



*Universidad Nacional del Nordeste*  
*Facultad de Ciencias Agrarias*



# TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

MODALIDA TESINA

Caracterización de la morfo-anatomía foliar y floral de  
*Cohniella jonesiana* (Rchb. f.) Christenson y *C. cepula*  
(Hoffmanns.) Carnevali & G.A. Romero (Orchidaceae:  
Oncidiinae)

**Autora:** Belén Araceli Kettler

**Asesora:** Lic. (Dra.) Stella Maris Solís

**Lugar de realización:** Laboratorio de Anatomía Vegetal – IBONE (UNNE-  
CONICET)

**Año:** 2017

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, en primer lugar por darme la posibilidad de poder seguir estudiando en una Universidad; por el apoyo y acompañamiento durante estos años, y por todo lo que hicieron para que hoy pueda llegar a la (primer) meta...y ahora, permitirme continuar!

A la Dra. Stella Maris Solís, quien, además de ser mi asesora en este Trabajo Final de Graduación, participo como co-directora en la Beca de Pregrado con la cual comenzó parte del trabajo aquí plasmado, enseñando y acompañándome durante las tareas en el laboratorio, y ayudándome a comprender lo que para mí fue un nuevo mundo: la anatomía.

A la Dra. María Silvia Ferrucci, quien fue mi Directora en la Beca de Pregrado, por permitirme ser su becaria, por sus valiosos aportes, consejos y recomendaciones, y por haber contribuido a mi formación profesional.

A los docentes de la Cátedra de Fisiología Vegetal, quienes me permitieron formar parte de su equipo por unos años, y en especial a la Dra. Natalia Dolce por haberme acercado al área de la Fisiología y por ayudarme a dar los primeros pasos en investigación.

A Sandra Tomadín, propietaria del Orquidario Orquisan de la localidad de Villa Ocampo, por aportar parte del material vegetal para mi trabajo.

A mis amigos y compañeros... los que estuvieron desde el principio y los que se fueron sumando, y formaron parte de una forma u otra de este capítulo de mi vida.

## ÍNDICE

<b>Resumen</b> .....	4
<b>Introducción</b> .....	5
<b>Objetivos</b> .....	7
<b>Materiales y Métodos</b> .....	7
Recolección del material .....	7
Análisis morfológicos.....	8
Análisis anatómico floral y foliar .....	8
Técnicas histoquímicas .....	8
<b>Resultados y Discusión</b> .....	9
Aclaraciones taxonómicas .....	9
Morfología floral.....	9
Morfoanatomía de las piezas florales .....	10
Morfología foliar.....	12
Anatomía foliar .....	12
Estructuras secretoras.....	13
Osmóforos .....	13
Elaióforos.....	13
Nectarios .....	14
<b>Conclusiones</b> .....	14
<b>Figuras</b> .....	16
<b>Bibliografía</b> .....	24
<b>Anexo</b> .....	29
Clave para los géneros del clado <i>Trichocentrum</i> .....	29
Clave para los complejos del género <i>Cohniella</i> .....	29
Clave para especies de <i>Cohniella</i> de Sudamérica.....	30

## RESUMEN

La familia Orchidaceae es una de las más grandes y evolucionadas del reino vegetal. Los estudios existentes sobre la morfología y anatomía son muy variados y se relacionan principalmente con clasificaciones taxonómicas tradicionales. El género *Cohniella* cuenta con escasos antecedentes en anatomía foliar y floral, y el estudio de estos caracteres es importante para apoyar las investigaciones filogenéticas. El objetivo de este trabajo fue realizar un análisis comparativo de la morfo-anatomía foliar y de las piezas florales en dos especies nativas de *Cohniella*: *C. jonesiana* (Rchb. f.) Christenson y *C. cepula* (Hoffmanns.) Carnevali & G.A. Romero. Se utilizó material vegetal proveniente de plantas cultivadas en el invernáculo de orquídeas de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE) y el Orquidario "Orquisan" (Villa Ocampo, Santa Fe). Para los estudios anatómicos se realizaron cortes transversales y longitudinales mediante micrótopo rotativo y a mano alzada, se tiñeron con Safranina-Astra Blue y Azul de Toluidina, y se montaron en bálsamo de Canadá sintético. Para detectar elaióforos se utilizó el reactivo Sudán III y para osmóforos se empleó Rojo Neutro. Las flores de *C. jonesiana* son resupinadas, de 3,5-4 cm de largo; labelo trilobado, lóbulo central blanco, lóbulos laterales amarillos y más pequeños; callo con cinco dientes. Columna alargada, con dos alas laterales. Las flores de *C. cepula* son más pequeñas, resupinadas, de 2-2,5 cm de longitud; labelo amarillo trilobado; callo con tres dientes. Columna maciza, con dos alas laterales asimétricamente bilobadas. Con respecto a la anatomía floral, ambas especies muestran características similares en sépalos, pétalos y labelo; se destaca la presencia de una vaina esclerenquimática en el sépalo dorsal y pétalos de *C. jonesiana* y en el labelo de *C. cepula*. En el callo se diferencian áreas de la epidermis con células papilosas y otras con células de citoplasma denso que se corresponde con los elaióforos. La columna tiene una estructura compleja. Ovario compuesto por tres carpelos, con tres valvas fértiles que llevan las placentas, y tres estériles. En *C. cepula* se diferencia con más claridad la delimitación entre ambas valvas. La reacción con Sudán III resultó positiva en el callo del labelo en ambas especies; la reacción con Rojo Neutro no arrojó resultados satisfactorios. Se detectó la presencia de nectarios florales y extraflorales en ambas especies. Las hojas en ambas especies son teretes. Anatómicamente, se diferencian por el tipo de engrosamiento de algunas células parenquimáticas del mesófilo. Del análisis comparativo entre *Cohniella jonesiana* y *C. cepula* resultaron de valor diagnóstico el tamaño y coloración de las flores, la morfología del callo y columna, la vaina esclerenquimática en los haces vasculares del sépalo dorsal, pétalos y labelo, la anatomía del ovario y los engrosamientos de las células parenquimáticas del mesófilo.

## INTRODUCCIÓN

La familia Orchidaceae es una de las más grandes y, posiblemente, la más evolucionada del reino vegetal. Comprende alrededor de 800 géneros que abarcan unas 30000 especies, sin contar los híbridos. Pertenece a la clase de las Monocotiledóneas que, como su nombre lo indica, son aquellas plantas que presentan un solo cotiledón en el embrión. Si bien este carácter no es manifiesto, ya que presentan el embrión indiferenciado, sus otras características morfológicas, tales como número de piezas florales por verticilo y tipo de hoja, entre otras, permiten ubicarlas en este grupo de plantas (Dressler, 1982).

Stevens (2010) reconoce 5 subfamilias para la familia Orchidaceae. El género *Cohniella* Pfitzer se ubica en la subfamilia Epidendroideae (considerada como la más evolucionada), tribu Cymbidieae, subtribu Oncidiinae (Dressler & Dodson, 1960). Junto con los géneros *Lophiarella* Szlachetko, Mytnik-Ejmont & Romowicz, *Lophiaris* Rafinesque y *Trichocentrum* Poeppig & Endlicher, conforman el clado *Trichocentrum* (Cetzal-Ix *et al.*, 2013a). Algunos autores reconocen a este clado como un género único y emplean la definición de *Trichocentrum* para identificar a todas las especies que lo integran (Williams *et al.*, 2001; Sosa *et al.*, 2001; Chase, 2009; Neubig *et al.*, 2012). Es por ello que muchas veces se presentan confusiones a la hora de identificar y definir las especies, hasta el momento se sigue aceptando a *Trichocentrum* como sinónimo de *Cohniella*.

Los representantes del género *Cohniella* se distribuyen extensamente desde el norte de México hasta el sur de Brasil y norte de Argentina. Se distinguen de los otros miembros de Oncidiinae por sus pseudobulbos pequeños y subesféricos, que llevan una hoja simple y terete, y flores similares a *Oncidium* (Carnevali *et al.* 2010). Dentro del clado *Trichocentrum* se los diferencia por ser los únicos que presentan hojas teretes, con parénquima unifacial e inclusiones celulares en la epidermis. Actualmente el género incluye 22 especies, distribuidas en cinco complejos de especies, y dos híbridos naturales (Cetzal-Ix *et al.*, 2016). *Cohniella jonesiana* (Rchb. f.) Christenson y *C. cepula* (Hoffmanns.) Carnevali & G.A. Romero se ubican en complejos diferentes, los cuales se identifican con el mismo nombre de las especies, es decir, "Complejo *C. jonesiana* y Complejo *C. cepula*", ambos con 3 especies en cada uno.

En Argentina, para la familia Orchidaceae se citan 86 géneros y 252 especies, encontrándose en la provincia de Corrientes 40 géneros y 74 especies (Schinini *et al.*, 2008). Su distribución va desde Tierra del Fuego hasta Misiones y Jujuy, concentrando una mayor diversidad en la región subtropical (precisamente en la Selva Paranaense y en las Yungas), donde se localizan aproximadamente un 50% de las especies registradas para el país. El resto de las especies se hallan distribuidas de manera discontinua entre las diversas regiones fitogeográficas, con una pérdida de diversidad hacia las regiones templadas y áridas (Johnson, 2001).

Los estudios para la familia sobre morfología y anatomía, son muy variados y se relacionan principalmente con clasificaciones taxonómicas tradicionales. Oncidiinae es una de las subtribus más diversa de la familia con un amplio rango de morfología floral y vegetativa,

caracteres empleados para la diferenciación de especies y grupos. Ello incluye la mayor diversidad en sistemas de polinización y el más amplio rango en número de cromosomas conocido para Orchidaceae.

Existen registros sobre la anatomía foliar de algunas especies en particular dentro de la subtribu (Sandoval *et al.*, 2003; Stern & Carlswald, 2006; Sandoval-Zapotitla *et al.*, 2010; Cetzal-Ix *et al.*, 2013b) como también estudios florales con énfasis en los elaióforos (Pacek & Stpiczynzka, 2007; Stpiczynzka *et al.*, 2007; Stpiczynzka & Davies, 2008; Aliscioni *et al.*, 2009; Davies & Stpiczynzka, 2009; Torretta *et al.*, 2011; Pacek *et al.*, 2012; Stpiczynzka *et al.*, 2013).

La mayoría de las especies de la subtribu Oncidiinae del Nuevo Mundo no ofrecen recompensas a sus polinizadores (Chase *et al.*, 2009). Sin embargo, para algunas especies de *Gomesa* R. Br., *Lockhartia* Hook., *Oncidium* Sw., *Ornithocephalus* Hook., *Phymatidium* Lindl. y *Trichocentrum* Poepp. & Endl. (Singer & Cocucci, 1999; Flach *et al.*, 2004; Reis *et al.*, 2006; Pacek & Stpiczynzka, 2007; Stpiczynzka *et al.*, 2007, Stpiczynzka & Davies, 2008), se demostró la existencia de aceites florales como recompensa para sus polinizadores (Torretta *et al.*, 2011).

La presencia de elaióforos fue confirmada en numerosas especies de Oncidiinae: *Gomesa loefgrenii* (Cogn.) M.W. Chase & N.H. Williams; *G. paranaensis* (Kraenzl.) M.W. Chase & N.H. Williams; *G. adicans* (Rchb.f.) M.W. Chase & N.H. Williams; *G. recurva* R. Br.; *G. venusta* (Drapiez) M.W. Chase & N.H. Williams; *G. bifolia*; *Oncidium cheiophorum* Rchb.f.; *Ornithocephalus kruegeri* Rchb.f.; *Phymatidium delicatulum* Lindl.; *P. tillandsioides* Barb. Rodr.; *Trichocentrum cavendishianum* (Bateman) M.W. Chase & N.H. Williams y *T. pumilum* (Singer & Cocucci, 1999; Reis *et al.*, 2006, Stpiczynzka *et al.*, 2007; Stpiczynzka & Davies, 2008, Pacek & Stpiczynzka 2007; Aliscioni *et al.*, 2009, Pansarin & Pansarin, 2010). Renner & Schaefer (2010) reportaron que la presencia de glándulas secretoras de aceites evolucionó independientemente, numerosas veces en las Orchidaceae (Torreta *et al.*, 2011). Se ha propuesto que la ocurrencia de néctar, lípidos y trazas de azúcar en algunos aceites florales (Vogel, 1990b; Davies *et al.*, 2003) y, por el contrario, la ocurrencia de terpenoides en el néctar de algunas especies (Davies *et al.*, 2005) puede indicar que los elaióforos derivan de los nectarios (Stpiczynzka *et al.*, 2007).

Por el contrario, los estudios relacionados a nectarios y osmóforos son escasos dentro de la subtribu Oncidiinae, aunque se tienen registros en especies de otras subtribus e incluso de otras subfamilias (Stern *et al.*, 1987; Stpiczynzka *et al.*, 2003; Stpiczynzka *et al.*, 2005; Pansarin *et al.*, 2009; Antón *et al.*, 2012; Neubig *et al.*, 2015; Kowalkowska *et al.*, 2015).

Para el género *Cohniella* no se cuenta con suficientes antecedentes sobre anatomía foliar ni floral. Cabe destacar el trabajo de Cetzal-Ix *et al.* (2013b), quienes realizaron una comparación de caracteres anatómico-foliares de especies del clado *Trichocentrum*.

En los últimos años, Cetzal-Ix *et al.* (2012, 2013a), Carnevali *et al.* (2010) y Cetzal-Ix & Carnevali (2010) han estudiado en profundidad este género para circunscribir las especies y

definir cada una de ellas, basándose en caracteres diagnósticos y datos biogeográficos, con el fin de facilitar su reconocimiento y aclarar las confusiones existentes entre algunas de ellas.

El estudio de los caracteres tanto foliares como florales es importante para apoyar las investigaciones sistemáticas. El análisis de estas dos especies, *C. jonesiana* y *C. cepula*, aportará datos interesantes para ayudar a clarificar las relaciones filogenéticas dentro de la subtribu.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Realizar un análisis comparativo de la morfo-anatomía foliar y de diferentes piezas florales en dos especies nativas de *Cohniella*: *C. jonesiana* y *C. cepula*.

### Objetivos específicos

- Analizar la morfo-anatomía de los verticilos estériles y fértiles en flores de ambas especies.
- Determinar la presencia y ubicación de elaióforos y osmóforos.
- Determinar la ubicación de nectarios.
- Interpretar la anatomía foliar en ambas especies.
- Identificar los caracteres florales y foliares propios de cada taxón.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### - *Recolección del material*

El material vegetal utilizado provino de plantas que se mantienen en el invernáculo de orquídeas de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNNE), y del Orquidiario "Orquisan", situado en la localidad de Villa Ocampo, Santa Fe, Ruta Nacional N°11 Km 873. Dicho material se conservó en una solución fijadora de formol, alcohol 70° y ácido acético (FAA) para ser usado posteriormente en el laboratorio. El material estudiado se encuentra depositado en el Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes (CTES).

*Cohniella cepula*. ARGENTINA. Prov. Corrientes, Dpto. Capital. Ejemplar cultivado, adquirido en un vivero, 4-01-2017 (fl), Kettler, B. 1 (CTES).

*Cohniella jonesiana*. ARGENTINA. Prov. Corrientes, Dpto. Capital. Ejemplar cultivado, proveniente del invernáculo del Ing. Agr. E. Flachsland (FCA-UNNE), 26-01-2017 (fl), Kettler, B. 2 (CTES).

### **- Análisis morfológicos**

Para describir las piezas florales se llevó a cabo la disección de flores frescas. Se observaron detalladamente con el microscopio estereoscópico Leica MZ6 y se tomaron las fotografías correspondientes a cada una de ellas.

Para estudiar los caracteres morfológicos en Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) las muestras se sometieron a una serie creciente de acetona y se secaron a punto crítico con CO<sub>2</sub>. Posteriormente se llevó a cabo la metalización con un delgado baño de oro-paladio (O'Brien y McCully, 1981) y se obtuvieron fotomicrografías con el microscopio electrónico JEOL 5800 LV a 20 Kv.

### **- Análisis anatómico floral y foliar**

Para el estudio anatómico de las diferentes partes de la flor se realizaron preparados permanentes. El material previamente fijado fue procesado mediante una serie de deshidratantes histológicos y aclarantes-preimpregnantes de Biopur® (Gonzalez & Cristóbal, 1997). La impregnación en parafina se hizo siguiendo la técnica de Johansen (1940). Posteriormente el material se colocó en una mezcla de partes iguales de alcohol butírico terciario y aceite de parafina a 60° por 10 hs aproximadamente, seguido de dos cambios en parafina entre 10 y 12 hs cada uno. La inclusión se realizó en Histoplast®. Se realizaron cortes longitudinales y transversales seriados con micrótopo rotativo en espesores de 15-18 µm y se colorearon con Safranina-Astra Blue (Luque *et al.*, 1996). Los preparados se montaron en bálsamo de Canadá sintético.

Para el estudio anatómico de las hojas se utilizó el material fresco y se realizaron cortes transversales a mano alzada. Se colorearon con Azul de Toluidina y se montaron en agua destilada.

Las observaciones, interpretaciones, y fotografías se efectuaron con microscopio estereoscópico Leica MZ6 y microscopio binocular Leica DM LB2 (MO) Ambos con cámara fotográfica incluida.

### **- Técnicas histoquímicas**

Para detectar la presencia y ubicación de *osmóforos* se utilizó como reactivo Rojo Neutro al 0.1%. Se introdujeron flores frescas en un vaso de precipitado con el reactivo correspondiente, dejando actuar entre 5 y 10 minutos (D'Ambrogio de Argueso, 1986).

Para detectar *elaióforos* se utilizó como reactivo Sudan III. Dicha solución se colocó, en un principio, sobre la flor para determinar presencia y ubicación de los elaióforos. En una segunda instancia, se aplicó la solución sobre cortes histológicos del callo realizados en micrótopo rotativo, previa eliminación de la parafina. Se dejó actuar entre 10-15 minutos, se lavó con alcohol 50% y se montó en agua destilada (D'Ambrogio de Argueso, 1986).

Las observaciones y fotografías se efectuaron con microscopio estereoscópico Leica MZ6 y microscopio binocular Leica DM LB2 (MO).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Aclaraciones taxonómicas**

El clado *Trichocentrum* está conformado por cuatro géneros: *Cohniella*, *Trichocentrum*, *Lophiaris* y *Lophiarella* (ver Anexo, clave para los géneros del clado *Trichocentrum*). Si bien muchos autores siguen denominando como *Trichocentrum* a todas las especies que lo conforman, es importante tener en cuenta que el género *Cohniella* se diferencia fácilmente de los otros tres por ser el único que presenta hojas teretes (Cetzal-Ix *et al.* 2013b). Por lo tanto, las especies que hoy en día se reconocen bajo el género *Trichocentrum* y presentan hojas teretes, en realidad pertenecen al género *Cohniella*.

Es importante resaltar que a partir de la sinopsis realizada por Carnevalli *et al.* (2010), todas las citas y registros de *Cohniella cebolleta* (= *Oncidium cebolleta* = *Trichocentrum cebolleta*) del sur del Río Amazonas corresponden a *Cohniella cepula*. Esto se debe a que gran parte de las especies del género eran consideradas como sinónimos de *C. cebolleta* al no existir caracteres diagnósticos propios y datos biogeográficos adecuados para cada una de ellas (ver Anexo, clave para especies de *Cohniella* de Sudamérica). Siguiendo con este punto, cabe destacar además la contribución de Cetzal-Ix *et al.* (2012) quienes realizaron una revisión taxonómica de las especies de *Cohniella* distribuidas del lado sur del río Amazonas y reconocieron la presencia de dos grupos, en base a la morfología vegetativa y floral: el complejo *C. cepula* y el complejo *C. jonesiana*, cada uno compuesto por tres especies (ver Anexo, clave para los complejos del género *Cohniella*).

### **A. Morfología floral**

Las flores de *C. jonesiana* se reúnen en inflorescencias racemosas que sobrepasan la longitud de las hojas, en número de 2-10 (Fig. 1, A). Son resupinadas, de 3,5-4 cm de largo y abren de forma acrópeta; sépalos y pétalos de 19-21 mm de largo, blanco crema a amarillo-verdosos, con puntos de color castaño-rojizo distribuidos irregularmente; sépalo dorsal más globoso que los laterales y algo cóncavo; pétalos con el margen ondulado (Fig. 1, C). Labelo trilobado de 23-25 mm de largo, desde la base hasta el ápice del lóbulo central; éste es de mayor tamaño, blanco con algunos puntos rojizos en la región del istmo que se extienden hasta la base de los lóbulos laterales, raramente distribuidos por toda la superficie; lóbulos laterales amarillos y más pequeños; callo bien desarrollado, blanco crema, con cinco dientes: dos proximales y globosos, con la superficie rugosa; dos distales o laterales más angostos y uno central, angosto y largo, lateralmente comprimido. Diente central y laterales con pequeñas excrecencias en la superficie (Fig. 2, B y E). Columna de 8-9 mm de largo, con dos alas laterales que se disponen paralelamente al eje de la misma, blanco crema y con pequeñas

puntuaciones rojizas irregularmente distribuidas (Fig. 2, D); cara ventral en el mismo plano que el labelo. Tábula infrastigmática crasa, brillante, blanca con manchas rojizas, ventralmente acanalada, ligeramente alargada. Superficie estigmática obovada y algo cóncava. Polinario típico del género (Fig. 2, C).

Las flores de *C. cepula* son pequeñas (Fig. 1, D) de 2-2,5 cm de longitud, resupinadas y abren de forma acrópeta. Se reúnen en inflorescencias solitarias; son racimos con 3-9 unidades o panículas con 2-4 inflorescencias parciales que contienen de 2-5 flores (Fig. 1, B). Sépalos y pétalos de 8,5-9 mm de largo, amarillo claro, con manchas castaño-rojizas, más o menos claras; sépalos con la base más fina/clavada, sépalo dorsal con la porción distal cóncava; pétalos con el margen ondulado; labelo amarillo trilobado, de 10-11 mm de largo, con algunas manchas y/o puntuaciones castaño-rojizas alrededor del callo y en la base de los lóbulos; lóbulo central más grande que los laterales; callo amarillo, brillante, con manchas castaño-rojizas y tres dientes: dos proximales, poco desarrollados y uno central, más largo y lateralmente comprimido (Fig. 3, B y E). Columna maciza, de 3,5-4 mm de largo, con dos alas laterales asimétricamente bilobadas, amarillas, que se disponen de manera perpendicular o formando un pequeño ángulo agudo con el eje de la columna (Fig. 3, D). Tábula infrastigmática maciza, profundamente bilobada, hendida y brillante, acanalada en la base del estigma y ventralmente plana. Superficie estigmática obovada y cóncava. Polinario típico del género (Fig. 3, C).

## **B. Morfoanatomía de las piezas florales**

### *Sépalos*

En vista superficial, en *Cohniella jonesiana* y *C. cepula* se observan células epidérmicas de diferentes tamaños, de forma más o menos redondeada y con estriaciones cuticulares. En la epidermis abaxial (Fig. 4, A) estas estriaciones son más evidentes que en la adaxial, donde la cutícula tiende a ser más lisa (Fig. 4, B)

En sección transversal, en la porción media, la epidermis presenta células de contorno más o menos cuadrangular, que se vuelven de forma más circular hacia los extremos laterales. En la cara adaxial las células son más pequeñas que en la cara abaxial. El mesófilo es homogéneo formado por células parenquimáticas de tamaño irregular que dejan pocos espacios intercelulares (Fig. 5, A); algunas se destacan por su tamaño y contienen rafidios. En el sépalo dorsal de *C. jonesiana* los haces vasculares se encuentran rodeados por una vaina de células esclerenquimáticas (Fig. 5, B), mientras que en *C. cepula* los haces vasculares del sépalo dorsal carecen de este tejido de sostén. (Fig. 5, C).

### *Pétalos*

En ambas especies, en vista superficial se observa una epidermis adaxial con células alargadas y cutícula estriada (Fig. 4, C). La epidermis abaxial, por el contrario, presenta células

con forma más redondeada y cutícula menos estriada (Fig. 4, D), similares a la epidermis adaxial de los sépalos.

En sección transversal las células epidérmicas propiamente dichas de la epidermis adaxial son más alargadas en la porción media y más redondeadas en los extremos laterales. La epidermis abaxial presenta células más grandes, de contorno cuadrangular en *C. jonesiana* y más redondeadas en *C. cepula* (Fig. 5, D y F). El mesófilo es homogéneo y con células de tamaño irregular que dejan pocos espacios intercelulares; se observan idioblastos con rafidios (Fig. 5, E). En los haces vasculares de *C. jonesiana* se diferencian casquetes de fibras por fuera del floema (Fig. 5, D).

#### *Labelo*

La epidermis adaxial, en ambas especies, está compuesta por células papilosas, de cutícula muy estriada y con el extremo más delgado (Fig. 4, F). La epidermis abaxial presenta células más redondeadas y con la cutícula estriada, similar a la epidermis abaxial de los sépalos y a la adaxial de los pétalos.

En corte transversal las células epidérmicas de la cara abaxial en *C. jonesiana* son pequeñas y más redondeadas que las de la cara adaxial; el mesófilo es homogéneo con células parenquimáticas de tamaño irregular; algunas se destacan del resto por su tamaño, se observan idioblastos con rafidios (Fig. 5, G). *Cohniella cepula* presenta similares características, pero se diferencia por tener papilas más notables en la epidermis adaxial y sus haces vasculares rodeados de una vaina de células esclerenquimáticas (Fig. 5, H).

#### *Callo*

La superficie del callo en ambas especies está cubierta por células epidérmicas de tamaño relativamente uniforme (Fig. 4, I) aunque en *C. jonesiana* la epidermis de las excrescencias se diferencia por poseer células un poco más alargadas (Fig. 4, G). La cutícula presenta estriaciones. Se observan estomas no funcionales (Fig. 4, H y J) que podrían estar asociados a la secreción de aceites desde las estructuras secretoras denominadas elaióforos.

En sección transversal, esta zona diferencia algunas células papilosas (Fig. 5, L y M) y otras células con contorno rectangular, con citoplasma denso y núcleo prominente, característico de un epitelio secretor (Fig. 5, J y K). En la base del callo puede observarse que continúa la presencia de células papilosas, las que se corresponden con la superficie del labelo. En posición subepidérmica se observa parénquima homogéneo, con células de tamaño irregular que dejan escasos espacios intercelulares e idioblastos cristalíferos (Fig. 5, I).

#### *Columna*

En ambas especies se observan papilas en el extremo distal y en las alas de la columna, similares a las que se encuentran en el labelo, con estriaciones cuticulares. En el resto de la columna las células presentan una forma alargada, aunque en la parte dorsal tienden a ser más redondeadas (Fig. 4, K, L, M).

Anatómicamente presenta una estructura compleja. El parénquima es homogéneo, con idioblastos con rafidios (Fig. 6, A). Las alas de la columna presentan la epidermis papilosa y el mesófilo delgado. En la antera madura se observan las paredes de las células del endotecio con fuertes engrosamientos (Fig. 6, B y C), y la epidermis externa algo papilosa. Las polinias presentan una exina gruesa en la superficie; el estípite está formado por una única capa de células con engrosamientos notables (Fig. 6, D). El estigma presenta capas de células parenquimáticas que se van desprendiendo y dan lugar al estigma húmedo característico de esta familia (Fig. 6, E).

Como carácter distintivo, en *C. cepula* se observa una importante presencia de idioblastos con rafidios en la zona del clinandrio (Fig. 6, F).

#### *Ovario*

De acuerdo a lo interpretado por Brown (1831) y Rasmussen & Johansen (2006), el ovario está compuesto por tres carpelos, mostrando un patrón de seis valvas en sección transversal: tres fértiles, que llevan las placentas de forma marginal, y tres estériles que acompañan a las anteriores. Las valvas fértiles presentan una epidermis interna que delimita el lóculo y placentas con excrecencias (Fig. 6, H). Además se observan abundantes idioblastos cristalíferos.

En ambas especies se distingue una delimitación entre valvas fértiles y estériles, mediada por varios estratos de células pequeñas que rodean el lóculo. En *C. cepula* esto se aprecia con mayor claridad (Fig. 6, I) ya que las células presentan el citoplasma más denso que en *C. jonesiana* (Fig. 6, G)

### **C. Morfología foliar**

*Cohniella jonesiana* y *C. cepula* presentan hojas simples, carnosas, coriáceas y teretes, ésta última es una característica propia del género y de valor taxonómico ya que permite separarlo a su vez de los otros 3 géneros que integran el clado *Trichocentrum* y presentan hojas conduplicadas (Cetzal-Ix *et al.* 2013b). Pueden alcanzar una longitud de 35 cm. En *C. jonesiana* son péndulas (Fig. 2, A) y en *C. cepula* son erectas (Fig. 3, A).

### **D. Anatomía foliar**

Ambas especies (*C. cepula* y *C. jonesiana*) presentan la epidermis uniestratificada, con papilas pequeñas y cutícula gruesa (Fig. 7, E), en contraposición a lo señalado por Cetzal-Ix *et al.* 2013b, quienes caracterizaron la epidermis de *C. cepula* como lisa. El mesófilo es homogéneo, con células parenquimáticas más o menos isodiamétricas y de tamaño variable, con pequeños espacios intercelulares. El parénquima es unifacial, carácter típico del género por presentar hojas teretes. Se observan idioblastos con inclusiones de cristales de oxalato de calcio en forma de rafidios en ambas especies (Fig. 7, H), a diferencia de lo señalado por Cetzal-Ix *et al.* 2013b quienes mencionaron que *C. cepula* presenta cristales en forma de

drusas como inclusiones celulares. En el mesófilo se pueden diferenciar cordones de fibras extravasculares que se ubican próximos a la epidermis (Fig. 7, F y G). Una característica interesante es la presencia de engrosamientos secundarios en forma espiralada en las paredes de algunas células parenquimáticas en *C. cepula* (Fig. 7, D) mientras que en *C. jonesiana* se pueden observar engrosamientos espiralados y en menor medida también reticulados (Fig. 7, C) Estos engrosamientos son característicos de las especies que integran el clado *Trichocentrum*, de acuerdo a lo señalado por Cetzal-Ix *et al.* 2013, aunque también han sido registrados en la subtribu Pleurothallidinae (Pridgeon, 1986) y en el género *Brassavola* R. Brown (Noguera-Savelli & Jáuregui, 2011), donde se señala que las células que los presentan almacenan agua para evitar el colapso de los tejidos durante los periodos de sequía.

Los haces vasculares se distribuyen en el mesófilo en diferentes estratos, siguiendo la línea de un arco (Fig. 7, A). En el centro de la hoja se observan hacecillos de mayor tamaño, intercalados con otros más pequeños. Son del tipo colateral cerrado (Fig. 7, B). Presentan una vaina de fibras alrededor del xilema.

### **E. Estructuras secretoras**

#### *a) Osmóforos*

Las zonas donde se ubican los compuestos volátiles se deben colorear entre la gama del rojo a rosa. En este caso, la reacción con la solución de Rojo Neutro no arrojó resultados satisfactorios que determinen con exactitud la presencia de estas estructuras secretoras. En la Fig. 8, A y B solamente se pueden ver áreas teñidas débilmente de rosa en la base del callo y de los lóbulos laterales del labelo que podrían indicar la presencia de este tipo de estructuras secretoras. La ubicación de los osmóforos es muy variable ya que se pueden situar en la base de sépalos y pétalos, en estructuras especiales, en la base del callo y en los lóbulos laterales del labelo. Teixeira *et al.* 2004, quienes estudiaron siete especies de *Bulbophyllum*, encontraron que los osmóforos se localizan en los lóbulos y en la superficie adaxial del callo del labelo.

Es importante tener en cuenta que las flores utilizadas para este análisis se recolectaron luego del tercer día de antesis. Vogel (1990a), en estudios hechos sobre cortes histológicos, señala que el tejido de osmóforos jóvenes reacciona dando una coloración intensa rojo frambuesa, ya que presenta un mayor contenido de almidón en sus células, mientras que después de su actividad la coloración tiende al rojo naranja y se presenta de manera difusa sólo en la epidermis. En base a esto se puede inferir que la actividad de los osmóforos en estas especies es de corta duración o se produce en algún momento determinado del día, o bien se da de forma muy temprana.

#### *b) Elaióforos*

La reacción con la solución alcohólica saturada de Sudán III resultó positiva solamente en el callo del labelo en ambas especies (Fig. 8, C y D). La superficie del órgano, que originalmente

es de color blanco crema en *C. jonesiana* y amarillenta en *C. cepula*, adquirió una coloración rojo intenso evidenciando la presencia del tejido secretor de aceites. En los cortes histológicos se observaron sectores de la epidermis con células de contorno rectangular y citoplasma denso (Fig. 8, E y F), que corresponderían a los elaióforos. De acuerdo a Vogel (1974), existen dos tipos de elaióforos: tricomas secretores de lípidos (elaióforos tricomáticos) y células epidérmicas secretoras de lípidos (elaióforos epiteliales). En base a esto, se puede confirmar que las especies estudiadas presentan elaióforos epiteliales.

Diversos estudios han demostrado que dentro de la subtribu Oncidiinae los elaióforos epiteliales son los más comunes (Singer & Cocucci, 1999; Reis *et al.*, 2006; Stpiczynska *et al.*, 2007, Stpiczynska & Davies, 2008; Patek & Stpiczynska, 2007; Aliscioni *et al.*, 2009; Pansarin & Pansarin, 2010, Patek *et al.*, 2012; Gómiz *et al.*, 2013); en menor medida se registraron elaióforos tricomáticos para los géneros *Lockhartia*, *Ornithocephalus*, *Phymatidium* y *Zygostates* (Vogel, 1974; Buchmann, 1987; Toscano de Brito, 2001; Reis *et al.*, 2006; Patek & Stpiczynska, 2007; Patek *et al.*, 2012, Blanco *et al.*, 2013).

### c) Nectarios

Se determinó la existencia de nectarios mediante la presencia de gotas que se formaban en la base de los sépalos (nectarios florales, NF) (Fig. 8, H y J) y en la base de las brácteas de las flores (nectarios extra-florales, NEFs) (Fig. 8, I). La secreción por parte de los NEFs se da de manera muy temprana; en *C. cepula* incluso antes de que comiencen a evidenciarse los botones florales. En los NF en cambio, la formación de las gotitas comienza entre 3 y 5 días antes de la antesis y se observan hasta los 4-6 días posteriores a la misma.

Para corroborar que dicha secreción era néctar, además de observar la frecuente presencia de hormigas, se midió la concentración de azúcares (% sacarosa p/p) en diferentes momentos del día mediante un refractómetro de bolsillo. La misma osciló en un rango de 5-32%. En algunos casos la lectura no se pudo completar ya que el tamaño de la gota era pequeño y se dificultaba la extracción de la muestra.

Si bien no existen antecedentes sobre nectarios para el género *Cohniella*, dentro de la subtribu Oncidiinae es importante destacar el caso de *Rodriguezia venusta*, quien presenta nectarios florales ubicados entre el sépalo inferior y el labelo, con forma de lengua y recubiertos por tricomas (encargados de la secreción de néctar), y nectarios extraflorales en las brácteas de las flores y en las hojas (Espolador Leitão *et al.*, 2014).

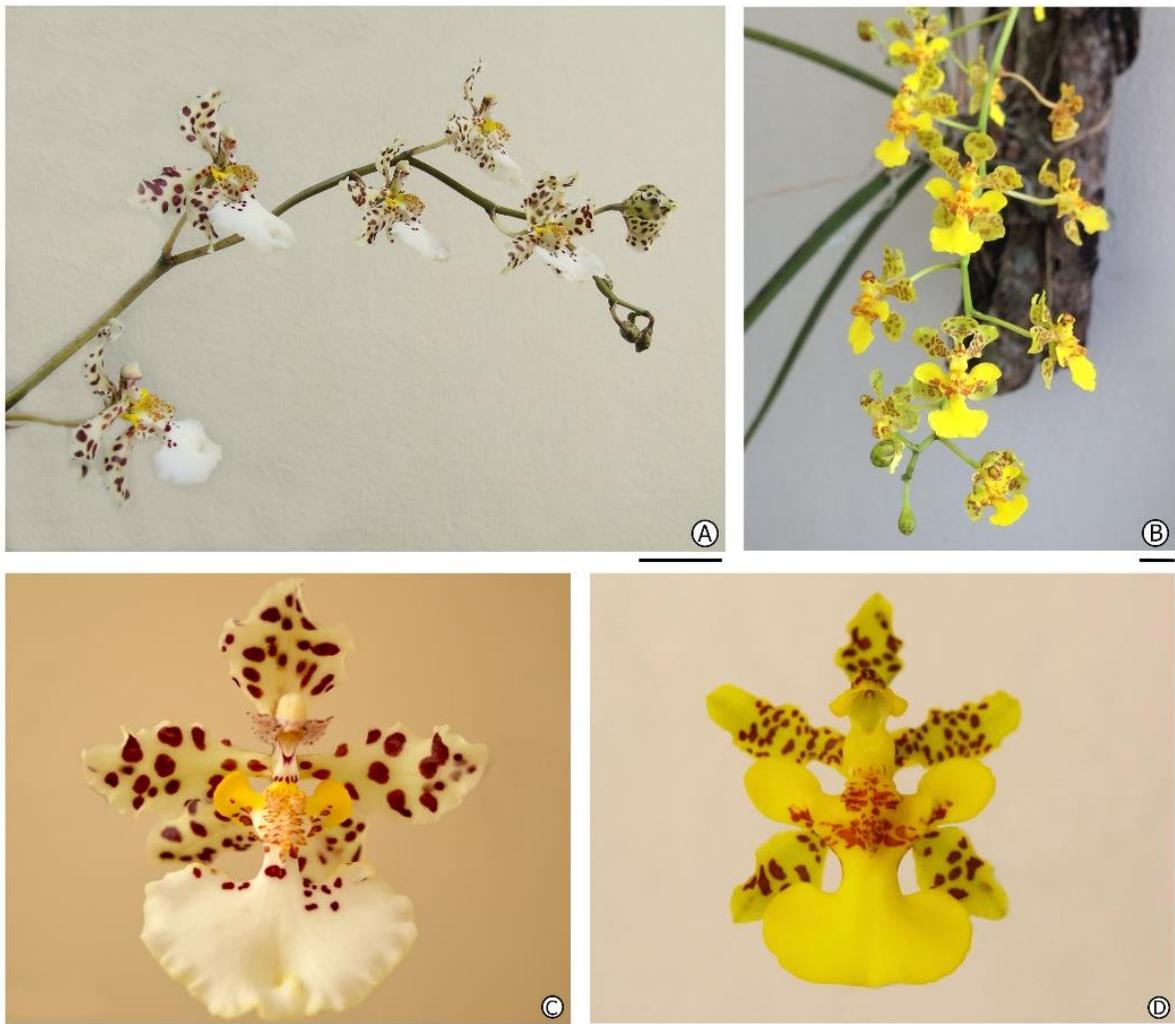
## CONCLUSIONES

Del análisis comparativo entre ambas especies, resultaron de valor diagnóstico: el tamaño y coloración de las flores, la morfología del callo y la columna, la vaina esclerenquimática en los haces vasculares del sépalo dorsal, pétalos y labelo, como también la anatomía del ovario y los engrosamientos de las células parenquimáticas del mesófilo en las hojas. Estos caracteres morfo-anatómicos son importantes ya que podrían combinarse con análisis de secuencias de

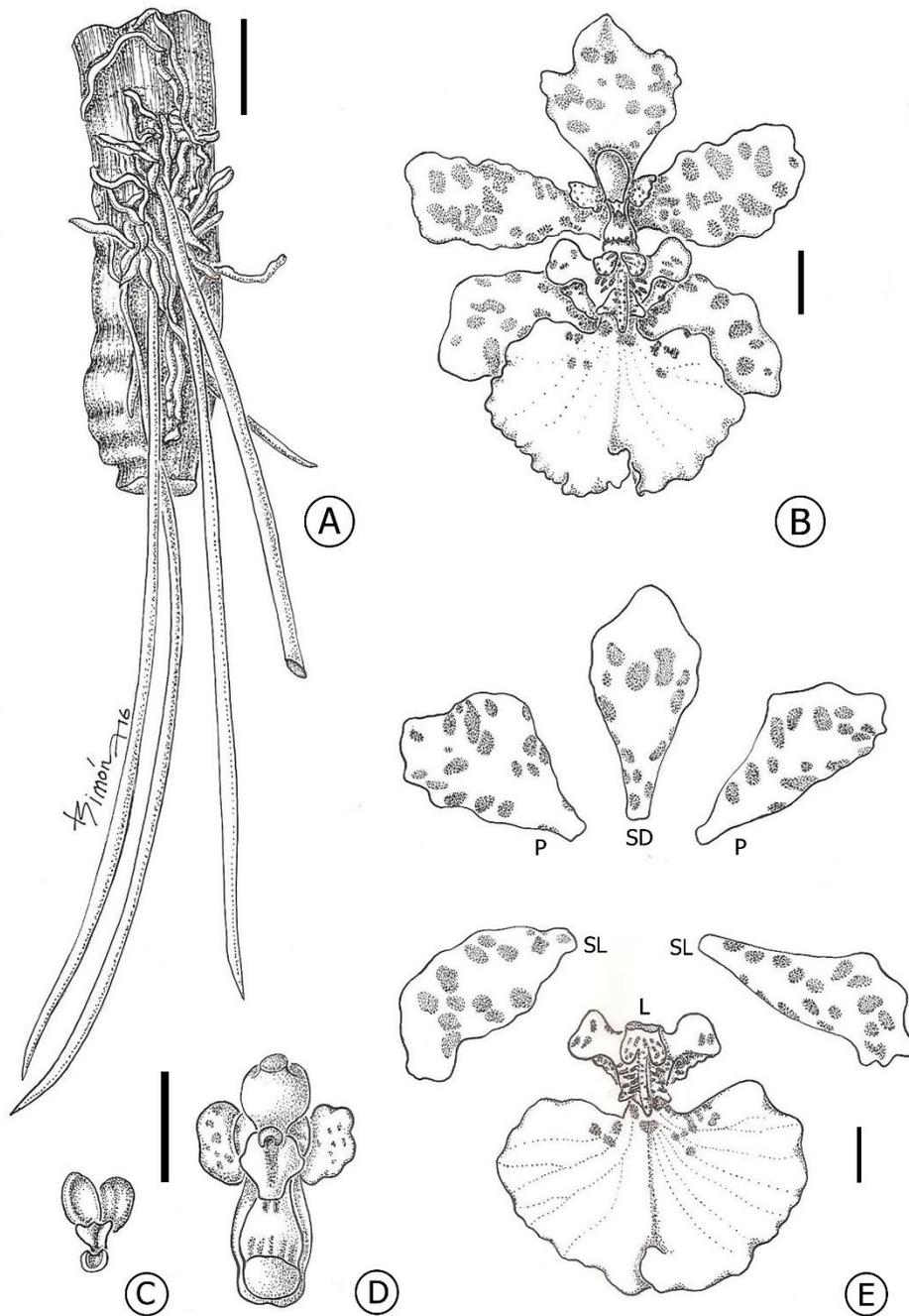
ADN y, de esta manera, respaldar las relaciones filogenéticas a nivel subtribu, o bien dentro del clado *Trichocentrum*.

En cuanto a las estructuras secretoras, muchas veces la presencia y la ubicación de las mismas están relacionadas con los mecanismos de polinización que presenta la especie y el tipo de polinizador que interviene. En el caso de *C. jonesiana* y *C. cepula* esta información hasta el momento es desconocida. Debido a ello no se puede afirmar con seguridad la presencia de osmóforos, que formarían parte del sistema de atracción de polinizadores. Si bien hay indicios de que ello sea probable, sería necesario hacer un estudio más exhaustivo al respecto para respaldar las hipótesis surgidas aquí. Por el contrario, no sucede lo mismo con los nectarios y elaióforos, los cuales se pudieron detectar correctamente. Aunque dentro del género aún hay pocos estudios respecto a estas estructuras, se sabe que los elaióforos son muy comunes en la subtribu Oncidiinae y se asocian a la polinización por parte de las abejas Euglosinas, quienes se caracterizan por recolectar aceites. De todas formas, sería interesante profundizar más en esta temática y así aportar mayor información respecto a estas especies, que hasta ahora no han sido estudiadas.

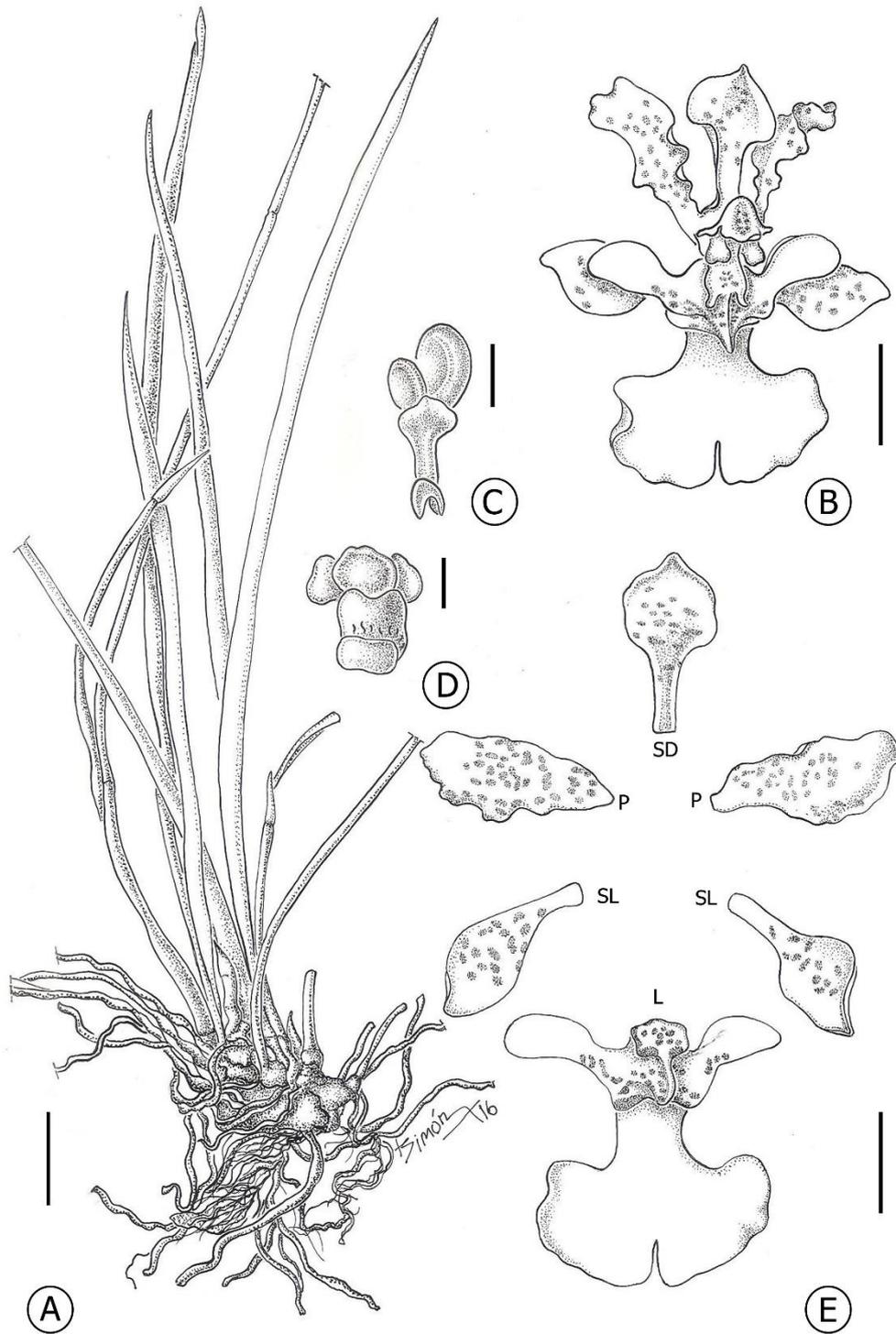
FIGURAS



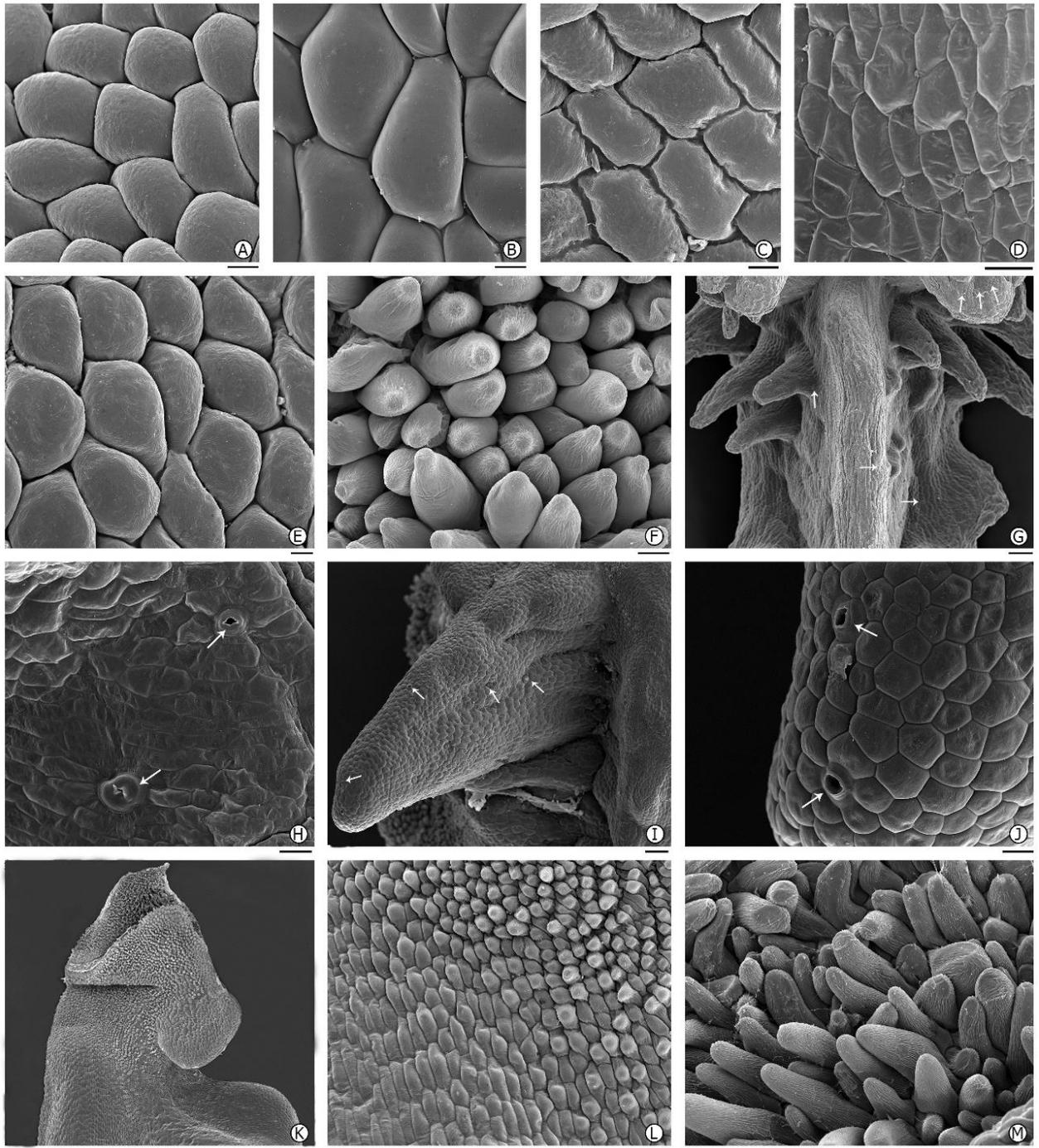
**Fig. 1.** *Cohniella jonesiana*. **A.** Vista de la inflorescencia. **C.** Detalle de la flor. *Cohniella cepula*. **B.** Vista de la inflorescencia **D.** Detalle de la flor. Escalas: **A** y **B.** 2 cm; **C** y **D.** 5 mm. Foto: Belén Kettler.



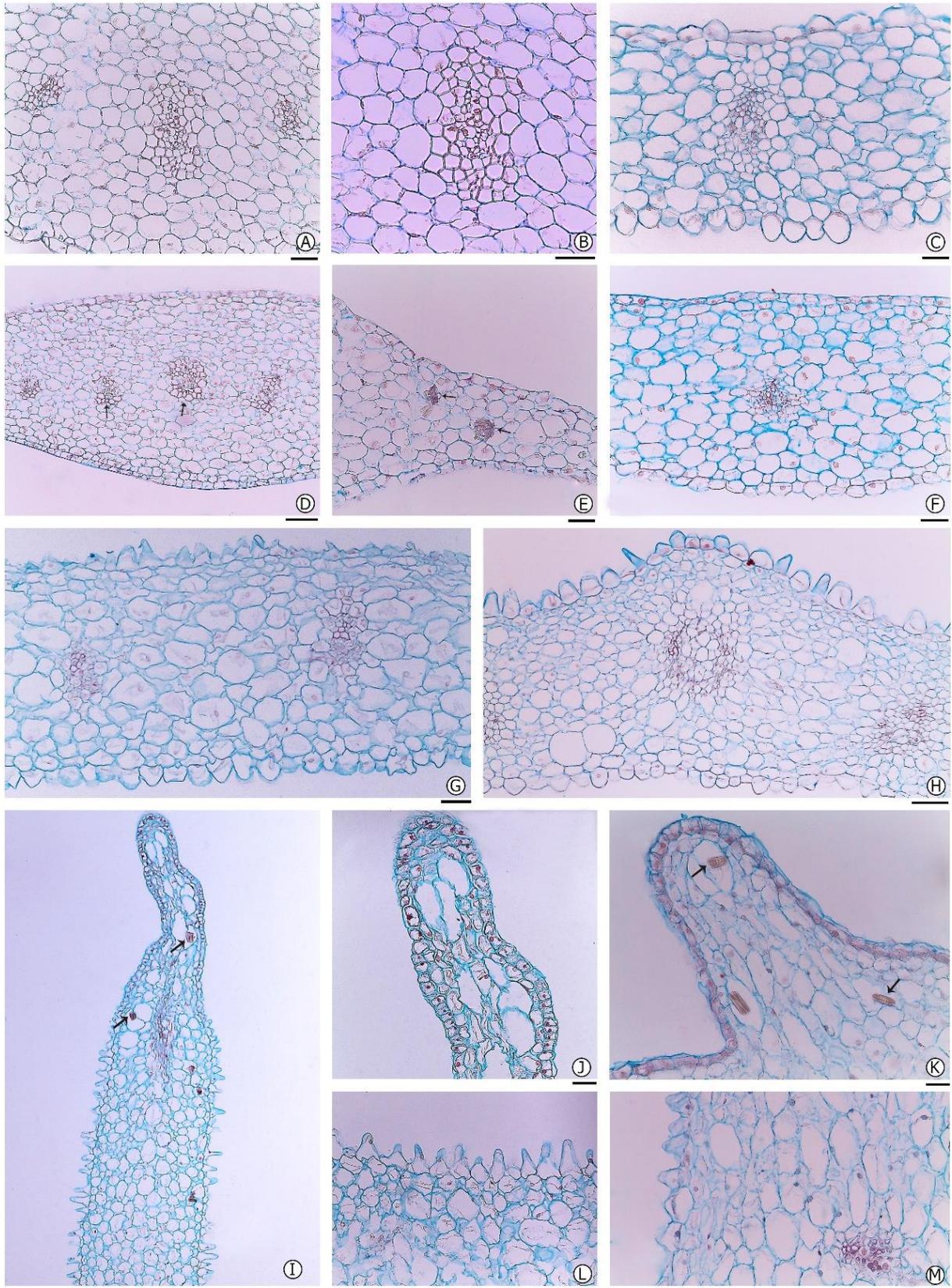
**Fig. 2.** *Cohniella jonesiana*. **A.** Porte de la planta. **B.** Flor, vista general. **C.** Detalle de los verticilos estériles. **D.** Columna, vista frontal. **E.** Polinario. SD, sépalo dorsal; SL, sépalo lateral; P, pétalo; L, labelo. Escalas: **A.** 3 cm; **B-E.** 5 mm. Dibujos: Laura Simón.



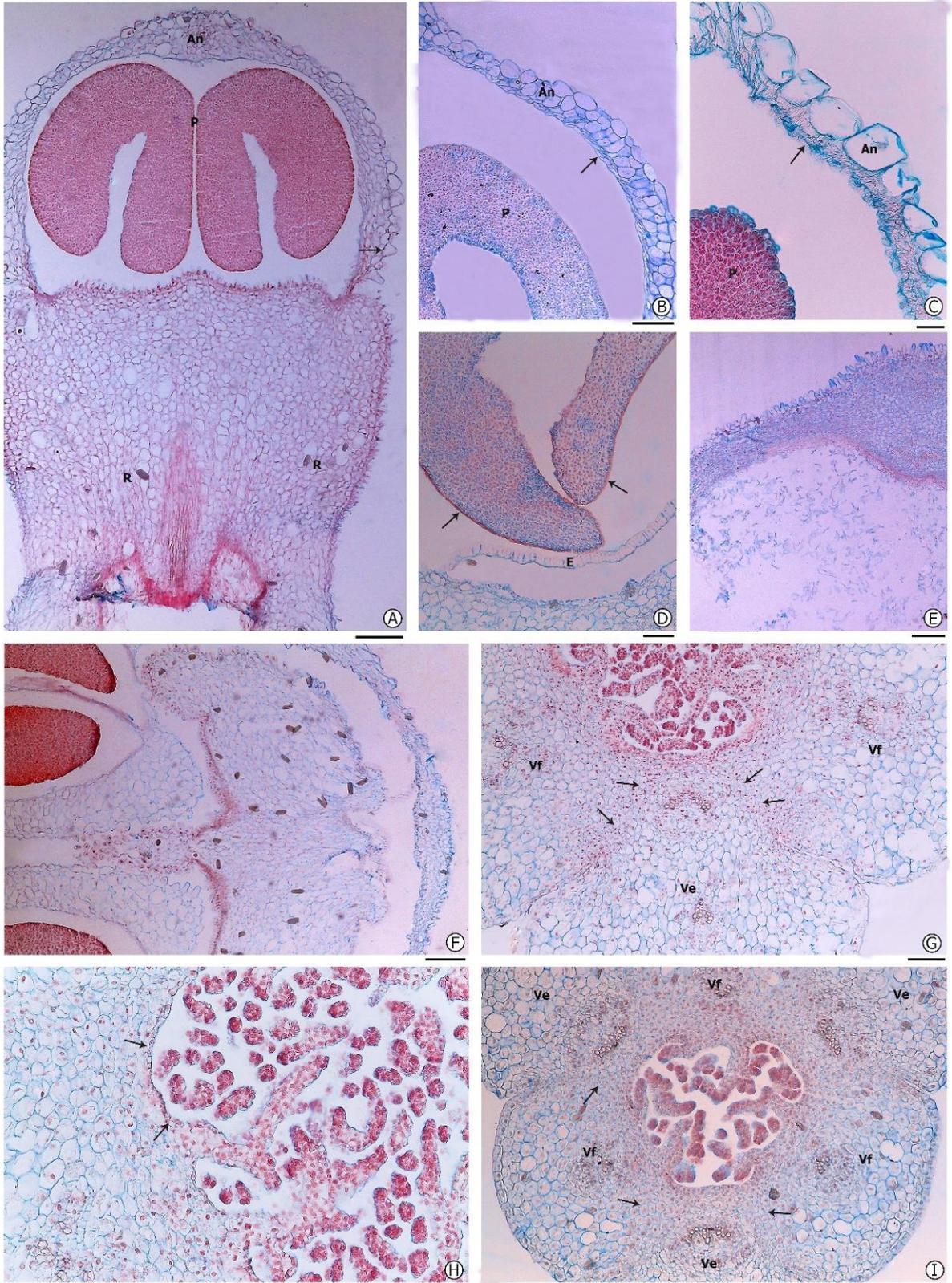
**Fig. 3.** *Cohniella cepula*. **A.** Porte de la planta . **B.** Flor **C.** Detalle de los verticilos estériles **D.** Polinario. **E.** Columna. SD, sépalo dorsal; SL, sépalo lateral; P, pétalo; L, labelo. Escalas: **A.** 2 cm; **B y E.** 5 mm; **C.** 1 mm; **D.** 2 mm. Dibujos: Laura Simón.



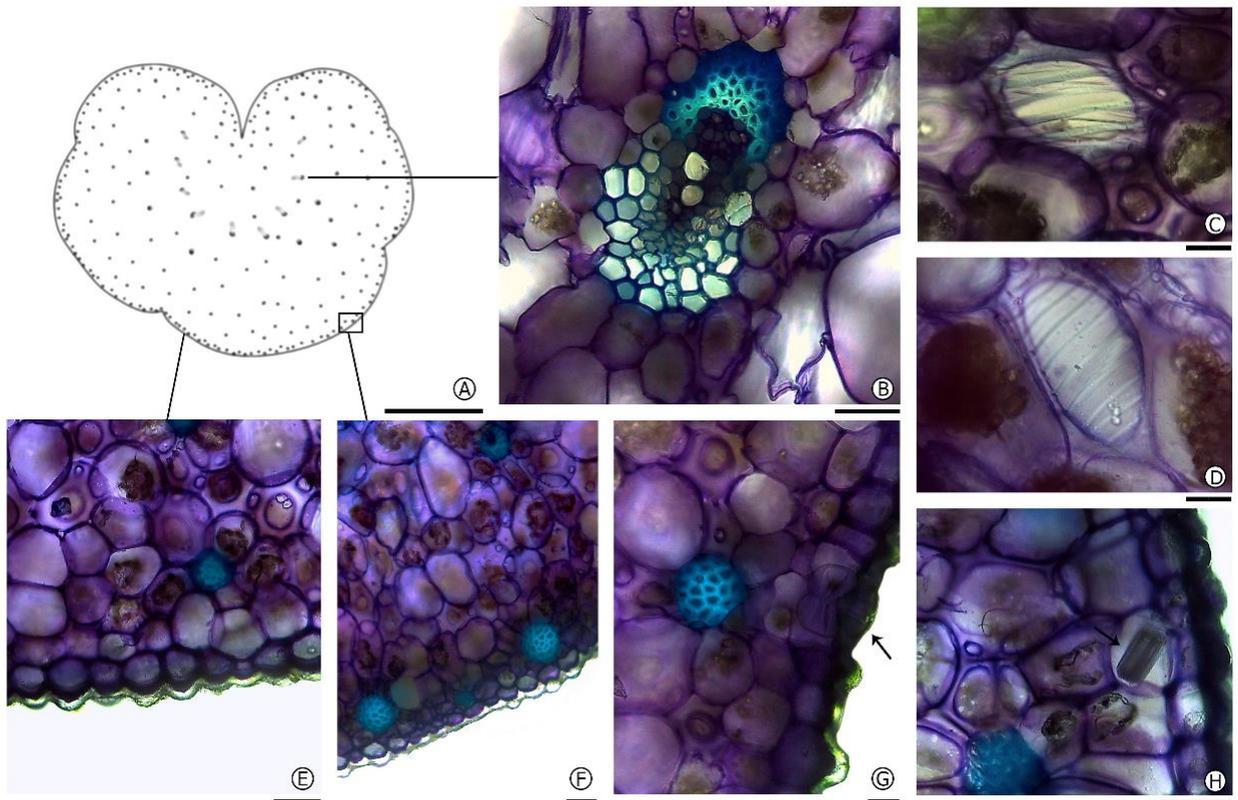
**Fig. 4.** Microfotografías en MEB. **A y B.** Sépalo de *C. cepula*: **A.** Epidermis abaxial. **B.** Epidermis adaxial. **C.** Epidermis adaxial del pétalo de *C. cepula* **D.** Epidermis abaxial del pétalo de *C. jonesiana*. **E.** Epidermis abaxial del labelo de *C. jonesiana*. **F.** Epidermis adaxial del labelo de *C. cepula*. **G y H.** Callo de *C. jonesiana*: **G.** Vista general (las flechas indican la ubicación de estomas). **H.** Detalle de estomas (flechas). **I y J.** Callo de *C. cepula*: **I.** Vista general (las flechas indican ubicación de estomas). **J.** Detalle de estomas (flechas) **K-L.** Columna de *C. cepula*. **K.** Vista lateral. **L.** Células alargadas y papilosas de la epidermis. **M.** Detalle de las papilas. Escalas: **A-C, H, y J,** 20  $\mu$ m; **D, F, L y M,** 50  $\mu$ m; **E,** 10  $\mu$ m; **G y K,** 200  $\mu$ m; **I,** 100  $\mu$ m.



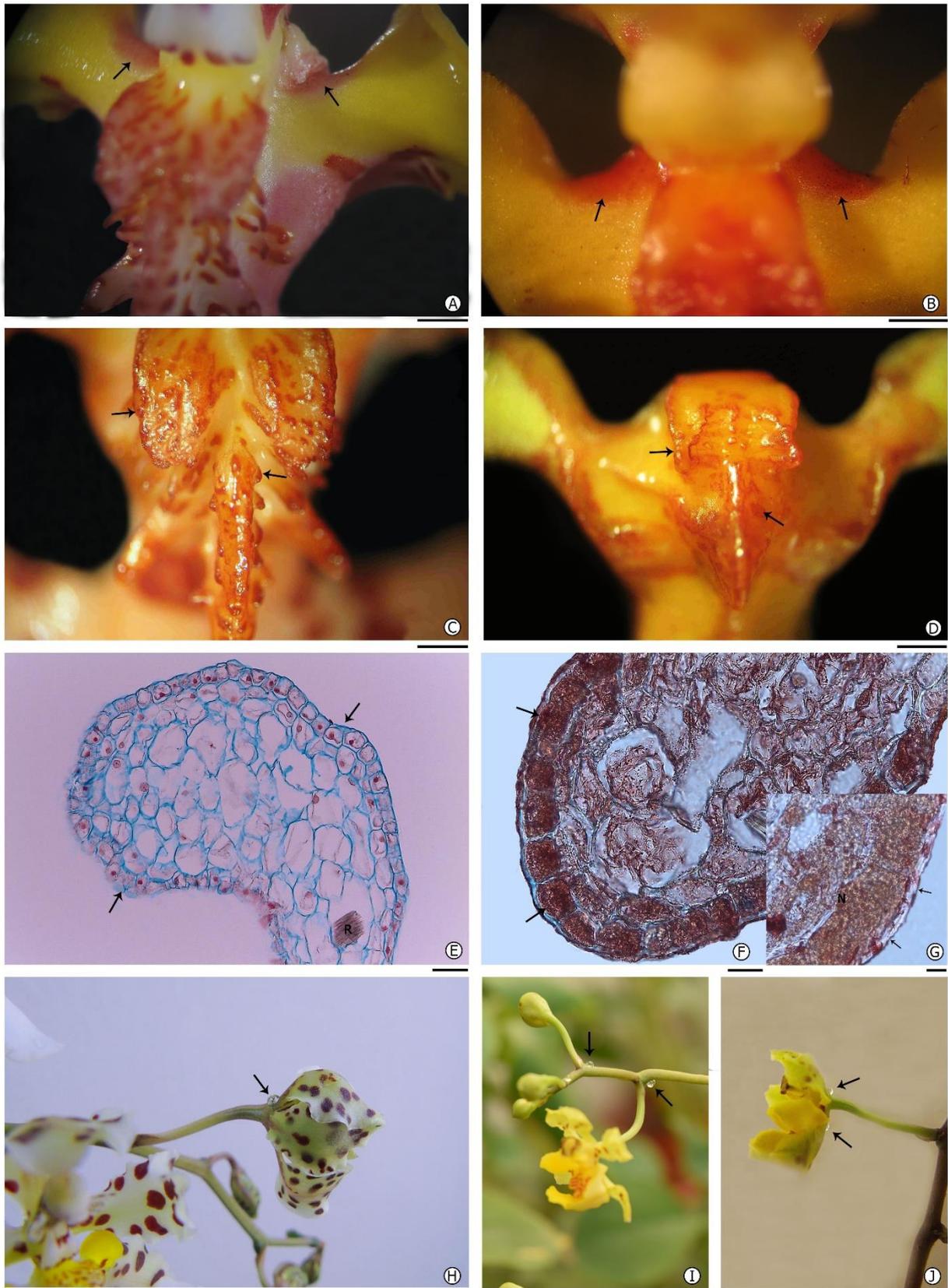
**Fig. 5** Anatomía de piezas florales en corte transversal (MO). **A y B.** Sépalo dorsal de *C. jonesiana*: **A.** Vista general. **B.** Detalle de haces mostrando vaina esclerenquimática. **C.** Sépalo lateral de *C. cepula*. **D y E.** Pétalo de *C. jonesiana*: **D.** Vista general (las flechas señalan la vaina esclerenquimática por fuera del floema). **E.** Rafidios (flechas). **F.** Pétalo de *C. cepula*. **G y H.** Labelo: **G.** *C. jonesiana*. **H.** *C. cepula*. **I.** Diente central del callo de *C. jonesiana* mostrando células papilosas, células de elaióforos y rafidios (flechas). **J y K.** Detalle de elaióforos: **J.** *C. jonesiana*. **K.** *C. cepula*. **L y M.** Detalle de células papilosas del callo: **L.** *C. jonesiana*. **M.** *C. cepula*. Escalas: **A-C, E, F, J-M,** 50  $\mu$ m; **D, G, H,** 100  $\mu$ m; **I,** 200  $\mu$ m.



**Fig. 6.** Anatomía de piezas florales en corte transversal y longitudinal (MO). **A-D.** Cortes longitudinales. **A.** Vista general de la columna de *C. cepula*. **B.** Células del endotecio con pequeños engrosamientos (flechas) en *C. jonesiana*. **C.** Células del endotecio mostrando engrosamientos (flechas) en *C. cepula*. **D-I.** Cortes transversales. **D.** Polinario de *C. jonesiana*, se observa la exina (flechas) y el estípite. **E.** Cavidad estigmática en *C. jonesiana* mostrando las células que se desprenden. **F.** Columna de *C. cepula*, se observa el clinandrio con abundantes rafidios. **G-H.** Ovario: **G.** *C. jonesiana*. **H.** Detalle de la cavidad de *C. jonesiana* mostrando la epidermis que la delimita (flechas) y las excrescencias de la placenta. **I.** *C. cepula*. An, antera; E, estípite; P, polinio; R, rafidios; Ve, valva estéril; Vf, valva fértil. Escalas: **A-B, E, F,** 200  $\mu$ m; **C y H,** 50  $\mu$ m; **D, G y I,** 100  $\mu$ m.



**Fig. 7.** Microfotografías de la lámina foliar, en corte transversal (MO). **A.** Esquema de un corte de hoja **B.** Detalle de un haz vascular cerrado en *C. cepula*. **C.** Engrosamiento reticulado de una célula parenquimática de *C. jonesiana*. **D.** Engrosamiento espiralado en una célula parenquimática de *C. cepula*. **E.** Vista de la epidermis de *C. jonesiana*. **F.** Vista de cordones de fibras extravasculares del mesófilo de *C. cepula*. **G.** Detalle de un estoma (flecha) en epidermis de *C. jonesiana*. **H.** Idioblasto con rafidio (flecha) en el mesófilo de *C. jonesiana*. Escalas: **A.** 3 mm; **B.** 50  $\mu$ m; **C y D,** 15  $\mu$ m; **E, F y H,** 50  $\mu$ m; **G.** 25  $\mu$ m.



**Fig. 8.** Estructuras secretoras. **A-B. Osmóforos:** respuesta a la tinción con rojo neutro (las flechas indican las áreas que reaccionaron dando el color rosa). **A.** *C. jonesiana*; **B.** *C. cepula*. **C-D. Elaióforos:** respuesta a la tinción con Sudán III (las flechas indican las áreas que reaccionaron dando el color rojo oscuro). **C.** *C. jonesiana*; **D.** *C. cepula*. **E-F.** Sección transversal de una porción del callo mostrando el epitelio secretor (flechas). **E.** *C. jonesiana* **F.** *C. cepula*. **G.** Detalle del tejido, las flechas señalan la cutícula. **H-J. Nectarios:** Secreción de gota de néctar (flechas): **H.** Nectario floral de *C. jonesiana*. **I - J.** *C. cepula*. **I.** Nectarios extraflorales. **J.** Nectarios florales. N, núcleo. Escalas: **A-D,** 1 mm; **E,** 50  $\mu$ m; **F,** 25  $\mu$ m; **G,** 10  $\mu$ m; **H,** 1 cm; **I,** 5 mm; **J,** 1 cm.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aliscioni, S. S.; Torretta, J. P.; Bello, M. E. & Galati, B. G. 2009. Elaiophores in *Gomesa bifolia* (Sims) M.W. Chase & N.H. Williams (Oncidiinae: Cymbidieae: Orchidaceae): structure and oil secretion. *Annals of Botany* 104: 1141–1149.
- Antoń, S.; Kamińska, M. & Stpicyńska, M. 2012. Comparative structure of the osmophores in the flower of *Stanhopea graveolens* Lindley and *Cycnoches chlorochilon* Klotzsch (Orchidaceae). *Acta Agrobotánica* 65(2): 11–22.
- Blanco, M. A., Davies, K. L., Stpiczynska, M., Carlsward, B. S., Ionta, G. M. & Gerlach, G. 2013. Floral elaiophores in *Lockhartia* Hook. (Orchidaceae: Oncidiinae): their distribution, diversity and anatomy. *Annals of Botany*, <http://dx.doi.org/10.1093/aob/mct232>.
- Brown, R. 1831. Observations on the organs and mode of fecundation in Orchideae and Asclepiadeae. Richard Taylor, London.
- Buchmann, S. L. 1987. The ecology of oil flowers and their bees. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 343-369. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.002015>.
- Carnevali Fernández-Concha, G.; Cetzal-Ix, W.R.; Balam Narváez, R. & Romero-González, G. A. 2010. A sinopsis of *Cohniella* (Orchidaceae, Oncidiinae). *Brittonia*, 62(2): 153-177.
- Cetzal-Ix, W. R. & Carnevali Fernández-Concha, G. 2010. A revisión of *Cohniella* Pfitzer (Orchidaceae) in Mexico. *Journal of the Torrey Botanical Society* 137(2–3): 180–213.
- Cetzal-Ix, W. R.; Carnevali Fernández-Concha, G. & Paiva Castro, V. 2012. *Cohniella* (Orchidaceae: Oncidiinae) south of the Amazon river. *Systematic Botany* 37(1): 58-77.
- Cetzal-Ix, W.; Carnevali, G.; Noguera-Savelli, E. & Romero-González, G. A. 2013a. What is *Cohniella cebolleta*? Recircumscription and new reinstated species and combinations (Orchidaceae). *Systematic Botany* 38(3): 606-23.
- Cetzal-Ix, W.; Noguera-Savelli, E.; Jáuregui, D. & Carnevali, G. 2013b. Anatomía foliar comparada y sistemática del clado *Trichocentrum* con énfasis en *Cohniella* (Asparagales: Orchidaceae). *Revista de Biología Tropical* 61: 1841-1858.
- Cetzal-Ix, W.; Carnevali, G. & Romero González, G. 2016. Synopsis of the *Trichocentrum*-clade (Orchidaceae, Oncidiinae). *Harvard Papers in Botany* 21(2): 141–169.
- Chase M. W. 2009. Subtribe Oncidiinae. In: Pridgeon AM, Chase MW, Cribb PJ, Rasmussen FN, eds. *Genera Orchidacearum*, Vol. 5 Epidendroideae (part two). Oxford, UK: Oxford University Press. 211-394.
- D'Ambrogio de Argueso, A., 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Facultad de Agronomía U.B.A. Ed. Hemisferio Sur.
- Davies, K. L.; Turner, M. P. & Gregg, A. 2003. Atypical pseudopollen-forming hairs in *Maxillaria Ruiz & Pav.* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 143: 151–158.

- Davies, K. L.; Stpiczynska, M. & Gregg, A. 2005. Nectar-secreting floral stomata in *Maxillaria anceps* Ames & C. Schweinf. (Orchidaceae). *Annals of Botany* 96: 217–227.
- Davies, K. L. & Stpiczynska, M. 2009. Comparative histology of floral elaiophores in the orchids *Rudolfiella picta* (Schltr.) Hoehne (Maxillariinae sensu lato) and *Oncidium ornithorhynchum* H.B.K. (Oncidiinae sensu lato). *Annals of Botany*. 104: 221–234.
- Dressler, R. L. and C H. Dodson. 1960. Classification and philogeny in the Orchidaceae. *Annals of Missouri Botanical Garden* 47: 25-67.
- Dressler, R. L. 1982. *The Orchids: natural history and classification*. Harvard University Press. 332 pp.
- Espolador Leitão, C. A., Heidi Dolderb, M. A & Cortelazzob, A. L. 2014. Anatomy and histochemistry of the nectaries of *Rodriguezia venusta* (Lindl.) Rchb. f. (Orchidaceae). *Flora* 209: 233-243.
- Flach, A.; Dondon R. C.; Singer, R. B.; Koehler, S.; Amaral, M. C. E. & Marsaioli, A. J. 2004. The chemistry of pollination in selected Brazilian Maxillariinae orchids: floral rewards and fragrance. *Journal of Chemical Ecology* 30: 1045-1056.
- Gómez, N. E., Torretta, J. P. & Aliscioni, S. S. 2013. Comparative anatomy of elaiophores and oil secretion in the genus *Gomesa* (Orchidaceae). *Turkish Journal of Botany* 37: 859-871. [http://dx. doi.org/10.3906/bot-1209-6](http://dx.doi.org/10.3906/bot-1209-6).
- Gonzalez, A. M. & Cristóbal, C. L. 1997. Anatomía y ontogenia de semillas de *Helicteres Lhotzkyana* (Sterculiaceae). *Bonplandia* 9(3-4): 287-294.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Co. New York.
- Johnson, A.E. 2001. *Las orquídeas del Parque Nacional Iguazú*. Literatura of Latín América. 282 pp.
- Kowalkowska, A. K.; Kozieradzka-Kiskurno, M. & Turzyński, S. 2015. Morphological, histological and ultrastructural features of osmophores and nectary of *Bulbophyllum wendlandianum* (Kraenzl.) Dammer (*B.* section *Cirrhopetalum* Lindl., Bulbophyllinae Schltr., Orchidaceae). *Plant systematics and evolution* 301: 609-622.
- Luque, R.; Sousa, H. C. & Kraus, J. E. 1996. Métodos de coloração de Roeser (1972) – modificado- E Kropp (1972), visando a substituição do Azul de Astra por Azul de Alcão 8GS ou 8GX. *Acta botânica brasílica*. 10(2): 199-212.
- Neubig, K. M., Whitten, W. M.; Williams, N. H, Blanco, M. A.; Endara, I.; 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: 117–228.

- Neubig, K. M.; Carlswald, B. S.; Whitten, W. M. & Williams, N. H. 2015. Nectary structure and nectar in *Sobralia* and *Elleanthus* (Sobralieae: Orchidaceae). *Lankesteriana* 15(2): 113-127.
- 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.
- O'Brien S.P. y M.E. McCully. 1981. The study of plant structure. Principles and selected methods. Melbourne, Australia.
- Pacek, A. & Stpiczynska M. 2007. The structure of elaiophores in *Oncidium cheirophorum* Rchb. f. and *Ornithocephalus kruegeri* Rchb. f. (Orchidaceae). *Acta Agrobotánica* 60: 9-14.
- Pacek, A.; Stpiczynska, M.; Davies, K.L. & Szymczak, G. 2012. Floral elaiophore structure in four representatives of the *Ornithocephalus* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). *Annals of Botany* 110: 809–820.
- Pansarin, L. M.; De Morales Castro, M. & Sazima, M. 2009. Osmophore and elaiophores of *Grobya amherstiae* (Catasetinae, Orchidaceae) and their relation to pollination. *Botanical Journal of the Linnean Society* 159: 408–415.
- Pansarin E. M. & Pansarin L. M. 2010. Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated by oilcollecting bees. *Plant Biology* 13: 576-581.
- Pridgeon, A. M. (1986). Anatomical adaptations in Orchidaceae. *Lindleyana*, 1(2): 90-101.
- Rasmussen, F. N. and Johansen, B. 2006. Carpology of Orchids. *Selbyana* 27: 44-53.
- Reis, M. G.; Singer, R. B.; Goncalves, R. & Marsaioli, A. J. 2006. The chemical composition of *Phymatidium delicatulum* and *P. tillandsioides* (Orchidaceae) floral oils. *Natural Product Communications* 1: 757-761.
- Renner, S. S. & Schaefer, H. 2010. The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 365: 423-435.
- Sandoval, E.; Terrazas, T.; Vallejo, A. 2003. Análisis fenético de caracteres anatómico-foliares de *Trichocentrum* y géneros relacionados (Orchidaceae, Oncidiinae). *Lankesteriana* 7: 51-53.
- Sandoval-Zapotitla, E.; García-Cruz, J.; Terrazas, T. & Villaseñor, J. L. 2010. 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: 263-279.

- Schinini A., Waechter, J., Izaguirre, P. & Lehnebach, C. 2008. Orchidaceae. En F. O. Zuloaga, O. Morrone & M. J. Belgrano (eds.). Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 479-609.
- Singer, R. B. & Cocucci, A. A. 1999. Pollination mechanisms in four sympatric southern Brazilian Epidendroideae orchids. *Lindleyana* 14: 47-56.
- Sosa, V. M.; Chase, M. W.; Salazar, G.; Whitten, G. M. & Williams, N. H. 2001. Phylogenetic position of *Dignathe* (Orchidaceae: Oncidiinae): evidence from nuclear ITS ribosomal DNA sequences. *Lindleyana* 16: 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: 91-107.
- Stern, W. L.; Curry, K. J. & Pridgeon, A. M. 1987. Osmophores of *Stanhopea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 74(9): 1323-1331.
- Stevens, P.F. 2010. Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2009. <http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/>.
- Stpiczyńska, M.; Davies, K. L. & Gregg, A. 2003. Nectary structure and nectar secretion in *Maxillaria coccinea* (Jacq.) L.O. Williams ex Hodge (Orchidaceae). *Annals of Botany* 93: 87-95.
- Stpiczyńska, M.; Davies, K. L. & Gregg, A. 2005. Comparative account of nectary structure in *Hexisea imbricata* (Lindl.) Rchb.f. (Orchidaceae). *Annals of Botany* 95: 749-756.
- Stpiczynska. M.; Davies, K. L. & Gregg, A. 2007. Elaiophore diversity in three contrasting members of Oncidiinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 155: 135-148.
- Stpiczynska, M. & Davies, K. L. 2008. Elaiophore structure and oil secretion in flowers of *Oncidium trulliferum* Lindl. and *Ornithophora radicans* (Rchb.f.) Garay & Pabst (Oncidiinae: Orchidaceae). *Annals of Botany* 101: 375-384.
- Stpiczynska. M.; Davies, K. L.; Patek-Bieniek, A. & Kaminska, M. 2013. Comparative anatomy of the floral elaiophore in representatives of the newly re-circumscribed *Gomesa* and *Oncidium* clades (Orchidaceae: Oncidiinae). *Annals of Botany* 112: 839-854.
- Teixeira S, Borba EL, Semir J 2004 Lip anatomy and its implications for the pollination mechanisms of *Bulbophyllum* species (Orchidaceae). *Annals of Botany* 93: 499–505.
- Torreta, J. P.; Gomiz, N. E.; Aliscioni, S. S. & Bello, M. E. 2011. Biología reproductiva de *Gomesa bifolia* (Orchidaceae, Cymbidieae, Oncidiinae). *Darwiniana* 49(1): 16-24.
- Toscano de Brito, A. L. V., 2001. Systematic review of the *Ornithocephalus* group (Oncidiinae; Orchidaceae) with comments on *Hofmeisterella*. *Lindleyana* 16: 157-217.

- Vogel S., 1974. Ölblumen und ölsammelnde Bienen. Tropische und subtropische Pflanzenw. 7: 1-267.
- Vogel, S. 1990a. The role of scent glands in pollination: on the structure and function of osmophores. Amerind, New Delhi.
- Vogel, S. 1990b. History of the Malpighiaceae in the light of pollen ecology. Memoirs of the New York Botanical Garden 55: 130-142.
- Williams, N. H.; Chase, M. W.; Fulcher, T & Whitten, W. M. 2001. Molecular systematic of the Oncidiinae based on evidence from four DNA sequence regions: expanded circumscriptions of *Cyrtochilum*, *Erycina*, *Otoglossum*, *Trichocentrum*, and a new genus (Orchidaceae). Lindleyana 16: 113–139.

## ANEXO

### - *Clave para los géneros del Clado Trichocentrum* (adaptada de Cetzal-Ix et al. 2016)

**1.a.-** Hojas terrestes, carnosas coriáceas; pseudobulbos relativamente pequeños e inconspicuos, hojas unifaciales y presencia de inclusiones celulares en la epidermis

*Cohniella*

**1.b.-** Hojas conduplicadas, rigidamente carnosas o coriáceas; pseudobulbos pequeños e inconspicuos a relativamente largos y conspicuos; hojas bifaciales y ausencia de inclusiones celulares en la epidermis

**2.a.-** Plantas pequeñas (raramente exceden los 10 cm de longitud); inflorescencia más corta que las hojas, con pocas flores [1–3(–5)]; el labelo forma basalmente un conspicuo espolón

*Trichocentrum*

**2.b.-** Plantas usualmente más grandes (hojas mayores a 12 cm de longitud; aunque pueden ser más pequeñas en *Lophiaris pumila*); inflorescencia más larga que las hojas (más corta en *L. pumila*), con muchas flores [(5–)10–50(–150)] que abren de manera simultánea. Labelo carente de espolón.

**3.a.-** Hojas rigidamente y densamente carnosas-coriáceas; pseudobulbos grandes a conspicuos, de 2-4 cm de longitud; inflorescencia rígidamente erecta, pedunculo y raquis verde-azulado, recubierto con una fina película de cera. Plantas usualmente litofitas.

*Lophiarella*

**3.b.-** Hojas coriáceas o carnosas-coriáceas, raramente rígidas; pseudobulbos pequeños, raramente exceden 1,5 cm de longitud; inflorescencia comunmente ascendente o arqueadas a caídas, nunca rígidamente erectas. Plantas usualmente epifitas, raramente litofitas.

*Lophiaris*

### - *Clave para los complejos del género Cohniella* (adaptada de Cetzal-Ix et al. 2016)

**1.a.-** Flores mayores a 40 mm de diámetro; sepalos y petalos tan largos como el labelo; labelo blanco o amarillo con puntos rojizos; dientes del callo con superficie denticulada. Plantas de Bolivia, Paragua, norte de Argentina y sureste de Brasil.

*Cohniella jonesiana* complex

**1.b.-** Flores menores a 37 mm de diámetro; sepalos y petalos más cortos que el labelo; labelo amarillo o raramente blanco con puntos rojizos; dientes del callo con superficie suave. Plantas de México, América Central y Sudamérica, y Antillas Menores.

**2.a.-** Inflorescencia más corta que las hojas, raramente más largas; sepalos y petalos con apice agudo a subtruncado. Plantas de bosques lluviosos (raramente de bosques secos) de la vertiente del Golfo en México, hacia América Central y el norte de América del Sur

*C. ascendens* complex

**2.b.-** Inflorescencia más larga que las hojas, raramente más corta; sepalos y pétalos con apice agudo u oblicuo. Plantas de bosques secos principalmente (raramente de bosques húmedos) del norte de México y América Central y Sudamérica.

**3.a.-** Hojas de 2-17 mm (en material de herbario) o 6-25 mm de espesor (en plantas vivas, tanto cultivadas como salvajes), más anchas en la base; plataforma del callo subcuadrada. Plantas de México al suroeste de Costa Rica.

*C. brachyphylla* complex

**3.b.-** Hojas de 3-10 mm (en material de herbario) o 4-15 mm de espesor (en plantas vivas, tanto cultivadas como salvajes), gruesas; plataforma del callo rectangular o ausente. Plantas de Sudamérica.

**4.a.-** Base de la columna conspicua; callo 5-partido, con plataforma rectangular. Plantas del norte del Río Amazonas y de las Antillas Menores.

*C. cebolleta* complex

**4.a.-** Base de la columna reducida o ausente; callo 3-partido, con plataforma ausente. Plantas del sur del Río Amazonas.

*C. cepula* complex

**- Clave para especies de *Cohniella* de Sudamérica** (adaptada de Carnevalli *et al.* 2010)

**1.a.-** Inflorescencia usualmente más corta que las hojas subtendidas, raramente más largas. Flores que no exceden los 3,5 cm de diámetro. Alas de la columna ausentes (en *C. nuda*) o más largas que su ancho.

**2.a.-** Istmo del labelo mucho más largo que ancho; callo simple, compuesto por 1-3 quillas; alas de la columna ausentes, si se encuentran son más largas o tan largas como su ancho. Plantas del oeste y centro de Venezuela y de las laderas orientales de los Andes Colombianos

*C. nuda*

**2.b.-** Istmo del labelo tan largo como ancho; callo complejo, compuesto por 5 dientes o quillas; alas de la columna conspicuas, más largas que anchas. Plantas del valle de Cauca y la región de Chocó en Colombia

*C. teres*

**1.b.-** Inflorescencia usualmente más largas que las hojas subtendidas. Flores de diámetro variable; alas de la columna más amplias que su ancho, 2-lobadas.

**3a.-** Flores con diámetro que no excede los 3,5 cm; pétalos y sépalos mucho más cortos que el labelo; hojas erectas o péndulas; plantas de Sudamérica en su mayoría.

**4.a.-** Callo compuesto por 3 quillas, carente de accesorios a ambos lados del istmo; alas de la columna perpendiculares al eje de la columna; plantas pertenecientes al sur del curso del río Amazonas

*C. cepula*

**4.b.-** Callo compuesto por 3 quillas, provisto de accesorios a ambos lados del istmo del labelo; alas de la columna en el mismo plano que su eje; plantas de Venezuela, Colombia y Guayanas

*C. cebolleta*

**3b.-** Flores con diámetro de al menos 3,5cm; pétalos y sépalos tan largos como el labelo; hojas casi siempre pendientes (péndulas); plantas de Bolivia, Paraguay, Norte de Argentina y Sureste de Brasil.

**5.a.-** Labelo amarillo con puntos o manchas naranjas-marrones; porción distal de los lóbulos laterales del labelo largos y filiformes

*C. stacyi*

**5.b.-** Labelo blanco, raramente con unos pocos puntos rojizos a lo largo del borde proximal del lobulo central; porción distal de los lóbulos del labelo enteros o dentados.

**6.a.-** Sépalos y pétalos amarillo-verdoso pálido con unos pocos y ampliamente separados puntos marrones rojizos. Plantas de Bolivia, Paraguay, norte de Argentina y áreas vecinas a Brasil.

*C. jonesiana*

**6.b.-** Sépalos y pétalos amarillo-verdoso pálido, casi enteramente cubiertas por manchas confluentes de color rojo oscuro, que hacen que los segmentos de perianto sean casi unicolor. Plantas endémicas de Minas Gerais en el Sureste de Brasil

*C. binotii*