



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

KARLA MARIANA SILVA

CITOGENÉTICA DA SUBTRIBO ONCIDIINAE

Areia
2020

KARLA MARIANA SILVA

CITOGENÉTICA DA SUBTRIBO ONCIDIINAE

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade Federal da
Paraíba como requisito parcial para
obtenção do título de Licenciado em
Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix

Areia
2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586c Silva, Karla Mariana.
Citogenética da Subtribo Oncidiinae / Karla Mariana
Silva. - Areia, 2020.
40 f. : il.

Orientação: Leonardo Pessoa Felix.
Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. CMA/DAPI. 2. Heterocromatina. 3. Número
cromossômico. 4. Orchidaceae. I. Felix, Leonardo
Pessoa. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

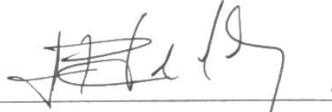
KARLA MARIANA SILVA

CITOGENÉTICA DA SUBTRIBO ONCIDIINAE

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade Federal da
Paraíba como requisito parcial para
obtenção do título de Licenciada em
Ciências Biológicas

Aprovada em: 17 de fevereiro de 2020

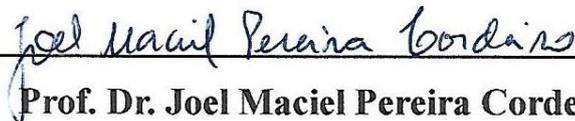
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix
Orientador – DCB/CCA/UFPB



Dra. Angeline Maria da Silva Santos
Examinadora – PNP/PPGA/UFPB



Prof. Dr. Joel Maciel Pereira Cordeiro
Examinador - UEPB

Dedico esse trabalho aos meus amores:

José Paulino da Silva (*in memoriam*) meu querido pai, porque aqui só cheguei por teus esforços e ensinamentos.

Maria da Luz Silva (*in memoriam*) minha amada mãe, teu amor foi incondicional não importando a situação, sempre foste fonte de ternura e sabedoria.

E a minha filha Luanna Paulino, que sempre foi a minha força para continuar vivendo.

Agradecimentos

Aos espíritos de luz que me acompanham e me auxiliam até hoje, por todos os aconselhamentos e caminhos iluminados.

Aos meus pais Maria e José, que nunca mediram esforços, para eu ser uma pessoa realizada e feliz. Obrigada por este amor tão imensurável que mesmo depois da partida me sinto ainda repleta de amor. Tenho convicção que mesmo com a distância física, sempre que podem estão a torcer e cuidar de mim. Sem vocês eu não seria nada. Que possamos nos encontrar com alegria no mundo espiritual.

Ao meu orientador Professor Leonardo, por toda oportunidade que me ofereceu, pela paciência, tempo e dedicação para me ensinar, mesmo com toda ocupação nunca deixou de responder minhas dúvidas. Um exemplo de profissional.

A Angeline Santos pela paciência e dedicação em me ajudar em todos os projetos que fiz dentro do laboratório de citogenética, mesmo com tempo apertado devido suas obrigações,

sempre conseguiu tempo para me orientar, a ela também agradeço por todo ensinamento que obtive nos procedimentos de pesquisa prática e teórica.

Aos meus amigos do laboratório, Enoque, Joel, Achilles, Harrison, José, William, Rodrigo, Luciana, Talita, Erton e Cláudio que sempre se preocuparam em me ajudar, desde conselhos até dúvidas sobre conteúdo dentro do laboratório.

Aos Professores e amigos do CCA, Andreia Guimarães, Laís Angélica, David de Holanda, Abrãao, Lennyneves, Carlos Henrique, quando entrei neste curso nunca pensei que encontraria professores tão humanos, com a capacidade de enxergar o aluno.

A Yanne Rocha, pela amizade, por sempre estender a mão quando eu precisei. Nunca esquecerei os conselhos, as risadas e o companheirismo. Olga Rocha, por sempre ter sido uma pessoa maravilhosa, por todo apoio e dedicação.

A Yago Rocha, pelo companheirismo e por estar comigo todos esses anos nos piores e melhores momentos da minha vida.

Agradeço a banca examinadora pelas correções e sugestões que contribuíram para a melhoria do meu trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Relação filogenética entre as cinco subfamílias de Orchidaceae. Fonte: Chase *et al.* (2015).13

Figura 2 – Diversidade de flores em Oncidiinae. A. *Oncidium ornithorhynchum* Kunth; B. *Grandiphyllum divaricatum* (Lindl.) Docha Neto; C. *Lockhartia lunifera* (Lindl.) Rchb.f. D. *Gomesa longipes* (Lindl.) MWChase & NHWilliams; E. *Cyrtochilum tetracopis* (Rchb.f.) Kraenzl; F. *Cyrtochilum auropurpureum* (Rchb.f.) Dalström; G. *Gomesa crispa* (Lindl.) Klotzsch ex Rchb.f.; H. *Gomesa radicans* (Rchb.f.) MWChase & NHWilliams; I. *Caucaea* sp.; J. *Miltonia regnellii* Rchb.f.; K. *Rodriguezia decora* (Lem.) Rchb.f.; L. *Fernandezia* Ruiz & Pav sp.).....16

Figura 3 – Células metafásicas coradas com fluorocromos CMA/DAPI. A. *Aspasia variegata* – $2n = 56$; B. *Gomesa hookeri* – $2n = 74$; C. *Gomesa ranifera* – $2n = 56$; D. *Gomesa sarcodes* – $2n = 56$; E. *Gomesa* sp. – $2n = 56$; F. *Oncidium altissimum* – $2n = 56$; G. *Rodriguezia*

lanceolata. – $2n = 40$; H. *Rodriguezia venusta* – $2n = 42$; I. *Trichocentrum fuscum* – $2n = 22$.
Escala em I.=10 μm25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Espécies da subtribo Oncidiinae analisadas por meio de dupla coloração com fluorocromos. Gênero, espécie, local de coleta, voucher, contagens cromossômicas prévias (CP), números cromossômicos determinados no presente trabalho (PT) e tipos de bandas CMA/DAPI.....23

RESUMO

Oncidiinae é uma das maiores subtribos da família Orchidaceae, com aproximadamente 1.524 espécies nas Américas com distribuição limitada às zonas neotropicais. No Brasil, a subtribo Oncidiinae é representada por 49 gêneros e 360 espécies. Existem muitas dificuldades para as delimitações dos estudos taxonômicos em Oncidiinae. Além dos problemas dentro dos limites morfológicos, existe uma ampla variabilidade em números cromossômicos ($2n = 10$ a $2n = 168$), mostrando o mais amplo espectro de variação dentro das orquídeas. $2n = 56$, 60 e 42 são comuns dentro de uma série poliplóide baseada em $x = 7$, sendo considerada uma subtribo de evolução cariotípica complexa. O estudo objetivou realizar uma análise citogenética de nove espécies da subtribo Oncidiinae para determinação dos seus números cromossômicos e identificação dos tipos de bandas heterocromáticas com os fluorocromos, cromomicina A3 (CMA) e 4'6-diaminidino-2-fenilindol (DAPI). Foram encontrados os números cromossômicos para as espécies *Aspasia variegata* $2n = 56$, *Gomesa hookeri* $2n = 74$, *Gomesa ranifera* $2n = 56$, *Gomesa sarcodes* $2n = 56$, *Gomesa* sp., *Oncidium altissimum* $2n = 56$, *Rodriguezia lanceolata* $2n = 40$, *Rodriguezia venusta* $2n = 42$ e *Trichocentrum fuscum* $2n = 22$. Os números cromossômicos encontrados neste estudo são inéditos para as espécies *A. variegata*, *G. hookeri*, *G. ranifera* e *T. fuscum*. Com a coloração com os fluorocromos CMA/DAPI foram encontrados três tipos de bandas heterocromáticas: $CMA^+/DAPI^-$, $CMA^-/DAPI^+$ e $CMA^+/DAPI^0$. A presença ou ausência destes tipos de bandas, assim como o número e localização nos cromossomos foram variáveis nos cariótipos, permitindo a diferenciação citotaxonômica de todas as espécies, mesmo naquelas que apresentaram o mesmo número cromossômico ou que se apresentam morfológicamente semelhantes e filogeneticamente próximas.

Palavras-chave: CMA/DAPI, Heterocromatina, Número cromossômico, Orchidaceae.

ABSTRACT

Oncidiinae is one of the largest subtribes of the Orchidaceae family, with approximately 1.524 species in the Americas with limited distribution to Neotropical zones. In Brazil, the subtribe Oncidiinae is represented by 49 genera and 360 species. There are many difficulties for the delimitations of the studies in Oncidiinae, in addition to the problems within the morphological limits, as, even to these adversities the recurrent variability in chromosomic numbers that is a representative resource for the group, showing the widest spectrum of variation within the orchids, from $2n = 10$ to 168, but $2n = 56$, 60 and 42 are the most common within a polyploid series based on $x = 7$, being considered a taxonomically complex subtribe. This study aims to accomplish the cytogenetic analysis of nine species of the subtribe Oncidiinae, based on the determination of their chromosome numbers and to identify the patterns of heterochromatic bands in their karyotypes through fluorochromes, cromomicina A3 (CMA) e 4'6-diaminidino-2-fenilindol (DAPI). Chromosomal numbers were found for the species *Aspasia variegata* $2n = 56$, *Gomesa hookeri* $2n = 74$, *Gomesa ranifera* $2n = 56$, *Gomesa sarcodes* $2n = 56$, *Gomesa* sp., *Oncidium altissimum* $2n = 56$, *Rodriguezia lanceolata* $2n = 40$, *Rodriguezia venusta* $2n = 42$ e *Trichocentrum fuscum* $2n = 22$. The chromosome numbers found in this study are new counts for the species *A. variegata*, *G. hookeri*, *G. ranifera* and *T. fuscum*. In the analyzed species three types of heterochromatic bands were found: $CMA^+/DAPI^-$, $CMA^-/DAPI^+$ and $CMA^+/DAPI^0$. The presence or absence of these types of bands, such as the number and location on chromosomes are variable in karyotypes, allows cytotaxonomic differentiation of all species, even those that are the same or equal to the chromosome or if they are morphologically used and unique phylogenetics .

Keywords: Chromosome number, CMA/DAPI, Heterochromatin, Orchidaceae

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1 ORCHIDACEAE JUSS.....	11
2.2 TRIBO CYMBIEDEAE E SUBTRIBO ONCIDIINAE	14
2.2.1 ONCIDIINAE BENTH.....	14
2.2.2 FILOGENIA E CITOGENÉTICA DA SUBTRIBO ONCIDIINAE.....	16
2.2.3 VARIAÇÃO CROMOSSÔMICA.....	17
2.2.4 HETEROCROMATINA	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 MATERIAL VEGETAL.....	20
3.2 ANÁLISE CITOGENÉTICA	20
3.3 COLORAÇÃO COM OS FLUOROCROMOS.....	21
4. RESULTADOS.....	21
4.1 NÚMEROS CROMOSSÔMICOS.....	21
4.2 CARACTERIZAÇÃO DA HETEROCROMATINA.....	21
5. DISCUSSÃO.....	25
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

Oncidiinae é uma das maiores subtribos da família Orchidaceae, com cerca 1.530 espécies de distribuição restrita aos neotrópicos (CHASE *et al.*, 2015). Para o Brasil, a subtribo é representada por 49 gêneros e 360 espécies principalmente das regiões Sudeste e Sul do país (BARROS *et al.*, 2014). Suas flores possuem uma grande diversidade de forma, tamanho e função, envolvendo uma gama de polinizadores (NEUBIG *et al.*, 2012), decorrente do ajuste evolutivo para a produção de néctar, óleos ou fragrâncias, resultando em variadas formas de polinização, o que torna a tribo atraente para os estudos evolutivos. São geralmente ervas crescimento simpodial, epífitas, raramente terrícolas, com pseudobulbos de base geralmente protegida por bainhas, encimados por 1-3 folhas. As inflorescências são geralmente laterais, raramente terminais, simples ou ramificadas, multifloras geralmente protegida por bainha. As flores, em geral são ressupinadas, pequenas a grandes (no máximo 10 cm de diâmetro), com pétalas, sépalas e labelo livres, sem nectários (às vezes com esporão nectarífero) e calo muitas vezes produzindo óleo (QUEIROZ *et al.*, 2015).

De acordo com Chase (2009) a utilização preponderante de características florais tem levado a delimitações não monofiléticas de gêneros na subtribo. Para a obtenção de uma classificação monofilética, se faz necessário utilizar além dos caracteres morfológicos, o sequenciamento do DNA nuclear e/ou cloroplastídeo, além de características cromossômicas.

Para a subtribo Oncidiinae, o uso quase exclusivo de caracteres florais resultou em uma proposta de classificação infragenérica de *Oncidium* Sw. onde todas as seções desse gênero para o Brasil e países limítrofes, eram mais próximas filogeneticamente de *Gomesa* R.Br. do que de outras espécies de *Oncidium*. Isto resultou em uma nova proposta de classificação para Oncidiinae, onde todas as espécies das seções brasileiras de *Oncidium* e alguns outros gêneros, foram transferidos para o gênero *Gomesa sensu lato* com cerca de 125 espécies (CHASE *et al.*, 2009).

Embora seja conhecida pelo menos mais uma proposta de classificação para esse grupo (veja, por exemplo, CATHARINO & CAMPACCI, 2009), parece consenso atualmente o reconhecimento de *Gomesa sl* proposta por Chase (2009). A subtribo tem uma variação de números cromossômicos bastante ampla, desde $2n = 10$ em *Erycina pusilla* (L.) N.H. Williams & M.W.Chase a $2n = 168$ em *Gomesa caatingana* J.M.P.Cordeiro, L.P.Felix & M.W.Chase (FELIX & GUERRA, 2000; CORDEIRO *et al.*, 2018), embora os registros de $2n = 56$, 42 e 60 sejam os mais frequentes para a subtribo como um todo. O predomínio na subtribo Oncidiinae de números múltiplos de sete formando uma série poliploide com disploidia

ascendente ou descendente, é compatível com $x = 7$ como número básico mais provável para toda a subtribo (FELIX & GUERRA, 2000). Todavia, dados moleculares com base em sequências de DNA nuclear e do cloroplasto, parecem suportar uma hipótese de $x = 5$ para a tribo Oncidiinae como um todo (CHASE *et al.*, 2005). Todavia, para se ter uma ideia clara sobre o número básico de um táxon, é necessária a análise da variação cromossômica numérica sob uma perspectiva filogenética (CUSIMANO *et al.*, 2012).

Números cromossômicos são referidos para aproximadamente 200 espécies de Oncidiinae (FELIX & GUERRA, 2000), correspondendo a 13% de um total de 1.524 espécies reconhecidas para a subtribo (CHASE *et al.*, 2015). Essas contagens são em geral restritas ao número cromossômico, o que é pouco informativo na separação de espécies ou gêneros com números cromossômicos constantes. Por outro lado, a coloração diferencial com os fluorocromos CMA e DAPI é uma técnica muito utilizada na caracterização de grupos de gêneros, como na subfamília Aurantioideae de Rutaceae (BARROS e SILVA *et al.*, 2010) ou de espécies relacionadas com os mesmos números cromossômicos (ALMEIDA *et al.*, 2016). Para diversos grupos de Orchidaceae (Laeliinae, Pleurothallidinae, *Epidendrum* L.) a análise do padrão de heterocromatina vem auxiliando a diferenciação taxonômica de espécies complexas, assim como a descrição de novos táxons e análises de evolução cariotípica (PESSOA *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2015; CORDEIRO, 2019; QUERINO *et al.*, 2020) Este trabalho teve como objetivo analisar o cariótipo de nove espécies de Oncidiinae, com base na determinação dos seus números cromossômicos e caracterização dos seus respectivos padrões de bandas heterocromáticas através da coloração CMA/DAPI.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Orchidaceae Juss.

As orquídeas são conhecidas por suas flores vistosas e morfologia floral especializada. São amplamente utilizadas para ornamentação, sendo objeto de cultivo por muitos orquidófilos, especialmente os híbridos estão cada vez mais comercializados nos mercados nacional e internacional (HINSLEY *et al.*, 2018).

Orchidaceae pertencente à ordem Asparagales, tendo divergido do ancestral comum às demais Asparagales a aproximadamente há 112 milhões de anos e constitui hoje a maior família das Angiospermas com aproximadamente 24.500 espécies, distribuídas em cerca de 736 gêneros, 22 tribos, 70 subtribos e cinco subfamílias (CHASE *et al.*, 2015; GIVNISH *et*

al., 2015). São plantas de distribuição cosmopolita (apenas não ocorre na Antártida), embora a ampla maioria das espécies sejam de distribuição tropical e subtropical (SOUZA & LORENZI, 2008). Florestas úmidas países como a Colômbia, Equador, Brasil, Peru e México são excepcionalmente ricas em orquídeas (BARROS *et al.*, 2009).

Para o Brasil são conhecidas aproximadamente 2.500 espécies (1.620 endêmicas), distribuídas entre 240 gêneros (BARROS *et al.*, 2014). São plantas com alto grau de especialização o que confere a essas plantas um espectro maior de habitats existindo plantas herbáceas perenes, rupícolas, terrestre e aquáticas, embora a grande maioria seja epífita (GRAVENDEEL *et al.*, 2004). Suas flores são reconhecidas pela simetria zigomórfica com estames adnados formando o ginostêmio ou coluna, resultante da fusão dos verticilos reprodutivos (DRESSLER, 1981). São flores trímeras (três sépalas e três pétalas), com uma pétala diferenciada, o labelo, que pode apresentar variações na cor, na forma e atrativos. Estudos têm mostrado que a diversidade floral em Orchidaceae é ampla (Figura 2), perseverando vários tipos de mecanismos evolutivos em um mesmo grupo taxonômico (MELO & BORBA, 2011). Essa diversidade na família foi conquistada pelas características adaptativas que o grupo foi desenvolvendo ao longo do tempo (GIVNISH *et al.*, 2015).

Entre outras características típicas, as orquídeas desenvolveram além da grande quantidade das sementes tipicamente sem endosperma, que para germinarem na natureza necessitam se associarem a fungos específicos (micotrofia). Essa característica quando relacionada a grande diversidade de polinizadores, tem resultado na ampla diversificação taxonômica da família (DRESSLER, 1993; PINHEIRO & BARROS, 2005, CHASE *et al.*, 2013).

O grande número de espécies de orquídeas (ca 24.500) e sua complexa diversidade morfológica têm resultado em sistemas de classificação não monofiléticos, especialmente quando se utiliza primariamente caracteres morfológicos (DRESSLER, 1981; 1993). Com o surgimento das técnicas de sequenciamento de DNA e o aprimoramento das análises filogenéticas, tem surgido sistemas de classificação que suportam mais fielmente as relações de parentesco entre os diferentes grupos de orquídeas. Atualmente são reconhecidas cinco subfamílias monofiléticas: Apostasioideae, Cyripedioideae, Orchidoideae, Vanilloideae e Epidendroideae (Figura 1) (PRIDGEON, 1999; CHASE *et al.*, 2015). Dentre estas, Epidendroideae compreende 78 % das espécies da família, com aproximadamente 21.000 espécies, 650 gêneros e 16 tribos (GOVAERTS *et al.*, 2015). Possui distribuição exclusiva em regiões subtropicais e tropicais, sendo a maioria espécies epífitas, embora também ocorram espécies de habitat terrestre e rupícolas (CHASE *et al.*, 2003; PRIDGEON *et al.*, 2005).

A subfamília Epidendroideae apresenta uma extensa variação de números cromossômicos, desde $2n = 10$ em *Erycina pusilla* (L.) N.H.Williams & M.W.Chase até $2n = 240$ em *Epidendrum cinnabarinum* Salzm. ex Lindl., com registros numéricos para aproximadamente 13% de suas espécies (FELIX & GUERRA, 2010; ASSIS *et al.*, 2013).

Analisando a variação numérica para a maioria dos gêneros de Epidendroideae, observa-se um predomínio de números múltiplos de sete, com disploidias ascendentes ou descendentes, compatível com um número básico $x = 7$ para a subfamília Epidendroideae e para a família Orchidaceae como um todo, com forte predomínio de hexaploides (FELIX & GUERRA, 2000, 2005, 2010). Contudo, a ocorrência de números divergentes dessa série poliploide nas linhagens mais basais da família Orchidaceae sugere uma análise da variação numérica da família em um contexto filogenético (FELIX & GUERRA, 2005).

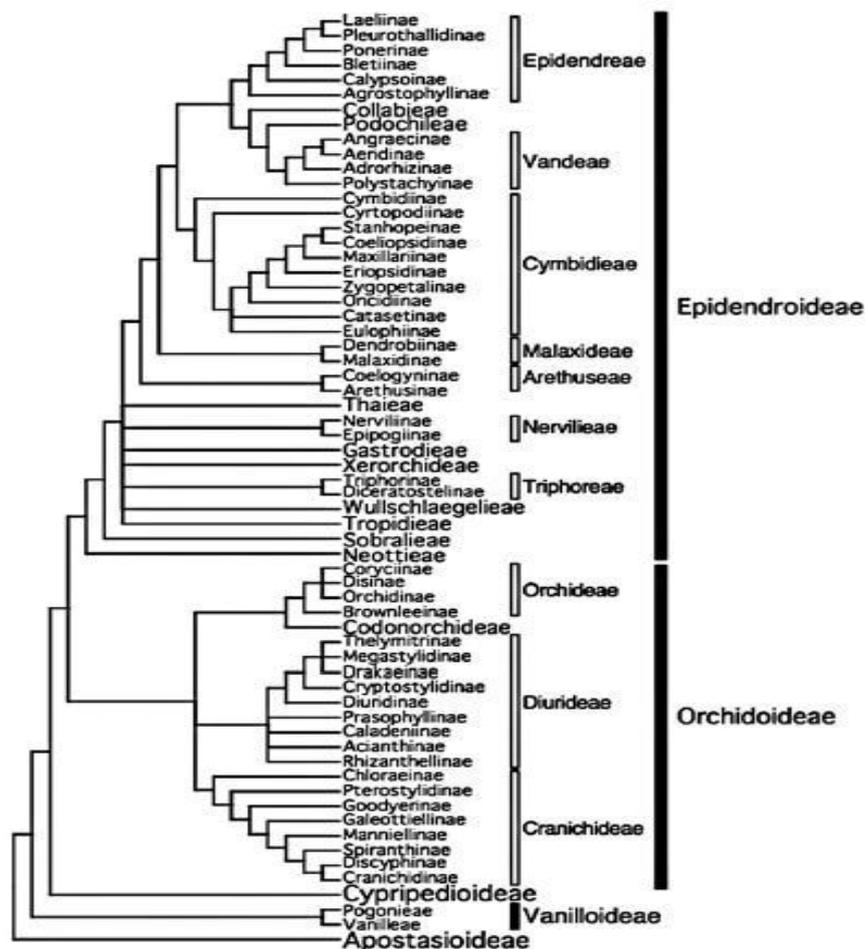


Figura 1. Relação filogenética entre as cinco subfamílias de Orchidaceae. Fonte: Chase *et al.* (2015).

2.2 Tribo Cymbidieae e Subtribo Oncidiinae

Cymbidieae é um dos maiores clados de orquídeas nas regiões neotropicais (PÉREZ-ESCOBAR *et al.*, 2017), com mais de 3700 espécies, 273 gêneros e 12 subtribos, dos quais 86 gêneros e 654 ocorrem no Brasil (DRESSLER, 1993; PRIDGEON *et al.*, 2009). Morfológicamente a tribo é caracterizada por apresentar plantas com crescimento predominantemente simpodial, raramente terrestres, geralmente com pseudobulbos, folhas plicadas ou conduplicadas, articuladas, inflorescências basais, sépalas laterais às vezes fundidas, pétalas livres, labelo geralmente trilobado, calosidade (quando presente) de várias formas (quilha, corniculado, carenado, piloso), coluna algumas vezes alada, com aurículas ou estelídeos, polinário com 2-4 polínias, com estipe e viscidio (CRIBB, 2009).

A tribo apresenta uma ampla variação cromossômica numérica, com registros desde $2n = 10$ em *Psycmorchis pusilla*, até $2n = 168$ em *Gomesa caatingana*. A maioria dos gêneros dentro da tribo possui ploidia no nível hexaploide, com números de base variáveis (FELIX & GUERRA, 2000). Dentro da tribo Cymbidieae, a subtribo Oncidiinae é uma das mais conhecidas em termos de números cromossômicos, com registro numérico para 198 espécies e 18 gêneros (FELIX & GUERRA, 2000). É a segunda maior subtribo em número de espécies na família Orchidaceae, com 1.700 espécies e 55 gêneros (CHASE *et al.*, 2003, 2005), sendo representada no Brasil por 49 gêneros e 360 espécies (BARROS *et al.*, 2015).

2.2.1. Oncidiinae Benth.

São ervas geralmente epífitas, menos frequentemente terrícolas ou rupícolas, de crescimento simpodial. Apresentam pseudobulbos heteroblásticos, base geralmente protegida por bainhas desenvolvidas com ou sem limbos, encimados por 1-3 folhas. Folhas dísticas, apicais, geralmente conduplicadas, bilaterais a unilaterais, às vezes cilíndricas ou terete ou lateralmente achatadas, geralmente articuladas. Inflorescência geralmente lateral (raramente terminal), simples a ramificada, a multiflora, geralmente protegida por bainha. Flores geralmente ressupinadas, diminutas a grandes (no máximo 10 cm de diâmetro). Sépalas geralmente livres, em alguns casos sépalas laterais sinsépalas e ocasionalmente formando esporão. Pétalas geralmente livres, raramente adnatas a base da coluna. Labelo geralmente livre, geralmente sem nectário, algumas vezes com esporão nectarífico, calo muitas vezes produzindo óleo, com morfologia complexa (Dressler 1993). Coluna ereta, geralmente alongada, muitas vezes com asas ou outros apêndices, às vezes na base apresentando tecido

semelhante ao calo do labelo (tábula infraestigmática), raramente com base projetada formando um pé da coluna; clinândrio geralmente liso, em alguns casos muito desenvolvido, lacerado; antera terminal, operculada; polinário formado por 2-4 polínias, compactas e rígidas, viscido presente; estigma ventral, inteiro ou bilobado, geralmente próximo ao ápice da coluna; rostelo frequentemente afilado, às vezes alongado. Ovário glabro, raramente equinado, cápsula 3-(6) rimosa (CHASE *et al.*, 2009). Tem distribuição limitada às zonas neotropicais (CHASE *et al.*, 2015), toda via, dentro desse limite geográfico há uma variação considerável nos locais onde podem ocorrer. As Oncidiinae possuem uma diversidade grande de flores, com diversas formas, cores e polinizadores (Figura. 2). São encontradas desde a Argentina e Peru, até o norte do México e sul da Flórida, sendo comuns em toda a região do Caribe. Ocorrem desde o nível do mar até os Andes em altitudes de até 4.000m, principalmente como epífitas (CHASE *et al.*, 2004; NEUBIG *et al.*, 2012).

Entre as Oncidiinae epífitas, observou-se uma diferenciação na localização das plantas em relação ao hospedeiro, com predomínio nas áreas com ramos finos em locais de alta luminosidade, classificadas por Chase (1987) como epífitas de galho obrigatórias. Essas especificidades no hábito trouxeram pequenas modificações que auxiliaram as Oncidiinae a serem mais diversificadas nos seus centros geográficos. Além disso adaptações a essas condições muitas vezes severas implicaram em alterações nos ciclos de vida (algumas vezes mais curtos), ou desenvolvimento de plantas sem folhas (como no gênero *Phymatidium* Lindl), sementes com extensões nas células da testa e células de velame de raiz modificadas. Além disso, todas Oncidiinae têm um desenvolvimento dimórfico com a fase de mudas psigmóide sem pseudobulbos e folhas unifaciais, enquanto as formas adultas apresentam pseudobulbos e folhas conduplicadas. Todavia, muitas plantas epífitas obrigatórias de galho, como *E. pusilla*, nunca desenvolvem pseudobulbos ou folhas conduplicadas e mantiveram o hábito psigmóide (CHASE, 1986, 2005).

Em Orchidaceae, a maioria das espécies que oferecem óleo como recompensa pertence a Oncidiinae (ALICIONI *et al.*, 2017), embora as recompensas florais também incluam néctar, óleos, fragrâncias e resinas. Os termos resina florais (líquido viscoso) e óleo floral (líquido fluido) são usados para designar produtos químicos não voláteis secretados pelas flores (Reis *et al.*, 2000), embora a estratégia de polinização por engano seja a mais comum na subtribo (CHASE, 2009).

As espécies da subtribo Oncidiinae que possuem elaióforos proeminentes são membros de diferentes gêneros da tribo, sendo por isso, a presença dessas estruturas considerada uma característica homoplásica (STPICZYŃSKA *et al.*, 2013). Curiosamente,

essa característica é também compartilhada com diferentes gêneros de Malpighiaceae (NEUBIG *et al.*, 2012). Muitas espécies de *Oncidium* do grupo como *O. cheirophorum* Rchb.f., *Trichocentrum cavendishianum* (Bateman) MWChase & NHWilliams e várias espécies de *Gomesa* R.Br, possuem esses elaióforos e são polinizados principalmente por abelhas família Apidae e *Trigona*, que coletam secreções florais oleosas utilizadas para a construção dos ninhos (ALISCIONI *et al.* 2009; DAVIES & STPICZYNSKA, 2009; PANSARIN, CASTRO & SAZIMA, 2009).

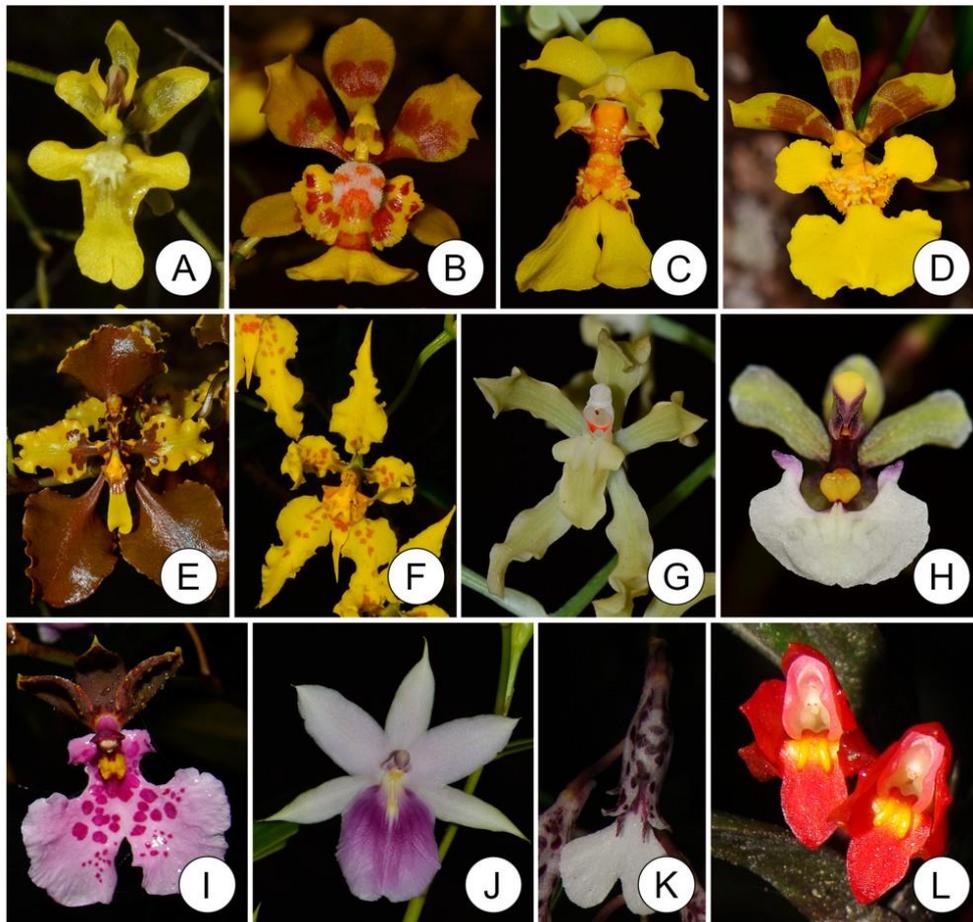


Figura 2. Diversidade de flores em Oncidiinae. A. *Oncidium ornithorhynchum* Kunth; B. *Grandiphyllum divaricatum* (Lindl.) Docha Neto; C. *Lockhartia lunifera* (Lindl.) Rchb.f.; D. *Gomesa longipes* (Lindl.) MWChase & NHWilliams; E. *Cyrtochilum tetracopis* (Rchb.f.) Kraenzl; F. *Cyrtochilum auropurpureum* (Rchb.f.) Dalström; G. *Gomesa crispa* (Lindl.) Klotzsch ex Rchb.f.; H. *Gomesa radicans* (Rchb.f.) MWChase & NHWilliams; I. *Caucaea* sp.; J. *Miltonia regnellii*; K. *Rodriguezia decora* (Lem.) Rchb.f.; L. *Fernandezia* sp. (Fonte: CASTRO & SINGER, 2019).

2.2.2 Sistemática e Filogenia da subtribo Oncidiinae

As características florais usadas tradicionalmente na sistemática de orquídeas, sempre foram utilizadas nas propostas de classificação da subtribo Oncidiinae. Todavia, considerando o tamanho do grupo e a diversidade dos seus caracteres florais e vegetativos, as delimitações dos gêneros e táxons infragenéricos sempre foram controversas (CHASE & PALMER, 1992). Nesse sentido, estudos filogenéticos realizados a partir dos anos 2000 (veja, por exemplo FELIX & GUERRA 2000, CHASE *et al.*, 2005), além de demonstrar a polifilia de vários grupos de Oncidiinae suportaram uma classificação que reflete mais fielmente as relações de parentesco na subtribo. Uma síntese dessas propostas de filogenia é fornecida por Neubig *et al.* (2012) que reconheceu um total de 61 gêneros claramente monofiléticos, a partir da análise de sequências de DNA plastidial e do cloroplasto em 590 espécies da subtribo Oncidiinae. Para as espécies brasileiras, as principais modificações nas classificações tradicionais, foi a transferência de quase todas as seções brasileiras de *Oncidium* para o gênero *Gomesa* que passou a ser entendido num sensu amplo (NEUBIG *et al.*, 2012). Outra alteração importante foi a inclusão em Oncidiinae dos gêneros *Telipogon* Kunth (anteriormente em Telipogoninae), todos os gêneros de Ornithocephalinae, *Pachyphyllum* Kunth e *Fernandezia* Ruiz & Pav (anteriormente em Pachyphyllinae) (PENHA, *et al.*, 2011) entre outros.

2.2.3 Variação Cromossômica

Espécies distintas tendem a apresentar conjuntos cromossômicos distintos, quer seja em termos número, morfologia, composição e localização de bandas heterocromáticas, por isso, a informação cromossômica tem importância para estudos de filogenia e evolução vegetal (GUERRA, 2012). Os estudos básicos no cariótipo que mostram similaridades cariotípicas, são uma boa indicação da semelhança genética dos grupos, enquanto diferenças são úteis na delimitação de espécies relacionadas. Por essas razões, similaridades e diferenças cariotípicas são úteis na reconstrução de filogenia ou para corroborar hipóteses filogenéticas (GUERRA, 2007). Em muitos casos, a simples determinação do número cromossômico fornece informações importantes para a compreensão da filogenia e evolução (STEBBINS, 1971). Um exemplo amplamente conhecido é a família Asparagaceae que independentemente do nível de circunscrição, forma um clado monofilético suportado em termos de número e simetria carioípica (MCKELVEY & SAX, 1933). Por outro lado, a família Orchidaceae

possui uma ampla variação numérica, desde $2n = 10$ em *Erycina pusilla* a $2n = 240$ em *Epidendrum cinnabarinum* (FELIX & GUERRA, 2000).

Estudos abordando a variação cariotípica na subtribo Oncidiinae são relativamente escassos, com destaque para as revisões de Tanaka & Kamemoto (1984) e Felix & Guerra (2000). Contudo, a subtribo apresenta uma ampla variabilidade de números cromossômicos, incluindo o menor registro numérico para a família Orchidaceae de $2n = 10$ em *Erycina pusilla* e $2n = 168$ em *Gomesa caatingana* (FELIX & GUERRA, 2000; CORDEIRO *et al.*, 2018). O gênero *Oncidium sensu lato* apresenta uma enorme variação cariotípica com números haplóides conhecidos de $n = 13, 14, 15, 18, 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 36, 42, 56, 63, 70, 84$. (TANAKA & KAMEMOTO, 1984; FELIX & GUERRA 2000). Todavia, os registros de $n = 14, 21, 28, 42, 56, 63, 70$, e 84 constituem a maioria, sendo $n = 28$ observado em 46% das espécies do gênero. Curiosamente, a variação de números cromossômicos em *Oncidium* é similar a variação observada em Oncidiinae como um todo, onde a maioria das espécies possui $n = 21$ e $n = 28$ (FELIX & GUERRA, 2000).

Alguns gêneros de Oncidiinae possuem o número cromossômicos mais baixos, como é o caso de *Lockartia oerstedii* Rchb. f. com $n = 7$ e *Trichocentrum capistratum* Linden & Rchb. com $n = 14$, enquanto $n = 21$ e $n = 28$ são os números mais frequentes na subtribo. Essa variabilidade numérica é compatível com a hipótese de $x = 7$ como número básico primário das Oncidiinae (FELIX & GUERRA, 2000). Por outro lado, um estudo de isoenzimas conduzido por Chase & Olmstead (1988) sugere que espécies de Oncidiinae com números cromossômicos elevados apresentam loci de isoenzimas não compatíveis com cariótipos poliploides, indicando uma possível redução de número cromossômico por displóidia para explicar a variação numérica no grupo (CHASE & PALMER, 1992).

Outros gêneros de Oncidiinae com contagens inéditas foram recentemente estudados por Santos (2017), com duas espécies de *Ornithocephalus* Hook que apresentaram número cromossômico $2n = 56$. Esse mesmo número também foi observado para seis espécies de *Kleberella*, para quatro espécies de *Alatiglossum* e *Carenidium gracile* (Lindl.) Baptista. (PENHA *et al.*, 2011). As espécies que formam os gêneros *Kleberella* e *Alatiglossum* estão incluídas no conceito de *Gomesa sensu lato*, sendo esses registros cromossômicos plenamente compatíveis com essa inclusão (NEUBIG *et al.*, 2012). Por outro lado, números cromossômicos mais variáveis tem sido observados por Daviña (2009), com registros de $2n = 56$ para *Gomesa planifolia* (Lindl.) Klotzsch ex Rchb.f., $2n = 60$ para *Miltonia flavescens* (Lindl.) Lindl., $2n = 42, 56, 84, 108$ para oito espécies de *Oncidium*, $2n = 42$ para *Rodriguezia decora* e $2n = 30$ para *Trichocentrum pumilum* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams.

2.2.4 Heterocromatina

O estudo da heterocromatina teve início com Heitz (1928) que diferenciou heterocromatina de eucromatina com a análise da compactação da cromatina nas células durante a interfase. Concluiu que havia dois tipos de cromatina: uma que se mostrava condensada durante todo o ciclo celular, a heterocromatina; e outra, a eucromatina, que apresentava momentos de condensação e descondensação durante o ciclo. Outras características da heterocromatina são a ausência de atividade gênica ou silenciamento transcricional e a heteropicnose (coloração diferente em relação a outras partes da cromatina) (GUERRA, 1989).

A análise da heterocromatina proporciona diversos tipos de informações citotaxonômicas relacionadas a sua localização no cromossomo e na caracterização do seu DNA repetitivo (HALL & GREWAL, 2003). Regiões heterocromáticas são encontradas principalmente nos centrômeros e telômeros, mas, algumas vezes formam blocos intersticiais (HALL *et al.*, 2002). De acordo com Brown (1966) são conhecidos dois tipos de heterocromatina, a heterocromatina constitutiva, que permanece condensada durante todo o ciclo celular, é encontrada em todas as células do indivíduo, está concentrada em blocos, aparece em cromossomos homólogos e não contém genes estruturais. Por outro lado, a heterocromatina facultativa aparece em apenas um dos homólogos, envolve todo o cromossomo, não está distribuída em blocos e possui uma composição do DNA típica de eucromatina.

Os principais parâmetros cariotípicos utilizados na citotaxonomia são número cromossômico, simetria cariotípica, tamanho e morfologia dos cromossomos, padrão de bandas heterocromáticas, entre outros (GUERRA, 2008; 2012). Para grupos vegetais que possuam número cromossômico constante entre diferentes espécies e cariótipos muito simétricos, o estudo da heterocromatina tem se tornado uma ferramenta importante nas análises citotaxonômicas ou mesmo em descrições de novas espécies (ALMEIDA *et al.*, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2016; CORDEIRO *et al.*, 2017).

A heterocromatina apresenta uma coloração diferenciada em relação às regiões eucromáticas no cariótipo das espécies, podendo estas regiões variarem em número, tamanho e localização nos cromossomos (HENNIG, 1999; GUERRA, 2000). Essas regiões são identificadas nos cromossomos com a utilização de algumas técnicas de estudos cromossômicos tais como:

Tratamento pelo frio: Essa técnica revela os segmentos heterocromáticos em alguns poucos grupos taxonômicos, entre eles, o gênero *Cestrum* da família Solanaceae. Se baseia na propriedade que essas espécies possuem em apresentar regiões cromossômicas fracamente coradas após o pré-tratamento das raízes por 24 horas em temperaturas muito próximas a 0°C (BERG & GREILHUBER, 1992).

Bandeamento C: A técnica permite reconhecer a heterocromatina constitutiva total após o tratamento das lâminas com cloreto de sódio e hidróxido de bário. Pode ser utilizada em qualquer espécie de planta, tendo sido empregada a partir da década de 1970 (GUERRA, 2000).

Bandeamento com fluorocromos base-específicos: É a técnica mais extensivamente utilizada na atualidade. Consiste na propriedade que alguns fluorocromos possuem de se ligarem mais fortemente às regiões do DNA mais ricas em pares de base adenina-timina (formam bandas DAPI) ou em guanina-citosina (bandas CMA). Devido a essa especificidade dos fluorocromos essa técnica tem sido utilizada na caracterização de diversos grupos taxonômicos, especialmente na diferenciação de espécies relacionadas (ALMEIDA *et al.*, 2016).

O uso desta última técnica possibilita a diferenciação da heterocromatina da eucromatina, reconhece a composição de pares de base do DNA cromossômico, bem como a identificação de polimorfismo e variantes aos padrões de bandas heterocromáticas (GUERRA, 1993; OLIVEIRA *et al.*, 2015). Para a família Orchidaceae estudos nos padrões de bandas fluorescentes têm contribuído para o levantamento de hipóteses sobre a evolução cariotípica, para a descrição de híbridos interespecíficos e na caracterização de cromossomos Bs (ASSIS, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2015; CORDEIRO, 2019; QUIRINO *et al.*, 2020).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Foram analisadas nove espécies da subtribo Oncidiinae (Tabela 1), coletadas em diversas regiões do Brasil e cultivadas no Jardim Experimental do Laboratório de Citogenética Vegetal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba. Exsiccatas foram depositadas no herbário Jayme Coêlho de Moraes (EAN).

3.2 Análise citogenética

Pontas de raízes jovens foram coletadas e pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) 2 mM a 10°C por 24 horas, fixadas em etanol absoluto/ácido acético glacial (3:1, v/v) por 2 horas e estocadas em freezer a -20°C até o preparo das lâminas. Para a preparação das lâminas as raízes foram digeridas em solução enzimática contendo 2% de celulase (Onozuka) e 20% de pectinase (Sigma) (w/v) a 37°C por 90 minutos. As lâminas foram preparadas pelo método de esmagamento em ácido acético a 60% e congelado em nitrogênio líquido para remoção da lamínula. Para a seleção das melhores lâminas, estas foram coradas com uma solução DAPI (2 µg/mL):glicerol (1:1, v/v) e analisadas ao microscópio de fluorescência. Subsequentemente, as lâminas foram descoradas em etanol-ácido acético (3:1) por 30 minutos e mantidas em etanol absoluto à temperatura ambiente por duas horas (GUERRA & SOUZA, 2002).

3.3 Coloração com os fluorocromos

Para a coloração com os fluorocromos CMA/DAPI as lâminas foram envelhecidas por três dias à temperatura ambiente e posteriormente coradas por uma hora com 10 µL de CMA (0,1 mg/ml) e depois com 10 µL de DAPI (1µg/ml) com meio de montagem (Tampão McIlvaine, pH 7,0) por trinta minutos e estocadas por três dias no escuro para estabilização dos fluorocromos (GUERRA & SOUZA, 2002). As metáfases foram analisadas e fotografadas em fotomicroscópio Zeiss, com câmera de vídeo Axio Cam MRC5 usando o software Axiovision® v.4.8 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Germany). As imagens foram editadas (sobreposição e otimização de brilho e contraste) com o uso do software Adobe Photoshop CS6 Extended Version 10.0.

4 Resultados

4.1 Números cromossômicos

Os números cromossômicos encontrados nas espécies da subtribo Oncidiinae foram: *Aspasia variegata* Lindl. ($2n = 56$), *Gomesa hookeri* (Rolfe) M.W.Chase & N.H.Williams ($2n = 74$), *Gomesa ranifera* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams ($2n = 56$), *Gomesa sarcodes* (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams ($2n = 56$) e *Gomesa* sp. ($2n = 56$). A espécie *Oncidium*

altissimum (Jacq.) Sw. apresentou $2n = 56$, *Rodriguezia lanceolata*. possui número cromossômico $2n = 40$, *Rodriguezia venusta* (Lindl.) Rchb.f. $2n = 42$ e *Trichocentrum fuscum* Lindl, $2n = 22$, conforme Tabela 1. Novos registros cromossômicos foram apresentados para as espécies *Aspasia variegata*, *G. hookeri*, *G. ranifera* e *T. fuscum*.

4.2 Caracterização da heterocromatina

A coloração com os fluorocromos CMA/DAPI revelou a ocorrência de três tipos de bandas heterocromáticas: CMA⁺/DAPI⁻, CMA⁻/DAPI⁺, CMA⁺/DAPI⁰ (Figura 3). Os padrões de heterocromatina para todas as espécies apresentam pelo menos duas regiões ricas em guanina e citosina (GC), estas bandas CMA⁺ /DAPI⁻ encontram-se em maioria nas regiões terminais.

Em *A. variegata* mostrou o menor número de bandas com apenas duas bandas CMA⁺ /DAPI⁻ terminais (Figura 3A). No grupo do gênero *Gomesa* foi visualizado o maior número de bandas DAPI⁺ principalmente nas regiões pericentroméricas. O maior delas em *G. hookeri* com cerca de 56 bandas DAPI⁺ pericentroméricas, seguido de *G. ranifera* com 10 bandas DAPI⁺ pericentroméricas. Para *Gomesa* sp. as bandas DAPI⁺ foram visualizadas nas regiões intersticiais dos cromossomos. O grupo também apresentou bandas CMA⁺, *G. hookeri* duas bandas pericentroméricas, *G. ranifera* duas bandas terminais, *G. sarcodes* seis bandas terminais e *Gomesa* sp. com duas bandas terminais e 10 pericentroméricas.

Na espécie *Oncidium altissimum*, foi observada três terminais CMA⁺/DAPI⁻ e seis bandas CMA⁻/DAPI⁺, sendo quatro intersticiais e duas pericentroméricas. Para as espécies do gênero *Rodriguezia*, apenas *R. venusta* mostrou duas bandas pericentroméricas CMA⁻/DAPI⁺ e quatro bandas terminais CMA⁺/DAPI⁻. Para as bandas CMA⁺/DAPI⁰, três espécies apresentaram este tipo de bandas: *G. hookeri*, *Gomesa* sp. e *Rodriguezia lanceolata* com quatro e duas bandas pericentroméricas, respectivamente. Na espécie *Trichocentrum fuscum* foi observada duas bandas CMA⁺ terminais, duas bandas DAPI⁺ pericentroméricas e cerca de 18 bandas DAPI⁺ intersticiais.

Tabela 1: Espécies da subtribo Oncidiinae analisadas cariologicamente e seus respectivos locais de coleta, voucher e bandas heterocromáticas. Legenda: int = intersticiais; per = pericentroméricas; ter = terminais.

Táxon	Local de coleta	Voucher	PT 2n	Bandas heterocromáticas			Figura
				CMA ⁺ /DAPI ⁻	CMA ⁻ /DAPI ⁺	CMA ⁺ /DAPI ⁰	
<i>Aspasia</i> Lindl.							
<i>A. variegata</i> Lindl.	Santa Luzia do Oeste - RO	LPF 16468	56*	2 ter	–	–	3A
<i>Gomesa</i> R.Br.							
<i>G. hookeri</i> (Rolfe) M.W.Chase & N.H.Williams	Brejo da Madre de Deus - PE	EMA 1658	ca.74*	2 per	ca. 56 per	4 per	3B
<i>G. ranifera</i> (Lindl.) W.Chase & N.H.Williams	Quatro Barras-PR	LPF 16533	56*	2 ter	ca. 10 per	–	3C
<i>G. sarcodes</i> (Lindl.) M.W.Chase & N.H.Williams	Cultivada	–	56	6 ter	2 per	–	3D
<i>Gomesa</i> sp.	Vitória da Conquista - BA	LPF 16172	56	2 ter + 10 per	4 int	2 per	3E
<i>Oncidium</i> Sw.							
<i>O. altissimum</i> (Jacq.) Sw	Cultivada	–	56	3 ter	4 int + 2 per	–	3F
<i>Rodriguezia</i> Ruiz e Pav							

<i>R. lanceolata</i> Ruiz e Pav	Novo Airão - AM	LPF 16332	40**	3 ter	-	2 per	3G
<i>R. venusta</i> (Lindl.) Rchb.f.	Matinhos, PR	LPF 16520	42	4 ter	2 per	—	3H
<i>Trichocentrum</i>							
Poepp. & Endl.							
<i>T. fuscum</i> Lindl.	Uruburetama - CE	AMSSantos 04	22*	2 ter	2 int + ca. 18 per	—	3I

*Contagem inédita para a espécie.

** Novo citótipo para a espécie.

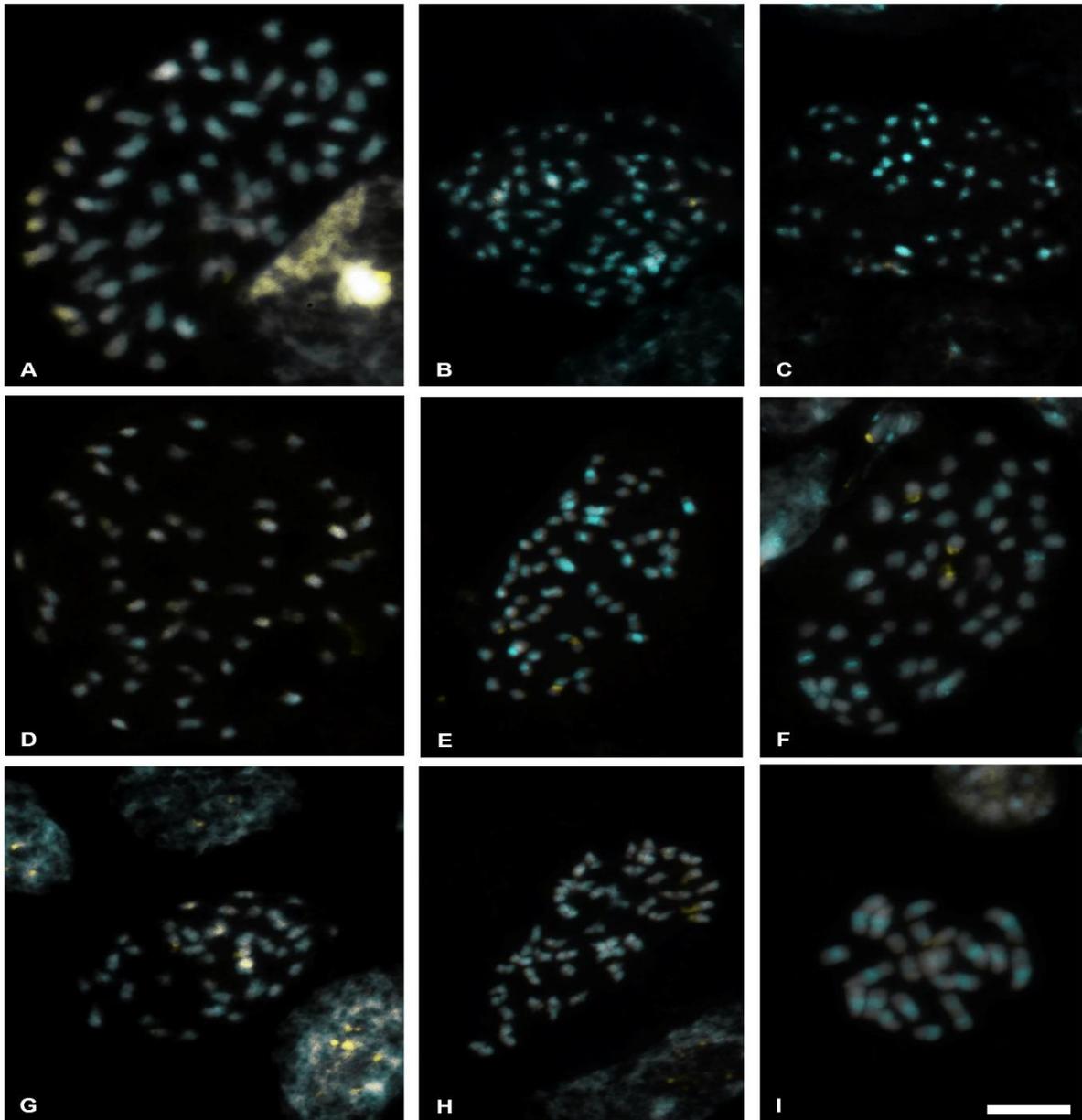


Figura 3. Células metafásicas coradas com fluorocromos CMA/DAPI. A. *Aspasia variegata* – $2n = 56$; B. *Gomesa hookeri* – $2n = 74$; C. *Gomesa ranifera* – $2n = 56$; D. *Gomesa sarcodes* – $2n = 56$; E. *Gomesa* sp. – $2n = 56$; F. *Oncidium altissimum* – $2n = 56$; G. *Rodriguezia lanceolata*. – $2n = 40$; H. *Rodriguezia venusta* – $2n = 42$; I. *Trichocentrum fuscum* – $2n = 22$. Escala em I = 10 μm .

5 Discussão

Na subtribo Oncidiinae o número $2n = 56$ é encontrado com frequência e comumente visto no gênero *Gomesa* (TANAKA & KAMEMOTO, 1984; FELIX & GUERRA 2000). No presente estudo, três espécies pertencentes a *Gomesa* apresentaram número cromossômico $2n$

= 56, com exceção de *G. hookeri* que possui $2n = 74$, sendo este número cromossômico inédito para a espécie, e raramente registrado para o gênero (SINOTÔ, 1962). Números cromossômicos com ampla variação e poliploidia foram encontrados na subtribo Oncidiinae, como o observado por Cordeiro *et al.* (2018) em *Gomesa caatingana* com $2n = 168$ e para *Gomesa varicosa*, com citótipos de $2n = 56, 112$ e 168 (SINOTÔ, 1962; TANAKA & KAMEMOTO, 1984; FELIX & GUERRA 2000).

Na família Orchidaceae, os números haplóides conhecidos são $n = 13, 14, 15, 18, 19, 20, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 36, 42, 56, 63, 70, 84$, dominados pelas séries ortoplóide com $n = 14, 21$ ou 28 (FELIX & GUERRA 2000; DAVIÑA, 2009). Em estudos realizados por Felix e Guerra (2000) 46% das espécies analisadas de *Oncidium* exibiram $2n = 56$, onde foi sugerido $x_1 = 7$ como número básico para o gênero.

Tendo em vista a prevalência como maioria das contagens $2n = 42$ e $2n = 56$, outros grupos apresentaram este número cromossômico, como para *Kleberella* V.P. Castro & Cath., *Alatiglossum stricto sensu* (PENHA, 2011) e *Ornithocephalus* Hook (SANTOS, 2017). Daviña (2009) ao estudar orquídeas da Argentina, sugeriu número básico $x = 7$ para a subtribo Oncidiinae, com origem hexaploide ($n = 21$) ou octoploide ($n = 28$) como *Aspasia*, *Gomesa* e *Oncidium* (CHARANASRI & KAMEMOTO, 1975; FELIX & GUERRA, 2000; DAVIÑA, 2009). As espécies pertencentes ao gênero *Aspasia* variam em número cromossômico, onde neste estudo foi observado em *A. variegata* $2n = 56$ e em registros prévios em *A. pusilla* $2n = 56$, *A. principissa* Rchb. $2n = 58$ e *A. epidendroides* Lindl $2n = 60$ (SINOTÔ, 1962; TANAKA & KAMEMOTO, 1984).

O gênero *Rodriguezia* possui cerca de 40 espécies (DRESSLER, 1981), destas apenas oito espécies possuem contagem cromossômica: seis espécies com número cromossômico $2n = 42$ e *Rodriguezia lehmannii* Rchb. com $2n = 28$ (SINOTO, 1962; FELIX E GUERRA, 2000). As duas espécies estudadas no presente trabalho apresentaram $2n = 40$ para *Rodriguezia lanceolata*. e $2n = 42$ para *Rodriguezia venusta*, onde o registro do número cromossômico de $2n = 40$ em *Rodriguezia lanceolata*, ainda não havia sido encontrado para gênero, esta diferença no conjunto haploide, provavelmente se deu por algum evento de disploidia.

A disploidia é a ascendência ou descendência no número cromossômico haploide que surgiu de rearranjos estruturais e observado entre espécies relacionadas, frequentemente formando uma série disploide (GUERRA, 2008; 2012). Uma análise em 15 clados de Angiospermas percebeu que transições disploides co-ocorrem com frequência com a poliploidia e que a disploidia pode ter persistido por mais tempo na evolução das plantas (ESCUDEIRO *et al.*, 2014). No presente estudo houve alta diversidade cariotípica, que é

atribuído a disploidia, sendo encontrada de forma descendente em *R. lanceolata* com o citótipo encontrado $2n = 40$, onde também foi visto um número baixo em e *R. lehmannii* com $2n = 28$ sendo o comum para esse gênero $2n = 42$ (SINOTÔ, 1962).

Os táxons de *Trichocentrum* são caracterizados por uma ou raramente duas folhas por módulo simpático e um baixo número cromossômico $2n = 26 - 28$ (CHASE, 2009). É um dos grupos que se diferenciam do perfil cariológico de Oncidiinae ($n = 7, 14, 21, 28$), assim como os gêneros *Ionopsis* Kunth e *Macradenia* R.Br. (BLUMENSCHNEIN, 1957; SINOTÔ, 1962). A espécie analisada neste estudo (*Trichocentrum fuscum*) apresentou uma contagem diferente das análises anteriores para o grupo ($2n = 22$), com registros de estudos anteriores com $2n = 28$, $2n = 24$ e $2n = 30$ (SINOTÔ, 1962; FELIX & GUERRA, 2000; DAVIÑA, 2009). A explicação para essa baixa série para os números cromossômicos seria por *Thichocentrum* apresentar uma linhagem evolutiva independente, distinta dos outros na subtribo tendo uma série diplóide com $n = 14, 12, 10$ (CHASE, 1986).

As bandas heterocromáticas visualizadas no presente estudo são inéditas para os gêneros aqui estudados da subtribo Oncidiinae, visto que praticamente são poucos os trabalhos sobre coloração com os fluorocromos CMA/DAPI neste grupo de Orchidaceae (SANTOS, 2017). O presente estudo apontou três tipos de bandas em relação a composição de heterocromatina: $CMA^+/DAPI^-$, $CMA^-/DAPI^+$ e $CMA^+/DAPI^0$, nas regiões terminais, pericentroméricas e intersticiais dos cromossomos.

As bandas $DAPI^+$ em sua maioria foram encontradas nas regiões pericentroméricas dos cromossomos. A espécie *A. variegata* não apresentou regiões ricas em adenina-timina, tendo apenas bandas terminais CMA^+ . Para a família Orchidaceae, as análises de distribuição e composição da heterocromatina vêm sendo realizadas, apresentando padrões de distribuição variáveis em outras subtribos da subfamília Epidendroideae. Destaca-se estudos realizados por Kao *et al.* (2001) ao analisarem a heterocromatina nove espécies do gênero *Phalaenopsis* Blume, concluíram que a variação no cariótipo do gênero é causada pelo acúmulo de heterocromatina constitutiva.

Na subtribo Pleurothallidinae, Oliveira *et al.* (2015) observaram uma predominância de heterocromatina rica em GC, mas os padrões variaram entre táxons, especialmente em *Acianthera* (Scheidw.) Luer. A distribuição e composição da heterocromatina vem sendo utilizada na descrição de novas espécies (ALMEIDA *et al.*, 2016) e diferenciação de espécies correlacionadas (ALMEIDA *et al.*, 2007; CORDEIRO *et al.*, 2016) em outras famílias de Angiospermas. Nas espécies analisadas também foi observada o efetivo emprego do bandeamento CMA/DAPI na diferenciação de espécies amplamente correlacionadas. *Gomesa*

hookeri e *G. ranifera*, por exemplo, são espécies morfológicamente semelhantes e filogeneticamente próximas (CHASE *et al.*, 2015), mas apresentam padrões de bandas heterocromáticas claramente distintas. Da mesma forma, *R. lanceolata* e *R. venusta* também são espécies próximas filogeneticamente (NEUBIG *et al.*, 2012) e podem ser distintas pela composição de regiões CMA/DAPI.

Estes resultados demonstram que a análise de distribuição e composição de heterocromatina se apresenta bastante variável em Oncidiinae, mesmo em espécies com o mesmo número cromossômico ou em táxons morfológicamente semelhantes e filogeneticamente próximos. Desta forma estudos envolvendo o bandeamento CMA/DAPI se demonstram promissores para discutir complexos taxonômicos, delimitação de espécies e análises de evolução cariotípica em Oncidiinae, um dos grupos mais diversos entre as Orchidaceae Neotropicais.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O número cromossômico nas espécies da subtribo Oncidiinae analisadas variou de $2n = 22$, 40, 42, 56 e 60, sendo $2n = 56$ o número com maior frequência (cinco espécies). As regiões heterocromáticas das espécies analisadas apresentaram regiões ricas em GC e AT, onde foram encontrados três tipos de bandas: $CMA^+/DAPI^-$, $CMA^-/DAPI^+$ e $CMA^+/DAPI^0$. A presença/ausência destes tipos de bandas, assim como o número e localização nos cromossomos foram variáveis nos cariótipos, permitindo a diferenciação citotaxonômica de todas as espécies, mesmo naquelas que apresentaram o mesmo número cromossômico.

Para se ter um melhor entendimento da evolução cariotípica da subtribo Oncidiinae se faz necessário uma análise citogenética com maior número de espécies, tendo em vista que a subtribo tem um número considerável de representantes, proporcionando uma melhor caracterização do cariótipo e suas relações evolutivas e filogenéticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALISCIONI, S.S.; TORRETA, J.P.; BELLO, M.E.; GALATI, B.G.. Elaiophores in *Gomesa bifolia* (Sims) M.W. Chase and N.H. Williams (Oncidiinae: Cymbidieae: Orchidaceae): structure and oil secretion. **Annals of Botany (Oxford)**, v. 104, p. 1141-1149, 2009. 104:1141–1149. doi:10.1093/aob/mcp199

ALMEIDA, C. C. S.; CARVALHO, P.C.L. & GUERRA, M. Karyotype differentiation among *Spondias* species and the putative hybrid Umbu-cajá (Anacardiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 155, p. 541-547, 2007.

ALMEIDA, E. M.; WANDERLEY, A. M.; NOLLET, F.; COSTA F. R.; SOUZA, L. G. R. & FELIX, L. P. A New Species of *Ameroglossum* (Scrophulariaceae) Growing on Inselbergs in Northeastern Brazil. **Systematic Botany**, v. 41, n. 2, p. 423-429, 2016.

ASSIS, F. N. M. Mecanismos de evolução cariotípica em *Epidendrum* L. (Orchidaceae: Epidendroideae). Tese. Doutorado em Agronomia, **Universidade Federal da Paraíba**, Areia, Paraíba, Brasil, 2013

BAPTISTA, D.H., HARDING, P.A. & Neto, A.D. Orchids of Brazil: Oncidiinae I. Associação Orquidófila Piracicabana. 1 ed. Piracicaba, **Piracicaba**, São Paulo, Brasil. pp. 21-29, 2011.

BARROS, F., RODRIGUES, V.T. & BATISTA, J.A.N. Orchidaceae. In: J.R. Stehmann, R.C. Forzza, A. Salino, M. Sobral, D.P. Costa & L.H.Y. Kamino (eds.). Plantas da Floresta Atlântica. **Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, p. 372-403, 2009.

BARROS E SILVA, A. E.& GUERRA, M. The meaning of DAPI bands observed after C-banding and FISH procedures. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 85, n. 2, p. 115 - 125, 2010.

BARROS, F. & RODRIGUES, V.T. Novas combinações para membros brasileiros da subtribo Oncidiinae (Orchidaceae, Epidendroideae, Cymbidieae). **Boletim CAOB** 77-78: 3-15,2010.

BARROS, F., VINHOS, F., RODRIGUES, V.T., BARBERENA, F.F.V.A., FRAGA, C.N. Orchidaceae in R.C. Forzza, *et al* (org.). **Catálogo de plantas e Fungos do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. v.2., p.1344- 1426.,2010.

BARROS, F., VINHOS, F., RODRIGUES, V.T., BARBERENA, F.F.V.A., FRAGA C.N. & PESSOA, E.M. Orchidaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014.

BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66. p. 1085-1113. (DOI: 10.1590/2175-7860201566411).

BLUMENSCHNEIN, A. Estudos citológicos na família Orchidaceae. Doctoral thesis, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, **Piracicaba**, 1957.

BROWN, S. W. 1966. **Heterochromatin**. **Science**, v. 151. p. 417-425, 1966.

CASTRO NETO, V.P. & CATHARINO, E.L.M. *Kleberella* et *Neoruschia* (Orchidaceae, Oncidiinae) deux nouveaux genre extraits du genre *Alatiglossum*. **Richardia**, v. 6, n. 3, p. 148-160, 2006.

CASTRO, J. B., SINGER, R. B. A literature review of the pollination strategies and breeding systems in Oncidiinae orchids. **Acta Botânica Brasílica**. Belo Horizonte, v. 33, n. 4, p. 618-643. 2019.

CATHARINO, E.L.M. & CAMPACI, M.A. Propostas para novas combinações nomenclaturais. **Boletim CAOB**, v. 70, p. 95-97, 2009.

CHASE, M.W. A reappraisal of the oncioid orchids. **Systematic Botany**. v. 11, p. 477-491, 1986a.

CHASE, M.W. A monograph of *Leochilus* (Orchidaceae). **Systematic Bototany Monograph**. v. 14, p. 1-97, 1986b.

CHASE, M. W. Systematic implications of pollinarium morphology in *Oncidium* Sw., *Odontoglossum* Kunth, and allied genera (Orchidaceae). **Lindleyana**. v. 2, p. 8-28, 1987a.

CHASE, M.W. Obligate twig epiphytism in the Oncidiinae and other Neotropical orchids. **Selbyana**. v. 10, p. 24-30, 1987b.

CHASE, M.W. and OLMSTEAD, R.G. Isoenzyme number in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae): an evaluation of polyploidy. **American Journal of Botany**. v. 75, p. 1080-1085, 1988.

CHASE, M.W. and PALMER, J.D. *Systematics of Plants* (Soltis, P.S., Soltis, D.E. and Doyle, J.J., eds.). **Chapman and Hall**, New York, p. 324-332, 1992.

CHASE M.W, FREUDENSTEIN, J.V., CAMERON, K. M. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. *In*: Dixon KW, Kell SP, Barrett RL, Cribb PJ, eds. *Orchid conservation*. Kota Kinabalu: **Natural History** Publications. p. 69 – 89, 2003.

CHASE, M.W., HANSON, L., ALBERT, V.A., WHITTEN, M., WILLIAMS, N.H. Life history evolution and genome size in subtribe Oncidiinae (Orchidaceae). **Annals of Botany**. v. 95, p. 191-199, 2005.

CHASE, M.W. Subtribe Oncidiinae. *In*: PRIDGEON, A. M.; CRIBB, P.J.; CHASE, M.W.; RASMUSSEN, F.N. *Genera Orchidacearum. Epidendroideae (Part Two)*. **Oxford University Press**. v. 5, p. 211-391, 2009.

CHASE, M.W., CAMERON, KM. FREUDENSTEIN, JV. PRIDGEON, AM. SALAZAR, G. VAN DEN BERG, C. SHUITEMAN, A. An updated classification of Orchidaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 177, p. 151-174, 2015.

CNC FLORA. **Centro Nacional de conservação da flora**. Disponível em: <http://cncflora.jbrj.gov.br/>. Acessado em: 20, janeiro, 2020.

CORDEIRO, J. M. P. Citotaxonomia do gênero neotropical *Epidendrum* L.(Laeliinae, Orchidaceae). Tese. Doutorado em Agronomia, Universidade Federal da Paraíba. Areia, Paraíba, Brasil. 132p. 2019.

CORDEIRO, J. M. P.; NOLLET, F.; BURIL, M. T.; CHASE, M. W.; FELIX, L. P. A new species of *Gomesa* (Oncidiinae, Orchidaceae) from inselbergs in Brazilian caatinga: morphological and karyological evidence. **Phytotaxa**, v. 374, n. 2, p. 147-154, 2018.

CORDEIRO, J. M. P.; LIMA, S. A. A.; PAZ, S. N.; SANTOS, M. A. S. & FELIX, L. P. Karyotype evolution in the genus *Jacaranda* Juss. (Jacarandaeae, Bignoniaceae): chromosome numbers and heterocromatin. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, gmr15048973, 2016.

CORDEIRO, J. M. P.; KAEHLER, M.; SOUZA, G.; FELIX, L. F. Karyotype analysis in Bignoniaceae (Bignoniaceae): chromosome numbers and heterochromatin. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, p. 2697-2706, 2017.

CHARANASRI, U., H. KAMEMOTO, M. TAKESHITA. Números de cromossomos no gênero *Oncidium* e alguns gêneros aliados. Amer. **Orchid Society Touro**. v. 42, p. 518-524, 1973.

CHARANASARI, U. & KAMEMOTO, H. Additional chromosome numbers in *Oncidium* and allied genera. **American Orchid Society Bulletin**. v. 44, p. 686-691, 1975.

CRIBB, P.J. Tribe Cymbidieae. In: A.M. Pridgeon, P.J. Cribb, M.W. Chase & F.N. Rasmussen. Genera Orchidacearum. Epidendroideae (Part Two). **Oxford University Press**, Oxford. v. 5. p. 3-9, 2009.

CUSIMANO, N., SOUSA, A., RENNER, S.S. Maximum likelihood inference implies a high, not low, ancestral haploid chromosome number in Araceae, with a critique of the bias introduced by "x". **Annals of Botany**. v. 109, p. 681-692, 2012.

DAVIES, K.L.; STPICZYNSKA, M. Comparative histology of floral elaiophores in the orchids *Rudolfiella picta* (Schltr.) Hoehne (Maxillariinae sensu lato) and *Oncidium*

ornithorhynchum HBK (Oncidiinae sensu lato). **Annals of Botany (Oxford)** v. 104, p. 221 – 234, 2009.

DAVIÑA, J. R., GABRIELE, M., CERUTTI, J.C., HOJSGAARD, D. H., ALMADA, R.D., INSAURRALD, I. S., HONFIL, A. I. Chromosome studies in Orchidaceae from Argentina. **Genetics and Molecular Biology**. v. 32, p. 811-821, 2009.

DE ASSIS, FNM., SOUZA, BCQ., MEDEIROS-NETO, E., PINHEIRO, F., SILVA, AEB., FELIX, LP: Karyology of the genus Epidendrum (Orchidaceae: Laeliinae) with emphasis on subgenus Amphiglottium and chromosome number variability in Epidendrum secundum. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 172, p. 329-344, 2013.

DRESSLER, R.L. The Orchids - Natural history and classification. Cambridge: **Harvard University Press**. 1981.

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

ESCUADERO, M.; MARTÍN-BRAVO, S.; MAYROSE, I.; FERNÁNDEZ-MAZUECOS, M.; FIZ-PALACIOS, O.; HIPPI, A.L.; PIMENTEL, M.; JIMÉÑIZ-MEJIAZ, P.; VALCÁRCEL, V.; VARGAS, P.; LUCEÑO, M. Alterações cariotípicas através displóidia persiste mais tempo ao longo do tempo evolutivo que alterar. **Plos one**. v. 9, e85266, 2014.

F, A. Números cromossômicos de plantas com flores. **Academia de Ciências da URSS**. Instituto Botânico de Komarov, Leningrado (reimpressão 1974). 1969.

FELIX, LP. & GUERRA M. Cytogenetics and cytotaxonomy of some Brazilian species of Cymbidioid orchids. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23. p. 957-978, 2000.

FELIX, LP. & GUERRA, M: Basic chromosome numbers of terrestrial orchids. **Plant Systematic Evolucion**. v. 254. p. 131-148, 2005.

FELIX, L.P. & GUERRA, M. Variation in chromosome number and the basic number of subfamily Epidendroideae (Orchidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v.163, n.1, p.234 - 278, 2010. Doi: 10.1111/j.1095-8339.2010.01059.x

FORNI-MARTINS, E.R.; MORAES, A.P.; COSTA, J.Y. & MAEKAWA, V.O. Evolução Cariotípica em Orchidaceae. In: OLIVEIRA, G.X.O.; BANDEL, G.; VEASEY, E.A.; PINHEIRO, J.B.; KOEHLER, S.; AZEVEDO, R.A. (Org.). Anais... 30. Encontro sobre temas de genética e melhoramento- Evolução, sistemática e biologia de populações de orquídeas. 1ed. Piracicaba: **ESALQ/LGN**. v. 1, p. 25-32, 2013.

GIVNISH, T. J.; MERCEDES, A.; SPALINK, D. & LYON, S. Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. **Proceedings of the Royal Society**. v 282. p.15-53, 2015.

GOVAERTES, R., BERNET, P., KRATOCHVIL, K., GERLACH, G., CARR, G., ALRICH, P., PRIDGEON, A.M., PFAHL, J., CAMPACCI, M.A., HOLLAND BAPTISTA, D., TIGGES, H., SHAW, J., CRIBB, P., GEORGE, A., KREUZ, K. & Wood, J. World checklist of Orchidaceae. **Royal Botanic Gardens**, Kew. 2013.

GRAVENDEEL, B.; SMITHSON, A.; SLIK, F. J. W.; SCHUITEMAN, A. Epiphytism and pollinator specialisation: drivers for orchid diversity? **Philosophical Transactions of The Royal Society of London Series B-Biological Sciences**, v. 359, p. 1523-1535, 2004.

GUERRA, M. Introdução à Citogenética Geral. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**. 1989.

GUERRA, M. Cytogenetics of Rutaceae. V. High chromosomal variability in Citrus species revealed by CMADAPI staining. **Heredity** v. 71, p. 234-241. 1993.

GUERRA M. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 1029-1041. 2000.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. **FUNPEC-Editora**, Ribeirão Preto, São Paulo. 2002.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**. DOI: 10.1159/000121083, 2008.

GUERRA, M. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 4, p. 1029-1041, 2000.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, p. 339-350, 2008.

GUERRA, M. Cytotaxonomy: the end of childhood. **Plant Biosystems**, v. 146, n. 3, p. 703-710, 2012.

HALL, IM.; SHANKARANARAYANA, G.D.; NOMA, K.; AYOUB, N.; COHEN, A.; GREWAL, S. I. Establishment and maintenance of a heterochromatin domain. **Science**. v. 297, p. 2232-2237. 2002.

HALL, L. M. & GREWAL, S. I. RNAi: A guide to gene silencing. Editora: **Hamon**, G. J.. Cold spring harbor press, cold spring harbor. p. 205-232, 2003.

HEITZ, E. Das heterochromatin der moose. **I jahrb wiss botanik**. v. 69, p. 762-818, 1928.

HENNIG, W. Heterochromatin. **Chromosoma**, v. 108, p. 1-9, 1999.

HINSLEY, Amy *et al.* A review of the trade in orchids and its implications for Conservation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 186, p. 435 - 455. 2018. Disponível em: <<https://academic.oup.com/botlinnean/article/186/4/435/4736317>>. Acesso em: 11 dez. 2019.

KAO, Y.Y., CHANG, S.B. & LIN, T.Y. Differential accumulation of heterochromatin as a cause for karyotype variation in *Phalaenopsis* orchids. **Annals of Botany**. v. 87, p. 387 - 395, 2001.

MARTINELLI, G.; MORAES, M.A.; ANDERSON, F. & HEATT. Livro vermelho da flora do Brasil. Ed.1, Rio de Janeiro: Andreia Jakobsson: **Instituto de Pesquisa Jardim Botânico** do Rio de Janeiro, p.1100 2013.

MELO, M.C. & BORBA, E.L. Morphological variability in rupicolous species of the *Acianthera prolifera* complex (Orchidaceae) occurring in southeastern Brazil. **Plant Systematics and Evolution**. v. 293, p. 135-145, 2011.

McKELVEY, S.D. & SAX, K. Taxonomic and cytological relationships of Yucca and Agave. **Journal Arnold Arbor**. v. 14, p. 76 – 81, 1933.

NEUBIG, K. M., WHITTEN W. M., WILLIAMS, N. H., BLANCO, M. A., ENDARA, L., BURLEIGH, J. G., SILVEIRA, K., CUSHMAN, J. C., CHASE, M. W. Generic recircumscriptions of Oncidiinae (Orchidaceae: Cymbidieae) based on maximum 22 likelihood analysis of combined DNA datasets. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 168, p. 117-146, 2012.

OLIVEIRA, I.G.; MORAES, A.P.; ALMEIDA, E.M.; ASSIS, F.N.M.; CABRAL, J.S.; BARROS, F.; FELIX, L.P. Chromosomal evolution in Pleurothallidinae (Orchidaceae: Epidendroideae) with an emphasis on the genus *Acianthera*: chromosome numbers and heterochromatin. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 178, p. 102-120, 2015.

.

PANSARIN, L.M.; DE MORAIS, C.M.; SAZIMA, M. Osmophore and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v.159, p. 408 – 415, 2009.

PENHA, T.L.L. & CATHARINO, E.L.M. *Binotia messmeriana* e seu posicionamento taxonômico. **Boletim CAOB**. v. 77-78: 16-19. 2010.

PENHA TLL. CORRÊA AM. CATHARINO ELM. 2011. Números cromossômicos em *Kleberella* V.P. Castro & Cath. (Orchidaceae, Oncidiinae) e gêneros afins. **Acta Botanica Brasilica** 25: 466-475.

PÉREZ-ESCOBAR, O. A. et al. Multiple Geographical Origins of Environmental Sex Determination enhanced the diversification of Darwin's Favourite Orchids. **Scientific Reports** 7, 12878, 2017.

PESSOA, E; FELIX, L. P; ALVES, M. A new *Epidendrum* (Laeliinae-Orchidaceae) from the Atlantic Forest of northeastern Brazil: evidence from morphology and cytogenetics. **Brittonia** 66: 347-352, 2014.

PETINI-BENELLI, A. Diversidade de Orquídeas em Fragmento de Cerrado em Várzea Grande, Mato Grosso, Brasil. **Orquidário**, v. 24, n. 3, 2010

PINHEIRO, F., BARROS, F., PALMA-SILVA, C., MEYER, D., FAY, MF., SUZUKI, RM., LEXER, C., COZZOLINO, S. Hybridization and introgression across different ploidy levels in the Neotropical orchids *Epidendrum fulgens* and *E. puniceoluteum* (Orchidaceae). **Molecular Ecology**. v. 19, p. 39 81-3994, 2010.

PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J., CHASE, M.W. & RASMUSSEN, F.N. Genera Orchidacearum, v. 1: General Introduction, Apostasioideae, Cypridioideae. **Oxford University Press**, New York, 1999.

PRIDGEON A.M. CHASE M.W. CRIBB P.J. & RASMUSSEN F.N. Genera Orchidacearum, Epidendroideae (Part two). Oxford: **Oxford University Press**, v. 5, p. 211-394. eds. 2009.

QUEIROZ, V. V.; PROENÇA, C. E. B. & BIANCHETTI, L. B. Subtribo Oncidiinae Benth. (Orchidaceae Juss.) no Distrito Federal, Brasil. **Hoehnea**, v. 42, n 4, p. 663-686, 2015.

QUEIROZ, V. V.; PROENÇA, C. E. B. & BIANCHETTI, L. B. Subtribo Oncidiinae Benth. (Orchidaceae Juss.) no Distrito Federal Brasil. **Hoehnea** São Paulo i. 42n n. 4n p. 663-a686n out./dez. 2015. Disponível em: Acesso em: 16 dez. 2019. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/2236-a8906-a26/2015>.

QUERINO, B. C.; FERRAZ, M. E.; MATA-SUCRE, Y.; SOUZA, G. & FELIX, L. P. Cytomolecular diversity of the subtribe Laeliinae (Epidendroidae, Orchidaceae) suggests no

relationship between genome size and heterochromatin abundance. **Plant Systematics and Evolution**: 306(2), 2020.

REIS, M.G.; FARIA, A.D.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E. & MARSAIOLI, A.J. **The chemistry of flower rewards - Oncidium**. 2000.

SANDOVAL-ZAPOTITLA, E. & TERRAZAS, T.. Leaf anatomy of 16 taxa of the *Trichocentrum* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). **Lindleyana** v. 16, p. 81-93, 2001

SINOTÔ, Y. Chromosome numbers in *Oncidium* Alliance. **Cytologia**. v. 27, p. 306-313, 1962.

SINOTÔ, Y. Chromosomes in *Oncidium* and allied genera, I. Genus *Oncidium*. **Kromosomo**. v. 76, p. 2459-2473, 1969.

SANTOS, A. S. Número cromossômico e padrões de heterocromatina de duas espécies do gênero *Ornithocephalus* Hook. (Orchidaceae) do Nordeste do Brasil. 28p. Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas). Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia, PB. 2017.

STPICZYNAKA, M. & DAVIES, K.L. Elaiophore structure and oil secretion in flowers of *Oncidium trulliferum* Lindl. and *Ornithophora radicans* (Rchb.f.) Garay and Pabst (Oncidiinae: Orchidaceae). **Annals of Botany** (Oxford). v. 101, p. 375 - 384, 2008.

STPICZYNAKA, M.; DAVIES, K.L.; PACEK-BIENIEK, A. & KAMINISK, M. Comparative anatomy of the floral elaiophore in representatives of the newly re-circumscribed *Gomesa* and *Oncidium* clades (Orchidaceae: Oncidiinae). **Annals of Botany** (Oxford) v. 112, p. 839 - 854, 2013. doi:10.1093/aob/mcu045

SOUZA, V. C. & LORENZI, H. *Botânica Sistemática - Guia ilustrado para a identificação das famílias de Fanerogamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*. Nova Odessa, **Plantarum**. p. 704, 2008.

TANAKA, R. & KAMEMOTO, H. Chromosomes in orchids: counting and numbers. In: Arditti, J, ed. *Orchid biology reviews and perspectives, III*. Ithaca: **Cornell University Press**, p. 323 - 410,1984.

WCSP. World Checklist of Selected Plant Families. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, **Kew**. Published on the Internet. Disponível em [http://apps kew.org/wcsp/](http://apps.kew.org/wcsp/) (acesso em 12/01/2020).

WHITTEN, W. M., WILLIAMS, N. H. & CHASE, M. W. Subtribal and generic relationships of Maxillarieae (Orchidaceae) with emphasis on Stanhopeinae: combined molecular evidence. **American Journal of Botany**. v. 87, p.1842 - 1856, 2000.

WILLIAMS, N. H., CHASE, M.W.; FULCHER, T. & WHITTEN, W. M. Molecular systematic of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscription of *Cyrtochilum*, *Erycina*, *Otoglossom*, and *Trichocentrum* and a new genus (Orchidaceae). **Lindleyana**. v. 16, p. 113-139, 2001.

WILLIMAS, N. H., CHASE, M. W., WHITTEN, W. M. Phylogenetic positions of *Miltoniopsis*, *Caucaea*, a new genus *Cyrtochloides*, and *Oncidium phymatochilum* (Orchidaceae: Oncidiinae) based on nuclear and plastid DNA data. **Lindleyana**. v. 16, p. 272 - 285, 2001.