4. Sandoval-Zapotitla & Terrazas, 2001.

a mano. Las secciones fueron teñidas en azul de toluidina (0.5%), se montaron en glicerina (50%) y se sellaron con esmalte transparente comercial para uñas. Para el estudio epidérmico se colocaron porciones de hoja de 0.5cm en hipoclorito de sodio comercial (3.75%) durante tres horas, se lavaron repetidamente con agua destilada y se eliminó el resto del mesofilo con ayuda de un pincel en el microscopio estereoscópico. Las porciones de epidermis se tiñeron y se montaron en la forma antes mencionada. Todas las láminas preparadas fueron fotografiadas con un microscopio óptico Nikon Eclipse E 200 equipado con cámara fotográfica digital Evolution LC en el Laboratorio de Anatomía Vegetal “Antonio Fernández”, de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (UCV), en Maracay, Venezuela. Por otro lado, se observaron con un microscopio óptico binocular Leica-DME para la descripción de los caracteres de los tejidos dérmico, fundamental y vascular, en el Laboratorio de Poliquetos de El Colegio de la Frontera Sur, Unidad Chetumal, México.

### Análisis filogenético anatómico

**Grupo interno:** El grupo interno incluyó representantes de los géneros del

clado-*Trichocentrum*, 11 (50%) especies de *Cohniella*, tres (100%) de *Lophiarella*, siete (28%) de *Lophiaris* y dos (8%) de *Trichocentrum* (Cuadro 1).

**Grupo externo:** El grupo externo estuvo representado por géneros de Oncidiinae que en análisis filogenéticos (Sosa et al., 2001, Chase, Hanson, Albert, Whitten & Williams, 2005, Chase, 2009, Carnevali et al., 2013) aparecen como géneros hermanos del clado-*Trichocentrum*, dos especies de *Chelyorchis* Dressler & N.H. Williams y una de *Grandiphyllum* Docha Neto (Cuadro 1), los cuales previamente habían sido considerados como miembros de *Oncidium* Sw. (e.g., Garay & Stacy, 1974). El análisis fue enraizado con *Trigonidium egertonianum* Bateman, un miembro de la subtribu Maxillariinae que junto con Oncidiinae está incluida en la tribu Cymbidieae (Chase, 2009).

**Caracteres anatómicos:** A partir del estudio de anatomía foliar y de la literatura revisada (Abreu & Peña, 1982, Astudillo & Cabrera, 1983, Sandoval-Zapotitla & Terrazas, 2001) se seleccionaron 12 caracteres con sus respectivos estados de carácter binarios o multiestado y tratados como no ordenados (parsimonia de Fitch (Fitch, 1971)) (Cuadro 2) con los cuales

CUADRO 2

Caracteres anatómicos y estados de carácter para el análisis filogenético

TABLE 2

Anatomical characters and character states for the phylogenetic analysis

N°	Carácter anatómico/estado de carácter
1	Superficie de la epidermis: lisa (0), papilosa (1)
2	Paredes periclinales externas: rectas (0), convexas (1)
3	Intersección entre las paredes anticlinales de las células epidérmicas: curvadas (0), angulosas (1)
4	Tipo de estomas: paracíticos (0), tetracíticos (1)
5	Células buliformes: ausentes (0), presentes (1)
6	Tipo de hoja: bifacial (0), unifacial (1)
7	Engrosamientos de la pared celular de células parenquimáticas: ausentes (0), presentes (1)
8	Forma del engrosamiento de la pared secundaria: espiralados (0), reticulados (1)
9	Paquete de fibras extravasculares: ausentes (0), presentes (1)
10	Hipodermis: ausente (0), presente (1)
11	Inclusiones celulares en la epidermis: ausentes (0), presentes (1)
12	Espacios de aire en el parénquima: ausentes (0), presentes (1).

se construyó una matriz para el análisis filogenético (Apéndice).

**Análisis filogenético:** La reconstrucción filogenética se realizó a través de una búsqueda exhaustiva con el algoritmo de enumeración implícita implementado en el programa TNT (Goloboff, Farris & Nixon, 2003), reteniendo 100 000 árboles en la memoria. Se calculó el árbol de consenso estricto de los árboles más parsimoniosos para identificar los clados comunes a todos ellos. El soporte de los clados fue evaluado mediante un análisis de Bootstrap (BT) efectuado en Winclada (Nixon, 1999-2002), con 1000 iteraciones, con 10 repeticiones por búsqueda y un árbol retenido por iteración. Los porcentajes de 50-70 fueron considerados como bajo apoyo, de 71-85 como moderado apoyo y de >85 como fuerte apoyo (Kress, Prince & Williams, 2002).

Para evitar confusión en el uso de los nombres genéricos que comienzan con la misma letra, estos se abreviaron de la siguiente manera: *Cohniella* (C), *Chelyorchis* (Ch), *Lophiarella* (La), *Lophiaris* (Ls), *Trichocentrum* (T) y *Trigonidium* (Tr).

## RESULTADOS

**Caracterización anatómica del sistema dérmico (Cuadro 3):** EPIDERMIS: En sección transversal es uniestratificada, con paredes celulares periclinales externas rectas a convexas y gruesas. En los especímenes estudiados de *Cohniella* y del grupo externo la epidermis varía de lisa a papilosa (Fig. 1B); en las especies de *Lophiarella*, *Lophiaris* y *Trichocentrum* s.s. es papilosa (Fig. 1D).

**NÚMERO DE PAPILAS POR CÉLULA EPIDÉRMICA:** Varía de 1 a 13 por célula epidérmica. En *Ch. ampliata*, *Cohniella*, *La. splendida* y *Ls. straminea*, se observó una papila por célula (Fig. 1B). En las especies restantes las células pueden tener diferentes combinaciones de número de papilas por célula, por ejemplo en *La. flavovirens*, *La. microchila* y *Lophiaris*, el número va de 2

a 7 papilas por célula (Fig. 1D); en *Trichocentrum* de 2 a 11 papilas por células y en *G. pulvinatum* de 6 a 13 papilas por célula.

**FORMA DE CÉLULAS EPIDÉRMICAS:** En vista paradermal las células están dispuestas en hileras y presentan 4 a 8 lados con paredes anticlinales rectas y gruesas; en las especies de *Cohniella*, *Trichocentrum* s.s., *Ls. oerstedii* y *Tr. egertonianum* las células epidérmicas tienen 4 a 6 lados, y las especies restantes presentan 4 a 8 lados.

**INTERSECCIÓN ENTRE LAS PAREDES ANTICLINALES DE CÉLULAS EPIDÉRMICAS:** En la mayoría de las especies las células epidérmicas son angulosas, en *C. helicantha*, *C. lacera* y *Tr. egertonianum* son curvadas.

**CÉLULAS BULIFORMES:** Únicamente presentes en *G. pulvinatum* y las dos especies de *Chelyorchis*.

**TIPO DE ESTOMAS:** en especies de *Cohniella*, *Lophiaris* y del grupo externo se presentan estomas de tipo paracítico (Figs. 1E, G, H, L) o tetracítico (Figs. 1I-K), mientras que en *Lophiarella* y *Trichocentrum* s.s. son únicamente paracíticos.

**PAPILAS EN CÉLULAS GUARDAS:** Presentes únicamente en *C. yucatanensis*, *Ls. carthagenensis*, *Ls. oerstedii* (Fig. 1K) y *Ls. straminea*.

**ESTRIACIONES EN ESTOMAS:** Presentes únicamente en *C. brachyphylla*.

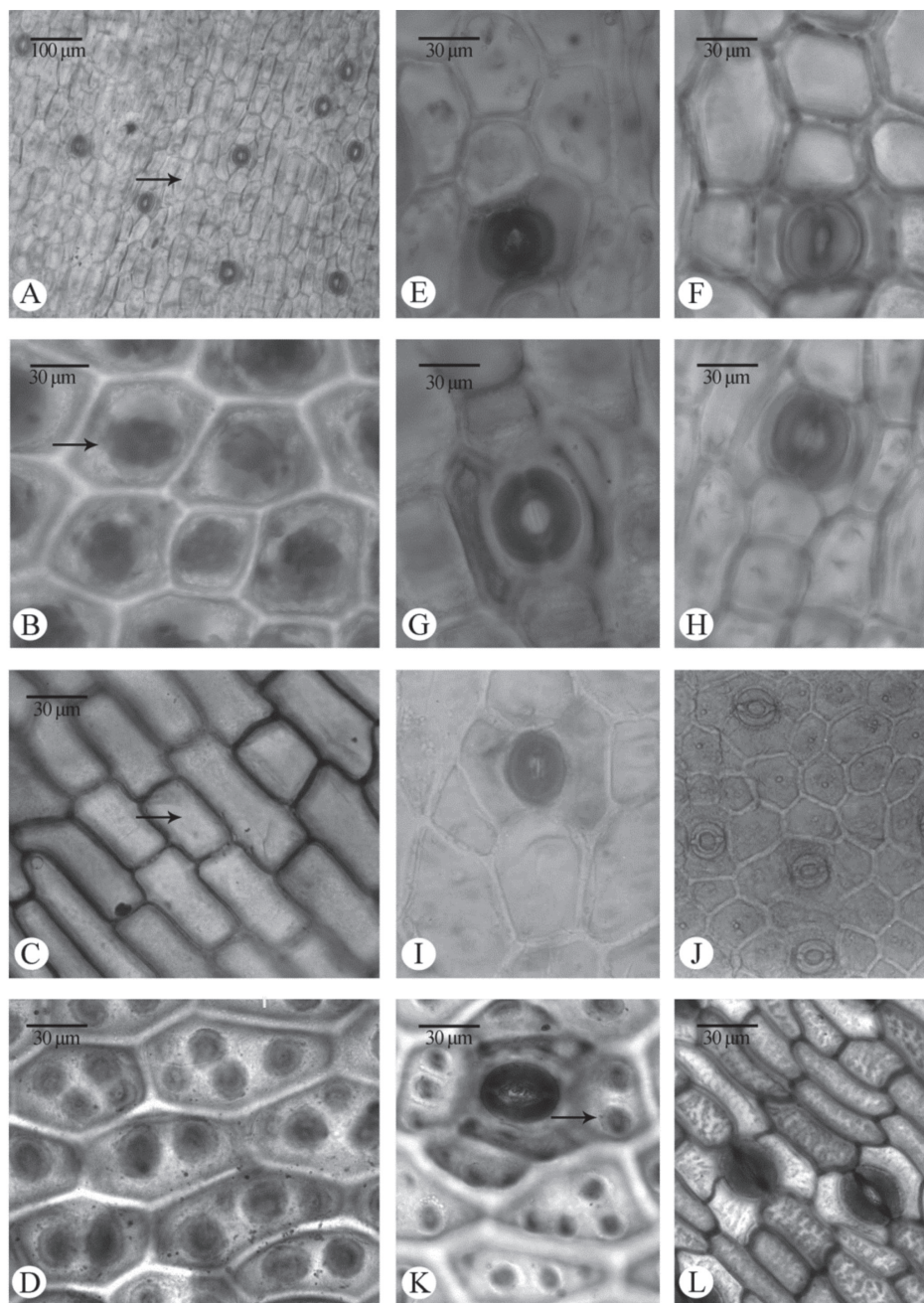
**UBICACIÓN DE ESTOMAS EN LA EPIDERMIS:** Hojas anfistomáticas en *Chelyorchis*, hipostomáticas en el resto de las especies, excepto en *G. pulvinatum*, en donde son de ambos tipos.

**Caracterización anatómica del sistema fundamental (Cuadro 4):** TIPO DE HOJA: Se observaron dos tipos de hojas de acuerdo a la disposición del parénquima, unifaciales en especies de *Cohniella* y bifaciales en las especies restantes (Fig. 2).

CUADRO 3  
Caracteres del sistema dérmico de las especies del clado-*Trichocentrum* y del grupo externo

TABLE 3  
Characters of dermal system of the species of *Trichocentrum*-clade and outgroup

Taxa	Epidermis	No. de papilas por célula epidérmica	Paredes periclitales externas	Forma de células epidérmicas	Intersección entre las paredes anticlitales de células epidérmicas	Tipo de estomas	Papilas en células guardias	Estriaciones en estomas	Células bulbiformes
<i>C. ascendens</i>	Lisa	—	Convexas	Penta/hexagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. biobicularis</i>	Papilosa	1	Convexas	Tetra/hexagonal	Angulosos	Tetracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. brachyphylla</i>	Papilosa	1	Convexas	Penta/hexagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Presente	Ausente
<i>C. cebolleta</i>	Papilosa	1	Convexas	Pentagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. cepula</i>	Lisa	—	Convexas	Tetra/pentagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. helicantha</i>	Lisa	—	Convexas	Tetragonal	Curvados	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. lacera</i>	Papilosa	1	Convexas	Tetragonal	Curvados	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. leptophylla</i>	Papilosa	1	Convexas	Penta/hexagonal	Angulosos	Tetracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. nuda</i>	Papilosa	1	Convexas	Tetra/pentagonal	Angulosos	Tetracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. pendula</i>	Papilosa	1	Convexas	Penta/hexagonal	Angulosos	Para/tetracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>C. yucatanensis</i>	Papilosa	1	Convexas	Penta/hexagonal	Angulosos	Tetracíticos	Presente	Ausente	Ausente
<i>La. flavovirens</i>	Papilosa	2-7	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>La. microchila</i>	Papilosa	2-7	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>La. splendida</i>	Papilosa	1	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>La. bicallota</i>	Papilosa	2-7	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>La. carthagenensis</i>	Papilosa	2-6	Rectas	Tetra/hexagonal	Angulosos	Paracíticos	Presente	Ausente	Ausente
<i>La. cavendishiana</i>	Papilosa	2-7	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Tetracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>La. lanceana</i>	Papilosa	2-4	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Tetracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>La. lurida</i>	Papilosa	2-5	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Tetracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>La. oerstadii</i>	Papilosa	2-7	Convexas	Penta/hexagonal	Angulosos	Para/tetracíticos	Presente	Ausente	Ausente
<i>La. straminea</i>	Papilosa	1	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Tetracíticos	Presente	Ausente	Ausente
<i>T. candidum</i>	Papilosa	2-11	Rectas	Penta/hexagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>T. hoegei</i>	Papilosa	2-11	Rectas	Tetra/hexagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Ch. ampliata</i>	Papilosa	1	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Presente
<i>Ch. pardoi</i>	Lisa	—	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Tetracíticos	Ausente	Ausente	Presente
<i>G. pulvinatum</i>	Papilosa	6-13	Rectas	Tetra/octagonal	Angulosos	Paracíticos	Ausente	Ausente	Presente
<i>Tr. egeronianum</i>	Lisa	—	Rectas	Tetra/pentagonal	Curvados	Paracíticos	Ausente	Ausente	Ausente

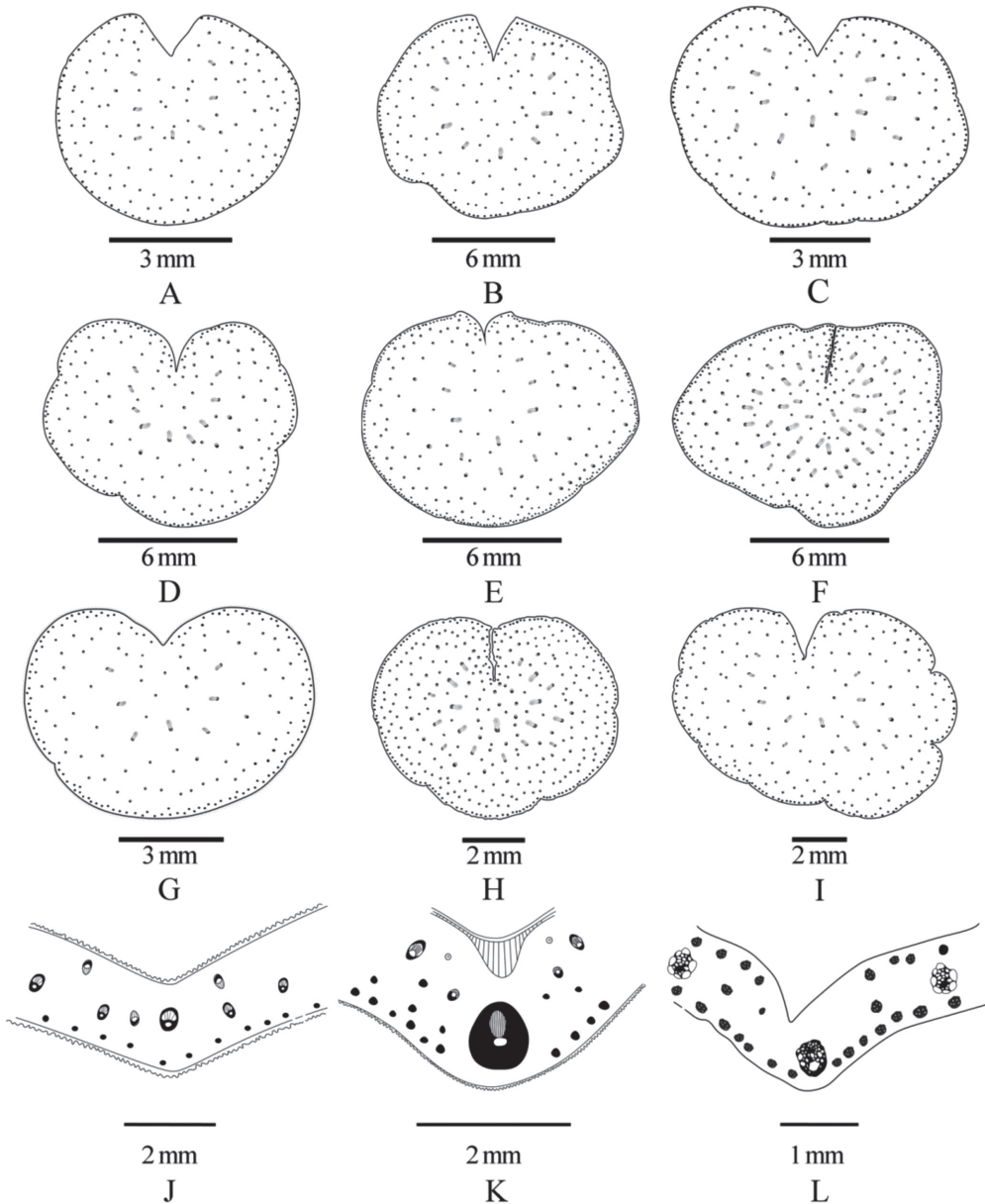


**Fig. 1.** Vistas paradérmicas de la epidermis foliar. (A, C) Células epidérmicas sin papilas. (B, D) Células epidérmicas con papilas. (E, G, H, L) Estomas paracíticos. (F, I, J, K) Estomas tetracíticos. (K) Papilas en células guardas, indicado con flecha. (A) *Cohniella cepula*. (B, F) *Cohniella leptotifolia*. (C, L) *Trigonidium egertonianum*. (D, K) *Lophiaris oerstedii*. (E) *Cohniella ascendens*. (G) *Cohniella cebolleta*. (H) *Cohniella cepula*. (I) *Lophiaris lanceana*. (J) *Chelyorichis pardoi*. **Fig. 1.** Paradermal views of leaf epidermis. (A, C) Epidermal cells without papillae. (B, D) Epidermal cells with papillae. (E, G, H, L) Paracytic stomata. (F, I, J, K) Tetracytic stomata. (K) Papillae in guard cells, indicated by arrow. (A) *Cohniella cepula*. (B, F) *Cohniella leptotifolia*. (C, L) *Trigonidium egertonianum*. (D, K) *Lophiaris oerstedii*. (E) *Cohniella ascendens*. (G) *Cohniella cebolleta*. (H) *Cohniella cepula*. (I) *Lophiaris lanceana*. (J) *Chelyorichis pardoi*.

TABLE 4  
 Characters of fundamental system of the species of *Trichocentrum*-clade and outgroup

Taxa	Tipo de hoja	Parénquima	Hipodermis	Engrosamientos de la pared celular de células parenquimáticas	Paquete de fibras extravasculares	Gránulos de almidón	Forma de los cristales de oxalato de calcio en la epidermis	Inclusiones celulares en el mesofilo
<i>C. ascendens</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Ausente	Drusas	Drusas
<i>C. biobicularis</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Reticulados	Presente	Ausente	Drusas/Rafidios	Drusas/rafidios
<i>C. brachyphylla</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Presente	Rafidios	Rafidios
<i>C. cebolleta</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Ausente	Drusas	Drusas/rafidios
<i>C. cepula</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Ausente	Ausente	Drusas
<i>C. helicantha</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>C. laeera</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>C. leptophylla</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Reticulados	Presente	Ausente	Drusas	Ausente
<i>C. nuda</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Ausente	Drusas	Drusas
<i>C. pendula</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Ausente	Drusas	Rafidios
<i>C. yucatanensis</i>	Unifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Presente	Rafidios	Rafidios
<i>La. flavovirens</i>	Bifacial	Heterogéneo	Ausente	Reticulados	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>La. microchila</i>	Bifacial	Heterogéneo	Ausente	Reticulados	Presente	Ausente	Ausente	Rafidios
<i>La. splendida</i>	Bifacial	Homogéneo	Ausente	Reticulados	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Ls. bicallosa</i>	Bifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Ls. carthagensis</i>	Bifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>Ls. cavendishiana</i>	Bifacial	Heterogéneo	Ausente	Espiralados	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Ls. lanceana</i>	Bifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Presente	Ausente	Ausente
<i>Ls. lurida</i>	Bifacial	Heterogéneo	Ausente	Reticulados	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Ls. oerstadii</i>	Bifacial	Homogéneo	Ausente	Espiralados	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Ls. straminea</i>	Bifacial	Homogéneo	Ausente	Reticulados	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>T. candidum</i>	Bifacial	Heterogéneo	Ausente	Espiralados	Ausente	Presente	Ausente	Ausente
<i>T. hoegei</i>	Bifacial	Heterogéneo	Ausente	Espiralados	Ausente	Presente	Ausente	Rafidios
<i>Ch. ampliata</i>	Bifacial	Heterogéneo	Presente	Ausentes	Presente	Ausente	Ausente	Rafidios
<i>Ch. pardoi</i>	Bifacial	Heterogéneo	Presente	Ausentes	Presente	Ausente	Ausente	Rafidios
<i>G. pulvinatum</i>	Bifacial	Heterogéneo	Presente	Ausentes	Presente	Ausente	Ausente	Rafidios
<i>Tr. egertonianum</i>	Bifacial	Homogéneo	Ausente	Ausentes	Presente	Ausente	Ausente	Ausente





**Fig. 2.** Comparación de secciones transversales. (A) *Cohniella ascendens*. (B) *Cohniella biorbicularis*. (C) *Cohniella cebolleta*. (D) *Cohniella cepula*. (E) *Cohniella helicantha*. (F) *Cohniella lacera*. (G) *Cohniella leptotifolia*. (H) *Cohniella nuda*. (I) *Cohniella pendula*. (J) *Lophiaris carthagenensis*. (K) *Chelyorchis pardoi*. (L) *Trigonidium egertonianum*.

**Fig. 2.** Comparison of transverse sections. (A) *Cohniella ascendens*. (B) *Cohniella biorbicularis*. (C) *Cohniella cebolleta*. (D) *Cohniella cepula*. (E) *Cohniella helicantha*. (F) *Cohniella lacera*. (G) *Cohniella leptotifolia*. (H) *Cohniella nuda*. (I) *Cohniella pendula*. (J) *Lophiaris carthagenensis*. (K) *Chelyorchis pardoi*. (L) *Trigonidium egertonianum*.

**PARÉNQUIMA:** En las especies de *Cohniella*, *La. splendida*, *Lophiaris* (excepto en *La. cavendishiana* y *La. lurida*) y *Tr. egertonianum* es homogéneo con células de tamaño, disposición y morfología variables (Fig. 3A), en las especies restantes es heterogéneo.

**HIPODERMIS:** Presente únicamente en las dos especies de *Chelyorchis* y en *G. pulvinatum*.

**ENGROSAMIENTOS DE LA PARED CELULAR DE CÉLULAS PARENQUIMÁTICAS:** Ausente en las especies del grupo externo; reticulados en *C. biorbicularis*, *C. leptotifolia* (Fig. 3C), *Lophiarella*, *La. lurida* y *La. straminea*; espiralados en las especies restantes (Fig. 3B, D).

**PAQUETE DE FIBRAS EXTRAVASCULARES:** Ausentes únicamente en *La. cavendishiana* y *Trichocentrum s.s.*

**GRÁNULOS DE ALMIDÓN:** Presentes únicamente en *C. brachyphylla*, *C. helicantha*, *C. lacera*, *C. yucatanensis*, *La. carthagenensis*, *La. lanceana* y *Trichocentrum s.s.*

**FORMA DE LOS CRISTALES DE OXALATO DE CALCIO EN LA EPIDERMIS:** Ausentes en *C. cepula*, *C. helicantha*, *C. lacera*, *Lophiarella*, *Lophiaris*, *Trichocentrum* y las especies del grupo externo; drusas en *C. ascendens* (Fig. 3E), *C. cebolleta*, *C. leptotifolia*, *C. nuda* y *C. pendula*; rafidios en *C. brachyphylla* y *C. yucatanensis*; ambos tipos de cristales en *C. biorbicularis*.

**INCLUSIONES CELULARES EN EL MESOFILO:** Ausentes en *C. helicantha*, *C. lacera*, *C. leptotifolia*, *La. flavovirens*, *La. splendida*, *Lophiaris*, *G. pulvinatum* y *Tr. egertonianum*; drusas en *C. ascendens*, *C. cepula* y *C. nuda*; rafidios en *C. brachyphylla*, *Chelyorchis*, *La. microchila* y *Trichocentrum*; ambos tipos de cristales en *C. biorbicularis* y *C. cebolleta* (Fig. 3F).

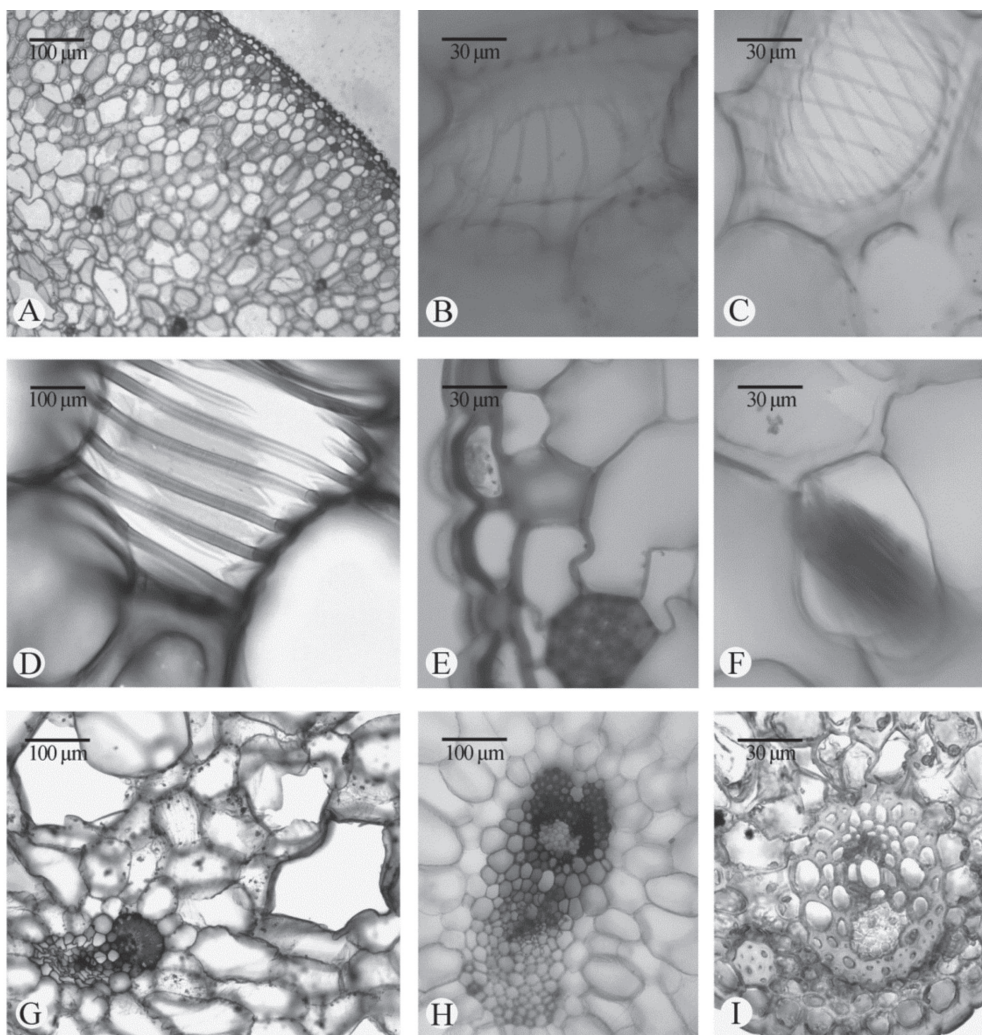
**Caracterización anatómica del sistema vascular:** En todas las especies los haces vasculares son de tipo colateral cerrado. En *Cohniella* los haces vasculares principales se

disponen en uno o dos arcos centrales y en el mesofilo como haces secundarios dispersos (e.g., *Cohniella leptotifolia*, Fig. 4A-B). El resto de las especies estudiadas presenta una hilera central de haces vasculares principales con haces secundarios intercalados o dispersos en el mesofilo.

**Análisis filogenético:** La matriz de datos incluyó 12 caracteres anatómicos (Apéndice). En la búsqueda heurística se encontraron 2 692 árboles más parsimoniosos de 23 pasos (L), con un índice de consistencia (CI) de 52 y un índice de retención (RI) de 84. El árbol de consenso estricto recuperó a *Grandiphyllum*+*Chelyorchis* (BT=89%) como el grupo hermano del clado-*Trichocentrum*. El clado-*Trichocentrum* incluye a los representantes de *Cohniella*, *Lophiarella*, *Lophiaris* y *Trichocentrum s.s.*, está sustentado por una sinapomorfía y un apoyo de 85% (Fig. 5); sus integrantes se agrupan en una politomía. Dentro de éste los representantes de *Cohniella* forman un clado que está sustentado por dos sinapomorfías y apoyo fuerte del BT (86%). Los representantes del clado *Cohniella* constituyen una politomía y dentro de la cual un par de especies muestran relaciones de taxa hermanos, *C. biorbicularis* y *C. leptotifolia* (BT=85%).

## DISCUSIÓN

Sandoval-Zapotitla (1999) y Sandoval-Zapotitla & Terrazas (2001) agruparon a las papilas en micropapilas (5-9µm de longitud), macropapilas cuticulares (10-34µm) y macropapilas epidérmicas (18-24µm), sin embargo, no pudieron señalar que el tamaño de las papilas permitiera reconocer los grupos I y II de Oncidiinae en su análisis. Por otra parte, Sandoval-Zapotitla (1999) señaló la presencia de papilas en *C. ascendens*, contrario a lo encontrados en este estudio. Sandoval-Zapotitla et al. (2003) indicaron que la presencia de papilas en la epidermis facilita una mejor captación de luz por diferentes ángulos oblicuos. Además, pueden actuar en la regulación de la cantidad de luz incidente, evitando que se

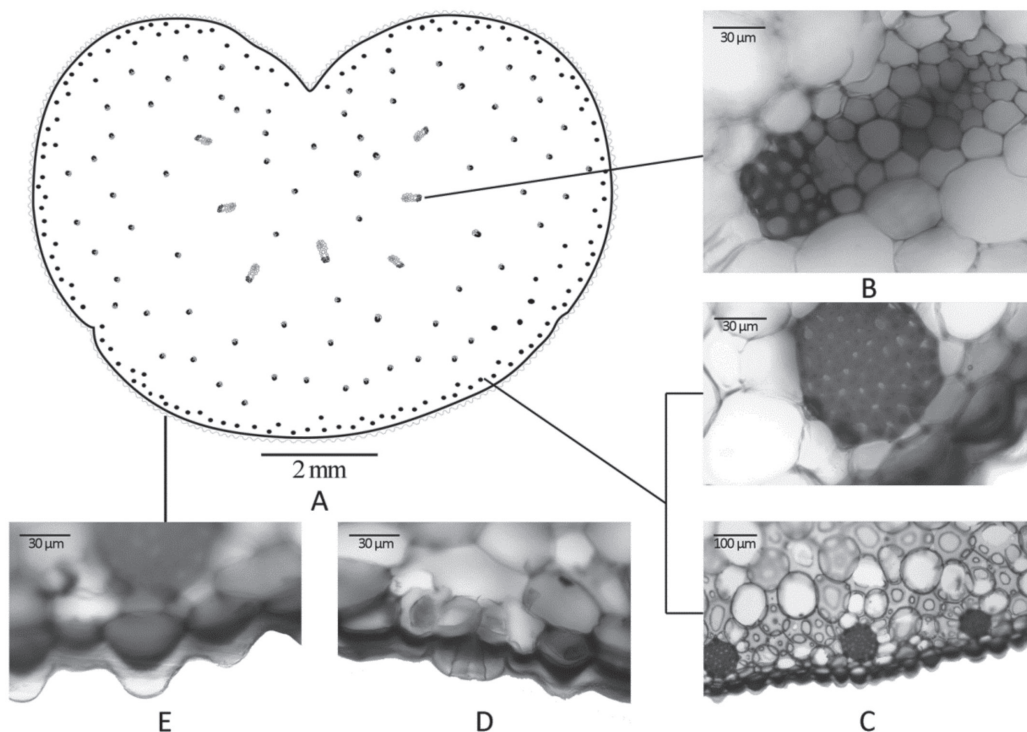


**Fig. 3.** Secciones transversales de hojas. (A) *Cohniella nuda*, parénquima homogéneo. (B y D) Células con engrosamientos espiralados. (B) *Cohniella pendula*. (C) *Cohniella leptotifolia*, células con engrosamientos reticulados. (D) *Lophiaris oerstedii*. (E) *Cohniella ascendens*, drusas en la epidermis. (F) *Cohniella cebolleta*, rafidos en el mesofilo. (G) *Cohniella yucatanensis*, espacios de aire. (H) *Cohniella biorbicularis*, haz vascular. (I) *Trigonidium egertonianum*, haz vascular central.

**Fig. 3.** Cross sections of leaves. (A) *Cohniella nuda*, homogeneous parenchyma. (B y D) Cells with spiral thickenings. (B) *Cohniella pendula*. (C) *Cohniella leptotifolia*, cells with reticulated thickenings. (D) *Lophiaris oerstedii*. (E) *Cohniella ascendens*, drusen in epidermis. (F) *Cohniella cebolleta*, raphides in the mesophyll. (G) *Cohniella yucatanensis*, air spaces. (H) *Cohniella biorbicularis*, vascular bundle. (I) *Trigonidium egertonianum*, central vascular bundle.

calienten los tejidos subyacentes y se dañen los estomas (Lindorf, Parisca & Rodríguez, 1991). De acuerdo con Williams (1974) el número de papilas por célula epidérmica es un carácter útil a nivel de subtribu y género en la clasificación de Oncidiinae. En este estudio, dentro del clado-*Trichocentrum* hay una relación entre la

presencia de hojas teretes y la presencia de una sola papila por célula epidérmica, ya que ocho de 11 especies analizadas presentan esta condición. Sin embargo, parece haber también una relación entre la presencia de una papila por célula epidérmica en hojas teretes de especies que crecen en ambientes estacionalmente secos



**Fig. 4.** *Cohniella leptotifolia*. (A) Sección transversal de la hoja. (B) Detalle del haz vascular. (C) Fibras extravasculares. (D) Estomas. (E) Papilas.

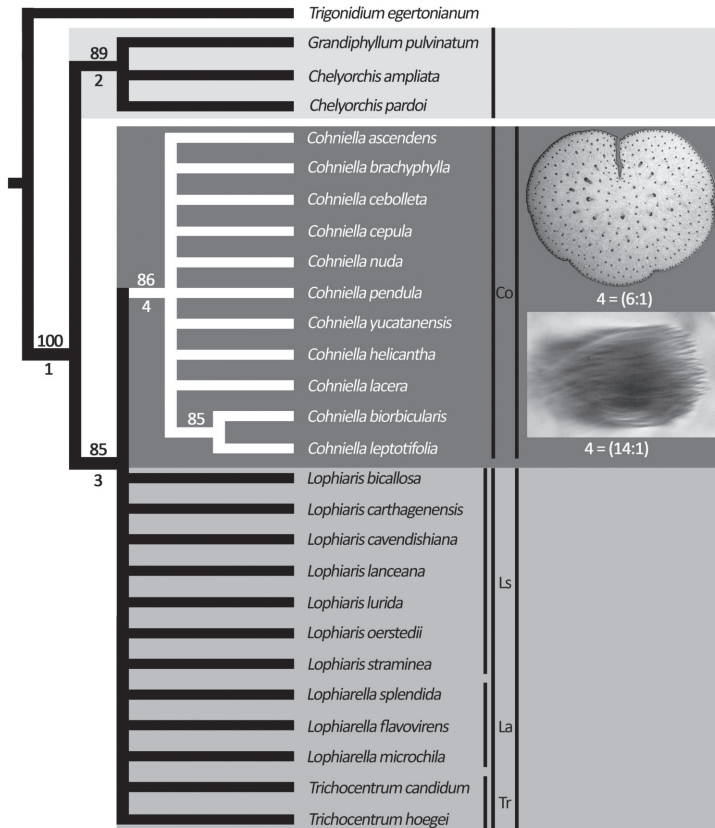
**Fig. 4.** *Cohniella leptotifolia*. (A) Transversal section of the leaf. (B) Detail of the vascular bundle. (C) extravascular fibers. (D) Stomata. (E) Papillae.

y expuestos a la alta radiación solar, mientras que las especies de ambientes húmedos y sombríos (e.g., *C. ascendens*, *C. cepula* y *C. helicantha*), poseen células epidérmicas carentes de papilas, lo que podría indicar que este no es un carácter que ha co-evolucionado con la forma de la hoja, y que quizás su evolución sea independiente en obediencia a factores ambientales. En este sentido, el patrón de hojas teretes con una papila por célula epidérmica fue también encontrado en algunas especies de *Brassavola* (Noguera-Savelli & Jáuregui, 2011), *Trimezia* Salisb. ex Herb. (Iridaceae, Rudall 1993). Sin embargo, una sola papila por célula epidérmica no es un carácter exclusivo de las hojas teretes, este también se ha encontrado en algunas especies de hojas conduplicadas como *Ch. ampliata*, *Dresslerella hirsutissima* (C.

Schweinf.) Luer (Pridgeon 1982), *La. splendida*, y *Ls. straminea*.

Por otra parte, en la mayoría de los representantes de hojas conduplicadas el número de papilas es variable, en *Lophiarella* y *Lophiaris* se presentan de 2-7 papilas por célula y en *Trichocentrum* s.s. 2-11 papilas por célula. Es de destacar que la presencia de papilas se observó tanto en hojas conduplicadas como en hojas teretes, esto semejante a lo observado por Noguera-Savelli & Jáuregui (2011) para *Brassavola* R. Brown, otro género de orquídeas.

Stern & Carlswald (2006) encontraron que en Oncidiinae el tipo básico de estoma fue tetracítico, sin especificar el tipo de estoma presente en cada especie; en este estudio, se observaron estomas paracíticos y tetracíticos, sin un patrón entre el tipo de estomas y las especies o



1. Epidermis papilosa (1:1); células epidérmicas angulosas (3:1).
2. Presencia de células buliformes (5:1); y de hipodermis (10:1).
3. Presencia de engrosamiento de la pared celular de células parenquimáticas (7:1).
4. Hoja unifacial (6:1); presencia de inclusiones celulares en la epidermis (11:1).

**Fig. 5.** Árbol de consenso estricto de 2 692 árboles más parsimoniosos basado en caracteres anatómico foliares. L=23, CI=52, RI=84. Numero por encima de las ramas representan los porcentajes de bootstrap.

**Fig. 5.** Strict consensus tree of 2 692 most parsimonious trees based on leaf anatomical characters. L=23, IC=52, IR=84. Numbers above the branches represent bootstrap percentages.

géneros. Otros caracteres, como presencia de papilas en las células o estriaciones en estomas, carecieron de utilidad taxonómica para las especies del clado-*Trichocentrum* incluidas en el estudio.

Sandoval-Zapotitla & Terrazas (2001) indicaron que las células buliformes en la porción media de la hoja constituyen un carácter de valor taxonómico; los representantes del grupo I, clado-*Trichocentrum*, carecen de células buliformes, pero están presentes en las

especies del grupo II. Estas células también están ausentes en los representantes *Cohniella* y *Lophiaris* incluidas en el presente estudio (clado-*Trichocentrum*) y ausentes en *Ch. ampliata*, en *Ch. pardoii* y *G. pulvinatum* que son miembros del grupo II.

Oliveira & Sajo (1999) señalaron que la constitución del mesófilo puede asociarse a la forma de la hoja, por lo general, las hojas teretes no presentan diferenciación entre parénquima en empalizada y esponjoso (homogéneo);

en cambio en las hojas conduplicadas se puede presentar un parénquima diferenciado en empalizada y esponjoso (heterogéneo). Este patrón también fue encontrado por Noguera-Savelli & Jáuregui (2011) en *Brassavola*. En el presente estudio, *Cohniella*, que tiene las hojas teretes, presentó parénquima homogéneo; en tanto, *Lophiaris*, *Lophiarella* y *Trichocentrum* s.s. con hojas conduplicadas presentaron parénquima heterogéneo, excepto *La. splendida*, *La. bicallosa*, *La. carthagenensis*, *La. lanceana*, *La. oerstedii* y *La. straminea*.

En algunas especies de orquídeas de la subtribu Pleurothallidinae (Pridgeon 1986, Scatena & Nunes, 1996) y Laeliinae (Noguera-Savelli & Jáuregui, 2011) se observó que en ausencia de pseudobulbos y presencia de hojas carnosas, el mesofilo foliar posee células con engrosamientos espiralados, dichas células tienen por función almacenar agua y evitar el colapso de las mismas durante los períodos de sequía. Este tipo de células también están presentes en el mesofilo foliar de las especies que representaron al clado-*Trichocentrum* que poseen pseudobulbos reducidos y hojas carnosas, mientras que en las especies del grupo externo, que poseen pseudobulbos bien desarrollados y hojas coriáceas, no se observaron engrosamientos en las células del mesofilo.

Los caracteres observados en las especies del clado-*Trichocentrum*, indican que estas plantas poseen atributos xeromórficos, ya que la mayoría de ellas presentan papilas en la epidermis, las cuales pueden actuar en la regulación de la cantidad de luz incidente, evitando que se calienten los tejidos subyacentes y se dañen los estomas (Lindorf et al., 1991); mesofilo con células provistas de engrosamientos espiralados o reticulados que tienen por función almacenar agua y evitar el colapso de los tejidos durante los períodos de sequía, tal como se presenta en la subtribu Pleurothallidinae (Pridgeon, 1986; Scatena & Nunes, 1996; Ely, Torres, Rada & León, 2007); paquetes de fibras que le confieren a las hojas resistencia mecánica en caso de deshidratación de las plantas, brindándoles la capacidad de sobrevivir en hábitats xéricos (Oliveira & Sajo, 1999;

Noguera-Savelli & Jáuregui, 2011), y cristales cuya función no ha sido bien determinada, no obstante se vinculan con la regulación de los niveles de calcio, la protección contra la herbivoría y la detoxificación de metales pesados (Jáuregui-Zuñiga & Moreno, 2004).

En general, la mayoría de los caracteres anatómicos foliares evaluados en los representantes de los géneros del clado-*Trichocentrum* fueron similares, sin embargo, el carácter de hoja unifacial, es exclusivo de los representantes de *Cohniella*, lo que permite diferenciarlo a nivel taxonómico del resto de los géneros del clado-*Trichocentrum*.

La relaciones filogenéticas empleando caracteres morfológicos, de anatomía foliar y secuencias moleculares para representantes del clado-*Trichocentrum* ha sido evaluadas por Stern & Carlswald (2006) y Sandoval-Zapotitla et al. (2010a) al incluir algunas especies en análisis filogenéticos para Oncidiinae. Nuestro estudio representa el mayor muestreo dentro del clado-*Trichocentrum* al emplear caracteres anatómicos para 23 especies del grupo (31.08% vs. 2.25% y 3.75%, Stern & Carlswald (2006), Sandoval-Zapotitla et al. (2010a), respectivamente).

El presente análisis filogenético recuperó a las tres especies del grupo externo (*Chelyorchis*+*Grandiphyllum*) en un clado con fuerte apoyo del BT y apoyado por la presencia de células buliformes e hipodermis. Estas tres especies no se incluyeron en el análisis filogenético de Sandoval-Zapotitla et al. (2010a); sin embargo, fueron reconocidas en el grupo II del clado *Lophiaris* (sensu Chase & Palmer 1989) o *Trichocentrum* (sensu Williams et al., 2001) con base en los caracteres anteriores y otros anatómicos representados en un análisis fenético y del estudio comparativo de Sandoval-Zapotitla (1999) y Sandoval-Zapotitla & Terrazas (2001), correspondientemente.

El clado-*Trichocentrum* fue recuperado en el presente estudio con un soporte moderado y sustentado por una sinapomorfia, la presencia de engrosamientos en la pared celular de células parenquimáticas. Algunos integrantes de este clado y el carácter que lo apoya

como sinapomorfia, previamente fue incluido para las especies del grupo I de Sandoval-Zapotitla (1999) o el grupo *Trichocentrum* en Sandoval-Zapotitla & Terrazas (2001). La presencia de engrosamientos en la pared celular de células parenquimáticas también se presentó entre los integrantes del clado A en Sandoval-Zapotitla et al. (2010a) pero resulta ser una homoplasia que también se presenta en *Tolumnia* Raf. (clado I) y la subtribu Zygotetaliae (Sandoval-Zapotitla et al., 2010a). Los engrosamientos en la pared celular de células parenquimáticas han sido registrados en Pleurothallidinae (Pridgeon, 1986) y *Brasavola* R. Brown (Noguera-Savelli & Jáuregui, 2011) donde se señala que almacenan agua para evitar el colapso de los tejidos durante los periodos de sequía. En las especies del clado-*Trichocentrum* los engrosamientos en la pared celular de células parenquimáticas quizás compensan la ausencia de una hipodermis que realiza el almacenamiento adicional de agua (Madisson, 1977; Roth, 1992). La presencia de hojas anfistomáticas fue reconocida entre los integrantes del clado-*Trichocentrum* en el estudio de Sandoval-Zapotitla et al. (2010a). Sin embargo, este carácter también se presenta en *G. pulvinatum*, especie del grupo externo que posee tanto hojas anfistomáticas como hipostomáticas (Sandoval-Zapotitla, 1999) pero especie no incluida en el análisis filogenético de Sandoval-Zapotitla et al. (2010a).

Dentro del clado-*Trichocentrum* los representantes de *Lophiarella*, *Lophiaris* y *Trichocentrum* s.s. de hojas conduplicadas se encuentran en la politomía basal. En Sandoval-Zapotitla et al. (2010a) estos géneros estuvieron representados por *La. splendida* (*T. splendendum*) y *T. pfavii*, sin embargo, esta última estuvo más relacionada con *C. brachyphylla* ("*T. cebolleta*") por la presencia de una hoja con zona abaxial central convexa y los pseudobulbos reducidos. Por otro lado, tres representantes de *Lophiarella* y *Lophiaris* incluidas en el presente estudio aparecieron dentro del grupo I, subgrupo A del análisis fenético de Sandoval-Zapotitla (1999), mientras que las dos especies

de *Trichocentrum* s.s. quedaron incluidas en el grupo I, subgrupo C del mismo estudio.

El único clado recuperado dentro del clado-*Trichocentrum* en el presente análisis estuvo compuesto por las 11 especies de *Cohniella* de hojas teretes, tuvo como sinapomorfias una hoja unifacial y presencia de inclusiones celulares en la epidermis, y su soporte de BT fue fuerte. En Sandoval-Zapotitla et al. (2010a) este clado estuvo representado por *C. brachyphylla* ("*T. cebolleta*") y en Sandoval-Zapotitla (1999) por *C. ascendens* ("*O. ascendens*") y *C. brachyphylla* ("*O. cebolleta*"), las cuales quedaron agrupadas en el subgrupo C del grupo I con base a la presencia de una hoja terete. Las hojas teretes usualmente son unificiales (Stern, Morris & Judd, 1994), debido a que el parénquima no está diferenciado en parénquima de empalizada y esponjoso; por lo tanto, este carácter junto con la morfología terete de las hojas define a *Cohniella* dentro de Oncidiinae. Por otra parte, las inclusiones celulares encontradas en *Cohniella* pueden ser de tipo drusas o rafídios. En Oncidiinae únicamente se han descrito inclusiones celulares de tipo drusas en 10 especies de *Oncidium* y dos especies de *Rhynchostele* Rchb. f. por Sandoval-Zapotitla, Terrazas & Villaseñor (2010b).

Los resultados de este estudio, basados solamente en 12 caracteres anatómicos, sugieren que estos caracteres no apoyan las relaciones genéricas dentro del clado-*Trichocentrum*, en oposición a los caracteres moleculares y morfológicos, los cuales, solos o en combinación, siempre permiten recuperar topologías donde los cuatro géneros del clado-*Trichocentrum* son monofiléticos. Sin embargo, la particular morfología del género *Cohniella* correlaciona claramente con varios caracteres anatómicos (hojas unificiales y presencia de inclusiones celulares en la epidermis), cuyo análisis filogenético si permite recobrar al género como monofilético y con fuerte apoyo del BT.

## AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al CONACYT por la beca 162579 otorgada para estudios

doctorales. La segunda autora agradece al ECOSUR por la beca otorgada para estudios posdoctorales. Norbelis Garcés (UCV) por la asistencia prestada en el laboratorio de anatomía. Luis Carrera Parra (ECOSUR) por las facilidades otorgadas para el fotografiado de láminas en el laboratorio de Poliquetos del ECOSUR. Silvia Hernández y José L. Tapia Muñoz (CICY) ayudaron en el procesamiento de los especímenes de respaldo. Sergio Salazar Vallejo y Luis Carrera Parra (ECOSUR) por sus valiosos comentarios y sugerencias que mejoraron el artículo. Asimismo, agradecemos a los cinco revisores anónimos y a los editores asociados por sus comentarios y sugerencias. GC y WCI agradecen al proyecto CONACYT 49980-Q otorgado al primero.

## RESUMEN

El clado-*Trichocentrum* incluye los géneros *Cohniella*, *Lophiarella*, *Lophiaris* y *Trichocentrum* s.s. Estos géneros se distribuyen desde Florida y el Norte de México hasta el Sur de Brasil y Norte de Argentina, creciendo desde bosques caducifolios, bosques húmedos tropicales hasta matorrales espinosos y bosques de pino-encino, desde el nivel del mar hasta los 1 700m. En este estudio se exploró el valor taxonómico y filogenético de la estructura anatómica de las hojas de 23 especies del clado-*Trichocentrum*, repartidos en 11 especies de *Cohniella*, tres de *Lophiarella*, siete de *Lophiaris* y dos de *Trichocentrum* s.s., y de otras cuatro especies incluidas como grupo externo. Se realizaron secciones transversales y observaciones paradérmicas de la porción media de hojas frescas para el estudio de los caracteres anatómicos. Doce caracteres anatómico foliares fueron seleccionados y codificados para el análisis filogenético que se realizó mediante el uso de una búsqueda exhaustiva (enumeración implícita) con el programa TNT. El consenso estricto de 2 692 árboles más parsimoniosos dio lugar a una politomía que recupera dentro del clado-*Trichocentrum* a *Cohniella* como un clado monofilético fuertemente apoyado con sinapomorfías de las hojas unifaciales y la presencia de inclusiones celulares en la epidermis.

**Palabras clave:** análisis cladístico, anatomía foliar, *Cohniella*, *Lophiarella*, *Lophiaris*, *Trichocentrum*.

## REFERENCIAS

Abreu, C. & Peña, C. (1982). *Estudio anatómico de hoja y tallo de orquídeas que habitan en ambiente de bosque*

*seco*. (Tesis de licenciatura). Universidad Católica Andrés Bello, Caracas D.F., Venezuela.

- Astudillo, M. A. & Cabrera, P. G. (1983). *Estudio anatómico de los órganos vegetativos de especies de orquídeas pertenecientes al género Oncidium*. (Tesis de licenciatura). Universidad Católica Andrés Bello, Caracas D.F., Venezuela.
- Balam, R. (2011). *Sistemática de Lophiaris Raf. (Orchidaceae)*. (Tesis de Doctorado). Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, México.
- Carnevali, G., Cetzal-Ix, W., Balam, R. & Romero-González, G. A. (2010). A synopsis of *Cohniella* (Orchidaceae, Oncidiinae). *Brittonia*, 62(2), 153-177.
- Carnevali, G., Cetzal-Ix, W., Balam, R., Leopardi, C. & Romero-González, G. A. (2013). A combined evidence phylogenetic re-circumscription and a revision of *Lophiarella* (Orchidaceae: Oncidiinae). *Systematic Botany*, 38(1), 46-63.
- Cetzal-Ix, W. & Carnevali, G. (2010). A revision of *Cohniella* Pfitzer (Orchidaceae) in Mexico. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 137(2-3), 180-213.
- Cetzal-Ix, W. & Carnevali, G. (2011). A new species of *Cohniella* (Orchidaceae: Cymbideae, Oncidiinae) from Amazonian Venezuela. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, 21(2), 178-181.
- Chase, M. W. (2009). Subtribe Oncidiinae. In A. M. Pridgeon, P. J. Cribb, M. W. Chase & T. N. Rasmussen (Eds.), *Genera Orchidacearum. 5. Epidendroideae. Part II*. (p. 211-220). Oxford, Reino Unido: Oxford University.
- Chase, M. W. & Palmer, J. D. (1989). Chloroplast DNA systematics of lilioid monocots: resources, feasibility, and an example from the Orchidaceae. *American Journal of Botany*, 76(12), 1720-1730.
- Chase, M. W., Hanson, L., Albert, V. A., Whitten, W. M. & Williams, N. H. (2005). Life history evolution and genome size in Subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 95(1), 191-199.
- Ely, F., Torres, F., Rada, F. & León, Y. (2007). Estudio morfo-anatómico de dos orquídeas de una selva nublada tropical. *Interciencia*, 32(6), 410-418.
- Fitch, W. M. (1971). Toward defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. *Systematic Biology*, 20(4), 406-416.
- Garay, L. A. & Stacy, J. E. (1974). Synopsis of the genus *Oncidium*. *Bradea*, 1(40), 398-428.
- Goloboff, P., Farris, J. & Nixon, K. (2003). T.N.T.: Tree Analysis Using New Technology. Program and documentation. Distribuido por los autores. Buenos Aires, Argentina.
- Jáuregui-Zuñiga, D. & Moreno, A. (2004). La biomine-ralización del oxalato de calcio en plantas: retos y potencial. *REB*, 23(1), 18-23.



- Kress, W. J., Prince, L. M. & Williams, K. J. (2002). The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *American Journal of Botany*, 89(10), 1682-1696.
- Lindorf, H., de Parisca, L. & Rodríguez, P. (1991). *Botánica: clasificación, estructura, reproducción*. Caracas, D.F.: Ediciones de la Biblioteca, Universidad Central de Venezuela.
- Madisson, M. (1977). Vascular epiphytes: their systematic occurrence and salient features. *Selbyana*, 2(1), 1-13.
- Neubig, K. M., Whitten, W. M., Williams, N. H., Blanco, M. A., Endara, L., Burleigh, J. G., Silvera, K., Cushman, J. C. & Chase, M. W. (2012). Generic recircumscriptions of Oncidiinae (Orchidaceae: Cymbidieae) based on maximum likelihood analysis of combined DNA datasets. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 168(2), 117-228.
- Nixon, K.C. (1999-2002). Winclada ver 1.0000. Ithaca, New York: published by the author.
- Noguera-Savelli, E. & Jáuregui, D. (2011). Anatomía foliar comparada y relaciones filogenéticas de 11 especies de Laeliinae con énfasis en *Brassavola* (Orchidaceae). *Revista de Biología Tropical*, 59(3), 1047-1059.
- Oliveira, V. C. & Sajo, M. G. (1999). Anatomía foliar de especies epifitas de Orchidaceae. *Revista Brasileira de Botânica*, 22(3), 365-374.
- Pridgeon, A. M. (1982). Diagnostic anatomical characters in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 69(6), 921-938.
- Pridgeon, A. M. (1986). Anatomical adaptations in Orchidaceae. *Lindleyana*, 1(2), 90-101.
- Pupulin, F. (1995). A revision of the genus *Trichocentrum* (Orchidaceae: Oncidiinae). *Lindleyana*, 10(3), 183-210.
- Pupulin, F. & Carnevali, G. (2005). *Cohniella* Pfitz. In F. Pupulin (Ed.), *Vanishing Beauty: Native Costa Rican Orchids Vol. I*. (pp. 141-147). San José, Costa Rica: University of Costa Rica Press.
- Roth, I. (1992). *Leaf structure: coastal vegetation and mangroves of Venezuela*. Berlín, Alemania: Gebr. Borntraeger.
- Rudall, P. (1993). Leaf anatomy and systematics of Mariceae (Iridaceae). *Kew Bulletin*, 48(1), 151-160.
- Sandoval-Zapotitla, E. (1999). *Anatomía foliar y análisis numérico del clado Lophiaris y géneros relacionados (Orchidaceae: Oncidiinae)*. (Tesis inédita de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., México.
- Sandoval-Zapotitla, E., García-Cruz, J., Terrazas, T. & Villaseñor, J. L. (2010a). Relaciones filogenéticas de la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae) inferidas a partir de caracteres estructurales y secuencias de ADN (ITS y matK): un enfoque combinado. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 81(2), 263-279.
- Sandoval-Zapotitla, E. & Terrazas, T. (2001). Leaf anatomy of 16 taxa of the *Trichocentrum* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). *Lindleyana*, 16(2), 81-93.
- Sandoval-Zapotitla, E., Terrazas, T. & Villaseñor, J. L. (2010b). Diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae). *Revista de Biología Tropical*, 58(2), 733-755.
- Sandoval-Zapotitla, E., Terrazas, T. & Vallejo, A. (2003). Análisis fenético de caracteres anatómicos-foliares de *Trichocentrum* y géneros relacionados (Orchidaceae, Oncidiinae). *Lankesteriana*, 7(2), 51-53.
- Sass, J. (1958). *Botanical microtechnique*. Iowa, USA: Iowa State College Press.
- Scatena, V. & Nunes, A. (1996). Anatomía de *Pleurothallis rupestris* Lindl. (Orchidaceae) de dos campos rupes- tres de Brasil. *Boletim de Botânica, Universidade de São Paulo*, 15, 35-43.
- Scotland, R. W., Olmstead, R. G. & Bennett, J. R. (2003). Phylogeny reconstruction: the role of morphology. *Systematic Biology*, 52(4), 539-548.
- Sibley, C. G. & Ahlquist, J. E. (1987). DNA hybridization evidence of hominid phylogeny: results from an expanded data set. *Journal of Molecular Evolution*, 26(1-2), 99-121.
- Sosa, V. M., Chase, M. W., Salazar, G., Whitten, M. & Williams, N. H. (2001). Phylogenetic position of *Dignathe* (Orchidaceae: Oncidiinae): evidence from nuclear ITS ribosomal DNA sequences. *Lindleyana*, 16(2), 94-101.
- Stern, W. L. & Carlswald, B. S. (2006). Comparative vegetative anatomy and systematics of the Oncidiinae (Maxillarieae, Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152(1), 91-107.
- Stern, W. L., Morris, M. W. & Judd, M. S. (1994). Anatomy of the thick leaves in *Dendrobium* section *Rhynchobium* (Orchidaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 155(6), 716-729.
- Szlachetko, D. L., Mytnik-Ejsmont, J. & Romowicz, A. (2006). Genera et Species Orchidaliium. 14. Oncidieae. *Polish Botanical Journal*, 51(1), 53-55.
- Williams, N. H. (1974). The value of plant anatomy in orchid taxonomy. In M. Ospina (Ed.), *Proceedings of the seventh World Orchid Conference* (pp. 281-298). Medellín, Colombia.
- Williams, N. H., Chase, M. W., Fulcher, T. & Whitten, W. M. (2001). Molecular systematics of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtorchilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, *Trichocentrum*, and a new genus (Orchidaceae). *Lindleyana*, 16(2), 113-139.

APÉNDICE  
Matriz para el análisis filogenético

APPENDIX  
Matrix for phylogenetic analysis

Taxones	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Trigonidium egeronianum</i>	0	0	0	0	0	0	0	?	0	0	0	?
<i>Grandiphyllum pulvinatum</i>	1	0	1	0	1	0	0	?	0	1	0	0
<i>Chelyorichis ampliata</i>	1	0	1	0	1	0	0	?	0	1	0	1
<i>Chelyorichis pardoii</i>	0	0	1	1	1	0	0	?	0	1	0	1
<i>Cohniella ascendens</i>	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1
<i>Cohniella biorbicularis</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1
<i>Cohniella brachyphylla</i>	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1
<i>Cohniella cebolleta</i>	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1
<i>Cohniella cepula</i>	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>Cohniella helicantha</i>	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>Cohniella lacera</i>	1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
<i>Cohniella leptotifolia</i>	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1
<i>Cohniella nuda</i>	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1
<i>Cohniella pendula</i>	1	1	1	0, 1	0	1	1	0	0	0	1	1
<i>Cohniella yucatanensis</i>	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1
<i>Lophiaris bicallosa</i>	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Lophiaris carthagenensis</i>	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Lophiaris cavendishiana</i>	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0
<i>Lophiaris lanceana</i>	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Lophiaris lurida</i>	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Lophiaris oerstedii</i>	1	1	1	0, 1	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>Lophiaris straminea</i>	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Lophiarella flavovirens</i>	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Lophiarella microchila</i>	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Lophiarella splendida</i>	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Trichocentrum candidum</i>	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
<i>Trichocentrum hoegei</i>	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0