

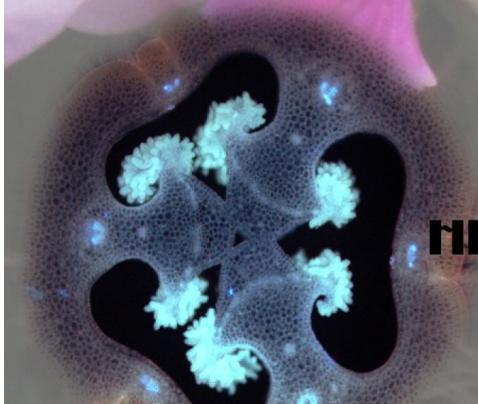


UNIVERSIDAD DE LEÓN

**Análisis palinológico y anatómico
del pistilo en la familia Orchidaceae**

HILDA ROCÍO MOSQUERA MOSQUERA

2012





MEMORIA DE TESIS DOCTORAL

Análisis palinológico y anatómico del pistilo en la familia Orchidaceae

**DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD Y GESTIÓN AMBIENTAL
(ÁREA DE BOTÁNICA)
UNIVERSIDAD DE LEÓN**

Hilda Rocio Mosquera Mosquera

León, Junio 2012

A Mis *Padres* Hernán y Rocío,
Por apoyarme y sobre todo..... Por confiar en mi

A mis *Hermanos y sobrinos*,
Porque la distancia no nos aleja, nos une más.

“La familia es.... La familia”

Agradecimientos

Al llegar a esta etapa final, quiero agradecer a todas aquellas personas o instituciones que han contribuido a lo largo este proceso.

En primera instancia quiero dar las gracias a mis directores Rosa M^a Valencia y Carmen Acedo, por sus enseñanzas, disponibilidad y acertada orientación, pero sobre todo por haber entendido y corregido pacientemente, los textos escritos en "español Mosquera", por todo ello mil gracias.

También deseo agradecer a la Universidad Tecnológica del Chocó (Colombia) y la Fundación Carolina (España) que financiaron mis estudios doctorales.

Al Dr. Eduardo Antonio García Vega, rector de la Universidad Tecnológica del Chocó, a mis profesores Miguel A. Medina Rivas y Tulia Rivas Lara por el apoyo institucional y moral brindado.

A Rafael Geovo y Thilma Arias, dueños de la colección de Orquídeas de Istmina, por el cariño y la colaboración incondicional. En su colección se gestó la idea de trabajar con esta hermosa familia.

A Roberto Angulo Blum, por poner a mi disposición su grandiosa colección de orquídeas y por su valiosa gestión para conseguir financiamiento para la investigación.

A la Sociedad Colombiana de Orquideología, por la financiación parcial de esta tesis doctoral.

También quiero agradecer a los directores y conservadores de los herbarios CAUP, CHOCO, COL, HPUJ, HUA, HUCSS, JAUM, K, LEB, MA y MEDEL, por proporcionar parte de las muestras utilizadas en esta investigación.

A Paulino y Antonio, funcionarios del servicio de Microscopía de la Universidad de León, por ayudarme en el procesamiento de las muestras y enseñarme el manejo de los equipos de microscopía.

A Raquel y Manu, por la amistad y por las enseñanzas en el manejo del Photoshop.

A mis amigos que siempre han estado ahí: Yaneth, Diana, Ketty, Cristina, Paola, Yessika y Camilo, mil gracias por todo el apoyo.

A todos los que hacen parte del Área de Botánica (Universidad de León, España), porque siempre me he sentido como en casa, esto hizo más llevadero el estar lejos de la familia, por eso regresaba tan pronto. En especial quiero agradecer al grupo de palinología Delia, Ana y Paolo por todo el cariño que me han brindado y por facilitar todo cuanto yo requería. A Ángel Penas por animarme día a día a culminar el documento.

Quiero hacer una especial mención a Felix Llamas, por su asesoría y colaboración constante. A Arsenio y a Pedro, por su amabilidad conmigo.

Al grupo joven del departamento Alicia, David, Linda, María, Noe, Estrella, Rosa, Cristina, Raquel, Yago y Fermín. Por los momentos compartidos.

A Zulima y Carmen R. (la casi rubia), por su amistad, les tengo mucho cariño, un poco menos a esta última. A mi amigo Rafa, muchas gracias por todo. Siempre las orquídeas van a ser más espectaculares que las Asteráceas y el Barça mejor que el Madrid.

A Cristian, gracias por estar aquí y ahora *"el destino es caprichoso y permite que se den las cosas en el momento justo"*.

A mi familia, porque de una u otra forma me han apoyado en la distancia. Agradezco especialmente a mi sobrino Francisco por el diseño de la portada.

Y por último, aunque no menos importante, agradezco a Felix, Daniel y Ciro porque con ellos paso momentos agradables en casa.

Y a todas aquellas personas que de un modo u otro han contribuido y han hecho más fácil la realización de esta Memorial Doctoral.

Este Doctorado en Biología Animal y Vegetal, ha sido financiado a través de la Beca otorgada por la Universidad Tecnológica del Chocó (Colombia) y la Fundación Carolina (España).



Universidad Tecnológica del Chocó
"Diego Luís Córdoba"



ÍNDICE

1. Introducción	9
1.1 Generalidades de la familia Orchidaceae	11
1.2 Clasificaciones de Orchidaceae	11
1.3 Distribución geográfica.....	16
1.4 Hábitos de crecimiento.....	17
1.5 Estructuras reproductoras	19
1.5.1 Androceo	22
1.5.2 Gineceo.....	30
1.5.3 Columna.....	37
2. Justificación y objetivos	39
3. Material y métodos	43
3.1 Material estudiado	45
3.2 Nomenclatura y clasificación adoptada	46
3.3 Terminología descriptiva	54
3.4 Métodos palinológicos	54
3.4.1 Análisis en el estereomicroscopio.....	54
3.4.2 Análisis en el microscopio electrónico de barrido (MEB)	55
3.4.3 Análisis en los microscopios de campo claro y de fluorescencia..	56
3.5 Métodos anatómicos	58
3.5.1 Elaboración de las preparaciones microscópicas.....	58
3.5.2 Análisis en los microscopios de campo claro y de fluorescencia..	59
3.6 Caracteres seleccionados	59
3.7 Mediciones del polinario y pistilo	62
3.8 Análisis con datos moleculares.....	62
3.9 Análisis filogenético	64
3.10 Presentación de los resultados y discusión	65
4. Resultados y discusión	67
4.1 Comparación de los caracteres de Orchidaceae con las restantes familias de Asparagales	69
4.2 Estudio del polen y pistilo de las subfamilias Apostasioideae, Vanilloideae y Cyripedioideae.....	75
4.2.1 Caracterización palinológica y anatómica	79
4.2.2 Análisis cladístico.....	89
4.2.3 Discusión.....	93

4.3 Estructura del polinario y caracteres de la exina de taxones de la tribu Cranichideae	105
4.3.1 Polinario	107
4.3.2 Ornamentación de la exina	112
4.3.3 Discusión.....	113
4.4. Epidendroideae	115
4.4.1 Morfología del polinario de la subtribu Laeliinae (Epidendreae) ..	115
4.4.1.1 Estructura del polinario.....	118
4.4.1.2 Análisis cladístico	129
4.4.1.3 Discusión	130
4.4.2 Estructura del polinario y del pistilo	139
4.4.2.1 Variaciones estructurales del polinario	141
4.4.2.2 Variaciones estructurales del pistilo	149
4.4.2.3 Análisis cladístico	155
4.4.2.4 Discusión	162
4.5. Discusión general: diversidad del polen, polinario y pistilo en Orchidaceae y su importancia en la clasificación	183
4.5.1 Características del polen y polinario	185
4.5.2 Características del pistilo	199
4.5.3. Discusión.....	215
5. Conclusiones.....	227
6. Bibliografía	231



Introducción

1.1 Generalidades de la familia Orchidaceae

Orchidaceae es la familia más diversa de todas las angiospermas, se ha estimado que posee entre 24.000 – 26.000 especies (Dressler 1993; Fay & Chase 2009; Phillips et al. 2011). Pertenece al orden Asparagales dentro del grupo “*lower Asparagales*” caracterizadas por tener en su mayoría el ovario ínfero y una microesporogénesis simultánea (Kocyan & Endress 2001).

Algunos de los caracteres que distinguen a la familia Orchidaceae del resto de Asparagales son: 1) presencia de un ginostemo; 2) flores zigomórficas y 3) resupinación de las flores por la torsión del pedicelo y/o ovario (Rudall & Bateman 2002). Esta familia de plantas es la que ofrece las características más avanzadas desde el punto de vista evolutivo, motivo por el cual se encuentra en pleno proceso de diversificación, circunstancia que se ve reflejada en la abundancia y diversidad de especies.

1.2 Clasificaciones de Orchidaceae

La familia Orchidaceae ha sido estudiada por ilustres botánicos durante más de siglo y medio (Lindley 1840; Bentham 1881; Dressler & Dodson 1960; Vermeulen 1966; Garay 1972; Dressler 1981, 1993; Chen 1982; Burns-Balogh & Funk 1986; Szlachetko 1995; Cameron et al. 1999; Chase et al. 2003; Freudenstein et al. 2004), quienes a lo largo del tiempo han establecido numerosos y controvertidos sistemas de clasificación (Tabla 1).

Las primeras clasificaciones fueron establecidas por el número de estambres funcionales agrupándolas en monandras y no monandras; en el grupo de las monandras se incluyeron a las

subfamilias *Spiranthoideae*, *Orchidoideae*, *Epidendroideae*, *Vandoideae* y en el segundo grupo con más de una antera se ubicaron a *Apostasioideae* y *Cypripedioideae* (Swart 1880; Pfitzer 1889; Schlechter 1926), este último grupo luego fue separado en orquídeas diandras y triandras (Dressler & Dodson 1960; Burns-Balogh & Funk 1986).

En las clasificaciones de esta familia también se usaron caracteres vegetativos, florales y de tipo de hábito (Garay 1972; Dressler 1981, 1993; Burns-Balogh & Funk 1986; Szlachetko 1995), que posteriormente fueron empleados para análisis fenéticos (Rutkowski 2000) y cladísticos (Freudenstein & Rasmussen 1999).

El resumen de la historia de la clasificación de *Orchidaceae* (Tabla 1), permite deducir que es a partir de Garay (1972) cuando empieza la consolidación de la estructura sistemática de la familia. En este citado sistema de clasificación se reconocen cuatro de las cinco subfamilias (*Apostasioideae*, *Cypripedioideae*, *Orchidoideae* y *Epidendroideae*) que forman parte de la clasificación vigente de Chase et al. (2003), además de las anteriores se incluye a *Neottioideae* de la que trataremos más adelante.

Nueve años más tarde Dressler (1981) reconoce las cuatro subfamilias que resaltamos en Garay (1972), suprime la subfamilia *Neottioideae* y traslada las subtribus que la componían a *Orchidoideae* y *Spiranthoideae*, esta última junto con *Vandoideae* son las dos nuevas subfamilias que incluye en su sistema de clasificación.

La clasificación de Chen (1982), sigue la tendencia de Garay (1972) reconociendo las subfamilias *Apostasioideae*, *Cypripedioideae*, *Orchidoideae* y *Neottioideae*, pero sin embargo, elimina a *Epidendroideae* y reubica sus integrantes en la subfamilia *Neottioideae*.

Burns-Balog & Funk (1986) reconocen en total 6 subfamilias, las mismas de Garay (1972a) más Spiranthoideae propuesta inicialmente por Dressler (1981).

La clasificación de Dressler (1993) se ha convertido en una de las más referenciadas en los estudios de la familia Orchidaceae, el cambio más notorio respecto a la clasificación de 1981, es la eliminación de la subfamilia Vandoideae, convirtiéndola en la tribu Vandae situada dentro de Epidendroideae.

Probablemente la clasificación con mayor número de subfamilias de todas las realizadas en Orchidaceae es la propuesta por Szlachetko (1995) que reconoce a Apostasioideae, Vanilloideae, Cypridioideae, Spiranthoideae, Thelymithroideae, Orchidoideae, Epidendroideae y Vandoideae.

El mayor aporte del sistema de clasificación de Szlachetko (1995) es el reconocimiento de la subfamilia Vanilloideae, que antes había sido tratada como la tribu Vanilleae dentro de Epidendroideae (Vermeulen 1966; Dressler 1981; Burns-Balogh & Funk 1986).

Casi con la entrada del nuevo siglo se apuesta por las clasificaciones más estables basadas en datos moleculares (*atpB*, *rbcl*, *matK*, *psaB*, *trnL-F*, 26S rADN y *nad1*). Estos análisis han servido para proponer una clasificación unánime compuesta por las subfamilias Apostasioideae, Vanilloideae, Cypridioideae, Orchidoideae y Epidendroideae (Cameron et al. 1999; Chase et al. 2003; Freudenstein et al. 2004).

La relación evolutiva entre las subfamilias es la siguiente: [Apostasioideae [Vanilloideae [Cypridioideae [Epidendroideae, Orchidoideae]]]] (Chase et al. 2003). Este mismo autor indica que Apostasioideae es hermana del resto de los miembros de

Orchidaceae, seguida sucesivamente por Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae y Epidendroideae.

La clasificación que actualmente está vigente contiene 5 subfamilias, 19 tribus, 43 subtribus, 800 géneros y 24.910 especies (Chase et al. 2003). La subfamilia más numerosa de todas es Epidendroideae con 13 tribus, 26 subtribus (tres de ellas aún no tienen una ubicación bien definida en la subfamilia), 650 géneros y 19.750 especies (Chase et al. 2003; Pridgeon et al. 2009). La tribu más representativa de Epidendroideae es Epidendreae con 4 subtribus y 5.870 especies, seguida por Cymbidieae integrada por 10 subtribus y 3.814 especies. Por último, está la tribu Vandaeae con 4 tribus y 2.341 especies (Chase et al. 2003).

La segunda subfamilia más numerosa es Orchidoideae, que contiene 4 tribus, 17 subtribus y 4.704 especies (Chase et al. 2003).

Tabla 1. Resumen de la historia de la clasificación en la familia Orchidaceae.

Autores	Apostasioideae	Vanilloideae	Cypripedioideae	Spiranθοideae	Neottioideae	Orchidoideae	Epidendroideae	Vandoideae
Lindley (1840)	-	-	Cypripedioideae	-	Neottioideae	Ophreae	Arethuseae, Malaxeeae Epidendreae, Vandeae	-
Bentham (1881)	-	-	Cypripedioideae	-	Neottioideae	Ophrydeae	Epidendreae, Vandeae	-
Dressler & Dodson (1960)	-	-	Cypripedioideae, Apostasioideae Cypripedioideae	-	-	Orchidoideae Neottioideae, Orchidoideae Epidendreae	-	-
Vermeulen (1966)	Apostasioideae	-	Cypripedioideae	-	Neottioideae	Orchidoideae Orchidoideae	Epidendroideae Epidendranthae Neottioideae Arethuseae, Vanilleae Epidendreae, Vandeae	-
Garay (1972a)	Apostasioideae	-	Cypripedioideae	-	Neottioideae Epigoneae, Neottioideae Cranichideae	Orchidoideae Orchidoideae, Diseae Disperideae	Epidendroideae Epidendreae Vandeae	-
Dressler (1981)	Apostasioideae	-	Cypripedioideae	Spiranθοideae Erythrodeae Cranichideae	-	Orchidoideae Neottioideae, Diurideae Orchidoideae, Diseae Tribus anómalas: Triphoreae Wulfschlaegeliidae	Epidendroideae, Epigogiaeae, Vanilleae, Gastrodieae, Arethuseae, Coelogyneae, Malaxideae, Cryptarrheneae Calypsoeae, Epidendreae	Vandoideae Polystachyeae Vandeae Maxillarieae Cymbidieae
Chen (1982)	Apostasioideae Apostasioideae	-	Cypripedioideae Cypripedioideae	-	Neottioideae, Neottioideae Epidendreae	Orchidoideae Orchidoideae	-	-
Burns-Balogh & Funk (1986)	Apostasioideae Neuwiedioideae	-	Cypripedioideae	Spiranθοideae Diurideae Cranichideae Prasophylleae	Neottioideae, Thelymitreae Geoblasteae, Pterostylideae Neottioideae	Orchidoideae, Orchidoideae Satyrieae, Diseae	Epidendroideae, Gastrodieae, Arethuseae, Triphoreae, Vanilleae, Epidendreae, Malaxideae Dendrobieae, Vandeae Coelogyneae, Maxillarieae	-
Dressler (1993)	Apostasioideae	-	Cypripedioideae	Spiranθοideae Diceratosteleeae Tropidieae Cranichideae	-	Orchidoideae Diurideae, Orchidoideae, Diseae	Epidendroideae Neottioideae, Palmorchideae Triphoreae, Gastrodieae Malaxideae, Calypsoeae Cymbidieae, Maxillarieae Arethuseae, Epidendreae Epidendreae II, Vandeae Podochileae, Dendrobieae	-
Szlachetko (1995)	Apostasioideae Apostasioideae Apostasioideae	Vanilloideae Arethuseae, Triphoreae Vanilleae, Nervilieae Gastrodieae, Epigogiaeae	Cypripedioideae Cypripedioideae Cypripedioideae	Spiranθοideae Goodyereae Spirantheae	Thelymitroideae Telymitreae, Neottioideae Neottioideae	Orchidoideae Orchidoideae	Epidendroideae, Tropidioideae Podochileae, Malaxideae	Vandoideae
Cameron et al. (1999)	Apostasioideae	Vanilloideae	Cypripedioideae	-	-	Orchidoideae	Epidendroideae	-
Chase et al. (2003)	Apostasioideae	Vanilloideae	Cypripedioideae	-	-	Orchidoideae Cranichideae Diurideae Codorchideae Orchidoideae	Epidendroideae Neottioideae, Sobralieae Tropidieae, Triphoreae Nervilieae, Gastrodieae Calypsoae, Epidendreae Podochileae, Arethuseae Malaxideae, Cymbidieae Vandeae	-
Freudenstein et al. (2004)	Apostasioideae	Vanilloideae	Cypripedioideae	-	-	Orchidoideae	Epidendroideae	-

1.3 Distribución geográfica

La familia Orchidaceae es cosmopolita (se distribuye en todos los continentes), sin embargo es más diversa y abundante en los trópicos (Goldberg 1989; Swarts & Dixon 2009).

Apostasioideae es un grupo que está ampliamente distribuido en el trópico del viejo mundo desde el Himalaya y Sri Lanka hasta el norte de Queensland en Australia (Stern et al. 1993; Kocyan & Endress 2001).

Vanilloideae es una subfamilia pantropical, presente en Asia, Australia y Norte América (Chase et al. 2003; Pansarin & de Barros 2008).

La subfamilia Cyripedioideae estuvo ampliamente distribuida en Norteamérica y Asia (Atwood 1984; Albert 1994), pero la separación de los continentes fragmentó su distribución original, a tal punto que la ubicación actual de la familia es en gran parte relíctica. Ejemplo de ello ocurre en el género *Mexipedium*, que está restringido solo al estado de Oaxaca en México (Cox et al. 1997).

La subfamilia Orchidoideae, es propia de zonas templadas de Norteamérica, Eurasia, Suráfrica y Australia (Rasmussen 1985; Harder & Johnson 2008).

Por último, Epidendroideae, que es la subfamilia más grande, está bien representada en los trópicos y subtrópicos tanto del viejo como del nuevo mundo. Aunque también se extiende desde el círculo polar ártico hasta Argentina, Tasmania y el sur de Nueva Zelanda (Pridgeon 2009).

Los patrones biogeográficos y filogenéticos de Orchidaceae son coherentes con la teoría de que la familia estuvo ampliamente

distribuida antes de la separación de Pangea (Chase 2001). Probablemente las orquídeas se originaron mucho antes de que se produjera la separación de los continentes, se especula que el trópico asiático es el lugar de origen de las orquídeas, precisamente es la región donde está restringida la subfamilia Apostasioideae considerada el grupo más primitivo de la familia (Chase 2001; Chase et al. 2003).

1.4 Hábitos de crecimiento

Las orquídeas son plantas herbáceas, perennes, terrestres, rupícolas o epífitas, raramente saprófitas (Dressler & Chase 1995).

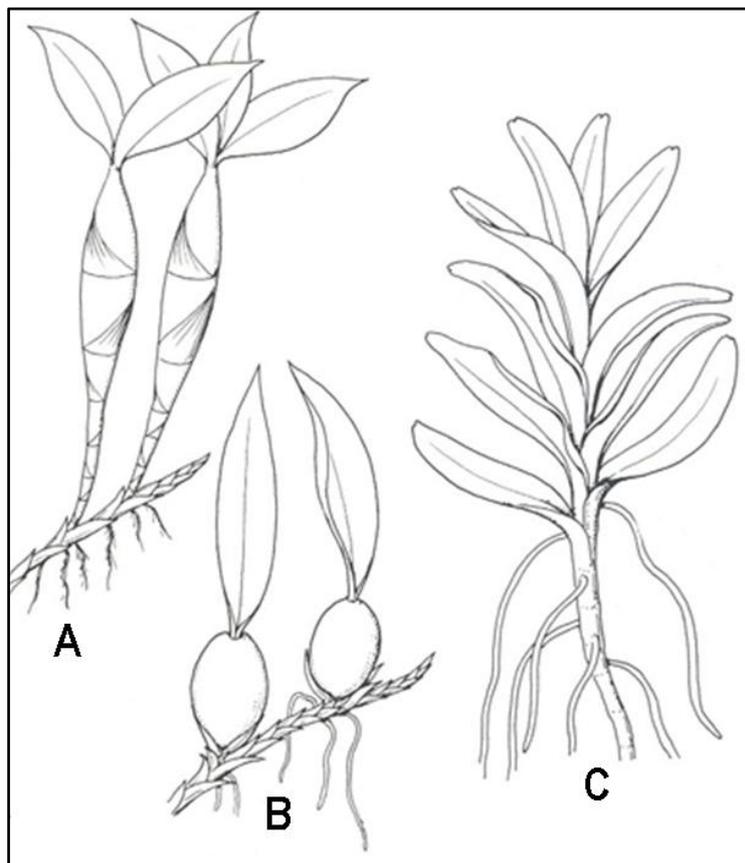


Figura 1. Imágenes de los hábitos de crecimiento en la familia Orchidaceae: A y B. Simpodial, C. Monopodial.

La familia presenta dos tipos de hábito de crecimiento: Monopodial en el cual el eje tiene un potencial de crecimiento

ilimitado y simpodial, en este los brotes se encuentran agrupados o repartidos a lo largo del rizoma y los nuevos brotes pueden surgir de cualquier parte de los brotes mayores en donde hay yema axilar (Dressler 1981). Tanto las formas de crecimiento monopodial como simpodial (Fig. 1) pueden ser erectas, rastreras o colgantes.

En la familia, dos tercios de las especies son epífitas y litófitas, una tercera parte son terrestres (Swartz & Dixon 2009). En esta familia los géneros de hábito epifito, son más ricos en número de especies en comparación con los de hábito terrestre. Probablemente el epifitismo estimuló el aumento de la diversidad de taxones que hoy existen en la familia Orchidaceae (Gravendeel et al. 2004).

Las subfamilias Apostasioideae, Cyripedioideae y Orchidoideae (Fig. 2A), son predominantemente terrestres (Tremblay 1991; Gravendeel et al. 2004), Vanilloideae son arbustos o trepadoras (Fig. 2B), algunas saprófitas y las especies de Epidendroideae (Fig. 2C), son en su mayoría epífitas (Dressler 1981; Gravendeel et al. 2004).



Figura 2. Imágenes de los hábitos de crecimiento en algunas subfamilias. A. Terrestre: *Dactylorhiza sambuccina* (Orchidoideae), B. Trepadora: *Vanilla pilifera* (Vanilloideae), C. Epífita: *Odontoglossum gloriosum* (Epidendroideae).

1.5 Estructuras reproductoras

La familia Orchidaceae se caracteriza por tener flores hermafroditas, zigomórficas o con simetría bilateral (Fig. 3). El perianto es diclamideo, conformado por dos verticilos de tres elementos cada uno, el externo está formado por tres sépalos (que generalmente son petaloideos) y el verticilo interno por tres pétalos, dos laterales y un pétalo medio modificado que es llamado labelo. En la mayoría de las especies, el labelo diverge considerablemente en tamaño, forma, color y textura (Rasmussen 1985; Dressler 1993; Duran et al. 2006, Bradshaw et al. 2010).

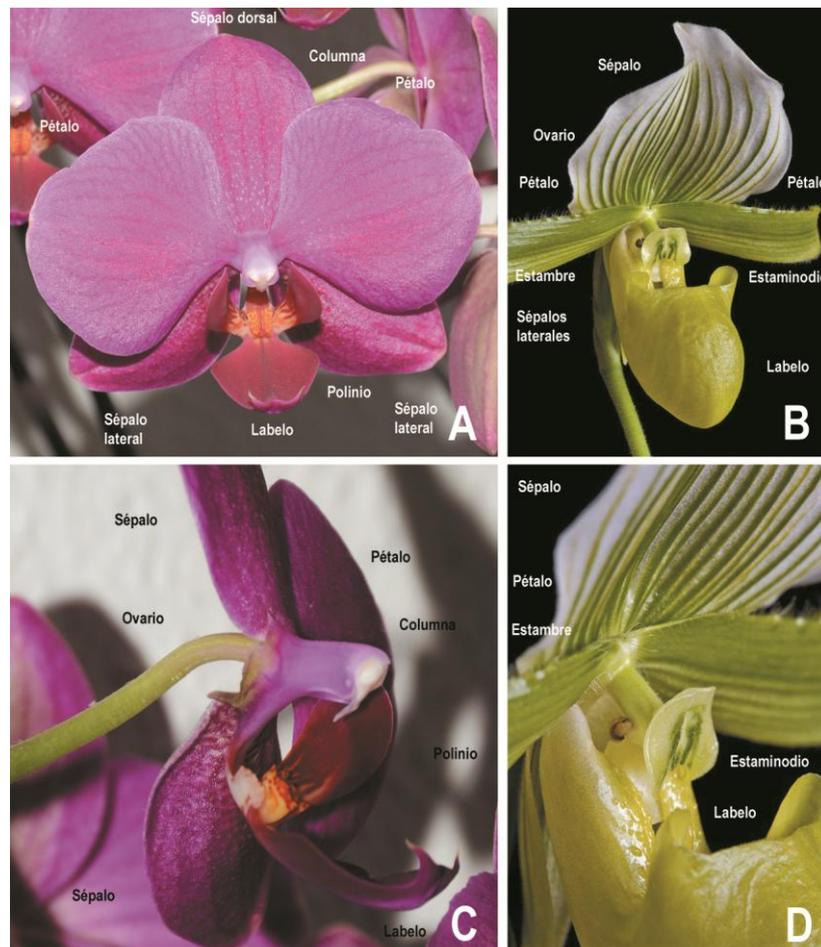


Figura 3. Imágenes de las partes florales de Orchidaceae: A. Vista frontal de La flor de *Phalaenopsis* sp. (Epidendroideae), B. Vista frontal de La flor de *Paphiopedilum* sp. (Orchidoideae). (Fuente B, D: Johnston 2012).

En las orquídeas, la flor usualmente sufre un giro en el transcurso de su desarrollo, el cual es conocido como resupinación (Fig. 4), así el pedicelo y/o ovario sufre una torsión de 180° cambiando la posición del labelo que originalmente ubicado en la parte superior, cambia a la parte inferior de la flor (Dressler 1993, Rudall & Bateman 2002). Esta posición es definitivamente orientada con respecto a la gravedad y se produce independientemente de la posición de la planta o del raquis; de igual forma la mayoría de las plantas que no son resupinadas también orientan sus flores con relación a la gravedad a fin de mantener la postura normal de la familia (Dressler 1981). La ubicación del labelo en posición opuesta a la antera fértil sugiere que su gran elaboración morfológica es el resultado de la adaptación a polinizadores específicos (Mondragón-Palomino & Theißen 2009).

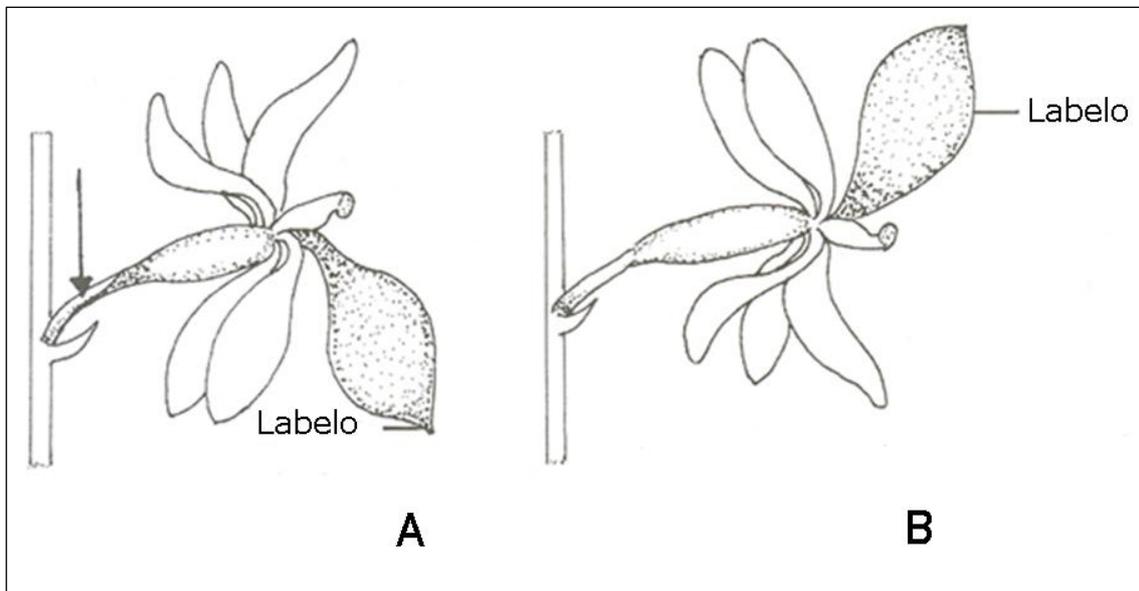


Figura 4. Tipos de orientación de las flores: A. Flor resupinada, B. Flor no resupinada. (Fuente: Hickey & King, 2000).

Las inflorescencias (Fig. 5), en esta familia son normalmente en espigas, racimos o panículas (Goldberg 1989). Aunque hay orquídeas

con flores solitarias protegidas por una bráctea generalmente inconspicua como en el caso de *Lycaste*, *Maxillaria*, *Dichaea*, *Chondrorhyncha* o pueden ser también alargadas y de colores llamativos como en *Cyrtopodium* o *Lockhartia* (Dressler 1981). Las flores a menudo se disponen en espiral sobre el raquis; aunque la posición de las inflorescencias es claramente determinada como terminales o laterales, en este caso la condición primitiva es la terminal (Freudenstein & Rasmussen 1999). En Orchidaceae las inflorescencias cimosas son inusuales en la familia, solo han sido observadas en el género *Lockhartia* (Dressler 1981).

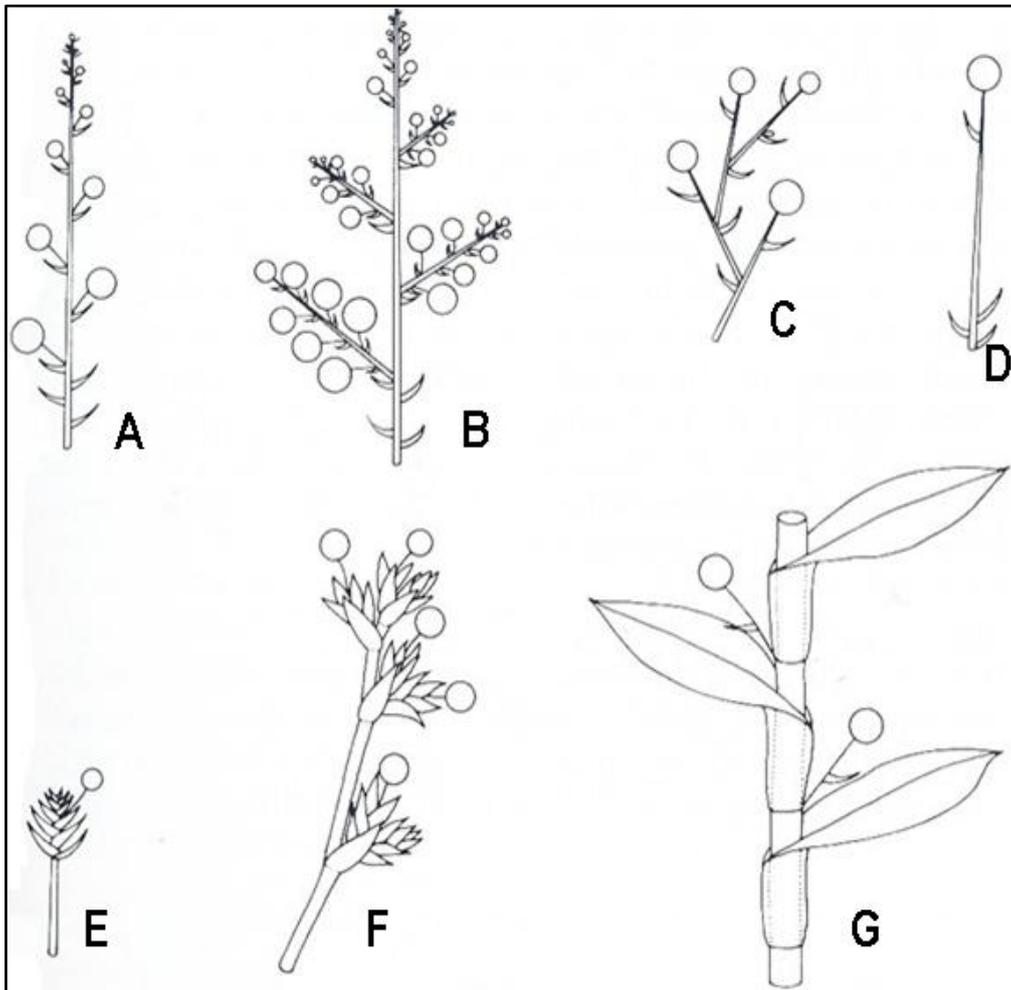


Figura 5. Inflorescencias de orquídeas: A. Racimo, B. Panícula, C. Cima, D. Flor solitaria, E. Inflorescencia condensada, en la cual las flores son producidas de una en una, F. Inflorescencia en la cual cada flor está rodeada de un grupo de brácteas, G. Inflorescencia opuesta a la hoja. (Fuente: Dressler, 1981).

1.5.1 Androceo

En Orchidaceae el androceo está compuesto tanto por estambres fértiles como por estaminodios. En esta familia se han determinado tres importantes tendencias evolutivas de los estambres:

- 1) Fusión progresiva del filamento y la antera con el gineceo hasta parecer casi completamente unidos,
- 2) La reducción en el número de estambres fértiles de tres a uno,
- 3) Cambio gradual en la inserción del estambre, iniciando por debajo del estigma hasta insertarse en el ápice del mismo (Burns-Balogh & Bernhardt 1985).

Las orquídeas tienen uno, dos o tres estambres fértiles abaxiales (Fig. 6A-D), invariablemente fusionados al estilo en menor o mayor grado (Rudall & Bateman 2002). La subfamilia Apostasioideae tiene tres estambres fértiles en *Neuwiedia* o dos en *Apostasia*. Ambos géneros carecen de estaminodios.

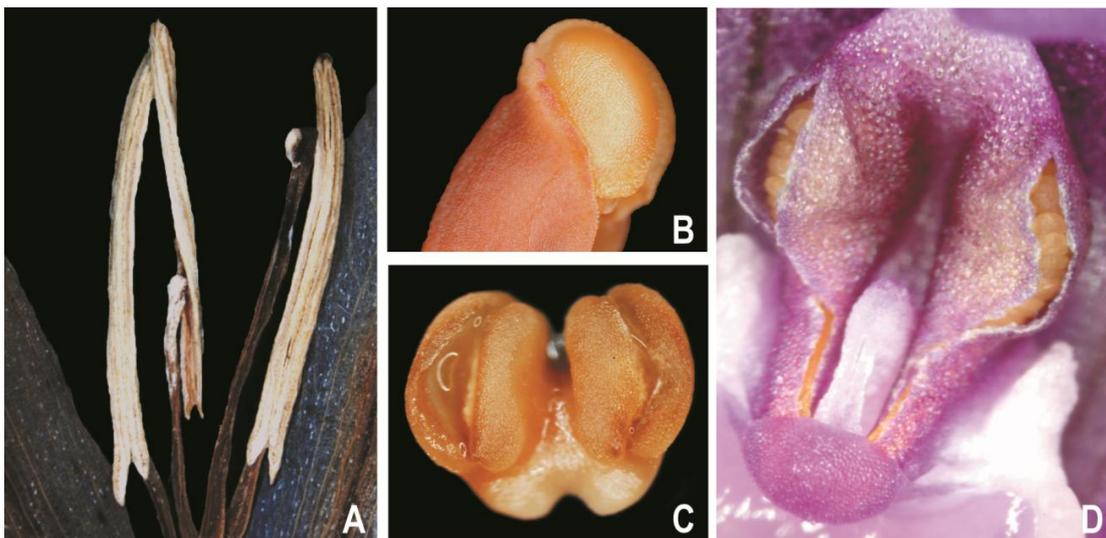


Figura 6. Imágenes de anteras de Orchidaceae: A. *Neuwiedia veratrifolia* (Apostasioideae), B. *Trigonidium egertonianum* (Epidendroideae), C. *Phragmipedium longifolium* (Cypripedioideae), D. *Orchis morio* (Orchidoideae).

Cypripedioideae se caracteriza por tener también dos estambres fértiles y un prominente estaminodio en la zona media y por último Vanilloideae, Orchidoideae y Epidendroideae solamente tienen un estambre fértil y un estaminodio (Johnson & Edward 2000)

La reducción en el número de estambres fértiles hasta llegar a uno, varía de acuerdo al grado de fusión de los estambres y el pistilo en lo que se conoce como columna (Freudenstein & Rasmussen 1999). Esta reducción también ha servido para explicar la tendencia en la agregación del polen en Orchidaceae, pasando de polen aislado, considerado estado primitivo, a la conformación de masas de polen y complejos polinarios considerados estados avanzados (Johnson & Edward 2000).

La posición de la antera ha sido un carácter tradicionalmente importante a nivel sistemático. Se han reconocido tres estados de este carácter: erecta, reflexa o incumbente (Freudenstein et al. 2002). Las subfamilias Apostasioideae, Cypripedioideae y la mayoría de taxones de Orchidoideae tienen las anteras erectas (Burns-Balogh & Bernhardt 1985; Kocyan & Endress 2001), las anteras reflexas solo son conocidas en algunos taxones de la tribu Diseae (Orchidoideae) (Dressler 1993); mientras que en la mayoría de los miembros de Epidendroideae (Fig. 6B) y Vanilloideae las anteras son incumbentes (Freudenstein & Rasmussen 1999; Freudenstein et al. 2002).

Los tipos de dehiscencia de la antera en esta familia son: por hendidura, en este caso el polen es liberado sin que se desprendan las paredes de la antera, esta dehiscencia la presentan los miembros de Apostasioideae, Cypripedioideae y Orchidoideae (Fig. 6D) y operculada, a veces llamadas anteras con "tapas o capuchas" de fácil remoción (Fig. 6B), para permitir la liberación del polinio como ocurre

en Vanilloideae y Epidendroideae (Freudenstein & Rasmussen 1999; Peter & Johnson 2006).

Las anteras de las orquídeas pueden ser latrorsas (Fig. 6C-D) o introrsas (Fig. 6A), esta característica ha sido estrechamente relacionada con la posición que adoptan los polinios dentro de la antera. En teoría los polinios superpuestos se producen en anteras latrorsas, mientras que los yuxtapuestos están asociados a las anteras introrsas (Freudenstein & Rasmussen 1996).

Otro aspecto importante es la orientación de los septos en la antera, que influye principalmente en la morfología y número de polinios. Se distinguen dos tipos: el septo longitudinal (Fig. 7A-C), con posición paralela al eje de la antera y el septo transversal (Fig. 7 C), ubicado perpendicularmente al eje de la antera. Este carácter ha sido ampliamente discutido en Epidendroideae, porque es la subfamilia con mayor variabilidad en el número de polinios (Freudenstein & Rasmussen 1996).



Figura 7. Imágenes de los septos longitudinal y transversal: A. *Aceras anthropophorum* (Orchidoideae) con dos lóculos, B. *Prosthechea cochleata* (Epidendroideae) con cuatro lóculos, C. *Schomburgkia splendida* (Epidendroideae) con ocho lóculos.

En las orquídeas existen anteras con 2, 4, 6 u 8 lóculos (Fig. 7), que albergan el polen libre o en polinios (Dressler 1993; Stern et al. 1993).

En orquídeas el **polinario** es la unidad de dispersión predominante y son dispersados como una unidad por el polinizador (Johnson & Edwards 2000). El polinario está compuesto por uno o más polinios, junto a las estructuras accesorias: caudícula, estípite y viscidio (Fig. 8),

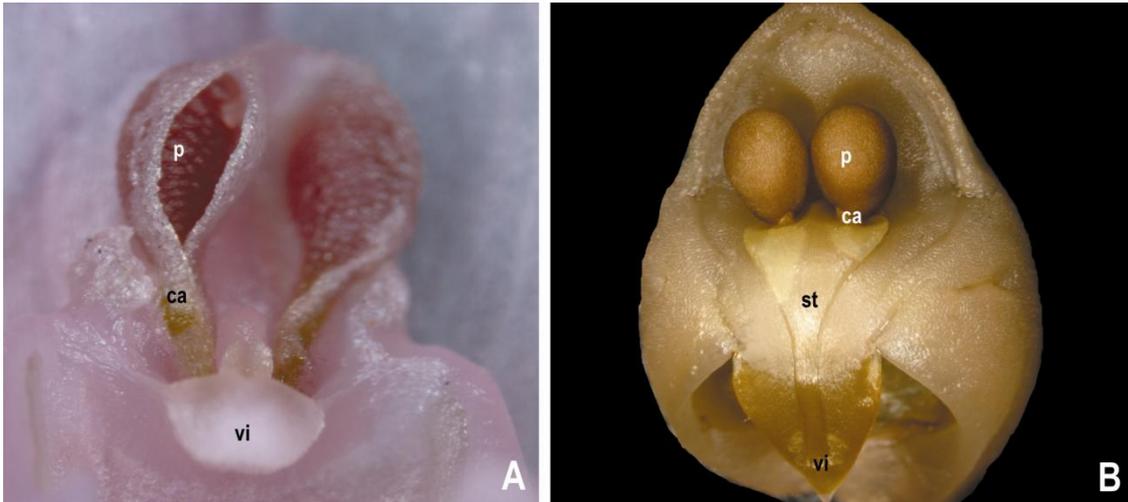


Figura 8. Imágenes del polinario dentro de la antera: A. Polinarios con polinios séctiles (p), caudícula frenicular (ca) y viscidio (vi) de *Orchis langei* (Orchidoideae), B. Polinarios con polinios compactos (p), caudícula frenicular (ca), estípite (st) y viscidio (vi) de *Brachycladium parviflorum* (Epidendroideae).

La enorme diversidad del polinario refleja el papel fundamental de esta estructura en los complejos mecanismos de polinización de orquídeas y ha demostrado ser útil como fuente de caracteres para la taxonomía (Johnson & Edwards 2000; Pacini & Hesse 2002). A continuación se hace una breve descripción de las partes del polinario:

➤ Polinios

El término polinios se refiere a una masa de polen más o menos compacta y coherente, presente en la mayoría de las orquídeas (Johnson & Edwards 2000).

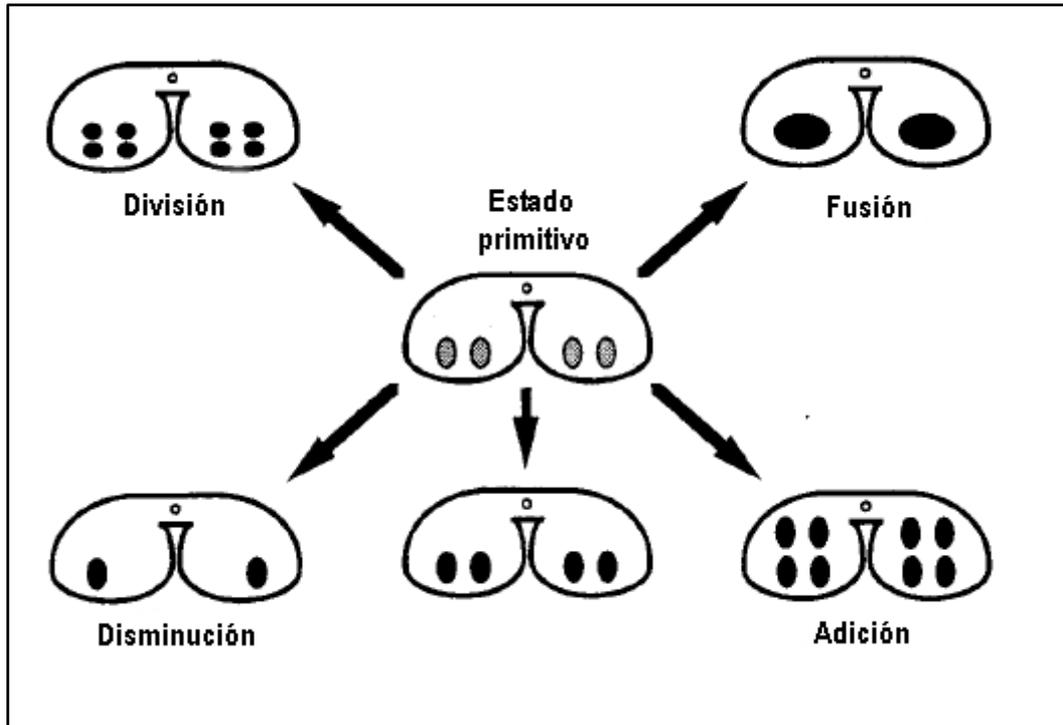


Figura 9. Imágenes sobre un hipotético patrón de desarrollo de los polinios en Orchidaceae. (Fuente: Freudenstein & Rasmussen 1996).

El número de polinios por antera puede ser dos, cuatro, seis, u ocho, siendo usualmente uniforme dentro del género y probablemente también dentro de las subtribus y tribus (Freudenstein & Rasmussen 1996). Cuatro polinios es el número básico en la familia (Singer et al. 2008), considerado también el estado plesiomórfico de este carácter. La teoría propuesta por Freudenstein & Rasmussen (1996) señala que la existencia de dos polinios es el resultado de la fusión o disminución de los cuatro y la formación de los ocho polinios puede producirse por la división transversal o longitudinal de los sacos polínicos que contenían cuatro polinios o por adición (Fig. 9).

En Orchidaceae los polinios pueden ser enteros o bipartidos en cuyo caso presentan sutura. Los polinios enteros son los más comunes, mientras que los polinios bipartidos que están presentes en la mayoría de Orchidoideae y algunas Epidendroideae, se producen por la adhesión de los contenidos de dos lóculos en una etapa tardía

de la ontogenia. Este suceso ha sido observado en *Gomphichis macbridei* (con polinios granulares), en donde el septo central de cada teca se retrae y por consiguiente las tétrades de lóculos adyacentes entran en contacto, formando así polinios bipartidos con sutura (Freudenstein & Rasmussen 1996; Johnson & Edwards 2000). Sin embargo, los polinios bipartidos observados en Orchidoideae tienen formas diferentes a los observados en Epidendroideae (por ejemplo en *Stelis*), por lo que se recomienda considerarlos como estados distintos (Freudenstein & Rasmussen 1996).

No todos los polinios presentan la misma textura, por ello Pacini & Hesse (2002) establecieron algunos tipos de dispersión del polen en Orchidaceae tomando como referencia la textura:

- 1) Mónade con manto polínico.
- 2) Mónades agrupadas por elastoviscina, en algunos casos formando filamentos y conexiones pegajosas entre los granos de polen.
- 3) Tétrades aisladas.
- 4) Agregados de tétrades.
- 5) Grupos de tétrades unidos externamente por una capa delgada de calosa (polinios tipo A).
- 6) Tétrades agrupadas por elastoviscina (polinios tipo B). La elastoviscina es una sustancia viscosa, pegajosa, elástica y transparente que forma una matriz que une los granos de polen dentro del polinio.
- 7) Tétrades unidas por una pared común para formar una másula (polinios séctiles tipo C), las cuales pueden ser dispersadas a uno o a varios estigmas, depende del movimiento del polinizador, esta característica está presente en Spiranthoideae, Orchidoideae y Epidendroideae (Wolter &

Schill, 1986) y también en Vandoideae (Johnson & Edwards 2000).

- 8) Tétrades agrupadas en un polinio compacto, los cuales generalmente son planos y los dispositivos de harmomegata están ausentes en el polen debido a la estructura compacta. Este tipo de polinio es recogido por el polinizador en una flor y completamente depositado en otra.

El grano de polen tiene una pared polínica o esporodermis, formado por dos capas: La externa conocida como exina y la interna llamada intina. La exina está constituida por esporopolenina y resiste el proceso de acetólisis, en ella se distinguen dos estratos, uno interno endexina (generalmente lisa y homogénea) y otro externo ectexina, que puede tener tres partes: téctum, infratectum y capa basal. La intina rodea el citoplasma y no es resistente a la acetólisis por su naturaleza celulósica (Sáenz 2004).

En las subfamilias Apostasioideae, Cyripedioideae y Orchidoideae, la estructura de la pared polínica es tectada-columelada, aunque en Orchidoideae el polen del interior del polinio carece de téctum, posee columela y una doble capa basal (Zavada 1990). Este mismo autor determinó que en Cyripedioideae, la pared ha evolucionado a tectada-imperforada-columelada y eventualmente se puede encontrar tectada-granular al igual que en la tribu Vandeeae (Epidendroideae). En Epidendroideae la esporodermis es tectada-columelada o tectada-granular y por último en Neottioideae (Dressler 1981) es tectada-perforada (Ackerman & Williams, 1980).

La alta diversidad, muy mencionada en Orchidaceae, también está presente en la ornamentación de la pared del polen. De acuerdo con Zavada (1990) en la subfamilia Apostasioideae la ornamentación de la exina es reticulada, mientras que en Cyripedioideae puede ser

reticulada, verrugosa o escábrida. En el mismo sentido, Barone-Lumaga et al. (2006) observaron en algunos taxones de Orchidoideae una ornamentación desde psilada, psilada-escábrida, perforada, perforada-rugulada, rugulada, escábrida-rugulada, baculada hasta la reticulada. En el caso de la subtribu Pleurothallidinae (Epidendroideae), Stenzel (2000) menciona la existencia de exina psilada, perforada, gemada, reticulada y verrugosa. Finalmente, Hesse et al. (2009) describen a *Vanilla* (Vanilloideae) con ornamentación perforada o psilada-perforada.

Los granos de polen de Orchidaceae son mayoritariamente inaperturados. Esta condición es casi exclusiva de la subfamilia Epidendroideae, que es la de mayor número de especies de la familia. Se ha apuntado que la ausencia de la apertura en los polinios séctiles o compactos puede ser debida a que las tétrades del interior del polinio no tienen ningún espacio para formar los tubos polínicos (Pacini & Hesse 2002). En los grupos más basales, donde el polen es libre y hay ausencia del polinario, los granos de polen presentan diferentes tipos de apertura: monosulcado en Apostasioideae, monosulcado, porado o ulcerado en Cyripedioideae, aunque también fueron observados granos de polen poliaperturados en *Vanilla*, *Epistephium*, *Lecanorchis* de la subfamilia Vanilloideae, en la que los polinios son granulares (Erdtman 1944; Schill & Pfeiffer 1977; Freudenstein & Rasmussen 1999).

➤ Caudícula

Esta parte del polinario se produce dentro de las anteras y puede considerarse una extensión del polinio. Tiene una estructura anatómica coherente con la derivación del tejido esporogénico, que la convierte en un ejemplo único de tejidos haploides con una función mecánica no sexual (Johnson & Edwards 2000). La caudícula puede

ser hialina, dura ó elástica y se denomina frenicular o estar compuesta por polen generalmente abortado y se denomina apendicular (Freudenstein & Rasmussen 1997).

Por lo general, la función de la caudícula es mecánica, pues sirve como punto de ruptura de los polinios en el polinario durante la polinización, aunque también es una zona de flexión cuando el polinario sufre movimientos bruscos durante el transporte por el polinizador (Johnson & Edwards 2000).

➤ **Estípite**

Se define como la estructura que conecta el polinio con el viscidio (Pacini & Hesse 2002). Se cree que el estípite se produce a partir de la epidermis abaxial de la columna y puede tener placas de forma vítrea, siendo conocido como tégula (Johnson & Edwards 2000) o se puede formar a partir del rostelo y en este caso es conocido como hámula (Freudenstein & Rasmussen 1999).

➤ **Viscidio**

Es una parte pegajosa del rostelo y sirve para adherir el polinio al polinizador (Pacini & Hesse 2002). Lo realmente interesante de este pegamento es la forma rápida que se seca una vez entran en contacto con el cuerpo del polinizador. El número de viscidios oscila entre uno (el más frecuente) y dos, propio de Diseae y Vandaeae, generalmente asociados con dos polinarios, que suelen ser eliminados al mismo tiempo (Johnson & Edwards 2000).

1.5.2 **Gineceo**

El gineceo es el órgano sexual femenino que se compone de uno o varios carpelos, pueden estar libres, insertos en el tálamo de forma muy variada y dispuestos en un solo verticilo o incluso también

pueden estar muy próximos o soldarse. En el carpelo se distinguen: ovario (hinchado en la base), estilo (tubo) y estigma (apertura).

La morfología y estructura del pistilo varía dentro de la familia Orchidaceae. Así, las subfamilias Apostasioideae y Cypripedioideae poseen un gineceo compuesto por un ovario, estilo y estigma bien diferenciados (Dressler 1993; Kocyan & Endress 2001).

Por el contrario, las subfamilias Vanilloideae, Orchidoideae y Epidendroideae, presentan un gineceo con fusión parcial o total (Rudall 2002).

La morfología de los estigmas de Orchidaceae ha sido ampliamente tratada (Dressler 1993; Wolter & Schill 1989). En la subfamilia Orchidoideae los estigmas tienen la superficie plana o ligeramente convexa y están cubiertos de fluidos para facilitar la deposición del polen generalmente en másulas. Por el contrario, en Epidendroideae la superficie es cóncava y cubierta con mucho más fluido con el objeto de que los polinios compactos alcancen mayor profundidad.

➤ Ovario

El ovario es la parte ensanchada del gineceo y en él se encuentran los rudimentos seminales u óvulos, donde se formará el gametófito femenino (Paniagua et al. 2002). Presenta una o más cavidades o lóculos. En monocotiledóneas el ovario puede ser unilocular, bilocular o trilocular (Dahlgren et al. 1985).



Figura 10. Imagen de la flor de *Acineta antioquiiae* (Epidendroideae) en la que se observa el ovario (ov) ínfero.

En las orquídeas el ovario es ínfero (Fig. 10), y las partes florales están completamente adnadas al ovario en la mayor parte de los taxones (Dressler 1993). La mayoría de las especies de Orchidaceae tienen un solo lóculo (Fig. 11B-F) en el ovario (Freudenstein & Rasmussen 1999), sin embargo, algún género de las subfamilias Apostasioideae, Cyripedioideae (Fig. 11A) y Vanilloideae exhiben la condición trilocular (Dressler 1993; Kurzweil 1998; Cameron 2003; Bern 2009). Este último estado es considerado plesiomórfico en la familia, en base a la comparación con los miembros de las restantes Asparagales (Cameron 2003; Rudall 2003).

Algunos estudios revelan que la presencia de ovarios triloculares puede ser el resultado de la prolongación del tejido placentario hasta contactar, produciendo tres falsos lóculos, en este

caso la placentación es interpretada como parietal (Fig. 11A)(Cameron 2003).

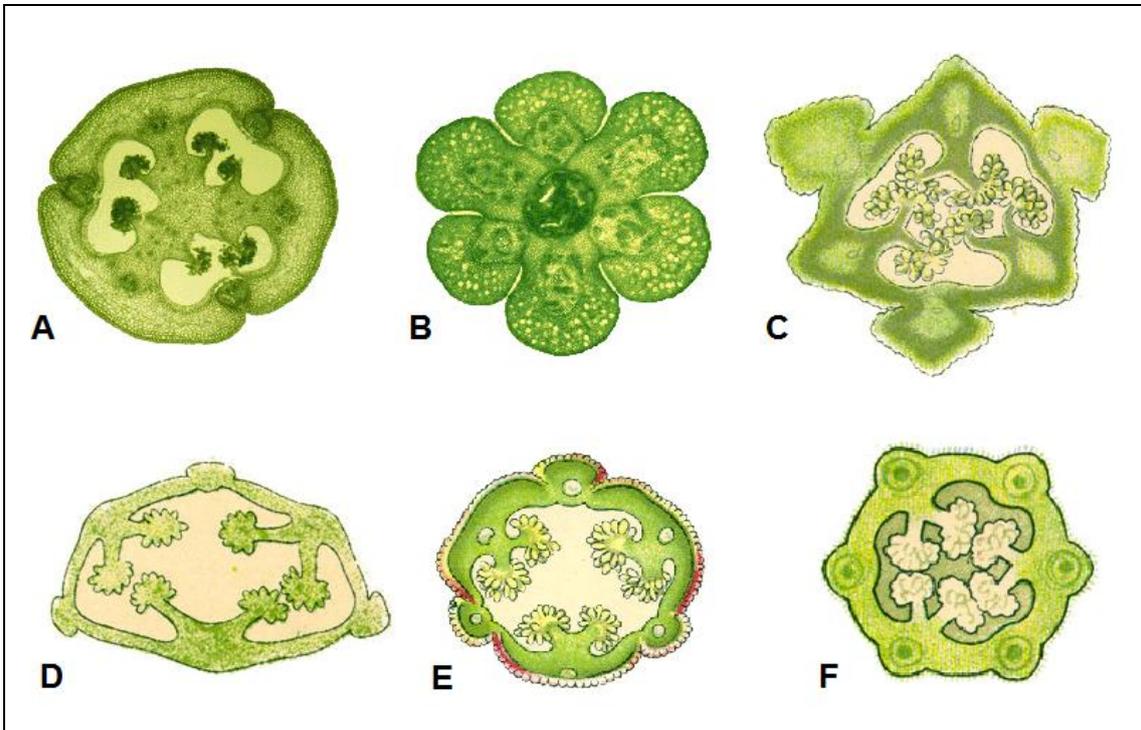


Figura 11. Esquemas de cortes de ovario en Orchidaceae: A. *Phragmipedium longifolium*, B. *Warczewiczella* sp., C. *Orchis fusca*, D. *Limodorum abortivum*, E. *Cypripedium calceolus*, F. *Platanthera bifolia* (Fuente C-F: Stüber 1999).

➤ Origen y estructuras del carpelo

El carpelo, es el más complejo de todos los órganos florales y por ello ha recibido atención por parte de los estudiosos de la morfología y anatomía. Según la interpretación clásica, el carpelo es una hoja doblada hacia arriba, es decir, en sentido ventral, con sus márgenes más o menos fusionados, donde se insertan los óvulos (Puri 1951).

Cuando la pared carpelar se cierra sobre sí misma se forma una cámara o cavidad carpelar propia, o puede permanecer abierta, desarrollando una cámara abierta común a todo el gineceo. En la base del ovario, cada cámara carpelar puede estar soldada de forma

congénita. A esta región se le denomina *zona sinascidiada*. Mucho más arriba se encuentra otra zona donde se comunican las cámaras de los distintos carpelos, en este caso esta región del ovario es denominada *zona simplicada*, y es generalmente la zona fértil del ovario (Endress 1994).

Las márgenes del carpelo varían grandemente en relación a las capas epidérmicas, siendo algunas veces fácilmente visibles, aunque la integridad del fenómeno depende de la forma como se inicia durante la ontogenia. Los bordes del carpelo al unirse producen un tejido llamado placenta que es doble, una por cada borde, dispuestas paralelamente y muy próximas, que recorren la sutura carpelar (Puri 1951).

Por otro lado, el número de carpelos en Orchidaceae ha sido controvertido. Se ha citado como característica de la familia la presencia de solo tres carpelos (Fig. 11A), como es típico en muchas monocotiledóneas (Swamy 1949; Dressler 1981; Kurzweil 1998; Cribb 1999, Rasmussen & Johansen 2006). Sin embargo, también se ha indicado la presencia de seis carpelos (Fig. 11B) bien diferenciados (Sauders 1923; Arber 1925; Puri 1951; Vermeulen 1966). Además, se ha mencionado la presencia de seis valvas, tres fértiles y tres estériles (Fig. 11C-F) en *Cypripedium*, *Liparis*, *Malaxis* y *Oncidium* (Sood, 1989, 1992; Sood & Mohana, 1998; Mayer et al. 2011).

➤ Organización histológica del ovario

Los estratos externo e interno de la pared carpelar están revestidos de una epidermis cuyas células son de mayor tamaño en la epidermis externa (pudiendo haber estomas). Dentro de la pared carpelar hay tejido parenquimatoso de células redondeadas compuesto por un complejo sistema vascular, en el que cada haz vascular tiene el floema hacia afuera y el xilema hacia adentro. Esta

posición es consistente con la teoría del origen de los carpelos que son hojas modificadas que sufren un envolvimiento, lo que explicaría el cambio de posición del xilema y floema (Paniagua et al. 2002).

En la mayoría de las flores el sistema vascular del ovario consta de:

- 1) Un hacecillo conductor (nervio medial) que recorre a lo largo de la parte dorsal del carpelo;
- 2) Un par de hacecillos cerca de los bordes de sutura;
- 3) Varios pares de hacecillos vasculares que arrancan del nervio medial y se dirigen uno a cada lado hasta alcanzar las placentas de los bordes carpelares, una vez ahí, cada hacecillo pasa por el funículo y llega hasta la base del rudimento seminal (Paniagua et al. 2002).

Aunque también el sistema vascular del ovario puede estar compuesto por un haz vascular dorsal y dos haces vasculares ventrales en la región de la placenta (Esaú 1959). No obstante, en los carpelos muy reducidos o insignificantes, la pared del ovario puede no presentar ningún tipo de tejido vascular (Puri 1951).

El número y tamaño de los haces vasculares puede estar influenciado en cierta medida por las necesidades fisiológicas y puede variar incluso en las flores de la misma especie. Por lo tanto, el estudio de la anatomía vascular de la flor puede brindar información fundamental para resolver problemas de morfología floral (Puri 1951).

➤ Placentación

Los óvulos se insertan sobre las márgenes de las paredes internas de los carpelos, sobre un tejido especializado conocido como placenta, la inserción se da a través de un cordón llamado funículo

(Puri 1951). Se denomina placentación, al modo como se disponen los óvulos en el ovario. Existen dos tipos básicos de placentas:

- 1) Placentas lineares en las que los óvulos se disponen formando una fila a lo largo de la margen del ovario;
- 2) Placentas difusas en las que los óvulos se disponen formando varias filas (Endress 1994) (Fig. 12).

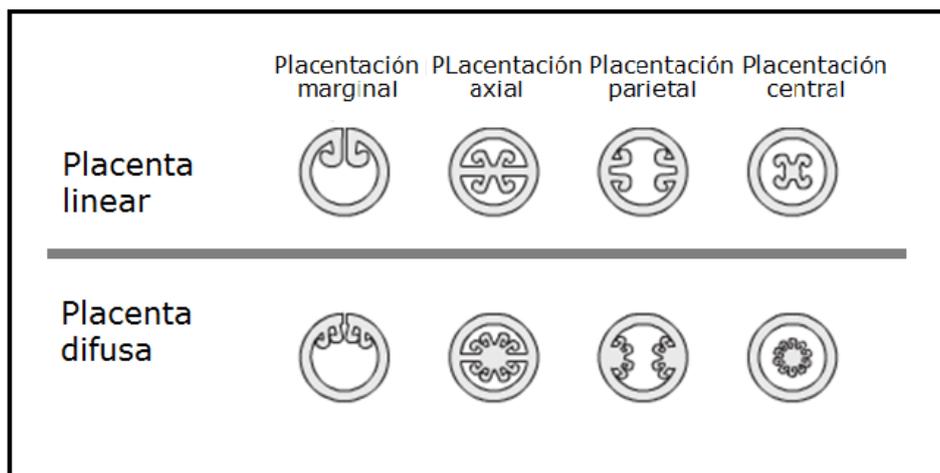


Figura 12. Esquema de los tipos de placenta y placentación de los óvulos. (Fuente: Bonifacino 2012).

En los géneros *Apostasia*, *Neuwiedia* y *Selenipedium* (Apostasioideae y Cyripedioideae), se ha citado la existencia de una unión postgénita entre las placentas en la zona simplicada del ovario (Kocyan & Endress 2001).

La fusión postgénita de los carpelos se produce en las márgenes de los carpelos adyacentes, los tipos de fusión del carpelo puede variar no solo en el interior del gineceo sino también en las flores del mismo racimo (Remizowa et al. 2006). A nivel general, la fusión postgénita de los órganos es un importante evento de desarrollo en la morfogénesis floral a diferentes niveles de familias vegetales, por lo general las superficies libres del órgano se ven obligadas a la expansión y como resultado las capas de la epidermis,

entre ellas la cutícula, que son las que hacen contacto, son retiradas (van der Schoot et al. 1995). Esta fusión también es llamada fusión de superficie o fusión ontogénica (De Laet et al. 1995).

Según el grado en que se encuentren soldados los carpelos es posible diferenciar los tipos de placentación. Existen cuatro tipos generales:

- 1) Placentación marginal, en el caso de los gineceos dialicarpelares o constituidos por un solo carpelo, la placentación se considera marginal porque los óvulos se ubican a lo largo de la sutura del único carpelo, sobre las placentas lineares;
- 2) Placentación axial, aquí los carpelos se doblan completamente sobre sí mismos y forman una cavidad cerrada, para luego unirse varios de ellos en un ovario compuesto, la placenta se localiza junto al eje floral y hay dos filas de rudimentos seminales en cada lóculo;
- 3) Placentación parietal, los carpelos no se doblan antes de unirse, se sueldan por sus bandas sin más, formando una sola cavidad, las placentas se localizan en las paredes del ovario, no en el centro;
- 4) Placentación central, las placentas se agrupan en el centro del ovario y forman una sola masa sin relación con las paredes ováricas (Puri 1952).

1.5.3 **Columna**

El androceo y la parte superior del gineceo (Fig. 3), en la mayoría de las orquídeas, se encuentran soldadas en una estructura central llamada columna o ginostemo (Dressler 1981). En la zona media de ésta existe una zona estructura estéril, que se transforma

en un órgano llamado rostelo que separa y evita el contacto entre el estigma fértil y el polen de la misma flor (Duran et al. 2006).

Este rasgo característico de las orquídeas no se presenta en Cyripedioideae, cuyos estambres y estilo se diferencian claramente (Kurzweil 1993) y en Apostasioideae es notoria la separación parcial del androceo y gineceo, en el género *Neuwiedia* los filamentos se fusionan con el estilo más o menos hasta la mitad, mientras que en *Apostasia*, la fusión de los filamentos de los estambres laterales con el estilo es casi total, quedando libres solo los extremos superiores de ambos órganos (Kocyan & Endress 2001).

Algunos autores establecen una homología entre los términos columna o ginostemo (Dressler 1981; Kurzweil 1987; Freudenstein 1994; Szlachetko 1994), sin embargo, otros consideran errónea esta aplicación debido a que el ginostemo se forma por la unión de los estambres y el estilo, y en el caso de las orquídeas, además de estas estructuras, se une también el estigma (Rudall & Bateman 2002), por lo tanto, la utilización de columna para referirse a este tipo de unión sería el término más adecuado.



Justificación y Objetivos



La presente investigación enfocada al estudio de la palinología y anatomía del pistilo de orquídeas se justifica, porque Orchidaceae es una de las familias más numerosa y la más evolucionada de las plantas con flores, que aún se encuentra en proceso de diversificación. Además, la particularidad de sus órganos reproductores en relación a la fusión del gineceo y androceo o pérdida en el número de estambres, así como sus avanzadas estrategias reproductivas, la hace muy diferente al resto de plantas con flores.

La revisión bibliográfica reflejó una escasa información acerca de la anatomía del carpelo de las orquídeas y en especial de las especies tropicales, a pesar que en esta familia han tenido lugar las posibles rutas de evolución de un órgano tan importante como el ovario. Generalmente los estudios anatómicos en Orchidaceae se han orientado al análisis de los órganos vegetativos como las hojas, tallos, raíces -en particular el velamen- y pseudobulbos, que han sido usados, en muchas ocasiones, como principal fuente de información taxonómica.

Los estudios palinológicos también han sido escasos y en grupos puntuales en cada subfamilia, y se han enfocado básicamente en la estructura, cohesión y elementos de adhesión del polinio, así como en la composición, ornamentación y evolución de la exina.

En esta familia se han propuesto numerosas clasificaciones, la mayoría teniendo como base los caracteres florales: forma y orientación de la columna, número de anteras, número, forma y consistencia del polinario, entre otros. Lo que demuestra lo fundamental de la estructura reproductora a la hora de brindar información importante para la taxonomía de la misma.

Resulta relevante y oportuno este estudio, que busca aportar a las clasificaciones, elementos complementarios sobre la anatomía y palinología de especies de las cinco subfamilias, siendo algunos de estos taxones tropicales y poco estudiados.

Por todo ello, en la presente investigación se plantearon como objetivos generales los siguientes:

- Aportar información para la creación de sistemas de clasificación mucho más estables.
- Analizar las posibles rutas evolutivas del polen y pistilo de Orchidaceae, con especial incidencia en los grupos tropicales menos estudiados.

Más específicamente, en este trabajo nos planteamos:

- Determinar la morfología y estructura del polinario (polinios, caudícula, estípite y viscidio) en miembros de Orchidaceae.
- Evaluar la micromorfología de la exina de los taxones estudiados.
- Caracterizar la anatomía y morfología del carpelo.
- Valorar la incidencia de los caracteres analizados en la clasificación de la familia Orchidaceae.



Material y Métodos

3.1 **Material estudiado**

Se han seleccionado para esta investigación un total de 247 taxones, pertenecientes a 141 géneros, 23 subtribus (Aeridinae, Angraecinae, Arethusinae, Bletiinae, Catasetinae, Coeliopsidinae, Coelogyninae, Collabiinae, Cranichidinae, Cymbidiinae, Dendrobiinae, Eulophiinae, Goodyerinae, Laeliinae, Maxillariinae, Oncidiinae, Orchidinae, Pleurothallidinae, Ponerinae, Polystachyinae, Spiranthinae, Stanhopeinae, Zygopetalinae) y 12 tribus (Arethuseae, Cranichideae, Calypsoeae, Cymbidieae, Epidendreae, Malaxideae, Neottieae, Orchideae, Pogoniieae, Sobralieae, Vandeeae, Vanillineae) de las subfamilias: Apostasioideae, Vanilloideae, Cypripedioideae, Orchidoideae y Epidendroideae. Los nombres completos de todos los táxones estudiados se recogen en la tabla 2.

El material procede de diversas fuentes:

- a) Algunas muestras fueron recogidas en el campo de especímenes silvestres.
- b) En su mayor parte, el material procede de las colecciones vivas propiedad de Roberto de Angulo Blum (Popayán, Colombia), Rafael Geovo (Istmina, Colombia) y de la Sociedad Colombiana de Orquideología.
- c) En aquellos casos en los que no fue posible conseguir material fresco, para poder incluir en los estudios taxones procedentes de otras partes del mundo, se optó por material conservado en los herbarios CAUP, CHOCO, COL, HPUJ, HUA, HUCSS, JAUM, K, LEB, MA y MEDEL. Los datos detallados de cada una de estas colecciones se resumen en la tabla 3.

3.2 Nomenclatura y clasificación de los taxones

Se ha revisado la nomenclatura de todos los taxones seleccionados y para la verificación de los nombres científicos se siguieron las bases de datos del IPNI (*The International Plant Names Index*) (<http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do>) y Trópicos del Missouri Botanical Garden (<http://www.tropicos.org/>). En ocasiones, cuando existían autorías diferentes para un mismo taxón, se optó por el nombre que está de acuerdo con las normas establecidas por el Código Internacional de Nomenclatura Botánica (McNeill et al. 2006).

Los taxones que inicialmente estaban identificados siguiendo sistemas de clasificación no actualizados, se fueron revisando y adaptando a los sistemas de clasificación de Chase et al. (2003) y Freudenstein et al. (2004).

Tabla 2. Listado de taxones analizados por subfamilias, tribus y subtribus, con indicación de muestra testigo representativa, de la que se cita colector, número de colección y herbario en que está depositada. El material estudiado en fresco es señalado con un asterisco (*).

Subfamilias, Tribus y subtribus	Taxones	Muestras testigo
Apostasioideae Reichb.f.		
	<i>Apostasia stylidioides</i> (F. Muell) Rchb.f.	Bau 82940 (K)
	<i>Apostasia wallichii</i> R. Br.	Kaire 25569 (K)
	<i>Neuwiedia veratrifolia</i> Blume.	Lamb 129 (K)
Vanilloideae (Lindl.) Szlach.		
Pogonieae Pfitz. Ex Garay & Dunst		
	<i>Cleistes abdita</i> G. A. Romero and Carnevali	García et al. 15842 (COL)
	<i>Cleistes rosea</i> Lindl.	Arias 042 (CHOCO), Mosquera 0110 (*)
Vanillineae Meisn.		
	<i>Vanilla chamissonis</i> Klotzsch	Silva 555 (HUCSS)
	<i>Vanilla odonata</i> Andrews.	Gómez 1450 (HUA)
	<i>Vanilla planifolia</i> Andrews.	Brand et al. 1269 (JAUM)
Cypripedioideae Lindley		
	<i>Cypripedium californicum</i> A.Garay.	Hrusa 10445 (MA)
	<i>Paphiopedilum callosum</i> (Rchb.f.) Stein	SCO 0029 (*)
	<i>Phragmipedium besseae</i> Dodson and Kuhn.	De Angulo 0121 (*)
	<i>Phragmipedium longifolium</i> (Rchb.f. and Warsz) Rolfe.	Geovo 0115 (*)
	<i>Phragmipedium</i> Rolfe	De Angulo 0246 (*)
	<i>Selenipedium chica</i> Rchb.f.	Powell 258 (K)
	<i>Selenipedium palmifolium</i> Rchb.f.	Jenman 6680 (K)
Orchidoideae		
Cranichideae Endlicher		
Goodyerinae		
Klotzsch	<i>Aspidogyne foliosa</i> (Poepp. & Endl.) Garay	Fonnegra 4159 (HUA)
	<i>Erythrodes major</i> Ames	Ospina 580 (JAUM)
	<i>Erythrodes boliviensis</i> (Cogn.) Dodson & M.W. Chase	Ledezma et al 523 (CHOCO)
Spiranthinae		
Lindley	<i>Cyclopogon comosus</i> (Rchb.f.) Burns-Bal	Misas 257a (HPUJ)
	<i>Cyclopogon elatus</i> (Sw.) Schltr	Fonnegra 7142 (HUA)
	<i>Cyclopogon peruvianus</i> (C. Presl) Schltr.	Fernández et al. 19044 (COL)
	<i>Eurystyles cotyledon</i> Wawra	De Angulo 0118 (*)
	<i>Sarcoglottis acaulis</i> Schltr.	Cogollo 7975 (JAUM)
	<i>Spiranthes aestivalis</i> (Poir.) Rich.	Rivas 10022 (MEDEL)
	<i>Spiranthes orchioides</i> Hemsl.	Haught 2680 (COL)
	<i>Spiranthes spiralis</i> (L.) Chevall.	C. Acedo 245 (LEB)
	<i>Stenorhynchos lanceolatum</i> (Willd.) Rich.	Cardenas 1497 (MEDEL)
Cranichidinae		
Lindley	<i>Aa maderoi</i> Schltr.	Ortiz 1048 (HPUJ)
	<i>Altensteinia fimbriata</i> Kunt	Ortiz 493 (HPUJ)
	<i>Baskervilla colombiana</i> Garay	Perez 1070 (MEDEL)
	<i>Cranichis antioquiensis</i> Schltr.	Patherson 13411 (COL)
	<i>Cranichis ciliata</i> Kunth	Callejas et al. 7757 (HUA)

	<i>Gomphichis traceyae</i> Rolfe	Schneider 01 (COL)
	<i>Ponthieva diptera</i> Linden & Rchb.f.	Gómez 678 (HUA)
	<i>Ponthieva racemosa</i> C.Mohr	Ortíz 90 (HPUJ)
	<i>Stenoptera longiscapa</i> (Kraezl.) L.O.Williams	Sánchez 5412 (MEDEL)
Orchideae Smal		
Orchidinae		
Rchb.	<i>Barlia robertiana</i> (Loisel.) Greuter	Barbero et al. 0003 (*)
	<i>Coeloglossum viride</i> Hartm.	Fernández s.n (LEB)
	<i>Dactylorhiza incarnata</i> (L.) Soó	Llamas & Acedo s.n. (*)
	<i>Dactylorhiza sambuccina</i> (L.) Soó	Mosquera 0158 (*)
	<i>Habenaria parviflora</i> Lindl.	Groenendijk 1589 (COL).
	<i>Neotinea maculata</i> (Desf.) Stearn	Llamas s.n (LEB)
	<i>Nigritella gabasiana</i> Teppner & E. Klein	Acedo, Llamas & Alonso (*)
	<i>Ophrys apifera</i> Huds	Barbero et al. 0002 (*)
	<i>Ophrys sphegodes</i> Mill.	Barbero et al. 0001 (*)
	<i>Orchis anthropophora</i> All.	Mosquera et al. 0117 (*)
	<i>Orchis langei</i> K. Richt.	Barbero et al. 0006 (*)
	<i>Orchis mascula</i> (L.) L.	Mosquera 0119 (*) Llamas & Acedo 37 (LEB), Llamas s.n (LEB)
	<i>Orchis morio</i> L.	
Epidendroideae Lindley		
Neottieae Lindley	<i>Epipactis hispanica</i> Benito & C.E.Hermos	Llamas & Acedo 82 (*)
Sobralieae		
Schlechter	<i>Elleanthus aurantiacus</i> Rchb.f.	Fernández et al. 294 (MEDEL)
	<i>Elleanthus columnaris</i> Rchb.f.	Franco et al. 4700 (COL)
	<i>Elleanthus hirtzii</i> Dodson	Cogollo & Ramírez 3171 (JAUM)
	<i>Elleanthus myrosmatis</i> Rchb.f.	SCO 0016 (*)
	<i>Sertifera lehmanniana</i> (Kraenzl.) Garay	Forero et al. 2079 (COL)
	<i>Sertifera purpurea</i> Rchb.f.	Bristol 550 (COL)
	<i>Sobralia dichotoma</i> Ruiz & Pav.	Ospina 217 (JAUM)
	<i>Sobralia mutisii</i> P. Ortiz	Ortiz 1149 (HPUJ)
	<i>Sobralia valida</i> Rolfe	Geovo 0117 (*)
Calypsoeae Dressler		
	<i>Corallorhiza maculata</i> (Raf.) Raf.	Jefferson 6567 (K)
	<i>Corallorhiza trifida</i> Châtel	Herrero et al. 2213 (MA)
Epidendreae Humboldt, Bonpland & Kunt		
Ponerinae Pfitzer	<i>Isochilus linearis</i> (Jacq.) R.Br.	De Angulo 0092 (*)
	<i>Ponera striata</i> Lindl.	Silva 267 (HPUJ)
Bletiinae Bentham	<i>Bletia purpurea</i> (Lam.) DC.	Cuadras et al. 7996 (COL)
Pleurothallidinae		
Lindley	<i>Acronia marthae</i> (Luer & R.Escobar) Luer	De Angulo 0093 (*)
	<i>Acronia octavioi</i> (Luer & R.Escobar) Luer	De Angulo 0094 (*)
	<i>Ancipitia anthrax</i> (Luer & R.Escobar) Luer	De Angulo 0095 (*)
	<i>Barbosella cucullata</i> (Lindl.) Schltr.	Echeverry et al. 478 (HUA)
	<i>Barbosella longipes</i> Schltr.	De Angulo 0180 (*)
	<i>Barbosella prorepens</i> Schltr.	De Angulo 0181 (*)

	<i>Brachionidium</i> Lindl.	Benavides & Franc 3186 (HUA)
	<i>Brachycladium platysepalum</i> (Luer & R. Escobar) Luer	SCO 0237 (*)
	<i>Dracula amaliae</i> Luer & R. Escobar	De Angulo 0096 (*)
	<i>Dracula benedictii</i> (Rchb.f.) Luer	Escobar 969 (JAUM)
	<i>Dracula fuligera</i> Luer	De Angulo 0097 (*)
	<i>Dracula lotax</i> (Luer) Luer	De Angulo 0201 (*)
	<i>Dracula sodiroi</i> (Schltr.) Luer	De Angulo 0098 (*)
	<i>Dryadella albicans</i> (Luer) Luer	De Angulo 0099 (*)
	<i>Dryadella meiracyllium</i> (Rchb.f.) Luer	De Angulo 0100 (*)
	<i>Dryadella simula</i> (Rchb.f.) Luer	Yepes 925 (CAUP)
	<i>Lepanthopsis floripecten</i> (Rchb.f.) Ames	De Angulo 0101 (*)
	<i>Lepanthopsis peniculus</i> Luer	Schneider 200 (COL)
	<i>Masdevallia coccinea</i> Linden ex Lindl.	De Angulo 0102 (*)
	<i>Masdevallia ova-avis</i> Luer	De Angulo 0103 (*)
	<i>Masdevallia pelecaniceps</i> Luer	De Angulo 0104 (*)
	<i>Ophidion cunabulum</i> (Luer & R. Escobar) Luer,	De Angulo 0208 (*)
	<i>Platystele densiflora</i> P. Ortiz	De Angulo 0210 (*)
	<i>Platystele umbellata</i> P. Ortiz	De Angulo 0204 (*)
	<i>Pleurothallis apoxys</i> Luer & R. Escobar	Duque 2257 (JAUM)
	<i>Pleurothallis lindenii</i> Lindl.	De Angulo 0105 (*)
	<i>Porroglossum eduardii</i> (Rchb.f.) H.R. Sweet	SCO 0212 (*)
	<i>Porroglossum olivaceum</i> H.R. Sweet	De Angulo 0213 (*)
	<i>Restrepia antennifera</i> Kunth	De Angulo 0107 (*)
	<i>Restrepia chocoensis</i> Garay.	De Angulo 0215 (*)
	<i>Restrepiopsis tubulosa</i> (Lindl.) Luer	Ospina 25 (JAUM)
	<i>Scaphosepalum gibberosum</i> Rolfe	De Angulo 0109 (*)
	<i>Scaphosepalum antenniferum</i> Rolfe	De Angulo 0218 (*)
	<i>Stelis alba</i> Kunth	SCO 0023 (*)
	<i>Stelis rostrata</i> Luer	O. Duque 2135 (JAUM)
	<i>Stelis velutina</i> Lindl.	O. Duque 1277 (JAUM)
	<i>Trisetella triglochis</i> (Rchb.f.) Luer	De Angulo 0110 (*)
	<i>Zootrophion hypodiscus</i> (Rchb.f.) Luer	De Angulo 0111 (*)
	<i>Zootrophion oblongifolium</i> (Rolfe) Luer	De Angulo 0112 (*)
Laeliinae Bentham	<i>Brassavola grandiflora</i> Lindl.	Misas 21b (HPUJ), Mejía & Pino 064 (*)
	<i>Brassavola nodosa</i> Lindl.	Geovo 0112 (*)
	<i>Cattleya quadricolor</i> Lindl.	SCO 0017 (*)
	<i>Cattleya schroderae</i> Rchb.f.	SCO 0018 (*)
	<i>Cattleya trianae</i> Linden & Rchb.f.	SCO 0019 (*)
	<i>Caularthron bicornutum</i> (Hook.) Raf.	Rodríguez 184 (COL)
	<i>Caularthron</i> Raf.	Arbeláez et al. 689 (HUA)
	<i>Dimerandra buenaventurae</i> (Kraenzl.) Siegerist	De Angulo 0200 (*)
	<i>Dimerandra elegans</i> (Focke) Siegerist	Cárdenas 541 (JAUM)
	<i>Dimerandra latipetala</i> Siegerist	Misas 61b (HPUJ)
	<i>Encyclia ceratistes</i> Schltr.	De Angulo 0083 (MEDEL)

<i>Encyclia cordigera</i> (Kunth) Dressler	Araque 5331 (MEDEL)
<i>Encyclia gilbertoi</i> (Garay) P.Ortiz	Ospina 703 (JAUM)
<i>Encyclia oncioidioides</i> Schltr.	Ortiz 175 (HPUJ)
<i>Encyclia sceptra</i> (Lindl.) Carnevali & I.Ramírez	Ortiz 174 (HPUJ)
<i>Encyclia sceptrum</i> (Lindl.) Carnevali & I.Ramírez	Ortiz 177 (HPUJ)
<i>Encyclia vespa</i> (Vell.) Dressler	Ortiz 16 (HPUJ), Sánchez et al. 1436 (MEDEL), Geovo 301 (*)
<i>Epidendrum arevaloi</i> (Schltr.) Hágsater	Correa et al. 1313 (JAUM)
<i>Epidendrum baezense</i> Hágsater & Dodson	Hágsater 11565 (JAUM)
<i>Epidendrum cernuum</i> Kunth	Ortiz 333 (HPUJ)
<i>Epidendrum decurviflorum</i> Schltr.	González 2074 (COL)
<i>Epidendrum difforme</i> Jacq.	Mosquera 0109 (*)
<i>Epidendrum ellipsophyllum</i> L.O.Williams	Misas 35a (HPUJ)
<i>Epidendrum elongatum</i> Jacq.	Fernández-Alonso et al. 19114 (COL)
<i>Epidendrum fastigiatum</i> Lindl.	Ortiz 4166 (HPUJ)
<i>Epidendrum fimbriatum</i> Vell.	Pino et al. 108 (CHOCO)
<i>Epidendrum ionodesme</i> Schltr.	De Angulo 0084 (*)
<i>Epidendrum sympetalostele</i> Hágsater & L.Sánchez	Mejía & Pino 0050 (*)
<i>Jacquiiniella globosa</i> (Jacq.) Schltr.	Misas 24a (HPUJ), Chaparro & Barrera 246 (COL)
<i>Laelia anceps</i> Lindl.	SCO 0168 (*)
<i>Laelia</i> Lindl.	SCO 0169 (*)
<i>Laelia tenebrosa</i> (Rolfe) Rolfe	De Angulo 0085 (*), SCO 0170 (*)
<i>Lanium avicula</i> Lindl. ex Benth.	De Angulo 0086 (*)
<i>Oerstedella wallisii</i> (Rchb.f.) Hágsater	De Angulo 0087 (*), Geovo 0317 (*)
<i>Prosthechea aemula</i> (Lindl.) W.E.Higgins	Misas 27 (HPUJ)
<i>Prosthechea cochleata</i> (L.) W.E.Higgins,	De Angulo 0213 (*)
<i>Prosthechea grammatoglossa</i> (Rchb.f.) W.E.Higgins	De Angulo 0088 (*)
<i>Prosthechea vespa</i> (Vell.) W.E.Higgins	Misas 28 (HPUJ)
<i>Scaphyglottis arctata</i> (Dressler) B.R.Adams	De Angulo 0089 (*)
<i>Scaphyglottis graminifolia</i> (Ruiz & Pav.) Poepp. & Endl.	De Angulo 0090 (*), Misas 56a (HPUJ)
<i>Scaphyglottis huebneri</i> Schltr.	Misas 57a (HPUJ)
<i>Schomburgkia splendida</i> Schltr.	De Angulo 0091 (*)
<i>Sophronitis coccínea</i> Rchb.f.	SCO 0020 (*)
Arethuseae Lindley	
Arethusinae	
Lindley	
Coelogykinae	
Bentham	
<i>Arundina graminifolia</i> (D.Don) Hochr.	Geovo 0116 (*)
<i>Coelogyne massangeana</i> Rchb.f.	De Angulo 0082 (*)
<i>Dendrochilum cobbianum</i> Rchb.f.	De Angulo 0115 (*)
Malaxideae Lindley	
<i>Liparis nervosa</i> (Thunb.) Lindl.	Langenheim 3324 (COL)
<i>Liparis elata</i> Lindl.	Ortiz 345 (JAUM)
<i>Malaxis andicola</i> Kuntze	Cogollo 3893 (JAUM)
<i>Malaxis bayardii</i> Fernald	Ospina 1356 (COL)
<i>Malaxis excavata</i> Kuntze	Figuerola et al. 555 (COL)

Cymbidieae Pfitzer		
Catasetinae		
Schlechter	<i>Catasetum viridiflavum</i> Hook.	Mejía & Pino 0062 (*)
	<i>Cynoches densiflorum</i> Rolfe	SCO 0001 (*)
	<i>Galeandra batemanii</i> Rolfe	SCO 0002 (*)
Cymbidiinae		
Bentham	<i>Cymbidium insigne</i> Rolfe.	Geovo 0100 (*)
	<i>Cymbidium simulans</i> Rolfe.	Geovo 0102 (*)
Eulophiinae		
Benth.	<i>Eulophia alta</i> Fawc. & Rendle	Ospina & Mosquera 2440 (CHOCO)
Oncidiinae		
Bentham	<i>Ada elegantula</i> (Rchb.f.) N.H.Williams	De Angulo 0063 (*)
	<i>Aspasia principissa</i> Rchb.f.	Geovo 0108 (*)
	<i>Brassia antherothes</i> Rchb.f.	De Angulo 0064 (*)
	<i>Brassia gireoudiana</i> Rchb.f. & Warsz.	De Angulo 0065 (*)
	<i>Caluera vulpina</i> Dodson & Determann	SCO 0009 (*)
	<i>Cischweinfia dasyandra</i> (Rchb.f.) Dressler & N.H.Williams	SCO 0190 (*)
	<i>Cischweinfia rostrata</i> Dressler & N.H. Williams	De Angulo 0066 (*)
	<i>Cochlidia rosea</i> Benth. & Hook.f.	Fonnegra et al. 4593 (HUA)
	<i>Cochlidia vulcanica</i> (Rchb.f.) Benth. & Hook.f. ex A.H.Kent	De Angulo 0067 (*)
	<i>Comparettia falcata</i> Poepp. & Endl.	Salinas et al. 141 (COL)
	<i>Cyrtochilum diceratum</i> Kraenzl.	Zarucchi & Echeverry 5159 (HUA)
	<i>Cyrtochilum ionodon</i> (Rchb.f.) Dalström	SCO 0010 (*)
	<i>Ionopsis utricularioides</i> Lindl.	Mosquera 0108 (*)
	<i>Lockhartia elegans</i> Hook.	De Angulo 0068 (*)
	<i>Macradenia brassavolae</i> Rchb.f.	Geovo 0109 (*)
	<i>Miltonia spectabilis</i> Lindl.	De Angulo 0069 (*)
	<i>Miltonia vexillaria</i> G.Nicholson	Betancur J. & al. 841 (HUA)
	<i>Miltoniopsis phalaenopsis</i> (Linden & Rchb.f.) Garay & Dunst.	De Angulo 0070 (*)
	<i>Miltoniopsis roezlii</i> (Rchb.f.)	De Angulo 0071 (*)
	<i>Notylia pentachne</i> Rchb.f.	De Angulo 0072 (*)
	<i>Odontoglossum povedanum</i> P.Ortiz	De Angulo 0073 (*)
	<i>Odontoglossum spathaceum</i> Lind.	Londoño et al. 32 (MEDEL)
	<i>Oncidium abortivum</i> Rchb.f.	Londoño et al. 70 (MEDEL)
	<i>Oncidium cheiroporum</i> Rchb.f.	De Angulo 0074 (*)
	<i>Oncidium jamesonii</i> Rchb.f.	Pérez 600 (MEDEL)
	<i>Oncidium varicosum</i> Lindl.	De Angulo 0075 (*)
	<i>Ornithocephalus bicornis</i> Lindl.	Misas 184 (HUA)
	<i>Ornithocephalus gladius</i> Hook.	Giraldo 775 (HUA)
	<i>Psygmorchis pusilla</i> (L.) Dodson & Dressler	Geovo 0110 (*)
	<i>Pterostemma antioquiense</i> F.Lehm. & Kraenzl.	SCO 0011 (*)
	<i>Rodriguezia lanceolata</i> Ruiz & Pav.	Gutiérrez 899 (MEDEL)
	<i>Sigmatostalix cuculligera</i> (Schltr.) Garay	De Angulo 0076 (*)
	<i>Sigmatostalix papilio</i> Koniger & R.Escobar	De Angulo 0077(*)
	<i>Solenidium lunatum</i> Schltr.	De Angulo 0078 (*)
	<i>Sphyrastylis escobariana</i> Garay	SCO 0012 (*)
	<i>Stellilabium andinum</i> (L.O.Williams) Garay & Dunst.	Albert & Uribe 3647 (HUA)

	<i>Symphyglossum sanguineum</i> Schltr.	De Angulo 0079 (*)
	<i>Telipogon hemimelas</i> Rchb.f.	Londoño et al. 509 (HUA)
	<i>Telipogon leila-alexandrae</i> Braas	Escobar & Portillo 3641 (JAUM)
	<i>Telipogon pulcher</i> Rchb.f.	SCO 0107 (*)
	<i>Tolumnia</i> Raf.	SCO 0013 (*)
	<i>Tolumnia variegata</i> (Sw.) Braem	SCO 0014 (*)
	<i>Trichocentrum brandtiae</i> Kraenzl.	De Angulo 0080 (*)
	<i>Trichopilia fragrans</i> Rchb.f.	De Angulo 0081 (*)
Maxillariinae		
Bentham	<i>Anguloa clowesii</i> Lindl.	De Angulo 0054 (*)
	<i>Anguloa virginalis</i> Hort	De Angulo 0055 (*)
	<i>Cryptocentrum latifolium</i> Schltr.	De Angulo 0059 (*)
	<i>Ida grandis</i> A.Ryan & Oakeley	De Angulo 0056 (*)
	<i>Lycaste tricolor</i> Rchb.f.	De Angulo 0057 (*)
	<i>Lycaste x niesseniae</i> Oakeley	De Angulo 0058 (*)
	<i>Maxillaria cauceae</i> Garay	De Angulo 0120 (*)
	<i>Maxillaria cucullata</i> Lindl.	De Angulo 0060 (*)
	<i>Maxillaria fractiflexa</i> Rchb.f.	De Angulo 0061 (*)
	<i>Maxillaria fulgens</i> (Rchb.f.) L.O.Williams	Misas 160 (HPUJ)
	<i>Maxillaria graminifolia</i> Rchb.f.	Zarucchi et al. 6124 (HUA)
	<i>Trigonidium egertonianum</i> Bateman	Geovo 0114 (*)
	<i>Xylobium leontoglossum</i> Benth. ex Rolfe	Ospina 149 (JAUM)
Stanhopeinae		
Bentham	<i>Acineta erythroxantha</i> Rchb.f.	SCO 0005 (*)
	<i>Gongora latisepala</i> Rolfe	Geovo 0106 (*)
	<i>Houlletia wallisii</i> Linden & Rchb.f.	Ospina 623 (JAUM)
	<i>Paphinia herrerae</i> Dodson	SCO 0006 (*)
	<i>Polycycnis muscifera</i> Rchb.f.	SCO 0007 (*)
	<i>Sievekingia suavis</i> Rchb.f.	Geovo 0107 (*)
	<i>Soterosanthus shephardii</i> (Rolfe) Jenny	Geovo 0217 (*)
	<i>Stanhopea pulla</i> Rchb.f.	Geovo 0211 (*)
	<i>Stanhopea wardii</i> Lodd. ex Lindl.	De Angulo 0062 (*)
Coeliopsidinae		
Szlach.	<i>Peristeria elata</i> Hook.	SCO 0008 (*)
Zygopetalinae		
Schlechter	<i>Bollea coelestis</i> Rchb.f.	SCO 0003 (*)
	<i>Chondrorhyncha amabilis</i> Schltr.	SCO 0004 (*)
	<i>Cryptarrhena lunata</i> R.Br.	Ramírez & Cárdenas 661 (JAUM)
	<i>Dichaea morrisii</i> Fawc. & Rendle	De Angulo 0198 (*)
	<i>Dichaea pendula</i> Cogn.	Albert & Velásquez 7340 (HUA)
	<i>Galeottia fimbriata</i> (Linden & Rchb.f.) Schltr.	Geovo 0103 (*)
	<i>Huntleya citrina</i> Rolfe	Geovo 0104 (*)
	<i>Huntleya meleagris</i> Lindl.	Geovo 0105 (*)
	<i>Kefersteinia mystacina</i> Rchb.f.	De Angulo 0052 (*)
	<i>Kefersteinia tolimensis</i> Schltr.	De Angulo 0053 (*)
	<i>Warczewiczella marginata</i> Rchb.f.	De Angulo 0051 (*)
	<i>Warczewiczella discolor</i> Rchb.f.	SCO 0191 (*)

Vandae Lindley		
Polystachyinae		
Ridl.	<i>Polystachya foliosa</i> Rchb.f.	SCO 0024 (*)
Aeridinae		
Pfitzer	<i>Doritis pulcherrima</i> Lindl.	SCO 0025 (*)
	<i>Vanda coerulea</i> Griff. ex Lindl	SCO 0026 (*)
Angraecinae		
Summerh.	<i>Angraecum distichum</i> Lindl.	SCO 0027 (*)
	<i>Angraecum sesquipedale</i> Thouars	SCO 0028 (*)
Dendrobiinae		
Lindley	<i>Dendrobium infundibulum</i> Lindl.	De Angulo 0113 (*)
	<i>Dendrobium cobbianum</i> Rchb.f.	De Angulo 0193 (*)
Collabiinae		
Schlechter	<i>Spathoglottis plicata</i> Blume	Geovo 0111 (*)

Tabla 3. Procedencia del material estudiado. Nombre del herbario, número de muestras obtenidas, institución y localización.

Nombre privadas y campo	Herbario / Colecciones	Acrónimo	Nº de muestras	Localización
Universidad del Cauca		CAUP	1	Popayán, Colombia
Universidad Tecnológica del Chocó		CHOCO	4	Quibdó, Colombia
Universidad Nacional de Colombia		COL	19	Bogotá, Colombia
Pontificia Universidad Javeriana		HPUJ	21	Bogotá, Colombia
Universidad de Antioquia		HUA	17	Medellín, Colombia
Universidad de Caxias do Sul		HUCSS	1	Caxias do Sul, Brasil
Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe		JAUM	20	Medellín, Colombia
Royal Botanic Garden		K	6	KEW., U.K. England.
Herbario Dr. Jaime Andrés Rodríguez.		LEB	4	León, España
Universidad de León				
Real Jardín Botánico de Madrid		MA	2	Madrid, España
Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín		MEDEL	12	Medellín, Colombia
Sociedad Colombiana de Orquideología		SCO	34	Medellín, Colombia
Colección de Orquídeas de Rafael Geovo		-	20	Istmina, Colombia
Colección de Orquídeas de Roberto de Angulo		-	79	Popayán, Colombia
Recolección de campo		-	5	Tutunendo y Quibdó, Colombia.
Recolección de campo		-	9	León, España.
Recolección de campo		-	1	Ordino-Arcalis, Andorra

3.3 Terminología descriptiva

La terminología utilizada para describir los caracteres generales de la familia Orchidaceae sigue a Dressler (1981, 1993), Dahlgren et al. (1985) y Hickey & King (2000).

En lo referente a las características del polinario se han seguido las terminologías propuestas por: Schill & Pfeiffer (1977); Burns-Balogh (1983); Burns-Balogh & Hesse 1988, Hesse et al. (1989, 2009), Zavada (1990), Dressler (1993), Punt et al. (1994), Freudenstein & Rasmussen (1997, 1999), Johnson & Edwards (2000), Sáenz (2004), Halbritter et al. (2006) y Singer et al. (2008).

Para las descripciones de la anatomía del ovario se tomaron como referencia varios autores: Esaú (1959); Román (1971); Walker (1975); Sterling (1974, 1977, 1978); Stern et al. (1993); Gasser & Robinson-Beers (1993); Kocyan & Endress (2001) y Paniagua et al. (2002).

3.4 Métodos palinológicos

Para la observación del polinario se emplearon básicamente las siguientes técnicas: la observación directa en el estereomicroscopio, observación en el microscopio electrónico de barrido (MEB) y el análisis en los microscopios de campo claro y de fluorescencia. La preparación necesaria para la observación en cada uno de los casos se detalla a continuación.

3.4.1 Análisis en el estereomicroscopio

Los polinarios fueron extraídos cuidadosamente de las anteras tratando de conservar su estructura original. La extracción se realizó

bajo un estereomicroscopio Nikon 11,25x con cámara digital Nikon Dxm1200, y las imágenes obtenidas fueron procesadas con el programa "NIS - Elements F 2,20". Se hicieron fotografías de todas las partes que lo componen (polinios, caudículas, estípites y viscidio) y con diferente corte óptico, para posteriormente integrarlas con los programas CombineZP y Helicon Focus 4.75, para mejorar la nitidez y contraste.

Además, se hicieron anotaciones sobre el color, consistencia y textura de cada una de las estructuras del polinario.

3.4.2 Análisis en el microscopio electrónico de barrido (MEB)

Todos los polinarios de los taxones incluidos en este estudio fueron examinados minuciosamente en el microscopio electrónico de barrido (MEB), para lo cual se prepararon las muestras siguiendo el protocolo de Barone-Lumaga et al. (2006) con algunas modificaciones:

- Los polinarios extraídos de material fresco fueron secados en una estufa a 60°C durante 8 horas. No se realizó el punto crítico debido a que durante este proceso se destruía su estructura original.
- El montaje de los polinarios se realizó en soportes metálicos con cinta adhesiva conductora de doble cara y posteriormente fueron recubiertos con oro-paladio en un equipo de pulverización iónica Balzers modelo SCD004 del Servicio de Microscopía de la Universidad de León.
- Las muestras recubiertas fueron observadas en el microscopio electrónico de barrido JSM 6480 modelo JEOL versión 1.1 del

Servicio de Microscopía de la Universidad de León. Los parámetros empleados para la observación fueron 20 kV, 43 de "spotsize". La distancia a la que se tomó la imagen, así como la aplicación del brillo y contraste se hizo de acuerdo a los requerimientos específicos de cada muestra.

Para detallar mejor las estructuras, dependiendo de sus dimensiones fueron fotografiadas a diferente aumento así: polinario (40X), polinios (45X), tétrades (2300X), caudícula (550X), estípite (50X) y viscidio (150X), excepto en el caso de los polinarios de las especies *Catasetum viridiflavum* y *Anguloa clowesii* cuyos tamaños eran demasiado grandes y los caracteres relativos a las longitudes del polinario, de los polinios y del estípite se tomaron a un aumento de 18X, la forma y longitud del viscidio se registró a 25X.

3.4.3 Análisis en los microscopios de campo claro y de fluorescencia

Para resolver las dudas no resueltas en el MEB sobre el tipo de unidad polínica de algunos taxones con polinarios compactos, se realizaron preparaciones del polinio tanto de material fresco como acetolizado:

- Montaje al natural. Los polinios fueron fragmentados con pinzas de disección y montados con glicero-gelatina fucsina preparada según la siguiente receta: 7 g de gelatina, 42 ml de agua destilada, 50 g de glicerina pura, 1 g ácido félico cristalizado y una gota de fucsina básica.
- Acetólisis. Las muestras se acetolizaron según el método de Erdtman (1969) ligeramente modificado.
 - Se depositan los polinarios en tubos de centrifuga, a los que se añaden 3 ml de ácido acético glacial en cada tubo.

- Se centrifuga durante 2,5 minutos a 2500 rpm y se decanta.
- A continuación se coloca una varilla de vidrio en cada tubo de centrifuga, y se añaden 2,5 ml de la mezcla acetolítica (1:9 ácido sulfúrico - anhídrido acético). Se agitan con cuidado y se mantienen en un baño maría a una temperatura de entre 70-80°C durante un tiempo variable según la muestra, que en nuestro caso, varió entre 2-3 minutos.
- Posteriormente, se centrifuga durante 2,5 minutos y se decanta.
- Para eliminar los triacetatos se añade 3 ml de ácido acético glacial, se agita, se centrifuga durante 2,5 minutos a 2500 rpm y se decanta.
- A continuación, se procede al lavado del residuo en 3 ml de alcohol al 70%, se agita.
- Se centrifuga durante 2,5 minutos a 2500 rpm y se decanta (se repite el mismo proceso dos veces más, con alcoholes al 90% y al 96,5%).

Una vez acetolizadas las muestras se procede a su montaje en glicero-gelatina.

Posteriormente fueron examinados y fotografiados con los microscopios de campo claro Nikon Eclipse 80i y el de fluorescencia Nikon Eclipse E600 con dispositivos de Cámaras digitales Nikon y procesadas con el programa "NIS - Elements F 2,20".

3.5 Métodos anatómicos

3.5.1 Elaboración de las preparaciones microscópicas

Las muestras secas de ovarios fueron rehidratadas con una serie de alcoholes (96,5%, 85%, 70%, 50%, 30%), por inmersión durante 2 horas en los cuatro primeros y 8 horas en el último. Estas muestras al igual que las procedentes de material fresco fueron fijadas en FAA (formol-ácido acético-alcohol 90:5:5). A continuación se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso FAA y luego sumergidas en hidrato de cloral (80 g de hidrato de cloral 1017901 en 20 ml de agua destilada) durante 2 horas, para completar la hidratación y aclarar parcialmente los tejidos.

Las secciones transversales del ovario se hicieron con una plataforma de congelación AS 207/50 adaptada a un micrótopo Leitz 1320, que permite obtener cortes de 10-15 μm de espesor. También se realizaron cortes finos con cuchillas a mano alzada bajo el estereomicroscopio.

En todas las especies los cortes seleccionados pertenecen a la zona simplicada y fértil del ovario, con el fin de tener un criterio uniforme en las descripciones anatómicas de este órgano reproductivo.

Todos los cortes de ovario fueron conservados en FAA, rotulados y etiquetados, para su posterior examen y se ha creado una colección histológica con los cortes de ovario de los taxones de la familia Orchidaceae, que se conserva en el herbario CHOCO.

3.5.2 Análisis en los microscopios de campo claro y de fluorescencia

Los cortes del ovario fueron observados y fotografiados con el microscopio óptico de campo claro Nikon Eclipse 80i y con el microscopio de fluorescencia Nikon Eclipse E600 con lámpara de mercurio alta presión de 100 vatios y dispositivo de Cámara digital Nikon Dxm1200, programa "NIS-Elements F 2,20". Se iluminaron las muestras con diferentes longitudes de onda, desde el ultravioleta hasta el infrarrojo, y se eliminó la luz blanca hasta encontrar la mejor observación de los tejidos.

Las imágenes fueron tomadas con diferente objetivo de aumento así: Ovario (4X), carpelos (10X), epidermis (40X), haces vasculares (20X), lóculo (10X) y óvulos (20X). Posteriormente fueron utilizadas para interpretar la estructura, composición y caracteres particulares del ovario en cada taxón analizado.

No fue necesaria la tinción de los tejidos, debido a que la mayor parte de las muestras presentaban autofluorescencia en las paredes lignificadas o no de las células, permitiendo observar con claridad la organización anatómica en el corte histológico.

3.6 Caracteres seleccionados

Producto de la extensa revisión bibliográfica y del estudio del material de esta investigación, se elaboró un listado de los caracteres morfológicos de la planta y flor, del polinario y de la anatomía del ovario (Tabla 4). No obstante, en cada apartado de los resultados aparecen puntualizados los estados de carácter de acuerdo al grupo que se esté analizando.

Algunos caracteres como: Color del polinio en material fresco, tipo de óvulo, tipo y espesor de la cutícula, estomas, fluorescencia en las paredes no lignificadas, esclerénquima en el carpelo, cristales de oxalato de calcio y cristales de flavonoides, fueron imposibles de observar en todos los taxones por lo lábil del material.

Tabla 4. Caracteres morfológicos, palinológicos y anatómicos usados en el estudio.

Nº.	Caracteres
1	Hábito de crecimiento
2	Número de estambres
3	Orientación de la antera
4	Número de lóculos por antera
5	Número de polinios
6	Presencia de polinario
7	Número de polinarios
8	Longitud del polinario
9	Número de polinios
10	Longitud del polinio
11	Forma del polinio
12	Disposición de los polinios
13	Color de los polinios en material fresco
14	Presencia de sutura en el polinio
15	Ubicación de la sutura en el polinio
16	Anchura de la sutura en el polinio
17	Textura de los polinios
18	Unidad polínica
19	Organización de las mónades dentro del polinio
20	Organización de las tétrades dentro del polinio
21	Forma de las tétrades
22	Distinción de las tétrades
23	Periferia de la tétrade
24	Organización de las másulas dentro del polinio
25	Forma de las másulas
26	Apertura del grano de polen
27	Ornamentación del grano de polen
28	Presencia de caudícula
29	Número de caudículas
30	Tipo de caudícula
31	Longitud de la caudícula

-
- 32 Tipo de unión caudícula-polinio
 - 33 Presencia de estípite
 - 34 Tipo de estípite
 - 35 Longitud del estípite
 - 36 Forma del estípite
 - 37 Presencia de viscidio
 - 38 Tipo de viscidio
 - 39 Longitud del viscidio
 - 40 Forma del viscidio
 - 41 Número de viscidios
 - 42 Presencia de elastoviscina
 - 43 Número de carpelos
 - 44 Carpelos fértiles
 - 45 Forma del carpelo
 - 46 Uniformidad de los carpelos
 - 47 Unión de los carpelos
 - 48 Paredes de los carpelos
 - 49 Tipo de epidermis del carpelo
 - 50 Tipo de cutícula del carpelo
 - 51 Tipo de tricomas del carpelo
 - 52 Tipo de parénquima del carpelo
 - 53 Longitud del parénquima del carpelo
 - 54 Presencia de espacios intercelulares en el parénquima del carpelo
 - 55 Presencia de esclerénquima
 - 56 Presencia de cristales de oxalato de calcio en el parénquima del carpelo
 - 57 Presencia de cristales de flavonoides en el parénquima del carpelo
 - 58 Fluorescencia en paredes de células no lignificadas del ovario
 - 59 Número de haces vasculares ventrales
 - 60 Número de haces vasculares dorsales
 - 61 Número de haces vasculares laterales
 - 62 Tipo de haz vascular
 - 63 Número de lóculos del ovario
 - 64 Zona simplicada del ovario
 - 65 Placentación
 - 66 Disposición de los óvulos en la placenta
 - 67 Tipo de óvulo
 - 68 Tricomas intraováricos sobre el funículo y la placenta
-

3.7 Mediciones del polinario y del pistilo

Las mediciones tanto del polinario, como de sus estructuras accesorias y del corte histológico del pistilo, se realizaron sobre las imágenes con el programa de medición "Nis-Element AR 3.1", para lo cual fue necesaria la calibración del programa de acuerdo a la escala de cada imagen. El programa proporciona datos de cada medición y automáticamente los envía a una hoja de Microsoft Excel.

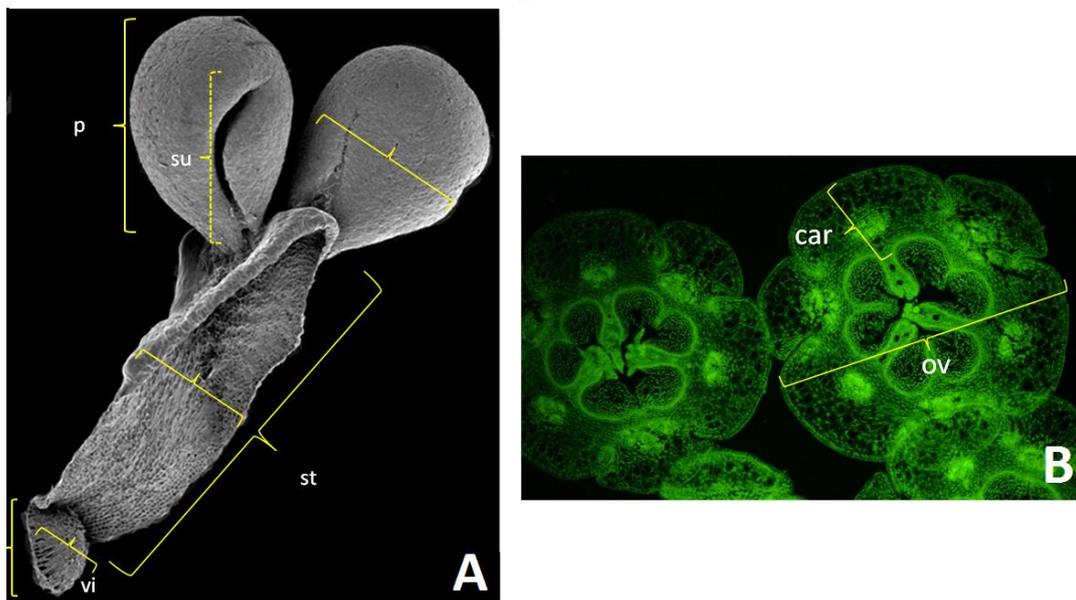


Figura 12. Imágenes al Microscopio electrónico de barrido (A) y microscopio de fluorescencia (B). Mediciones realizadas en el polinario (A) y en el corte histológico del ovario (B). P: Polinio, su: Sutura, st: Estípite, vi: Viscidio, car: Carpel, ov: Óvulo.

Se tomaron las medidas de longitud y anchura de todas las estructuras del polinario y ovario (Fig. 12).

3.8 Análisis con datos moleculares

Para contrastar la información obtenida con las propuestas actuales de clasificación, se obtuvieron secuencias de marcadores moleculares plastidiales, concretamente *matK*, de la base de datos del "National Center for Biotechnology Information - Gen Bank"

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), concretamente pertenecen a algunos taxones de las subfamilias Apostasioideae, Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae y Epidendroideae (Tabla 5).

Tabla 5. Listado de taxones y accesiones de acceso de *matK* obtenidas de *GenBank*.

Taxones	Número en GenBank
Apostasioideae	
<i>Apostasia wallichii</i> R. Br.	AY557212.1
<i>Neuwiedia veratrifolia</i> Blume.	AY557211.1
Vanilloideae	
<i>Cleistis rosea</i> Lindl.	AJ310006.1
<i>Vanilla planifolia</i> Andrews.	AJ310079.1
Cyripedioideae	
<i>Phragmipedium besseae</i> Dodson and Kuhn.	EU490701.1
<i>Phragmipedium longifolium</i> (Rchb.f. and Warsz) Rolfe.	AY557204.1
<i>Selenipedium chica</i> Rchb.f.	AY368381.1
Orchidoideae	
<i>Ophrys apifera</i> Huds.	AJ310049.1
<i>Spiranthes spiralis</i> (L.) Chevall.	AJ543918.1
Epidendroideae	
<i>Angraecum distichum</i> Lindl.	DQ091324.1
<i>Angraecum sesquipedale</i> Thouars	AF263621.1
<i>Arundina graminifolia</i> (D.Don) Hochr.	AF302692.1
<i>Barbosella cucullata</i> (Lindl.) Schltr.	AF265483.1
<i>Houlletia wallisii</i> Linden and Rchb.f.	AF239465.1
<i>Maxillaria cucullata</i> Lindl.	DQ209871.1
<i>Miltoniopsis roezlii</i> (Rchb.f.)	FJ565165.1
<i>Ornithocephalus bicornis</i> Lindl.	FJ565126.1
<i>Stanhopea wardii</i> Lodd. ex Lindl.	EU214490.1
<i>Tolumnia variegata</i> (Sw.) Braem	AF350612.1
<i>Trigonidium egertonianum</i> Bateman	AF239425.1
<i>Vanda coerulea</i> Griff. ex Lindl	AB217772.1

Para el análisis de estas secuencias se siguió el procedimiento habitual: las secuencias fueron alineadas inicialmente de forma automática y luego se realizaron reajustes manuales con el programa MEGA5 (Tamura et al. 2011). Las secuencias se guardaron en

formato Fasta compatible con el programa PAUP* 4.0b10 (Swofford 2002) en el que se realizó el análisis filogenético.

Posteriormente, para inferir los posibles conflictos existentes se realizó la comparación de la topología del árbol producido con secuencias de *matK*, con el árbol resultante de datos palinológicos y anatómicos con el fin de relacionar la evolución de ambas estructuras con la diversificación de nuestros grupos de estudio.

3.9 **Análisis filogenético**

Todos los análisis filogenéticos fueron realizados con PAUP* 4.0b10 (Swofford 2002). Los caracteres cuantitativos y cualitativos se codificaron usando diferentes rangos de acuerdo a su variación. Los caracteres se consideraron no ordenados y se les asignó el mismo peso. El criterio de optimización usado fue el de parsimonia con el algoritmo de intercambio de ramas TBR (*Tree Bisection-Reconnection*). Se fijó un límite máximo de 1000 árboles (con incremento automático de 100). El número de replicas realizadas fue de 1000 adicionando 1 árbol en cada paso, los valores de parsimonia de cada clado fueron calculados con el análisis de *bootstrap* haciendo 1000 réplicas. Los árboles resultantes se dibujaron con TreeView (Page, 2000) y Fig Tree v1.3.1 (Rambaut 2009).

Se utilizaron como grupo externo (*outgroup*) taxones de las familias Blandfordiaceae, Boryaceae e Hypoxidaceae, muy próximos a Orchidaceae y que pertenecen al mismo orden Asparagales.

3.10 Presentación de los resultados y discusión

Los resultados y discusión de esta investigación se presentan en diferentes apartados y cada uno de ellos se inicia con una introducción.

En el primero, se exponen las relaciones y semejanzas de los caracteres de la familia Orchidaceae con algunos taxones del orden Asparagales, con los que se ha relacionado como posibles antecesores.

En los apartados del dos a cuatro se analizan los caracteres del polinario y pistilo en las cinco subfamilias de Orchidaceae:

En el segundo se estudian las relaciones entre las subfamilias Apostasioideae, Vanilloideae y Cypripedioideae, en las cuales están presentes los caracteres más primitivos del polen y del pistilo en la familia. La información generada se analiza filogenéticamente y el árbol resultante se optimiza con datos moleculares.

El apartado tercero trata de la importancia taxonómica de los caracteres del polinario en la tribu Cranichideae (Orchidoideae).

El cuarto está enfocado a Epidendroideae que es la más numerosa y diversa de todas las subfamilias de Orchidaceae; en la primera parte de este cuarto apartado, se describe la morfología del polinario de la subtribu Laeliinae, grupo muy importante dentro de la subfamilia Epidendroideae porque en él se observa la tendencia evolutiva a la reducción y multiplicación en el número de polinios y en la segunda parte de este apartado aparece un análisis pormenorizado sobre la transformación de los caracteres del polinario y del ovario, de un grupo muy representativo compuesto por 8 tribus y 18 subtribus de esta subfamilia. Los caracteres son analizados

filogenéticamente y comparados con un árbol resultante de análisis de datos de ADN (Chase et al. 2003).

Por último, en el apartado quinto, se hace una discusión general en forma de clave. Se analiza la estabilidad de los caracteres, se discute su importancia taxonómica y posibles adaptaciones en ambas direcciones entre el polen y el pistilo de la familia Orchidaceae.



Resultados y discusión

4.1 Comparación de los caracteres de Orchidaceae con las restantes familias de Asparagales

La familia Orchidaceae, objeto de esta investigación pertenece al orden Asparagales, que se considera que tiene, probablemente, el mayor índice de diversificación de las monocotiledóneas. No obstante, en este clado la mayor diversidad está presente en Orchidaceae (Stevens 2001).

El análisis comparado entre los caracteres de los órganos reproductivos de la familia Orchidaceae y los presentes en el resto de familias del orden Asparagales (Tabla 6), indican que más del 80% de los caracteres de Orchidaceae son derivados (Tabla 7), como por ejemplo: la columna, unidad polínica en tétrades, másula y/o polinio, ovario ínfero unilocular, óvulos numerosos con placentación parietal, ausencia de nectarios septales y carpelos cerrados con pocos haces vasculares. Sin embargo, en Orchidaceae persisten algunos caracteres primitivos como los 3 o 2 estambres, polen en mónade, ovarios triloculares con placentación axilar y carpelos muy vascularizados.

El orden Asparagales contiene 14 familias (Stevens 2001). Los taxones que lo integran se caracterizan por tener una microesporogénesis simultánea y flores hipóginas, ambos caracteres son considerados sinapomorfias en el grupo, aunque también se ha mencionado que sufren reversiones pasando a tener microesporogénesis sucesiva y flores epíginas (Fay et al. 2000).

Tabla 6. Resumen comparado de los estados de carácter de los órganos reproductivos en Asparagales (Stevens 2001). Convenciones: Sin información (?).

Familia	Caracteres										
	Nº estambres	Unidad polínica	Posición del ovario	Nº Carpelos	Nº Lóculos	Nº Óvulos	Columna /ginostemo	Placentación	Haces vasculares	Tricomas intraováricos	Nectarios septales
Amarillidaceae	6	Mónade	Ínfero	3	1 o 3		Ausente	Axilar o basal	?	Ausente	Presente
Asparagaceae	6	Mónade	Súpero	3	3	2-12 por lóculo	Ausente	Axilar	Ventrales y laterales	Ausente	Presente
Asteliaceae	6	Mónade	Súpero o semi-íntero	3 - (-7)	1 o 3	30-36	Ausente	Parietal	Ventrales y dorsales	Presente	Presente
Blandfordiaceae	6	Mónade	Súpero	3	3	200	Ausente	Axilar	Ventrales y dorsales	Ausente	Presente
Boryaceae	6	Mónade	Súpero	3	3	40-50	Ausente	Axilar	?	Ausente	Presente
Doryanthaceae	6	Mónade	Íntero	3	1 o 3	250	Ausente	Axilar	Ventrales	Ausente	Presente
Hypoxidaceae	6 o 3	Mónade	Íntero	3	1 o 3	28-120	Presente	Axilar	Ventrales y laterales	Ausente	Ausente
Iridaceae	3 o 2	Mónade	Súpero	3	1 o 3	Numerosos	Ausente	Parietal /Axilar	?	Ausente	Presente
Ixioliriaceae	6	Mónade	Íntero	3	3	Numerosos	Ausente	Axilar	Ventrales y laterales	Ausente	Presente
Lanariaceae	6	Mónade	Semi-íntero	3	3	2/lóculo	Ausente	Axilar	?	Ausente	Presente
Tecophilaeaceae	6	Mónade	Súpero o semi-íntero	3	3	Numerosos	Ausente	Axilar	?	Ausente	Presente
Xanthorrhoeaceae	6	Mónade	Súpero	3	3	Pocos	Ausente	Axilar	Ventrales y laterales	Ausente	Presente
Xeronemataceae	6	Mónade	Súpero	3	3	Numerosos	Ausente	Axilar	?	Ausente	Presente
Orchidaceae	3, 2 o 1	Másula, Mónade o tétrade	Íntero	3 o 6	1 o 3	Numerosos	Presente	Parietal /Axilar	Ventrales, dorsales y laterales	Ausente/ presente	Ausente

Tabla 7. Estructuras del pistilo de las familias de Asparagales con sus respectivos estados de carácter.

Caracteres	Estados de carácter		
	Primitivo	Derivado	Reversibilidad
Carpelos	Abiertos	Cerrados	No
Nº de Lóculo	Igual que el número de carpelos	Unilocular	si
Ovario	Súpero	Semi-ínfero o ínfero	No
Nº Óvulos	Pocos	Muchos	Si
Ginostemo/Columna	Ausente	Presente	No
Placentación	Axilar	Parietal	No
Haces vasculares	Muchos	Pocos	No
Nectarios	Presentes	Ausentes	Si

Sin embargo, las descripciones de flores de los miembros de Asparagales indican al menos tres estados en la posición del ovario. Asparagaceae, Blandfordiaceae, Boryaceae, Iridaceae, Xanthorrhoeaceae, Xeronemataceae y algunos miembros de Asteliaceae y Tecophilaeaceae presentan un ovario súpero. Por el contrario, en Tecophilaeaceae y algunos taxones de Asteliaceae y Lanariaceae el ovario es semi-ínfero. Por último los ovarios ínferos están presentes solo en: Amarillidaceae, Doryanthaceae, Hypoxidaceae Ixioliriaceae y Orchidaceae (Dahlgren et al. 1985; Rudall 2003).

En las relaciones filogenéticas de Asparagales (Kocyan 2007; Chase et al. 2006), en el cual la familia Orchidaceae se sitúa como grupo hermano del resto de Aparagales (Fig. 13), muy próxima al clado formado por Blandfordiaceae, Asteliaceae, Lanariaceae e Hypoxidaceae (Chase et al. 2006), o adicionando Boryaceae a los anteriores taxones (Fay 2000). Sin embargo, algunas similitudes en los caracteres morfológicos entre Hypoxidaceae y Orchidaceae indican una relación estrecha entre ambas familias, más que con cualquier otra de Asparagales (Rudall & Bateman 2002).

Se ha considerado, que la subfamilia Apostasioideae (Orchidaceae) se deriva de Hypoxidaceae (Hutchinson 1959), o al

menos tiene vínculos estrechos particularmente con los géneros *Pauridia* (Fig. 14A,D), *Hypoxis* (Fig. 14B,E) y *Curculigo* (Stern 1993; Kocyan 2007). Los caracteres semejantes a los que se hace alusión son entre otros la microesporogénesis sucesiva, numerosas semillas diminutas y la carencia de nectarios florales (Dahlgren et al. 1985; Smets et al. 2000; Rudall & Bateman 2002; Kocyan 2007).

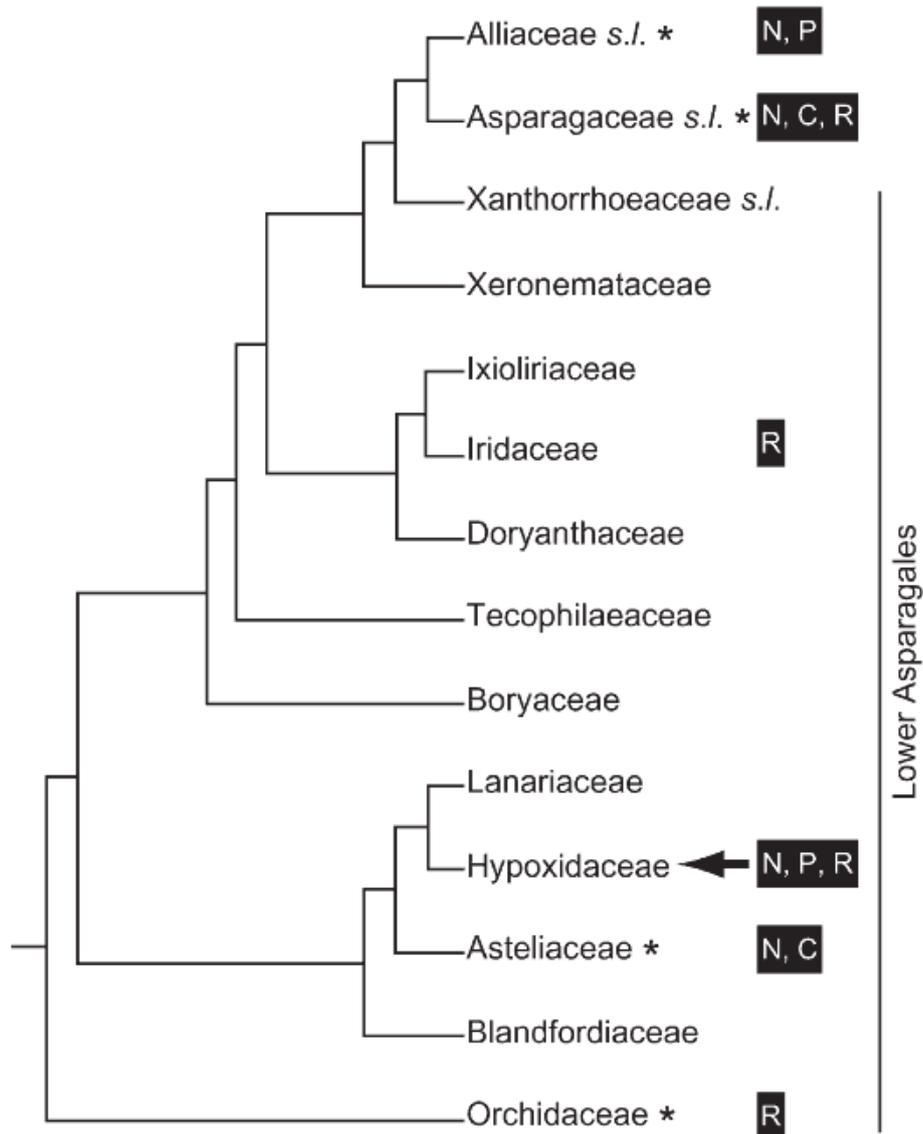


Figura 13. Cladograma que refleja las relaciones entre las familias de Asparagales. Se indica el tipo de variación en el número de estambres: N (6, número normal de estambres), P (poliandros), C (Cambio del número de estambres) y R (reducción de estambres) (Fuente: Chase et al. 2006).

A los caracteres anteriores, se suma que el género *Pauridia* comparte con el resto de Orchidaceae la existencia del ginostemo y

particularmente con *Neuwiedia* (Fig. 14C,F) la presencia de tres estambres. En Orchidaceae la formación de la columna fue precedida por la simetría floral zigomorfa, mientras tanto en *Pauridia* (Hypoxidaceae) el ginostemo rudimentario no conllevó al cambio de simetría (Rudall & Bateman 2002).

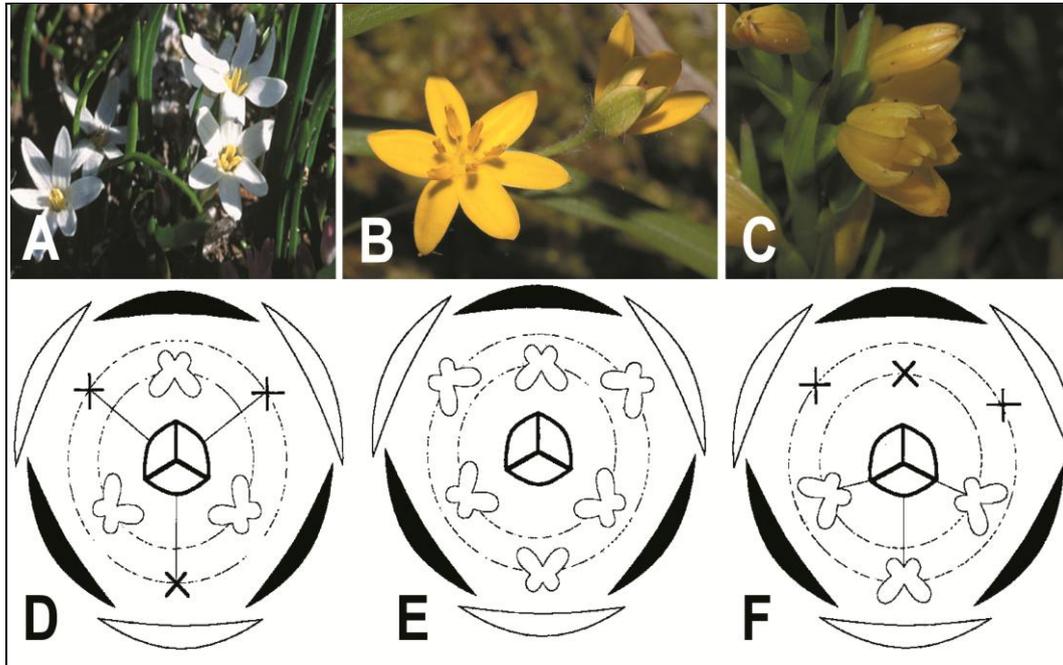


Figura 14. Flores y diagramas florales de: *Pauridia longituba* (A, D), *Hypoxis hirsuta* (B, E), *Neuwiedia veratrifolia* (C, F).

En las orquídeas la reducción del número de estambres pasó de tres, a dos y a uno, mientras que en Hypoxidaceae además de la reducción de seis a tres estambres como en *Pauridia*, se produjo la multiplicación de seis a numerosos (Kocyan 2007; Kocyan et al. 2011).

Por otro lado, en monocotiledóneas la presencia de nectarios florales en el gineceo ha sido considerada una sinapomorfia (Dahlgren & Rasmussen 1983; Rudall & Furness 1997; Smets et al. 2000). Los nectarios florales están asociados con los mecanismos de polinización en monocotiledóneas. No obstante, la ausencia de estos se ha relacionado con novedosos modos de atracción tales como aceites, perfumes florales, polen, etc. (Vogel 1981; Smets et al. 2000).

4.2. Estudio del polen y pistilo de las subfamilias Apostasioideae, Vanilloideae y Cypridioideae

Las subfamilias Apostasioideae y Cypridioideae presentan caracteres considerados plesiomórficos (Garay 1960; Dahlgren et al. 1985; Dressler 1993; Judd et al. 1993), la presencia de flores triandras, androceo con clara distinción de anteras y filamento, la pobre fusión del androceo y gineceo, la ausencia de un polinario, dos estambres fértiles, un estaminodio prominente en la zona media y un sinsépalo compuesto por sépalos laterales fusionados en Cypridioideae, ratifican su condición primitiva (Cox et al. 1997). Ambas subfamilias junto con *Vanilla* (Vanilloideae) presentan granos de polen en mónades.

La subfamilia Apostasioideae (Lindley 1853) solo contiene dos géneros *Neuwiedia* y *Apostasia*, que incluyen menos de 20 especies de distribución restringida a Asia tropical y Australasia (Dressler 1993). Las relaciones entre *Apostasia* y *Neuwiedia*, así como la posición de estos dos géneros con respecto a las otras orquídeas han sido motivo de controversia (Kocyan & Endress 2001). La relación tan estrecha entre estos géneros y sus diferencias con el resto, llevó a que fueran ubicados en una familia propia Apostasiaceae (Hutchinson 1959; Melchior 1964; Vermeulen 1965, 1966; Rao 1974), esta nueva familia fue situada en Haemodorales por sus caracteres florales y fue relacionada filogenéticamente con Hypoxidaceae, particularmente con *Curculigo* (Hutchinson 1959; Rao 1974). Posteriormente fue considerada como una subfamilia dentro de Orchidaceae (Dressler 1981, 1993; Burns-Balogh & Funk 1986; Cameron et al. 1999).

Cypridioideae son conocidas comúnmente como "zapatillas de dama". La mayoría de los autores reconocen solo cuatro géneros (*Cypridium*, *Paphiopedilum*, *Phragmipedium* y *Selenipedium*) sin

embargo, un quinto género (*Mexipedium*) fue creado para resolver conflictos taxonómicos entre *Phragmipedium* y *Paphiopedilum* (Albert & Chase 1992); las cerca de 100 especies de esta subfamilia son muy variadas en cuanto a su hábito de crecimiento y están ampliamente representadas en Europa, Asia y América tropical (Rosso 1966; Burns-Balogh & Hesse 1988; Dressler 1993).

Vanilloideae es de distribución pantropical, crece como bejucos, trepadoras o hierbas (Pridgeon 2009), está compuesta por las tribus Pogoniieae y Vanillineae (Chase et al. 2003); en esta subfamilia la existencia de la antera incumbente y un polinio pobremente organizado ha llevado a que sea relacionada con Epidendroideae (Dressler 1993, Chase et al. 2003;) no obstante también comparte caracteres plesiomórficos con Apostasioideae y Cyripedioideae.

En Orchidaceae los caracteres florales han sido fundamentales para la realización de las diferentes clasificaciones tanto fenéticas como filogenéticas. Rutkowski (2011) realizó una clasificación de Orchidaceae usando 146 caracteres relativos al ginostemo y polen. Freudenstein & Rasmussen (1999) realizaron un análisis cladístico con caracteres florales en el que incluyeron los miembros de Apostasioideae, Vanilloideae y Cyripedioideae, encontrando nuevas variaciones con respecto a las clasificaciones en la familia.

Los caracteres anatómicos tanto vegetativos como florales también han servido para determinar la posición filogenética de *Apostasia* y *Neuwiedia* (Rao 1974; Judd et al. 1993; Stern et al. 1993; Kocyan & Endress 2001); y los caracteres relativos al tipo y cohesión del polen en Orchidaceae han sido usados como herramienta taxonómica para la identificación y diferenciación de las subfamilias dentro de Orchidaceae (Schill & Pfeiffer 1977; Johnson & Edwards 2000).

Teniendo en cuenta que aún falta por profundizar en la anatomía del pistilo y en los caracteres polínicos de Apostasioideae, Vanilloideae y Cypridioideae, en esta investigación nos planteamos aportar información sobre el proceso gradual de la fusión postgénita en el ovario y las posibles reversiones experimentadas en los grupos analizados (Apéndice 1). También se analizan los caracteres de forma, ornamentación y apertura de los granos de polen y se determinan las relaciones entre taxones de acuerdo a las afinidades en los caracteres analizados. Los caracteres morfológicos, palinológicos y anatómicos seleccionados que ayudaron en la separación e interpretación de los taxones reconocidos en la familia Orchidaceae y del grupo de comparación compuesto por familias de Asparagales (Furness & Rudall 1998, 1999; Kocyan & Endress 2001; Rudall 2003; Penet et al. 2005) se encuentran detallados en la tabla 8.

Tabla 8. Caracteres multiestado utilizados en el análisis y estados de carácter presentes en Apostasioideae, Vanilloideae y Cypridioideae.

Nº.	Caracteres
1.	Hábito de crecimiento: terrestre (0), epífita (1)
2.	Flores: no resupinadas (0), resupinadas (1)
3.	Simetría del perianto: actinomorfas (0), zigomorfas (1)
4.	Adnación del androceo al gineceo: ausente (0), presente (1)
5.	Número de estambres: seis (0), tres (1), dos (2), uno (3)
6.	Orientación de las antera: no incumbentes (0), incumbentes (1)
7.	Dehiscencia de la antera: poricida (0), longitudinal (1)
8.	Dirección de la dehiscencia de la antera: latrorsa (0), introrsa (1)
9.	Polinio: ausentes (0), presentes (1)
10.	Número de polinios: ausente (0), cuatro (1), ocho (2) dos (3)
11.	Textura de los polinios: ausente (0), granular (1), séctil (2), compacto (3)
12.	Polinios bipartidos: ausentes (0), tipo Orchidoideae (1), tipo Epidendroideae (2)
13.	Disposición de los polinios: ausente (0), yuxtapuestos (0), superpuestos (1)
14.	Unidad polínica: mónade (0), tétrade (1), másulas (2)
15.	Apertura del grano de polen: sulco (0), porado (1), inaperturado (2)
16.	Ornamentación de la exina: reticulada (0), gemada (1), rugulada (2), perforada (3), fosulada (4), fosulada – perforada (5), perforada (6), psilada (7)

17. Tipo de Exina: semitectada (0), tectada (1)
 18. Elastoviscina: ausente (0), presente (1)
 19. Tipo de caudícula: ausente (0), apendicular (1), frenicular (2)
 20. Estípite: ausente (0), presente (1)
 21. Viscidio: ausente (0), presente (1)
 22. Número de carpelos: tres (0), seis (1)
 23. Uniformidad de los carpelos: isomórficos (0), heteromórficos (1)
 24. Paredes de los carpelos: distinguibles (0), no distinguibles (1)
 25. Carpelos fértiles: todos (0), algunos (1)
 26. Ovario: trilocular (0), Unilocular (1)
 27. Posición del ovario: súpero (0), ínfero (1)
 28. Zona simplicada del ovario: carpelos con fusión postgénita (0), carpelos con formación del tejido postgénito contiguo no fusionado (1), carpelos sin formación postgénita (2)
 29. Tipo de placentación: axilar (0), parietal (1)
 30. Disposición de los óvulos en la placenta: lineal (0), difusa (1)
 31. Tipo de óvulo: anátropo (0), ortótropo (1), campilótropo (2)
 32. Óvulos: bitégmicos (0), unitégmico (1)
 33. Tricomas intraovariales sobre el funículo y la placenta: ausente (0), presente (1).
 34. Vascularización de la placenta: muy vascularizada (0), poco vascularizada (1), sin vascularización (2)
 35. Haces vasculares ventrales y dorsales: ausentes (0), presentes (1)
 36. Haces vasculares solo ventrales: ausentes (0), presentes (1)
 37. Tipo de haz vascular: colateral (0), concéntrico perixilemático (1)
 38. Tipo de cutícula del pistilo: lisa (0), ondulada (1), crestada (2)
 39. Superficie externa del pistilo: glabra (0), pubescente (1)
 40. Fluorescencia en paredes de células no lignificadas del ovario: ausente (0), presente (1)
 41. Esclerénquima: ausente (0), presente (1)
 42. Cristales de oxalato de calcio: ausente (0), drusas o rafidios (1)
 43. Tipo de fruto: cápsula (0), baya (1)
 44. Semillas: pocas (0), muchas (1)
 45. Semillas con fitomelanina: ausente (0), presente (1)
 46. Velamen: ausente (0), presente (1)
 47. Nectario floral: infralocular (0), sin nectarios (1)
 48. Micoheterotrofia: ausente (0), micorrícicas tipo estandarizado vesicular-arbuscular "VA" (1)
 49. Endospermo: ausente o poco (0), presente (1)
-

4.2.1 Caracterización palinológica y anatómica del pistilo

Se presentan los resultados de los caracteres del polen y la anatomía del pistilo de Apostasioideae (*Apostasia* y *Neuwiedia*), Vanilloideae (*Cleisthes* y *Vanilla*) y Cyripedioideae (*Cyripedium*, *Paphiopedilum*, *Phragmipedium* y *Selenipedium*). Además se realizaron los diagramas florales con base en los datos morfológicos, que permiten apreciar las diferencias entre el grupo de estudio y aquellos relacionados (Fig. 15).

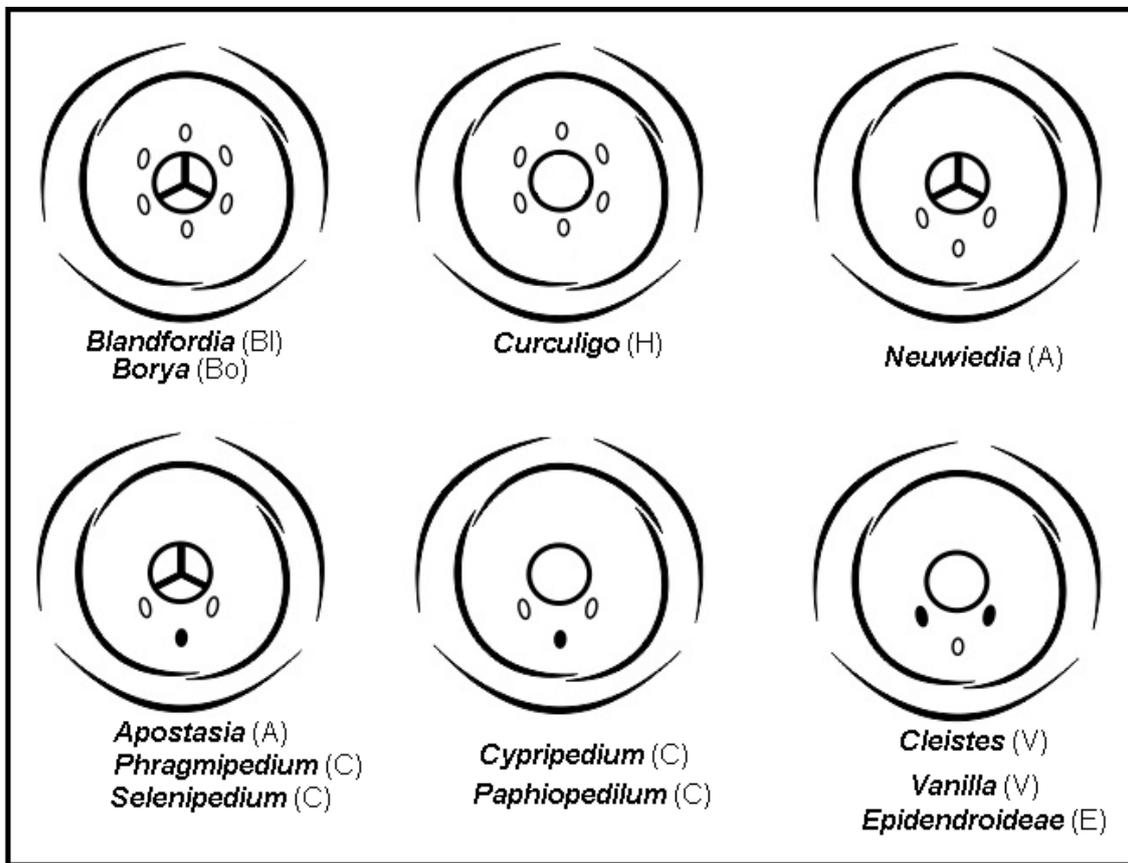


Figura 15. Diagramas florales de Blandfordiaceae (Bl), Boryaceae (Bo), Apostasioideae (A), Cyripedioideae (C), Vanilloideae (V) y Epidendroideae, con esquematización del número de estambre (X) estaminodios () y número de lóculos.



Figura 16. Imagen de las flores de: A. *Apostasia stylidioides* (Apostasioideae), B. *Phragmipedium longifolium* (Cypripedioideae) y C. *Cleisthes rosea* (Vanilloideae).

➤ Subfamilia Apostasioideae

Apostasia

Apostasia stylidioides (Fig. 16A) y *A. wallichii*, presentan dos anteras con grano de polen en mónade, pequeño (10 – 15 μm diámetro ecuatorial y de 8,2 – 10 μm de eje polar), heteropolar, oblato, monosulcado, reticulado, semitectado, con poca elastoviscina (Fig. 18A-C).

El género *Apostasia* presenta un ovario cuyo diámetro oscila entre 1,3 – 1,6 mm, trilocular (Fig. 21A-B), con tres carpelos isomórficos, todos fértiles. La zona ventral de cada carpelo se encuentra fusionada postgénitamente a lo largo de la zona simplicada del ovario. La placentación es axilar. Se observó que el tejido de la placenta puede estar muy vascularizado en *A. wallichii* o carecer de vascularización en *A. stylidioides*. En este género es característica la presencia de numerosos óvulos. La vascularización de los carpelos está bien diferenciada, con la presencia de haces concéntricos perixilemáticos en *A. wallichii* y colaterales en *A. stylidioides* en ambos individuos su posición es ventral y dorsal. La pared externa del ovario presenta cutícula lisa y glabra. Los especímenes analizados

presentan autofluorescencia por incidencia de luz ultravioleta, azul o verde. La luz UV es la más absorbida por los tejidos, incluso en las paredes con células no lignificadas.

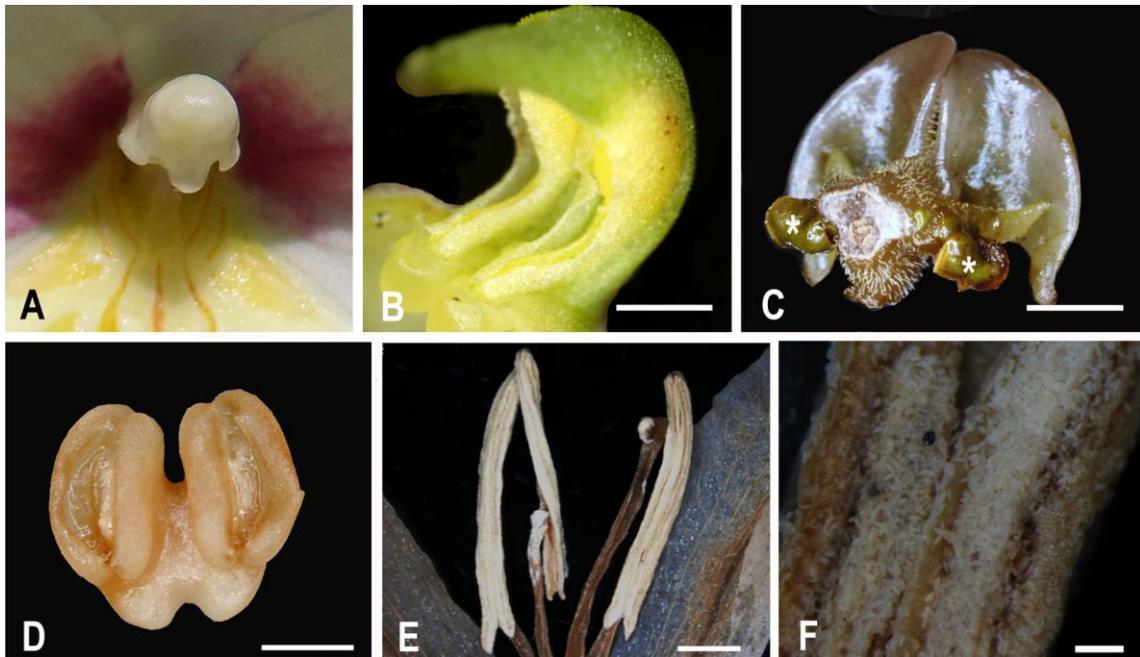


Figura 17. Imágenes del androceo al esteromicroscopio. A. Antera de *Miltoniopsis roezlii* (Epidendroideae), B. Ophrys apifera (Orchidoideae), C. Anteras de *Paphiopedilum callosum* (Cyripedioideae) señaladas con estrellas, D. Anteras de *Phragmipedium longifolium*, E - F. Anteras y su detalle de *Neuwiedia veratrifolia*. Escala: B-E = 2µm, F = 0.1 µm.

Neuwiedia

Neuwiedia veratrifolia, posee tres anteras (Fig. 17E-F), el grano de polen es una mónade de aproximadamente 22 - 25 µm de diámetro ecuatorial y de 11 - 12,5 µm de eje polar, heteropolar, oblato, monosulcado, con ornamentación reticulada con lúmenes irregulares que disminuyen hacia el extremo del grano de polen, semitectado, sin elastoviscina (Fig. 18D-F).

Esta especie presenta un pistilo de 3,1 mm de anchura, ovario trilocular (Fig. 21C), con tres carpelos iguales en forma y tamaño, todos fértiles. Zona simplicada del ovario con la parte ventral de cada

carpelo solamente contigua sin llegar a la fusión. Placentación parietal, con el tejido de la placenta poco vascularizado; óvulos numerosos. Sistema de vascularización del carpelo compuesto por haces ventrales y dorsales colaterales. Epidermis del ovario con cutícula lisa, delgada, con abundantes tricomas unicelulares y puntiagudos. Se observó autofluorescencia en los tejidos lignificados y no lignificados, siendo más visible en el xilema y parénquima.

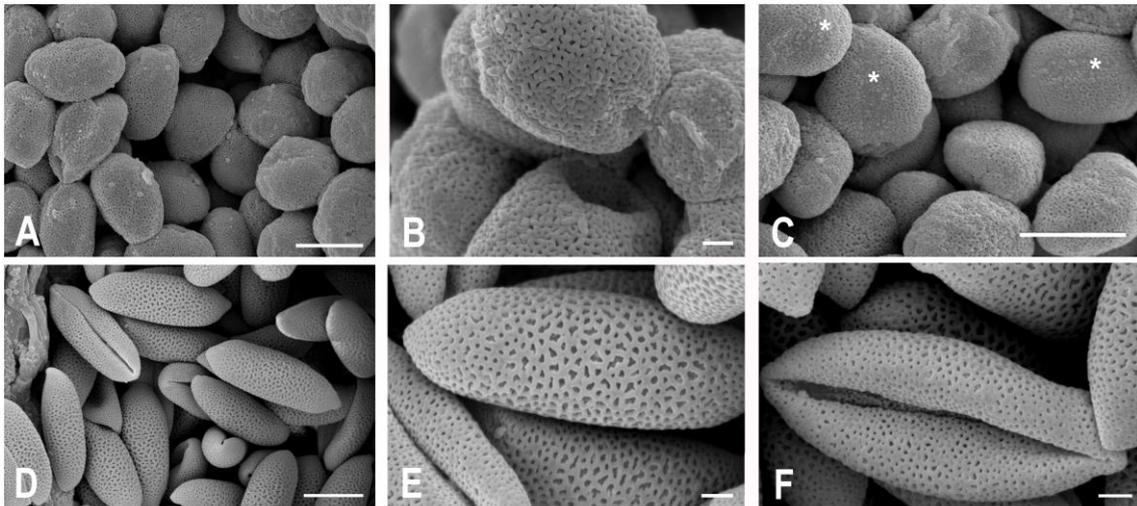


Figura 18. Imágenes del polen de taxones de Apostasioideae al microscopio electrónico de barridos. (A-C) *Apostasia stylidioides*: A. Organización de las mónades en la antera, B. Detalle de la ornamentación reticulada, C. Apertura en sulco, señalado con una estrella; (D-F) *Neuwiedia veratrifolia*: D. organización de las mónades en la antera, E. Detalle de la ornamentación reticulada. F. Vista de la apertura en sulco. Escala: A,C,D = 10 μ m; B,E,F = 2 μ m.

➤ Subfamilia Vanilloideae

Cleistos

Las especies *Cleistos abdita* y *C. rosea* (Fig. 16C) presentan una sola antera incumbente, con polinios granulares, con granos de polen en tétrades?, heteropolares de 27,2 – 29 μ m eje ecuatorial y 35 - 40 μ m de eje polar, inaperturados, tectados, de ornamentación rugulada y con presencia de elastoviscina (Fig. 19A-C).

Este género presenta un ovario unilocular (Fig. 21I), de 0,72 – 0,8 mm de anchura, con seis carpelos heteromórficos, solo tres de ellos fértiles de forma intercalada. Los carpelos tienen la placenta poco vascularizada y prolongada sin llegar a la fusión. El pistilo contiene muchos óvulos, de placentación parietal y con óvulos insertados de forma difusa. A nivel vascular, los carpelos presentan solo haces ventrales de tipo concéntrico perixilemático, la pared externa del pistilo es glabra con cutícula lisa.

Se observó autofluorescencia en los tejidos del pistilo, incluso en los no lignificados.

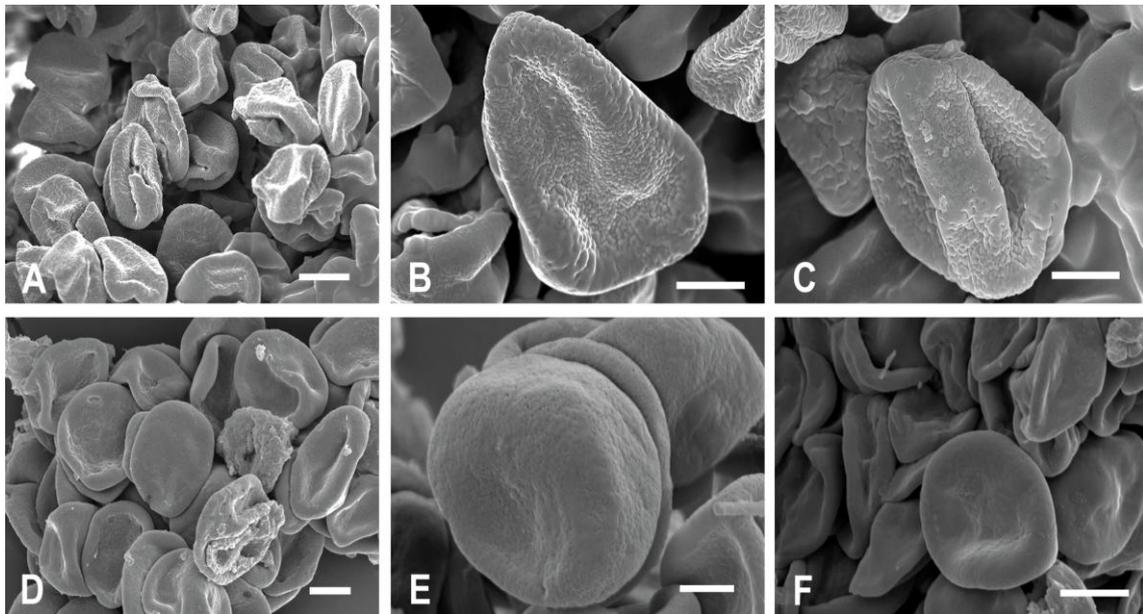


Figura 19. Imágenes del polen de taxones de Vanilloideae al microscopio electrónico de barridos. (A-C) *Cleistes rosea*: A. Tétrades organizadas dentro del polinio, B. Tétrade?, C. Detalle de la ornamentación rugulada; (D-F) *Vanilla chamissonis*: D. Organización de las mónades en el polinio. E. Detalle de la ornamentación, F. Granos de polen con elastoviscina. Escala: A-B = 20 μm ; C-D = 10 μm ; E = 2 μm ; F = 5 μm .

Vanilla

Vanilla chamissonis y *V. planifolia* tienen una sola antera incumbente, polinios granulares, con polen en mónade de tamaño pequeño a medio (24-30 μm eje ecuatorial y 25 – 28,5 μm de eje

polar), circular, porado, con ornamentación psilada-fosulada o perforada y con poca elastoviscina sobre los granos de polen (Fig. 19D-F).

Vanilla presenta el ovario unilocular, de 1,4 mm de anchura, posee seis carpelos heteromórficos, solo tres de ellos fértiles que se intercalan con los estériles. No existe fusión postgénita en la zona simplicada del ovario. Óvulos con placentación parietal y placenta aparentemente no vascularizada; contiene muchos óvulos con inserción difusa sobre un tejido placentario. Los carpelos tienen solo haces vasculares ventrales concéntricos perixilemáticos. La pared externa del ovario es glabra con una cutícula lisa y delgada. Todos los tejidos del pistilo son autofluorescentes.

➤ Subfamilia Cyripedioideae

Cypripedium

Cypripedium californicum presenta dos anteras, con el polen en mónade de aproximadamente 32 μm de diámetro ecuatorial y 18 μm de eje polar, heteropolar, oblato, monosulcado, tectado, con la presencia de abundante elastoviscina sobre el grano de polen (Fig. 20A-C).

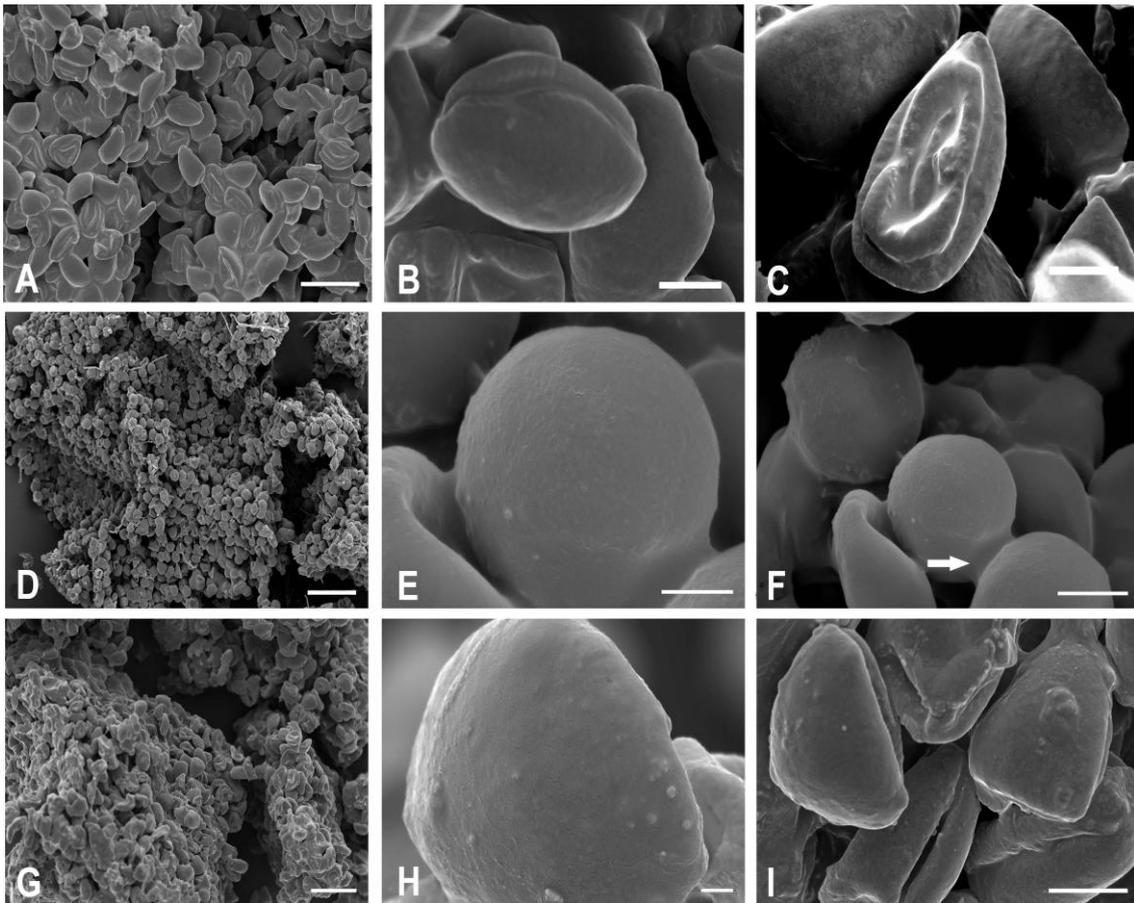


Figura 20. Imágenes del polen en taxones de Cyripedioideae al microscopio electrónico de barridos. (A-C) *Cyripedium californicum*: A. Organización de las mónades en la antera con abundante elastoviscina, B. Polen cubierto por elastoviscina, C. Apertura en sulco; (D-F) *Phragmipedium besseae*: D. Organización de las mónades en la antera. E. Detalle de las mónades, F. Granos de polen unidos por bandas de elastoviscina, marcado con una flecha; (G-I) *Selenipedium palmifolium*: G. Mónades muy unidas con elastoviscina, H. Polen cubierto por elastoviscina, I. Apertura en sulco. Escala: A,G = 50µm; B,C,F,I = 10 µm; D = 100 µm; E = 5 µm; H = 2 µm.

El ovario tiene 2,7 mm de anchura (Fig. 21D), unilocular, con seis carpelos heteromórficos, solo tres de ellos son fértiles y están ubicados de forma alterna; no presentan unión postgénita en la zona simplicada, ya que no hay formación postgénita de tejido en los carpelos. Placentación parietal; placenta con tejido muy vascularizado; muchos óvulos. Cada carpelo presenta un haz ventral de tipo colateral. La epidermis del ovario posee una cutícula lisa con abundantes tricomas glandulares (Fig. 24A), pluricelulares y uniseriados. La especie tiene autofluorescencia tanto en los tejidos

lignificados como en los no lignificados, ante la incidencia de la luz UV, azul o verde con intensidades altas.

Paphiopedilum

En *Paphiopedilum callosum*, presenta dos anteras (Fig. 17C) con granos de polen en mónade, de 19 μm de diámetro ecuatorial y de 14,1 μm de eje polar, oblato, inaperturado, tectado, con la presencia de elastoviscina.

Presenta ovario unilocular (Fig. 21E), de 4,4 mm de anchura, con seis carpelos heteromórficos, solo tres de ellos fértiles intercalados con los estériles. No existe fusión postgénita en la zona simplicada del ovario. La placentación es parietal, con placenta poco vascularizada. Contiene muchos óvulos regularmente ordenados sobre un tejido placentario de gran longitud y firmeza. Carpelos con haces vasculares ventrales de tipo colateral, los vasos del xilema se organizan en forma de "V" (Fig. 22C). Estos haces están rodeados por tres o cuatro capas de células que conforman la vaina del haz. La pared externa del ovario, posee una cutícula lisa, gruesa con abundantes tricomas multicelulares uniseriados, aunque se observan, muy escasamente, tricomas multicelulares multiseriados ramificados. Todos los tejidos (lignificados o no) presentan autofluorescencia ante la incidencia de la luz UV, siendo mucho más visible en el xilema y en la cutícula.

Phragmipedium

Phragmipedium besseae, *P. longifolium* (Fig. 16B), *Phragmipedium* sp. presentan dos anteras (Fig. 17D). Granos de Polen en mónade, de 24 – 28 μm de diámetro ecuatorial y de 23,4 -

27 μm de eje polar, heteropolar, esferoidal, inaperturado, tectado, con abundante elastoviscina (Fig. 20D-F).

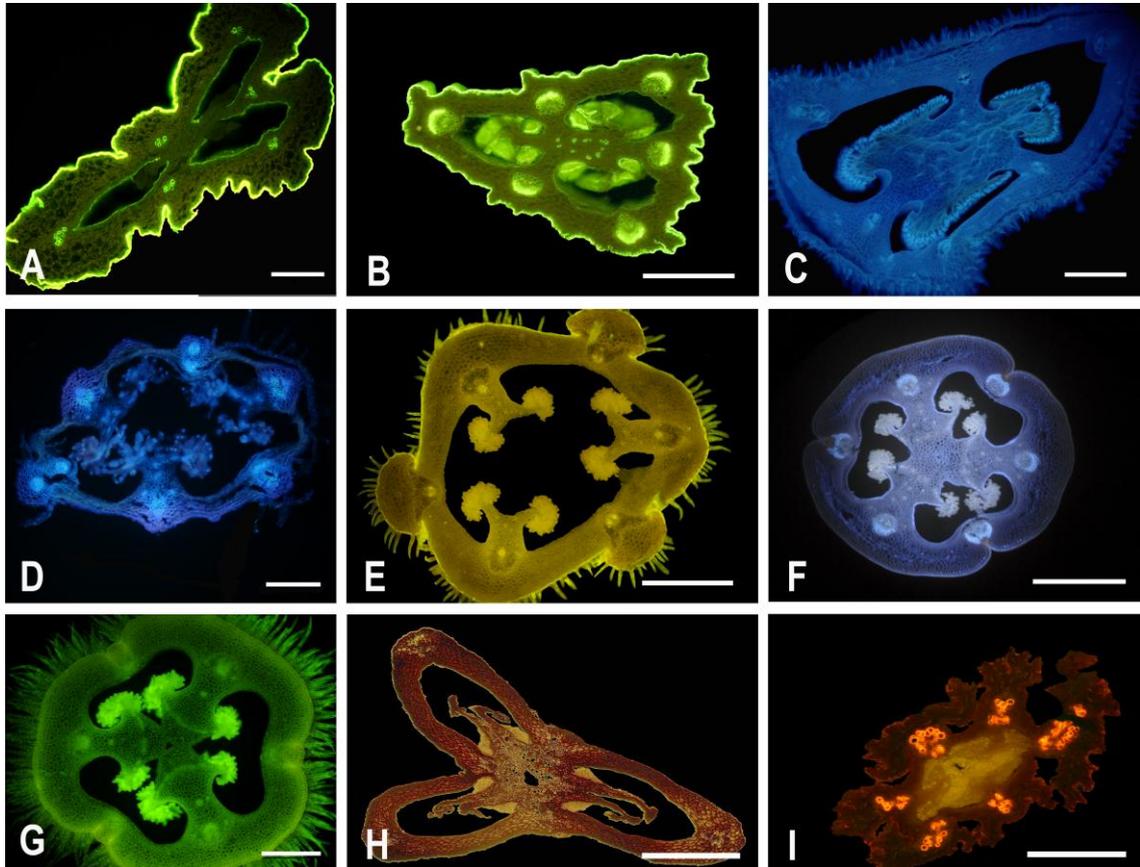


Figura 21. Imágenes del microscopio de fluorescencia de la sección transversal del pistilo. A. *Apostasia stylidioides*, B. *Apostasia wallichii*, C. *Neuwiedia veratrifolia*, D. *Cyripedium californicum* E. *Paphiopedilum callosum* F. *Phragmipedium longifolium*, G. *Phragmipedium* sp., H. *Selenipedium palmifolium*. I. *Cleistes rosea*. Escala: A = 200 μm , B-I = 500 μm .

En *Phragmipedium*, el diámetro del pistilo oscila de 2,3 – 2,8 mm. Ovario trilocular, tricarpelar con carpelos isomorfos y fértiles (Fig. 21F-G). En la zona simplicada del ovario, la parte ventral de cada carpelo es solamente contigua sin llegar a la fusión, en ella se aprecia claramente una línea de células de la placenta que establece el límite entre el tejido existente y el de nueva formación (Fig. 22B). Placentación axilar, con placenta poco vascularizada. Numerosos óvulos. Los carpelos presentan haces ventrales de tipo concéntrico perixilemático en *P. longifolium* (Fig. 23A) y haces ventrales

colaterales en *P. besseae* y *Phragmipedium* sp.; la epidermis del ovario es crestada y sin tricomas en *P. longifolium* (Fig. 24B) y con tricomas multicelulares uniseriados en *P. besseae* y *Phragmipedium* sp. (Fig. 24C). Todos los tejidos del ovario (lignificados o no) presentan autofluorescencia ante la incidencia de la luz UV, azul o verde.

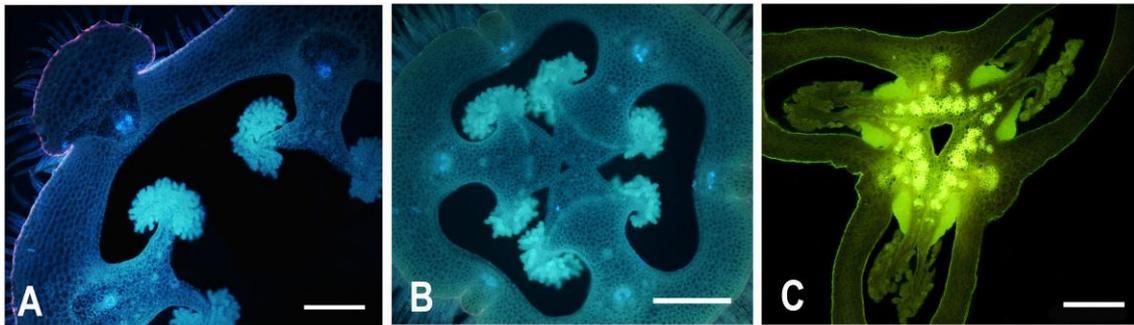


Figura 22. Imágenes del microscopio de fluorescencia del desarrollo de la fusión postgénica en el ovario: A. *Paphiopedilum callosum*, B. *Phragmipedium* sp., C. *Selenipedium palmifolium*.

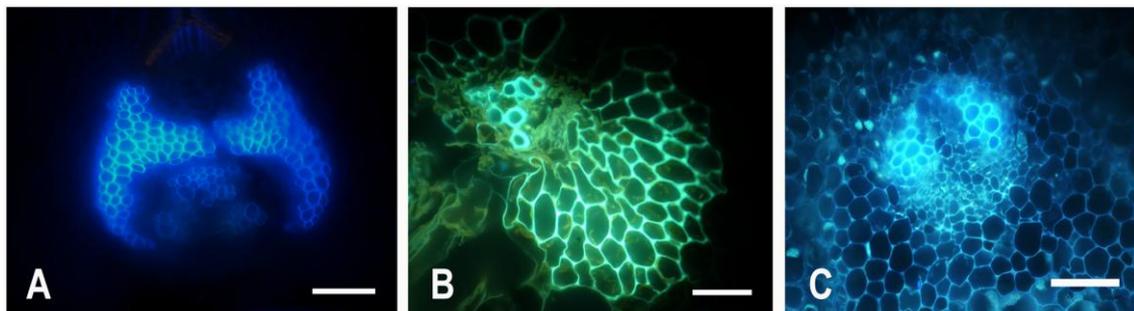


Figura 23. Imágenes del microscopio de fluorescencia de los diferentes tipos de haces vasculares observados bajo la incidencia de la luz UV en las especies analizadas A. Haz concéntrico perixilemático en *Phragmipedium longifolium*, B. Haz colateral de *Selenipedium palmifolium*, C. Haz colateral de *Paphiopedilum callosum*. Escala: A-C = 100 μ m, B = 50 μ m.

Selenipedium

Selenipedium palmifolium posee dos anteras, y polen en mónade de 23 μ m de diámetro ecuatorial y 13,6 μ m de eje polar, heteropolar, oblato, bisulcado, tectado y con abundante elastoviscina sobre los granos de polen (Fig. 20G-I).

El pistilo tiene un diámetro de 4,4 mm, con un ovario trilocular, con tres carpelos isomórficos, todos fértiles (Fig. 21H). Se observó una clara fusión postgénita del tejido placentario, y la presencia de una pequeña abertura triangular en la zona central del ovario (Fig. 22C). Placentación axilar y placenta muy vascularizada. Óvulos numerosos en cada lóculo. Los carpelos son notoriamente vascularizados, con haces dorsales y ventrales de tipo colateral (Fig. 23B). Epidermis con cutícula lisa sin tricomas. Solo los tejidos lignificados presentan autofluorescencia.

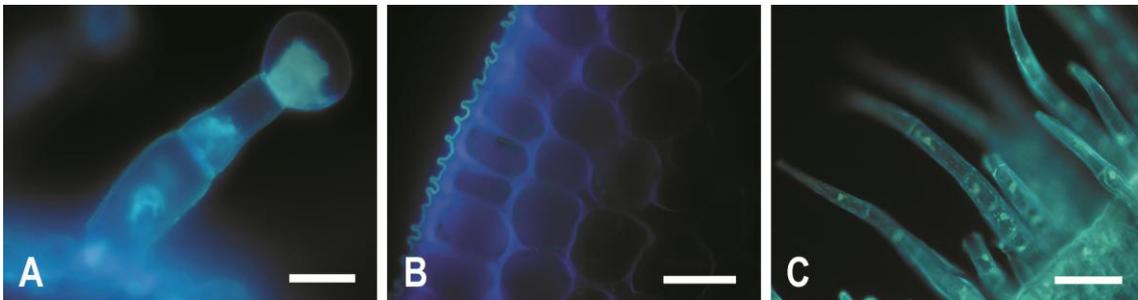


Figura 24. Imágenes del microscopio de fluorescencia de los tipos de epidermis observadas en las especies estudiadas. A. Tricomas glandulares en *Cyripedium californicum*, B. Cutícula crestada en *Phragmipedium longifolium*, C. Tricomas multicelulares uniseriados en *Phragmipedium* sp. Escala: A-B = 50 μ m, C = 100 μ m.

4.2.2 Análisis cladístico

Se elaboró una matriz con datos de 49 caracteres, de 27 especies de Apostasioideae, Vanilloideae y Cyripedioideae y se incluyeron como grupo externo 3 representantes de Asparagales (Apéndice 1). Tres de los caracteres analizados no fueron informativos en el análisis de parsimonia.

Como resultado del análisis de parsimonia se obtuvieron un total de 75 árboles retenidos, con una longitud de 125 pasos, índice de consistencia (CI) = 0,5600, índice de homoplasia (HI) = 0,4400, índice de retención (IR) = 0,8343, y un índice de consistencia

reescalado (RC) = 0,4672, los resultados del árbol consenso estricto (Fig. 25) se explican a continuación.

En la raíz del árbol está ubicado el grupo externo de esta investigación, compuesto por los taxones *Borya*, *Blandfordia* y *Curculigo*, los caracteres que separan este grupo del resto de taxones analizados son las flores no resupinadas, actinomorfas, con seis estambres (Fig. 15), ausencia de velamen, semillas con endosperma y presencia de fitomelanina. El género *Curculigo* es el taxón hermano de Orchidaceae.

En el clado 2 está ubicado el taxón *Neuwiedia* con tres estambres, ovario trilocular, polen en mónade, oblato, con ornamentación reticulada y sin elastoviscina y finalmente en el clado 6 están ubicadas las especies de *Apostasia* con dos estambres, ovario trilocular, con numerosos óvulos con inserción difusa, granos de polen en mónades, esféricos, con exina reticulada y con poca elastoviscina.

El clado 3, lo forman *Cypripedium* y *Paphiopedilum* que tienen ovario unilocular con placentación parietal y seis carpelos heteromórficos, solo tres de ellos fértiles; muy próximos a este clado están los taxones de *Phragmipedium* con un ovario con tres carpelos fértiles, isomórficos, triloculares aunque la placentación sigue siendo parietal, la placenta está muy vascularizada y el tejido postgénito formado está solo contiguo sin fusionarse. El clado 5 lo integran las especies de *Selenipedium* con características similares a las observadas en el género *Phragmipedium* con la diferencia de que el tejido postgénito formado si está fusionado. Los miembros Cypripedioideae que conforman los clados 4 y 5 comparten la presencia de dos estambres y el polen en mónade.

El clado 4, lo constituyen las especies de *Vanilla* y muy próximas a ellas están *Cleistes* y *Arundina*, éste último taxón aunque pertenece a Epidendroideae comparte con los miembros de Vanilloideae caracteres relevantes como la antera incumbente y los polinios de textura granular. Tanto *Cleistes* como *Vanilla* presentan una prolongación del tejido placentario sin llegar a la fusión.

Los taxones de Orchidoideae (*Ophrys* y *Spiranthes*) están situados en el quinto clado, caracterizado por presentar dos polinios séctiles, bipartidos y unidad polínica en másulas o tétrades, incluso ambas como ocurre en *Ophrys*. Al igual que el clado anterior, el ovario es unilocular, con 6 carpelos menos diferenciados que en el otro grupo, poseen muchos óvulos con placentación parietal y situados de forma difusa sobre la placenta.

El clado sexto está conformado por los miembros de la subfamilia Epidendroideae (*Houlletia*, *Stanhopea*, *Miltoniopsis*, *Tolumnia*, *Angraecum*, *Vanda*, *Maxillaria*, *Trigonidium*, *Ornithocephalus* y *Barbosella*) caracterizados por la presencia de una sola antera incumbente y la presencia de 4 o 2 polinios compactos, con sutura solo en los dobles, y presencia de la tétrade; los pistilos son uniloculares predominando los 6 carpelos con la mitad de ellos fértiles, en la mayoría no existe formación de tejido postgénito solo fue observado en *Angraecum* y *Vanda* que presentan una notoria prolongación del tejido placentario de cada carpelo, sin que éstos lleguen a estar muy próximos.

En los clados 4, 5 y 6 se produce una politomía, donde se unen los taxones de Epidendroideae, Orchidoideae y Vanilloideae.

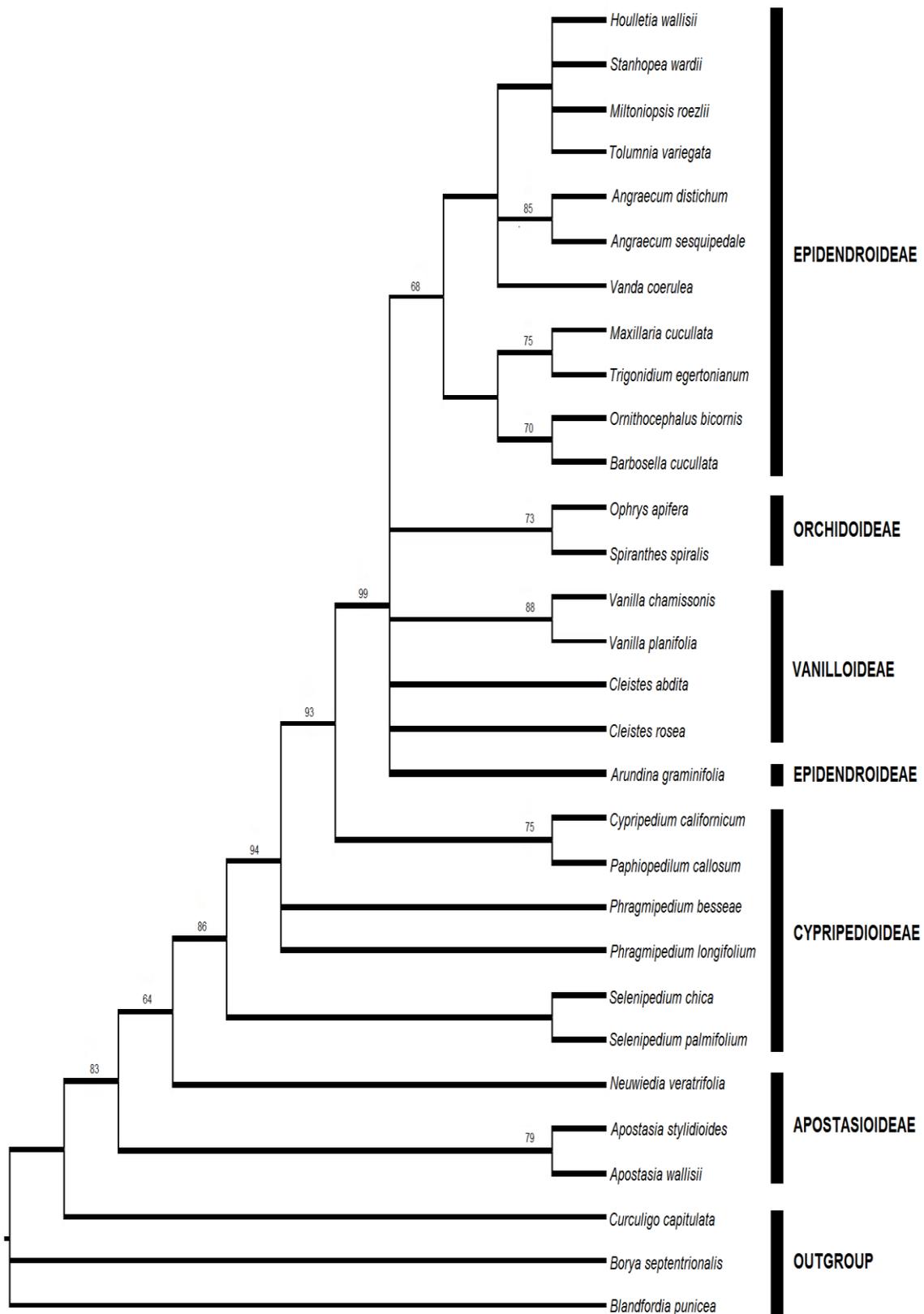


Figura 25. Árbol consenso estricto resultante del análisis de parsimonia con datos morfológicos (flor y polen) y anatómicos del pistilo. Longitud = 125 pasos, CI = 0,5600, HI = 0,4400, RI = 0,8343, RC = 0,4672.

4.2.3 **Discusión**

Caracteres polínicos

La unidad polínica en la mayoría de los miembros de Orchidaceae es el polinario, que puede presentar muchas variaciones a nivel estructural y por ello ha sido muy útil como fuente de información taxonómica (Johnson & Edward 2000) y como complemento para estudios sistemáticos y de identificación de especies (Singer et al. 2008). Este carácter es la excepción en las subfamilias Apostasioideae y Cypripedioideae, caracterizadas por tener el polen en mónade. Johnson & Edwards (2000) indican la presencia de polinios blandos en cada uno de los cuatro sacos polínicos para *Phragmipedium* y *Selenipedium*, sin embargo, en este trabajo el análisis de muestras frescas de estos taxones en el estereomicroscopio, permitió visualizar la gran cantidad de elastoviscina presente sobre los granos de polen con apariencia viscosa, pero no se observó como tal una organización compacta que pudiese ser semejante a un polinio.

En relación con la exina, el polen de Orchidaceae ha sido considerado que puede ser tectado o semitectado y que en las tribus de orquídeas más avanzadas el polen es semitectado (Schill & Pfeiffer 1977); sin embargo, no se puede generalizar que en Orchidaceae el polen tectado sea el más primitivo y el semitectado el más avanzado (Ackerman & Williams 1980), con lo que estamos de acuerdo, ya que el polen de los taxones estudiados es semitectado en Apostasioideae y tectado en Cypripedioideae. La presencia de abundante elastoviscina en esta última subfamilia no nos ha permitido observar con claridad la superficie del polen, que podría ser psilada o perforada, como también indican otros autores (Schill & Pfeiffer 1977; Stern et al. 1993; Johnson & Edwards 2000).

La elastoviscina fue observada en todos los granos de polen, excepto en *Neuwiedia veratrifolia*, probablemente debido al tipo de antera ancestral de esta especie que es semejante al de las liliáceas y familias afines.

Caracteres anatómicos del pistilo

Las orquídeas se caracterizan por tener tres o seis carpelos, esta última condición es propia de las subfamilias Vanilloideae, Epidendroideae y Orchidoideae, aunque la diferenciación septal es mucho más evidente en Epidendroideae. Los carpelos pueden ser isomórficos o heteromórficos. Los caracteres relativos al número de carpelos, fertilidad y vascularización no habían sido estudiados suficientemente en Orchidaceae, razón por la que han sido tenidos en cuenta en esta investigación en aras de poder proporcionar nuevos caracteres de interés taxonómico en esta familia.

Las especies de Apostasioideae y Cyripedioideae tienen un ovario tricarpelar y trilocular (excepto *Cyripedium* y *Paphiopedilum* que tienen seis carpelos y un solo lóculo). Vanilloideae comparte estos dos últimos caracteres, aunque con una notoria prolongación del tejido placentario. La placentación es parietal en casi todos los taxones analizados excepto en *Apostasia* y *Selenipedium* que es axilar. La formación de ovarios triloculares en Orchidaceae, es producto del alargamiento de la placenta en el ovario, provocando la formación de tres falsos lóculos, por esta razón la placentación es interpretada como parietal en todos los casos (Cameron 2003).

Los carpelos no son todos fértiles. Se ha observado en los géneros *Cyripedium*, *Paphiopedilum*, *Cleistes* y *Vanilla* que de los seis carpelos que forman el ovario, solo tres son fértiles y se ubican de forma alterna, aunque en relación a este tema se ha indicado que no hay evidencia de que el gineceo conste de seis carpelos (Kurzweil

1998), sin embargo, otros autores mencionan la existencia de tres valvas fértiles y tres infértiles en el ovario de *Cyripedium cordigerum* (Sood & Mohana 1998). La misma condición se observó en *Liparis paradoxa* y en *L. rostrata* (Sood 1989), así como en *Malaxis saprophyta* (Sood 1992), lo que coincide con nuestras observaciones en *Cyripedium californicum*.

En Apostasioideae y Cyripedioideae, los carpelos pueden ser poco o muy vascularizados, los haces vasculares son tanto ventrales como dorsales, pero pueden faltar unos u otros. Las especies *Apostasia stylidioides*, *Apostasia wallichii*, *Neuwiedia veratrifolia*, *Phragmipedium besseae*, *Phragmipedium longifolium*, *Phragmipedium* sp. presentan haces vasculares en ambas posiciones. De acuerdo con Puri (1951), los haces ventrales se prolongan hacia los óvulos, además añade que en los carpelos estériles los haces ventrales están pobremente desarrollados y tienden a desaparecer.

Los estudios de vascularización floral pueden ser de gran importancia a la hora de resolver problemas morfológicos. Una adecuada evaluación de la doctrina conservacionista de los haces vasculares, puede ser relevante para el planteamiento de futuras investigaciones sobre el efecto en el sistema vascular en el caso de que se dé una disminución o incremento de las partes florales (Joshi 1940).

La vascularización de la placenta también es de gran interés. Se observaron desde placentas muy vascularizadas en *Apostasia*, *Cyripedium* y *Selenipedium*, a poco vascularizadas en *Phragmipedium*, *Paphiopedilum*, *Cleistes* y *Vanilla*. Se ha corroborado la existencia de vascularización de la placenta en *Apostasia* y *Neuwiedia* (Kocyan & Endress 2001), lo que ya había sido mencionado, pero no observado por van der Pijl & Dodson (1966).

Selenipedium presenta tricomas intraováricos, carácter que también hemos observado en *Gomesa varicosa* y *Stanhopea wardii*, miembros de la subfamilia Epidendroideae. La presencia de tricomas en el ovario está relacionada con la capacidad para producir secreciones (Swanson et al. 1980). Estos autores estudiaron la ultraestructura de los tricomas del ovario de *Cypripedium calceolus* y *C. reginae* bajo la creencia de que éstos son un posible sitio de síntesis y secreción floral.

Fusión postgénita

Se observó fusión postgénita básicamente de la placenta, pero con algunas variaciones graduales: *Apostasia* y *Selenipedium* presentan fusión total en la zona de la placenta de cada carpelo, conformando también un ovario trilocular. En *Neuwiedia* y *Phragmipedium* hay una prolongación de los tejidos de la placenta, aunque sin llegar a fusionarse forman también un ovario trilocular y por último, las especies *Cypripedium*, *Paphiopedilum*, *Cleistes* y *Vanilla*, con una formación de tejido placentario de menor diámetro, se puede observar en ellos un ovario claramente unilocular.

En concordancia con lo anterior, en *Apostasia* y *Neuwiedia* (Apostasioideae), en un primer momento el ovario ínfero fue unilocular y luego se convirtió en trilocular por la fusión postgénita de los septos del ovario (Kocyan & Endress 2001). En esta apreciación se ha considerado el ovario unilocular como el estado plesiomórfico y el trilocular como apomórfico (Freudenstein & Rasmussen 1999). En contraste con esto, los ovarios triloculares en Orchidaceae han sido generalmente considerados como uno de los caracteres primitivos en la familia, en base a la comparación con taxones próximos a Orchidaceae (Dressler 1981, 1993; Burns-Balogh & Funk 1986; Stern et al. 1993; Cameron et al. 1999), siendo casi exclusivos de las

subfamilias Apostasioideae y Cyripedioideae (Fig. 21A-C, F-H). La presencia de los ovarios uniloculares es característica de Vanilloideae, Orchidoideae y Epidendroideae (Cameron 2003).

Las contribuciones referentes a la fusión postgénita y congénita han sido de gran importancia para el entendimiento de la evolución del gineceo en monocotiledóneas, ya que muchas de la hipótesis son soportadas por las diferencias en el gineceo de las monocotiledóneas tempranamente divergentes, incluyendo las variaciones en el modo de fusión del carpelo (Remizowa et al. 2006).

La fusión postgénita de órganos es un importante evento de desarrollo en la morfogénesis floral a diferentes niveles de familias vegetales, por lo general las superficies libres del órgano se ven obligadas a la expansión y como resultado las capas de la epidermis, entre ellas la cutícula, que son las que hacen contacto son retiradas (van der Schoot et al. 1995).

A la luz de nuestros resultados en relación a los ovarios de Apostasioideae, Vanilloideae y Cyripedioideae, probablemente en la familia han ocurrido cambios graduales en la formación del tejido placentario, como se observa en la figura 8, por lo que es deducible que en este proceso también se han producido reversiones que conllevaron a la pérdida de dicho tejido lo que provoca el cambio de ovario trilocular a unilocular, lo que corrobora que la condición de ovario trilocular en Cyripedioideae representa una reversión de la condición de ovario unilocular pudiendo ser una sinapomorfia (Judd et al. 1993). Sin embargo, la presencia de ovarios con tres lóculos en *Selenipedium*, género primitivo de Cyripedioideae, puede sugerir que la condición de ovario unilocular evolucionó paralelamente en Cyripedioideae y en el resto de orquídeas con un solo estambre.

Fluorescencia en los tejidos lignificados y no lignificados

La observación de los cortes del pistilo en Apostasioideae y Cyripedioideae con luz UV y azul, permitió determinar diferentes grados de excitación tanto en los tejidos como en los géneros estudiados, siendo el xilema y la cutícula los que expresaron mayor intensidad en la autofluorescencia.

La autofluorescencia ha sido relacionada con la presencia de ácido ferúlico, derivado del metabolismo de fenilpropanoides, que se encuentra en las paredes celulares -primaria y secundaria- de las gramíneas (Harris & Hartley 1976) y que además se deposita en las paredes lignificadas y engrosadas del xilema, esclerénquima, las fibras del floema y tejidos del parénquima (Migne et al. 1998; Buanaфина 2009). Los depósitos de lignina en el xilema del tallo de álamo fueron observados bajo luz ultravioleta, produciendo una autofluorescencia azul, esto indicó la presencia de depósitos de ligninas en dicho taxón (Novo 2008).

Podemos inferir que las células de la epidermis, del parénquima, del xilema y del floema, de las especies *Neuwiedia veratrifolia*, *Cyripedium californicum*, *Paphiopedilum callosum*, *Phragmipedium* sp. y *Phragmipedium longifolium* poseen gran cantidad de ácido ferúlico indicado así por la buena absorción que presentaron ante la irradiación de las luces UV y azul, al contrario de lo que ocurre con *Apostasia*, *Selenipedium*, *Cleistis* y *Vanilla* que presentan fluorescencia, solo en los tejidos vasculares.

Resultados semejantes se han documentado en el sorgo maduro, en el que las concentraciones de ácido ferúlico fueron mayores en el esclerénquima y en los tejidos vasculares que en el parénquima y en las células epidérmicas (Hatfiel et al. 1999). Analizando el color de la reacción de Wiesner y Mäule en *Betula* y

Buxus, en su caso la microespectrometría ultravioleta puso de manifiesto que algunas variaciones en el máximo de absorción entre las diferentes células, indicaba variabilidad en la cantidad de guayacilo y siringilo en dichas células (Yoshizawa et al. 1993).

Análisis cladístico

En el cladograma obtenido con información de la anatomía del pistilo y del polen, se refleja las relaciones establecidas entre Apostasioideae, Vanilloideae y Cypridioideae, utilizando como grupo hermano miembros de las subfamilias restantes y como grupo externo miembros de Asparagales.

En la estructura del cladograma los integrantes del grupo externo (Boryaceae, Blandfordiaceae e Hypoxidaceae) considerados grupos hermanos de Orchidaceae, presentaron una ubicación similar al de otras clasificaciones (Cameron et al. 1999; Freudenstein & Rasmussen 1999, Chase et al. 2006).

La posición de *Apostasia* y *Neuwiedia* (Apostasioideae), que en la topología del árbol resultan ubicados muy próximos al grupo externo, se ratifica su condición primitiva entre las orquídeas, que se corrobora por la presencia de dos o tres estambres fértiles, ovario trilobular, ausencia del polinario y polen en mónade con ornamentación reticulada que son estados plesiomórficos en esta familia.

En Orchidaceae, la presencia de un solo estambre se interpreta como estado apomórfico, que presentan Vanilloideae, Orchidoideae y Epidendroideae. Al respecto, se podría hipotetizar en los escenarios evolutivos que *Neuwiedia* representa el estado intermedio en la reducción de seis a tres y posteriormente a una antera fértil

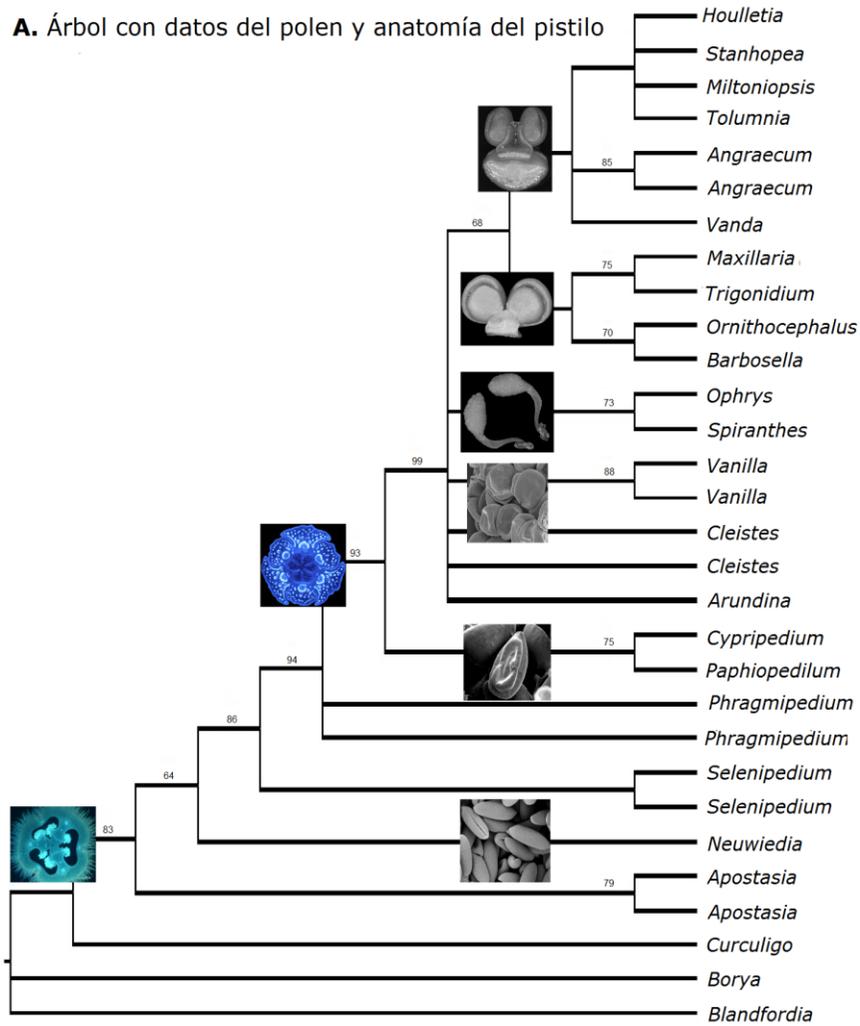
(Cameron et al. 1999), siendo esta última una condición autapomórfica.

A continuación, en el árbol se encuentran Cyripedioideae (*Selenipedium*, *Phragmipedium*, *Paphiopedilum* y *Cyripedium*), que comparten con Apostasioideae los granos de polen en mónades y particularmente con *Apostasia* el mismo número de anteras y el ovario trilocular excepto en *Paphiopedilum* y *Cyripedium* que es unilocular. El polen en mónade también es característico de Vanilloideae y Palmorchideae (Epidendroideae), así como en algunos miembros de Diurideae en las Orchidoideae (Johnson & Edwards 2000). Sin embargo, Dressler (1986) advierte que los ligeros cambios ontogénicos pueden ser responsables de la producción de mónades o tétrades y que en las orquídeas con un solo estambre la presencia de mónades no los hace necesariamente taxones primitivos. La ubicación de *Arundina* (Epidendroideae), que se encuentra alejada del resto de miembros de su grupo y muy próxima a Vanilloideae, está soportada por la presencia de polinios granulares, que es un estado plesiomórfico compartido con *Cleistes* y *Vanilla* y además la presencia de una sola antera incumbente, ovario unilocular y polen en tétrade que comparte solo con *Cleistes*. Los polinios granulares están presentes principalmente en los géneros más basales (Hesse et al. 1989; Rothacker 2007). Este tipo de organización del polen resulta ventajoso en el proceso de polinización, ya que la flor puede dispersar los granos de polen a diferentes polinizadores (Paccini & Hesse 2002). El resto de miembros de Orchidaceae con una sola antera y ovario unilocular se encuentran en la parte superior del árbol (Fig. 25). Formando un pequeño clado aparecen los taxones de Orchidoideae (*Ophrys* y *Spiranthes*) con polinios séctiles y unidad polínica en másula. La condición séctil en los polinios es un estado apomórfico en Orchidaceae y por lo tanto potencialmente útil para la

delimitación de los grupos dentro de la familia (Freudenstein & Rasmussen 1997). En el último clado se ubican los miembros de Epidendroideae con 2 o 4 polinios compactos. La politomía observada en el árbol, que une los taxones de Epidendroideae, Vanilloideae y Orchidoideae, está soportada por la presencia del polinario.

La confrontación de la topología del árbol obtenido de los datos anatómicos y palinológicos con el resultante de analizar secuencias cloroplásticas (*matK*) (Fig. 26), muestra las diferencias en relación a la filogenia de estos grupos en comparación con la posición de Vanilloideae, que aparece más próxima a Orchidoideae y Epidendroideae, con los que comparte el pistilo con ovario unilocular, de seis carpelos y el polen en tétrade inaperturado con exina tectada.

A. Árbol con datos del polen y anatomía del pistilo



B. Árbol con datos de secuencias *matK*

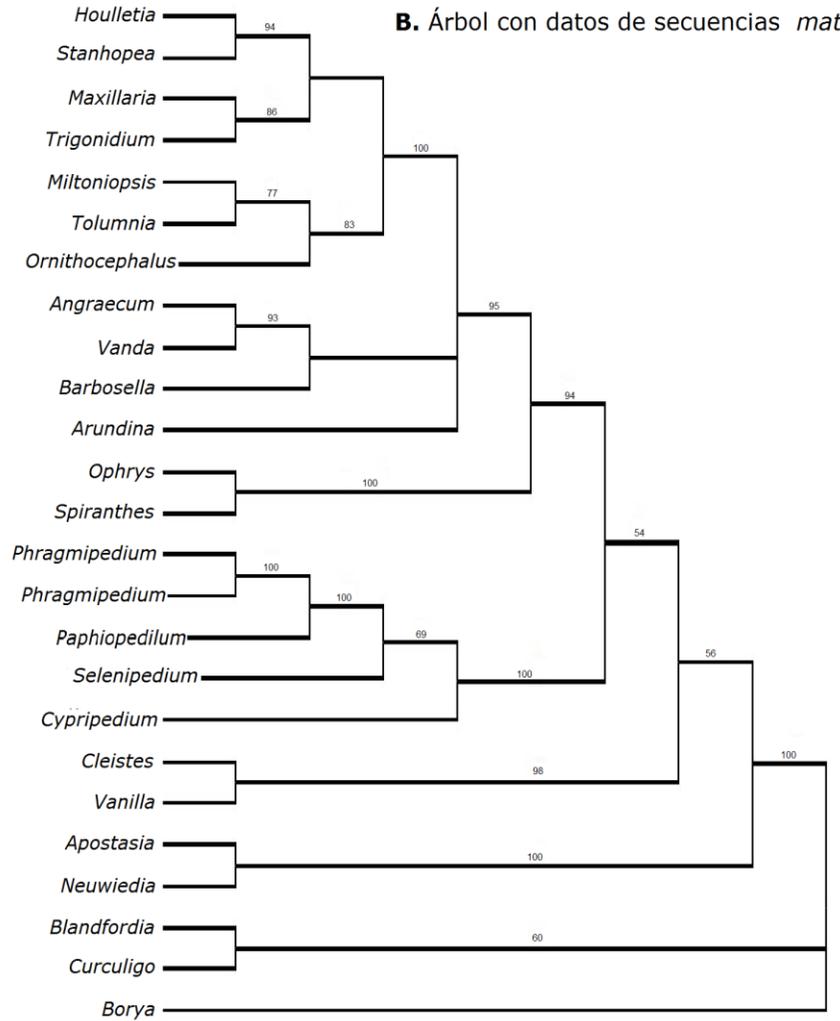


Figura 26. Comparación de la topología de dos árboles consenso estricto: A. Datos de polen y anatomía del pistilo de las subfamilias Apostasioideae, Cypripedioideae, Epidendroideae, Orchidoideae y Vanilloideae; B. Datos de secuencias de *matK*.

Apéndice 1. Lista de taxones analizados en el estudio palinológico y anatómico del pistilo en las subfamilias de Orchidaceae y de otras familias de Asparagales.

Subfamilia: Especie, colector y número de colección, país, herbario y código de GenBank. El material fresco es indicado con asterisco (*). Los especímenes están ordenados alfabéticamente.

Subfamilia Apostasioideae. *Apostasia stylidioides* (F. Muell) Rchb.f., *Bau 82940*, Reino Unido (K). *A. wallichii* R. Br., *Kaire 25569*, Reino Unido (K), AY557212. 1. *Neuwiedia veratrifolia* Blume., *Lamb 129*, Reino Unido (K), AY557211.1.

Subfamilia Vanilloideae. *Cleistes abdita* G. A. Romero and Carnevali, *García et al. 15842* (COL). *Cleistes rosea* Lindl., *Mosquera 0110*, Colombia (*), AJ310006.1. *Vanilla chamissonis* Klotzsch, *Silva 555*, Brasil (HUCSS). *Vanilla planifolia* Andrews, *Brand et al. 1269*, Colombia (JAUM), AJ310079.1.

Subfamilia Cypripedioideae. *Cypripedium californicum* A. Garay, *Hrusa 10445*, España (MA). *Paphiopedilum callosum* (Rchb.f.) Stein, *SCO 0029*, Colombia (*). *Phragmipedium besseae* Dodson and Kuhn., *De Angulo 0121*, Colombia (*), EU490701.1. *Phragmipedium longifolium* (Rchb.f. and Warsz) Rolfe., *Geovo 0115*, Colombia (*), AY557204.1. *Phragmipedium* Rolfe, *De Angulo 0246*, Colombia (*). *Selenipedium chica* Rchb.f., *Powell 258*, Reino Unido (K), AY368381.1. *Selenipedium palmifolium* Rchb.f., *Jenman 6680*, Reino Unido (K).

Subfamilia Orchidoideae. *Ophrys apifera* Huds., Barbero et al. 0002, España (*), AJ310049.1. *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall., Spain. Lugo. Barreiros. 29T63243 4825373 [ED50]. .30.VIII.2011.C. Acedo 246, (LEB), AJ543918.1.

Subfamilia Epidendroideae. *Angraecum distichum* Lindl., *SCO 0027*, Colombia (*), DQ091324.1. *Angraecum sesquipedale* Thouars, *SCO 0028*, Colombia (*), AF263621.1. *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr., *Geovo 0116*, Colombia (*), AF302692.1. *Barbosella cucullata* (Lindl.) Schltr., *Echeverry 478*, Colombia (HUA), AF265483.1. *Houlletia wallisii* Linden and Rchb.f., *Ospina 623*, Colombia (JAUM), AF239465.1. *Maxillaria cucullata* Lindl., *De Angulo 0060*, Colombia (*), DQ209871.1. *Miltoniopsis roezlii* (Rchb.f.), *De Angulo 0071*, Colombia (*), FJ565165.1. *Ornithocephalus bicornis* Lindl., *Misas U.G. 184*, Colombia (HUA), FJ565126.1. *Stanhopea wardii* Lodd. ex Lindl., *De Angulo 0062*, Colombia (*), EU214490.1. *Tolumnia variegata* (Sw.) Braem, *SCO 0014*, Colombia (*), AF350612.1. *Trigonidium egertonianum* Bateman, *Geovo 0114*, Colombia (*), AF239425. 1. *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl, *SCO 0026*, Colombia (*), AB217772.1.

Outgroup:

Blandfordiaceae. *Blandfordia punicea* Sweet, AY557206.2.

Boryaceae. *Borya septentrionalis* F. Muell., HM640651.1.

Hypoxidaceae. *Curculigo capitulata* Kuntze, AY557207.1.

4.3 Estructuras del polinario y caracteres de la exina de taxones de la tribu Cranichideae (Orchidoideae)

Cranichideae Lindl. ex Meisn. comprende alrededor de 95 géneros y 1.140 especies predominantemente terrestres, distribuidas en todos los continentes excepto en la Antártida, siendo especialmente diversa en el trópico y subtrópico (Dressler 1993; Salazar et al. 2003). Esta tribu, está conformada por las subtribus Chloraeinae, Cranichidinae, Galeottiellinae, Goodyerinae, Manniellinae, Pterostylidinae y Spiranthinae (Chase et al. 2003)

La mayoría de los taxones de Cranichideae, tienen polinarios con 4 o menos polinios granulares o séctiles, clavados con caudícula y un viscidio terminal (Singer et al. 2008). En esta tribu, también se han reconocido polinios relativamente compactos, cuya parte apical está transformada en caudícula (Szlachetko 1995).

Los polinios blandos y granulares son típicos de Cranichideae, Codonorchideae y Diurideae (Singer et al. 2008), y están compuestos solo por tétrades o mónades, siendo considerados estados intermedios entre los polinios séctiles y los compactos. La gran diferencia de los polinios granulares con respecto a los séctiles es la ausencia de la pared común presente en los granos de polen dentro de las másulas (Freudenstein & Rasmussen 1997).

En relación a los polinios séctiles, estos pueden ser enteros o bipartidos, solo han sido reconocidos en Orchidoideae y algunos taxones de Epidendroideae (Johnson & Edwards 2000; Singer et al. 2008). Este tipo de polinios está formado principalmente por polen agregado en másulas con tétrades aglutinadas (Kant & Bhawra 2010). En el polinario las másulas están unidas por una matriz de elastoviscina. La morfología de las másulas y tétrades dependen de la

ubicación de estas dentro del polinio (Salazar et al. 2003). Las másulas que están más próximas al viscidio son planas y más pequeñas, dando una apariencia imbricada.

En las másulas la exina solo está presente en la superficie exterior de las tétrades de la periferia (Pacini & Hesse 2002).

Por último, se ha considerado que los polinios compactos es un carácter propio de los géneros de Cranichidinae y están ausentes en Spiranthaeae y Goodyereae (Szlachetko 1995).

Los miembros de Cranichideae, presentan una exina con ornamentación reticulada, con algunas variaciones en función de la posición de los granos de polen en el polinio. Los granos de polen son generalmente tectados-columelados con una pared basal muy gruesa (Zavada 1990).

La información relativa a la diferenciación de los polinios y ornamentación de la exina es muy escasa en Orchidoideae y más concretamente en especies tropicales. Por lo tanto, la información aquí generada por un lado, es un aporte valioso para el entendimiento de la evolución de los caracteres del polen en este grupo, que posiblemente puede estar relacionado con sus estrategias reproductivas y por otro lado sirve para evaluar la importancia de los caracteres del polen en la sistemática del grupo.

En este apartado se estudian 22 caracteres palinológicos en 16 taxones de las subtribus Cranichidinae, Goodyerinae y Spiranthinae (Cranichideae) (Apéndice 2).

4.3.1 Polinario

La variabilidad en la estructura de polinario en la tribu Cranichideae, se ve reflejada no solo en el número y textura de los polinios, sino también en sus estructuras accesorias (Tabla 9). La unidad polínica en todos los taxones es la tétrade, excepto en el género *Erythrodes* que es la másula. El viscidio está presente en todos los taxones estudiados de la tribu, la caudícula está restringida solo a unos pocos y de forma general, todos carecen de estípite. Las variaciones observadas se detallan a continuación:

- 1) Polinarios con cuatro polinios. En este grupo todos los polinios son enteros, superpuestos, compactos o granulares. En los géneros *Baskervilla* (Fig. 27A-D) y *Ponthieva* (Fig. 27I-L) (Cranichidinae) los polinios son compactos, mientras que en *Cyclopogon* (Fig. 28I-L) y *Sarcoglottis* (Fig. 28E-H) (Spiranthinae) los polinios son granulares. De acuerdo a la presencia de las estructuras accesorias, los taxones se han agrupado como sigue:
 - Polinios con caudícula apendicular y viscidio desmontable presente en: *Baskervilla*, *Cyclopogon* y *Ponthieva*.
 - Polinios solo con viscidio desmontable en *Sarcoglottis*.
- 2) Polinarios con dos polinios. En estos polinarios, los polinios son bipartidos, yuxtapuestos y con dos tipos de textura (séctiles o granulares), los granulares son propios de los géneros *Aspidogyne* (Fig. 27M-O) (Goodyerinae), *Aa* (Fig. 29A-C), *Altensteinia* (Fig. 29D-F), *Cranichis* (Fig. 27E-H), *Gomphichis* (Fig. 29G-I) y *Stenoptera* (Fig. 29J-L) (Cranichidinae), *Spiranthes* (Fig. 28M-O) (Spiranthinae), mientras que los polinios de textura séctil lo presentan solamente el género *Erythrodes* (Fig. 28A-D) (Goodyerinae).

Tabla 9. Caracteres palinológicos más relevantes de las especies de la Tribu Cranichideae estudiadas. Y. Yustapuestos, S. Superpuestos, St. semitectada, R. reticulada, Mf. muros fragmentados, Mc. Muros continuos, Ap. apendicular,

Caracteres	Taxones															
	Subtribu Cranichideae								Subtribu Goodyerinae				Subtribu Spiranthinae			
	<i>Aa maderoi</i>	<i>Allensteinia fimbriata</i>	<i>Baskervillea colombiana</i>	<i>Cranichis antioquiensis</i>	<i>Cranichis ciliata</i>	<i>Gomphichis traceyae</i>	<i>Ponthieva diptera</i>	<i>Ponthieva racemosa</i>	<i>Stenoptera longiscapa</i>	<i>Aspidogyne foliosa</i>	<i>Erythroides boliviensis</i>	<i>Erythroides major</i>	<i>Cyclopopogon comosus</i>	<i>Cyclopopogon elatus</i>	<i>Sarcoglossis acaulis</i>	<i>Spiranthes aestivalis</i>
Longitud del polinario (mm)	2,44	2,5	1,13	1,07	0,82	1	1,42	2,24	1,59	1,9	3,6	2,05	1	0,95	14,4	2,15
Nº Polinios	2	2	4	2	2	2	4	4	2	2	2	2	4	4	4	2
Longitud del polinio (mm)	2,23	2,3	0,48	0,92	0,75	0,89	0,78	1,02	1,43	1,72	3,5	1,95	0,9	0,89	1,2	1,9
Forma de los polinios	Elíptico	Redondo	Redondo	Ovalado	Ovalado	Ovalado	Ovalado	Ovalado	Ovalado	Redondo	Redondo	Redondo	Elíptico	Elíptico	Ovalado	Redondo
Organización de los polinios	Y	Y	S	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	Y	Y	S	S	S	Y
Presencia de sutura	Si	Si	No	Si	Si	Si	No	No	Si	Si	Si	Si	No	No	No	Si
Ubicación de la sutura	Ventral	Ventral	No	Ventral	Ventral	Ventral	No	No	Ventral	Ventral	Ventral	Ventral	No	No	No	Ventral
Textura del polinio	Granular	Granular	Compacto	Granular	Granular	Granular	Compacto	Compacto	Granular	Granular	Séctil	Séctil	Granular	Granular	Compacto	Granular
Unidad polínica	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Másula	Másula	Tétrade	Tétrade	Tétrade	Tétrade
Exina	R, Mc	R, Mc	R, Mf	R, Mc	R, Mc	R, Mc	R, Mf	R, Mf	R, Mc	R, Mc	R, Mc	R, Mc	R, Mc	R, Mc	R, Mc	R, Mc
Téctum	St	St	St	St	St	St	St	St	St	St	St	St	St	St	St	St
Presencia de caudícula	No	No	Si	Si	Si	No	Si	Si	No	Si	No	No	Si	Si	No	No
Tipo de caudícula	No	No	Ap	Ap	Ap	No	Ap	Ap	No	Ap	No	No	Ap	Ap	No	No
Longitud de la caudícula	No	No	Larga	Corta	Corta	No	Larga	Larga	No	Corta	No	No	Corta	Corta	No	No
Presencia de estípites	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Presencia de viscidio	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Forma del viscidio	Redondo	Elipsoide	Redondo	Redondo	Redondo	Elipsoide	Redondo	Redondo	Redondo	Alargado	Elipsoide	Elipsoide	Deltoide	Deltoide	Elipsoide	Elipsoide

La estructura del polinario en estos taxones es la siguiente:

- Polinios con caudícula y viscidio desmontable se observan en: *Aspidogyne* y *Cranichis*.
- Polinios con viscidio desmontable, presentes en: *Aa*, *Altensteinia*, *Erythrodes*, *Gomphichis*, *Spiranthes* y *Stenoptera*.

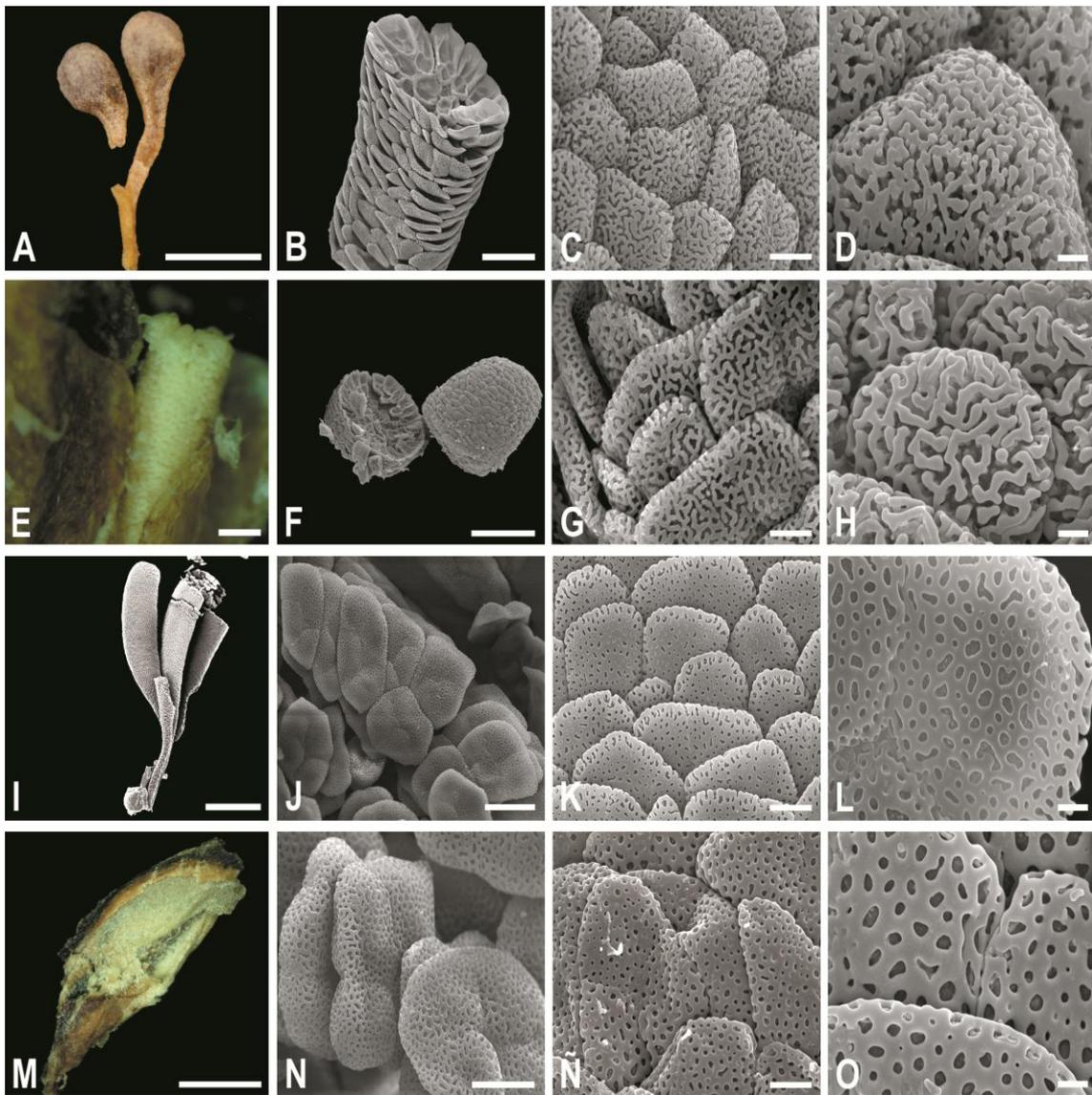


Figura 27. Imágenes del polinario tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido: A-D. *Baskervilla colombiana*, E-H. *Cranichis antioquiensis*, I-L. *Ponthieva diptera*, M-O. *Aspidogyne foliosa*. Escala: A = 0,05 mm, B = 50 μm ., C,G,K,N,Ñ = 10 μm ., D,H,L,O = 2 μm ., E = 0,1 μm ., J = 20 μm ., F = 100 μm , I = 500 μm , M = 1 mm.

La morfología de las tétrades varía dependiendo de la textura del polinio y de la ubicación de éstas a lo largo de los mismos. En los taxones *Baskervilla* (Fig. 27B-C), *Cranichis* (Fig. 27F-G), *Ponthieva* (Fig. 27J-K), *Aspidogyne* (Fig. 27N-Ñ), *Erythrodes* (Fig. 28B-C), *Sarcoglottis* (Fig. 28F-G), *Cyclopogon* (Fig. 28J-K) y *Spiranthes* (Fig. 28N-Ñ).

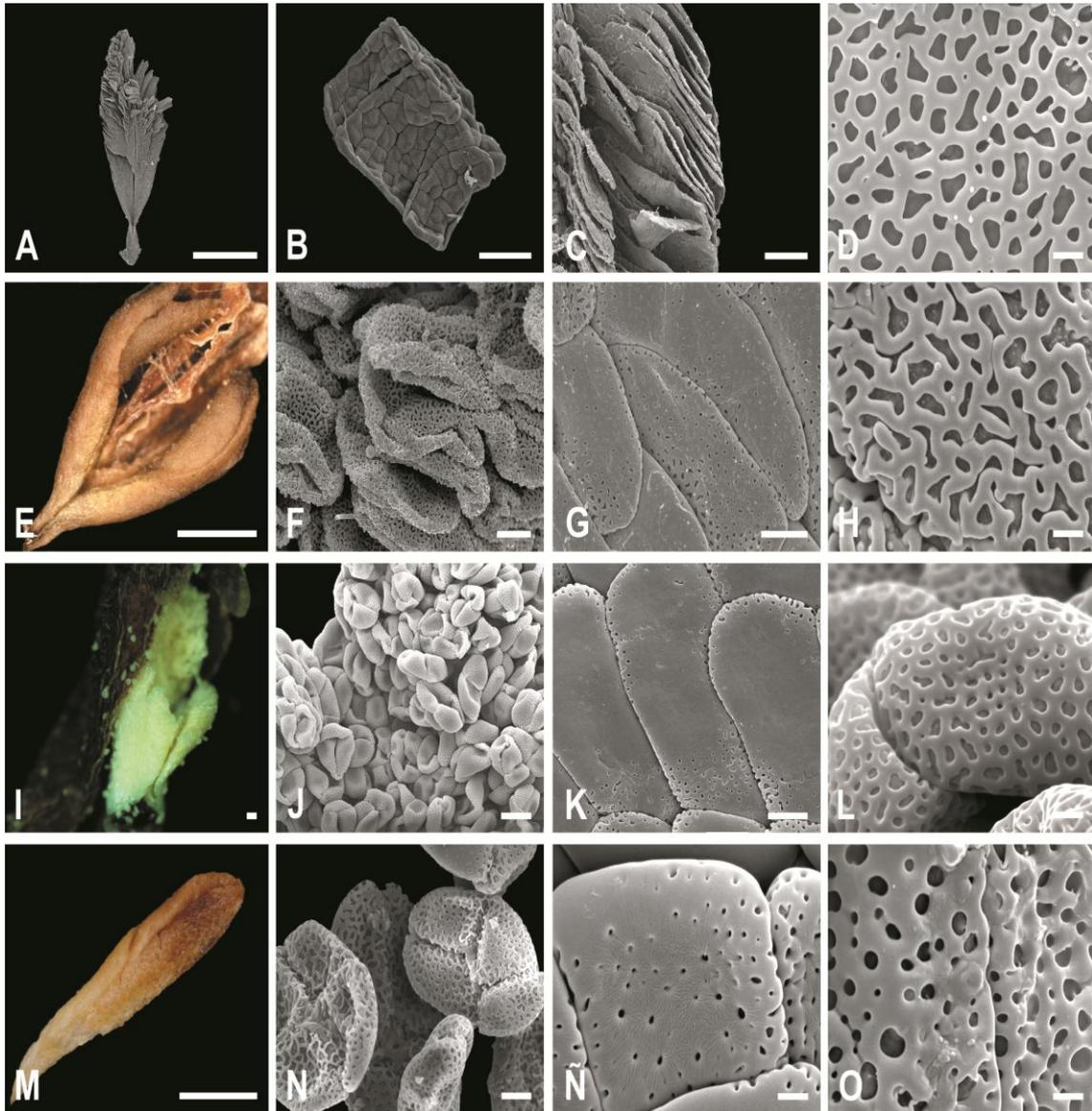


Figura 28. Imágenes del polinario tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido: A-D. *Erythrodes boliviensis*, E-H. *Sarcoglottis acaulis*, I-L. *Cyclopogon elatus*, M-O. *Spiranthes aestivalis*. Escala: A-E = 1 mm, B = 50 μ m, C = 100 μ m, D,H,L,O,Ñ = 2 μ m, F,G,K,N = 10 μ m, I = 0,05 mm, J = 20 μ m, M = 0,5 mm.

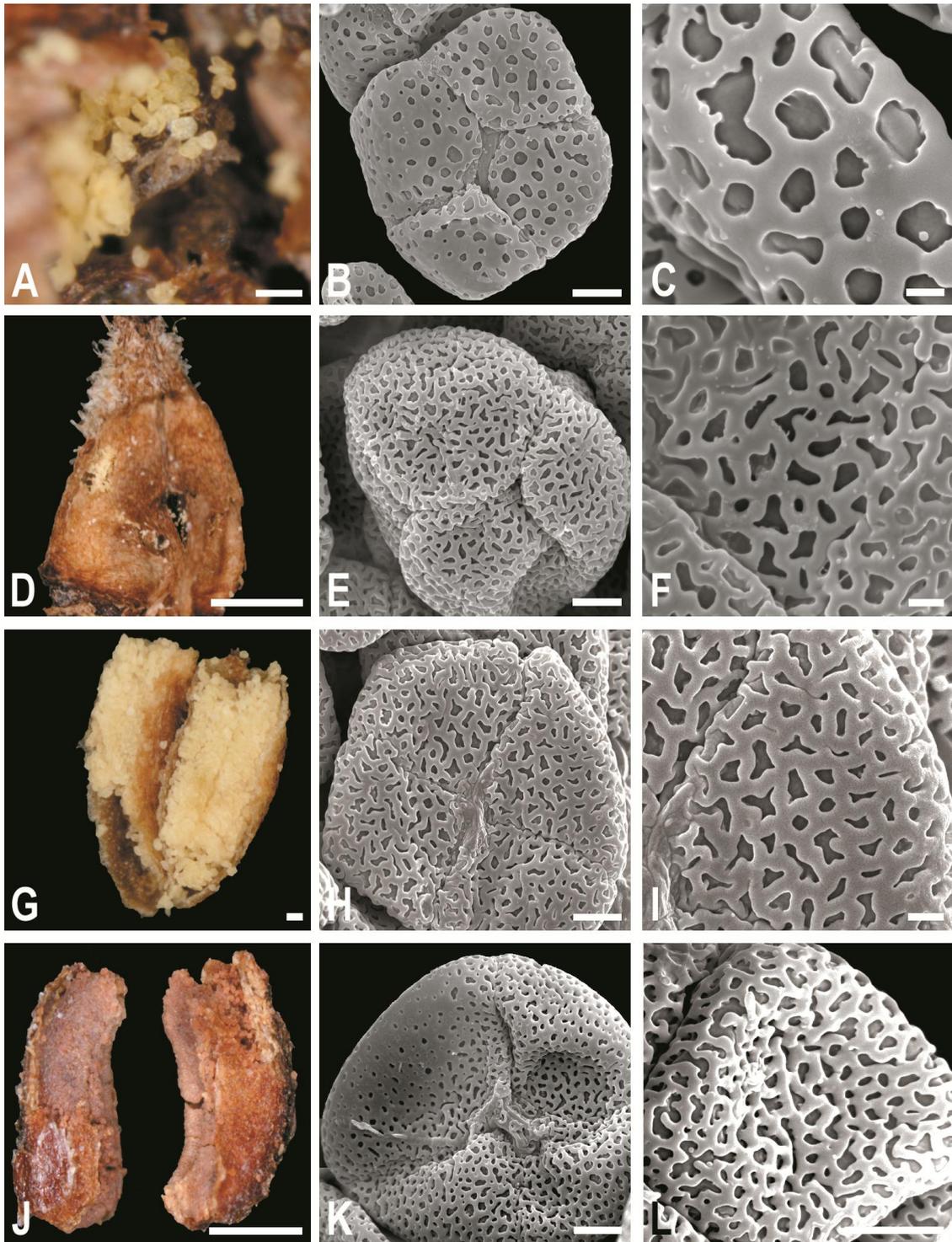


Figura 29. Imágenes del polinario tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido: A-D. *Erythrodes boliviensis*, E-H. *Sarcoglottis acaulis*, I-L. *Cyclopogon elatus*, M-O. *Spiranthes aestivalis*. Escala: A = 0,1 mm, B,E,H,K = 10 μ m, C,F,I = 2 μ m, D = 1mm, G = 0,05 mm, J = 0,5 mm, L = 5 μ m.

Las tétrades de la base del polinio son planas y están ubicadas en un plano transversal respecto al eje longitudinal del polinio, sin embargo, las tétrades de las zonas laterales de la parte media - superior del polinio también son planas, pero se ubican paralelamente al eje longitudinal del polinio. Además, existen diferencias en el retículo de las tétrades basales, apicales y laterales de los taxones antes mencionados.

También se observaron polinios con todas las tétrades homogéneas de forma uniplanar - tetragonal en los géneros *Aa* (Fig. 29B), *Altensteinia* (Fig. 29E), *Gomphichis* (Fig. 29H) y *Stenoptera* (Fig. 29K).

4.3.2 **Ornamentación de la exina**

La tribu Cranichideae presenta una exina semitectada con ornamentación reticulada, siendo este carácter muy relevante a nivel sistemático en la familia, que se considera el estado plesiomórfico. El análisis de la exina ha permitido detectar marcadas variaciones en la ornamentación y se han conformado tres grupos de taxones de acuerdo con este carácter:

- 1) *Baskervilla colombiana*, *Cranichis ciliata* con ornamentación reticulada, con muros lisos fragmentados;
- 2) *Aspidogyne foliosa*, *Cyclopogon comosus*, *Erythrodes boliviensis*, *E. major* y *Ponthieva racemosa*, con retículo de lúmenes irregulares de 0,5 - 2,0 μm , muros lisos con algunas perforaciones visibles solo en *A. foliosa* y *E. boliviensis*
- 3) *Aa maderoj*, *Altensteinia fimbriata*, *Cranichis antioquiensis*, *Cyclopogon elatus*, *Gomphichis traceyae*, *Ponthieva diptera*,

Sarcoglottis acaulis, *Spiranthes aestivalis* y *Stenoptera longiscapa*, presentan retículo con muros lisos y lúmenes irregulares de 2,5 – 5,7 μm .

4.3.3 **Discusión**

Los taxones de las subtribus Cranichidinae y Spiranthinae, presentaron dos o cuatro polinios granulares o compactos; sin embargo, en la subtribu Goodyerinae solo hay dos polinios con texturas granulares o séctiles. Este último caso es poco usual en la tribu Cranichideae. Solo los polinios dobles son bipartidos y tienen una posición yuxtapuesta, mientras que los cuatro polinios son enteros y en posición superpuesta. Al respecto Dueñas & Fernández-Alonso (2007) mencionaron la existencia de dos polinios bipartidos o cuatro enteros, blandos y harinosos con o sin caudícula en la subtribu Spiranthinae.

Las diferencias en la forma de las tétrades ubicadas en la base y ápice de los polinios también fueron referenciadas en la subtribu Spiranthinae. En este grupo las tétradas apicales son generalmente aplanadas y alargadas, con una exina gruesa, psilada o foveolada. Las numerosas tétrades del polinio con frecuencia están orientadas paralelas al eje longitudinal del polinio (como tejas de un tejado), para formar las caudículas apendiculares. Por el contrario, las tétrades basales están más o menos dispuestas en un plano transversal al eje longitudinal del polinio y son más o menos romboidales u ovales, con exina generalmente reticulada o foveolada (Salazar et al. 2003)

Las variaciones del retículo se observaron incluso dentro de los géneros *Cranichis*, *Cyclopogon* y *Ponthieva*, que llevó a situarlos en grupos diferentes. La subfamilia Orchidoideae, a la que pertenece la

tribu Cranichideae (Chase et al. 2003), presenta una gran variabilidad en la ornamentación del polen (Schill & Pfeiffer 1977) incluso dentro del mismo polinio. La exina semitectada con ornamentación reticulada en Orchidaceae se considera el estado primitivo (Burns-Balogh 1983).

Aspidogyne foliosa, *Erythrodes major*, *Ponthieva racemosa* y *Aa maderoii* presentan muros más amplios, en comparación al resto de las especies analizadas, por consiguiente el área tectada en el grano de polen es mayor. En contraste, se considera que la evolución de la exina ha implicado una serie de reducciones del tectum pasando de tectado-imperforado hasta el semitectado-tectado (Burns-Balogh 1983). Un estudio comparativo de la micromorfología de la exina de Orchideae y tribus relacionadas, sugieren una posible vía evolutiva en la ornamentación de reticulado a psilado (Barone-Lumaga et al. 2006).

Apéndice 2. Lista de taxones utilizados para describir los caracteres palinológicos en la Tribu Cranichideae.

Tribu: Especie, colector y número de colección, país y herbario. El material fresco es indicado con asterisco (*). Los especímenes están ordenados alfabéticamente.

Subtribu Cranichidinae. *Aa maderoii* Schtr., Ortíz 1048, Colombia (HPUJ). *Altensteinia fimbriata* Kunt, Ortíz 493, Colombia (HPUJ). *Baskervillea colombiana* Garay, Perez 1070, Colombia (MEDEL). *Cranichis antioquiensis* Schltr., Patherson 13411, Colombia (COL). *Cranichis ciliata* Kunth, Callejas et al. 7757, Colombia (HUA). *Gomphichis traceyae* Rolfe, Schneider 01, Colombia (COL). *Ponthieva diptera* Linden & Rchb.f., Gómez 678, Colombia (HUA). *Ponthieva racemosa* C.Mohr, Ortíz 90, Colombia (HPUJ). *Stenoptera longiscapa* (Kraezl.) L.O.Williams, Sánchez 5412, Colombia (MEDEL).

Subtribu Goodyerinae. *Aspidogyne foliosa* (Poepp. & Endl.) Garay, Fonnegra 4159, Colombia (HUA). *Erythrodes boliviensis* (Cogn.) Dodson & M.W. Chase, Ledezma et al. 523, Colombia (CHOCO). *Erythrodes major* Ames, Ospina 580, Colombia (JAUM).

Subtribu Spiranthinae. *Cyclopogon comosus* (Rchb.f.) Burns-Bal, Misas 257^a, Colombia (HPUJ). *Cyclopogon elatus* (Sw.) Schltr, Fonnegra 7142, Colombia (HUA). *Sarcoglottis acaulis* Schltr., Cogollo 7975, Colombia (JAUM). *Spiranthes aestivalis* (Poir.) Rich., Rivas 10022, Colombia (MEDEL). *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall., C. Acedo 245, España (LEB).

4.4 Caracterización palinológica y anatómica del pistilo en Epidendroideae

4.4.1 Morfología del polinario de la subtribu Laeliinae (Epidendreae)

Dentro de la subfamilia Epidendroideae, probablemente las subtribus más diversas son Laeliinae y Pleurothallidinae. La subtribu Laeliinae es exclusivamente neotropical, compuesta por 43 géneros y 1466 especies (Dressler 1993). Fue descrita inicialmente por Bentham (1881) y posteriormente dividida por Pfitzer (1889) en dos series: Ponereae y Cattleyeae, en base a las características del pie de la columna.

Se han propuesto varios sistemas de clasificación para Laeliinae basados en datos de la columna, labelo y ADN (Brieger 1977; Szlachetko 1995; De Oliveira et al. 2003; van den Berg & Chase 2004; van den Berg et al. 2009; Stern & Carlswald 2009). Los resultados de los análisis de ADN han permitido establecer varias "alianzas genéricas" integradas cada una con los géneros con mayor afinidad de la subtribu (van den Berg & Chase 2004; van den Berg et al. 2009).

Esta subtribu presenta mucha diversidad tanto en los caracteres vegetativos como florales que se han documentado en numerosos trabajos de la mayoría de las especies (Jones 1966; Zappi 1995; Withner 1998; van den Berg & Chase 2000, 2001; van den Berg 2001, 2008; Pridgeon et al. 2005; Soto-Arenas et al. 2007; Fraga et al. 2008).

Los integrantes de Laeliinae se caracterizan por ser epífitos o terrestres; con tallos alargados o con pseudobulbos; hojas dísticas o terminales sobre el pseudobulbo, duplicadas, usualmente articuladas,

inflorescencia terminal o raramente lateral, simple o ramificada de una a muchas flores; columna corta o elongada, con pie. Antera terminal incumbente o erecta; polinios lateralmente aplanados u ovoides en números de 8, 6, 4 ó 2, con caudículas prominentes, algunas con viscidio y estigmas enteros (Dressler 1993).

En ocasiones, en el polinario falta alguna de estas partes accesorias. El viscidio es una de las partes primordiales porque contiene elastoviscina, que permite la adherencia en cualquier superficie del polinizador (Johnson & Edwards 2000).

Los caracteres del polinio están entre los más importantes de Orchidaceae y han sido tenidos en cuenta desde el siglo XIX. De acuerdo con Freudenstein & Rasmussen (1996) los más utilizados en taxonomía son:

1. Número de polinios por antera.
2. Orientación de los polinios individuales en cada antera (si los polinios son superpuestos o no).
3. La organización del polen dentro del polinio.

Por ello, dentro de esta subtribu uno de los caracteres fundamentales para la separación de algunos géneros ha sido el número de polinios, como en *Cattleya* con cuatro y *Laelia* con ocho (van den Berg et al. 2000).

Sin embargo, las estructuras accesorias que se adjuntan a los polinios como el estípite, la caudícula y el viscidio, que en su conjunto constituyen el polinario, han sido poco estudiadas, pese a que son fundamentales en el proceso de polinización de las orquídeas (Johnson & Edwards 2000).

Los estudios polínicos de Laeliinae se han enfocado en el análisis morfoestructural del polinio y en la ultraestructura de la pared del polen de los géneros: *Brassavola*, *Cattleya*, *Encyclia*, *Epidendrum*, *Laelia*, *Schomburgkia* y *Sophronitis* (Schill & Pfeiffer 1977; Zavada 1990).

Para complementar la información disponible, nos planteamos como objetivo estudiar en detalle la morfo-estructura del polinario de 16 géneros de la subtribu Laeliinae, que permita discriminar las semejanzas entre los géneros analizados y su incidencia en la sistemática de este complejo grupo.

Con los datos obtenidos, se elaboró una matriz básica con la información de 14 caracteres de 45, individuos pertenecientes a 36 especies y 16 géneros de la subtribu Laeliinae (Tablas 10 y 11, Apéndice 3).

Tabla 10. Caracteres palinológicos usados en el análisis cladístico de la Subtribu Laeliinae y su codificación: estado plesiomórfico (0), otros estados de carácter (1, 2, etc.).

Nº	Caracteres palinológicos
1	Número de polinarios: cuatro (0), dos(1), uno (2)
2	Longitud del polinario > 2500 µm (0), < 2500 µm (1)
3	Número de polinios: cuatro (0), ocho (1), dos (2)
4	Longitud de los polinios: > 900 µm (0), < 900 µm (1)
5	Uniformidad de los polinios: isomórficos (0), heteromórficos (1)
6	Forma de los polinios: triangular (0), elíptico-ovalado (1), obovado (2), obtusamente reniforme (3), con forma de casco-redondeado (4)
7	Disposición de las tétrades dentro del polinio: separadas (0), medianamente unidas (1), unidas (2)
8	Distinción de los granos de polen dentro de la tétrade: distinguibles (0), poco distinguibles (1)
9	Periferia de la tétrade: psilada (0), con verrugas, gemas o báculas (1)
10	Ornamentación de la exina: sin relieve (0), con relieve (1)
11	Número de caudícula: una por polinio (0), una por cada dos polinios (1)
12	Tipo de caudícula: apendicular con abundante elastoviscina (0), apendicular con poca elastoviscina (1), apendicular con poca elastoviscina y con un tejido estriado en su interior (2)
13	Caudícula: corta e irregular (0), Larga y elaborada (1)
14	Viscidio: ausente(0), presente (1)

Se utilizaron, como grupo externo, los géneros *Stelis* y *Scaphosepalum* de la subtribu Pleurothallidinae).

Tabla 11. Matriz básica de datos utilizados en el análisis cladístico.

TAXA	CARACTERES													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>Brassavola</i>	2	1	1	1	1	2	1	1	0	0	1	1	1	0
<i>Cattleya</i>	0	0	0	0	0	3	2	1	0	0	0	1	1	0
<i>Caularthron</i>	1	0	0	0	0	3	0	1	1	0	1	1	1	0
<i>Dimerandra</i>	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0
<i>Encyclia</i>	1	0	0	0	0	3	1	0	1	0	1	1	1	0
<i>Epidendrum</i>	1	0	0	0	0	4	1	1	1	0	1	2	1	0
<i>Isochilus</i>	1	1	0	1	0	2	2	1	0	0	1	1	0	0
<i>Jacquinella</i>	1	1	0	1	1	4	2	1	0	1	1	0	0	0
<i>Laelia</i>	0	0	1	0	0	1	2	1	0	1	1	1	1	0
<i>Lanium</i>	1	1	0	1	0	3	2	0	1	0	1	2	1	0
<i>Oerstedella</i>	1	0	0	0	0	2	1	1	0	1	1	1	1	0
<i>Ponera</i>	1	1	0	1	0	4	2	1	0	0	1	1	0	0
<i>Prosthechea</i>	1	1	0	1	0	2	0	0	1	1	1	1	1	0
<i>Scaphyglottis</i>	1	1	0	1	0	4	1	1	0	1	1	1	0	0
<i>Schomburgkia</i>	0	0	1	0	0	4	2	1	0	1	1	1	1	0
<i>Sophronitis</i>	0	1	1	1	0	0	2	0	0	0	1	1	1	0
<i>Scaphosepalum</i>	2	1	2	1	0	1	2	1	0	0	0	1	0	1
<i>Stelis</i>	2	1	2	1	0	2	0	0	1	0	0	1	0	1

4.4.1.1 Estructura del polinario

Brassavola

Las especies *Brassavola grandiflora* y *B. nodosa* tienen un polinario de 1.789–1.900 μm ; compuesto por ocho polinios anchamente obovados y lateralmente aplanados, compactos, yuxtapuestos, marrones, de dos tamaños, pequeños (610–749 μm) y grandes (949–1.365 μm). Además, presentan 8 pseudopolinios redondos (121–242 μm) ubicados sobre las caudículas amarillas de tipo apendicular, largas (2.004–2.121 μm), alineadas y unidas formando un tapete (se observan tétrades abortadas unidas por elastoviscina); tétrades inaperturadas, con disposición irregular

dentro del polinio, medianamente separadas, con granos de polen poco distinguibles, ornamentación psilada–escábrida con algunas microfósulas (Fig. 30 A-D).

Cattleya

Cattleya quadricolor, *C. Schroderae* y *C. trianae* presentan cuatro polinarios de 4.600–6.600 μm ; cada uno con un polinio compacto, yuxtapuestos, de color marrón oscuro, angostamente reniformes y lateralmente comprimidos (1.700–2.300 μm de longitud); caudículas de 2.336–3.441 μm , apendiculares, amarillas, rectangulares, una por polinio; tétrades inaperturadas, irregulares, en ocasiones bordes superpuestos dentro del polinio, granos de polen diferenciados o no en la tétrade, ornamentación: psilada-escábrida, fosulada con pocas perforaciones, rugulada o con algunas verrugas(Fig. 30E-H).

Caularthron

Caularthron bicornutum y *Caularthron* sp. tienen dos polinarios de 2.600–3.700 μm , cada uno compuesto por dos polinios compactos, yuxtapuestos, marrones, reniformes de 966–1.463 μm ; dos caudículas apendiculares, amarillas, rectangulares (1.600–2.257 μm), tétrades sin aperturas visibles separadas dentro del polinio. Granos de polen individuales no distinguibles. Ornamentación psilada con microfósulas, escábrida, la periferia de cada tétrade posee gemas o verrugas (Fig. 30I-K).

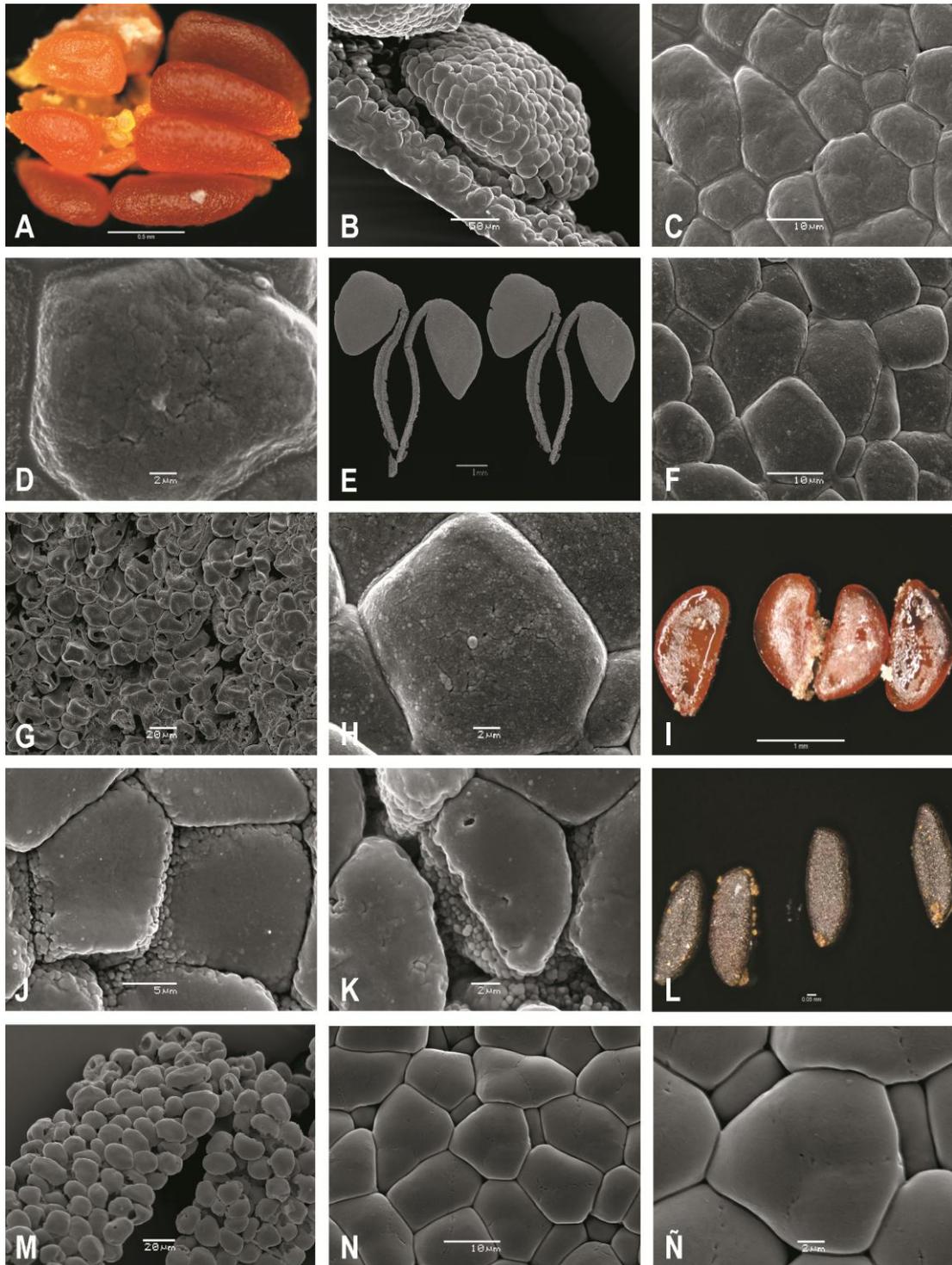


Figura 30. Imágenes tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido. *Brassavola grandiflora* Lindl: A. Polinario, B. Pseudopolinio, C. Tétrades, D. Ornamentación de las tétrades. *Cattleya schroederiae* Rchb.f.: E. Polinario. *Cattleya trianae* Linden & Rchb.f.: F. Tétrades, G. Textura de la caudícula, H. Ornamentación de la exina. *Cularthron bicornutum* Raf.: I. Polinios, J. Tétrades, K. Ornamentación de la exina. *Dimerandra buenaventurae* (Kraenzl.) Siegerist.: L. Polinios, M. Textura de la caudícula, N. Tétrades, Ñ. Ornamentación de la exina. Escala: A = 0.5 mm; B = 50 μ m; C,F,N = 10 μ m; D,H,K,Ñ = 2 μ m; E,I = 1 mm; G,M = 20 μ m; J = 5 μ m; L = 0,05 mm.

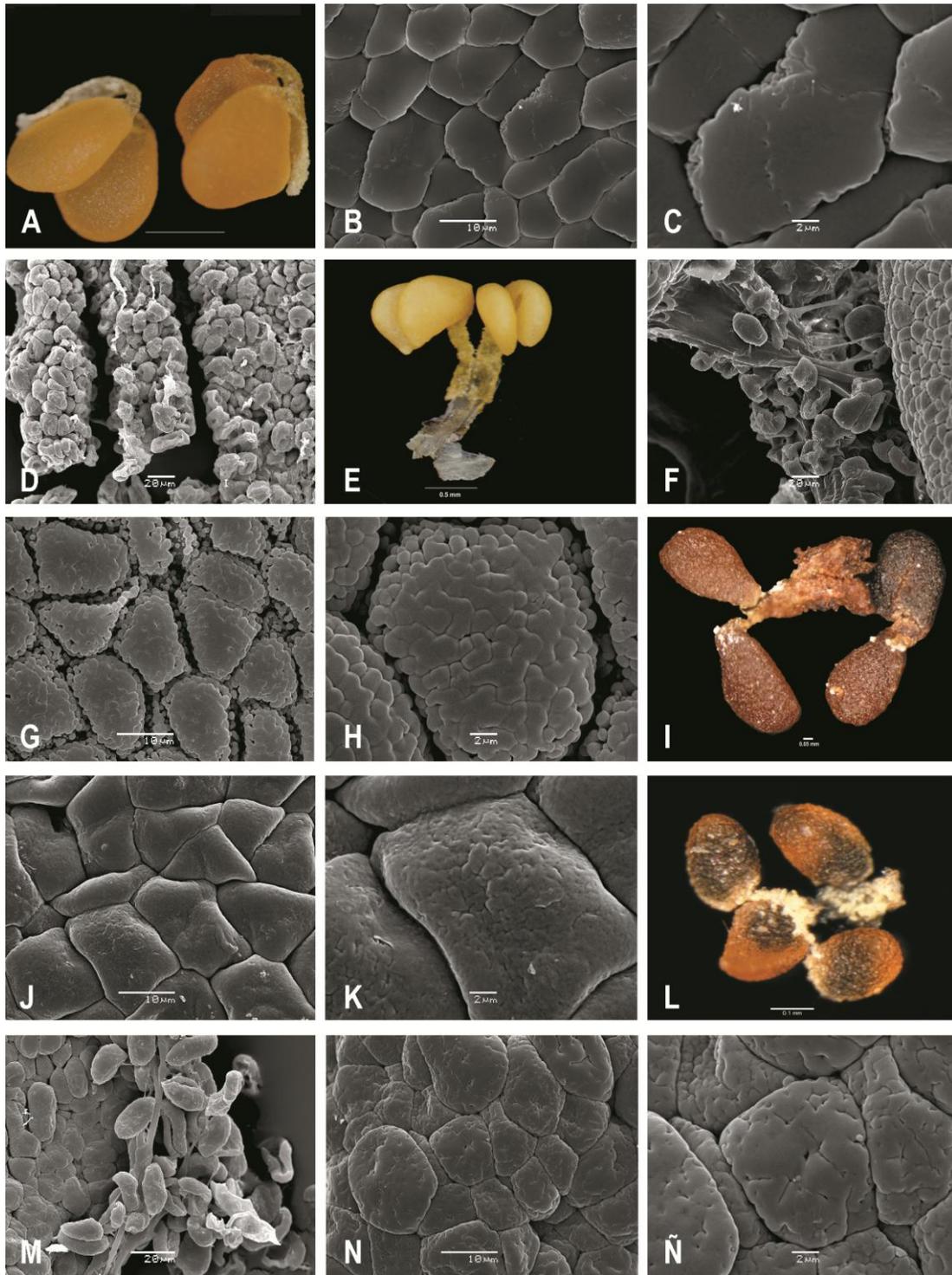


Figura 31. Imágenes tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido. *Encyclia vespa* (Vell.): A. Polinario, B. Tétrades, C. Ornamentación de la exina, D. Textura de la caudícula. *Epidendrum difforme* Jacq. E. Polinario, F. Textura de la caudícula, G. Tétrades, H. Ornamentación de la exina. *Isochilus linearis* (Jacq.): I. Polinario, J. Tétrades, K. Ornamentación de la exina. *Jacquinella globosa* Schltr. L. Polinario, M. Textura de la caudícula, N. Tétrades, Ñ. Ornamentación de la exina. Escala: A,E =0,5 mm; B,G,J,N= 10 µm; C,H,K,Ñ =2 µm; D,F,M =20 µm; I =0,05 mm; L =0,1 mm.

Dimerandra

Las especies *Dimerandra buenaventurae* y *D. latipetala* presentan cuatro polinarios de 1.268–1.806 μm , con cuatro polinios compactos, yuxtapuestos, elípticos, lateralmente aplanados (613–772 μm), color marrón oscuro o amarillo; una caudícula apendicular por polinio, amarilla, alargada y delgada de 553–1.072 μm ; tétrades inaperturadas, poco separadas dentro del polinio, se diferencian los granos de polen individuales; ornamentación psilada con microfósulas, la periferia de la tétrade con gemas o verrugas (Fig. 30L-Ñ).

Encyclia

Encyclia ceratistes, *E. gilbertoi*, *E. sceptra* y *E. vespa* presentan dos polinarios de 2.077–2.984 μm de longitud, con dos polinios cada uno de ellos, compactos, yuxtapuestos, obtusamente reniformes, color amarillo o marrón de 641–1.327 μm . Cada polinario posee una caudícula apendicular, rectangular, que se inserta a los polinios de forma basitónica, las caudículas son de color amarillo claro de 1.436–1.779 μm ; tétrades inaperturadas, separadas o medianamente unidas dentro del polinio, se distinguen los granos de polen; ornamentación psilada con microfósulas en toda la superficie, periferia de la tétrade con verrugas y gemas (Fig. 31A-D).

Epidendrum

Epidendrum arevaloi, *E. baezense*, *E. cernuum*, *E. decurviflorum*, *E. difforme*, *E. ellipsophyllum*, *E. elongatum*, *E. fastigiatum*, *E. ionodesme* y *E. sympetalostele* tienen dos polinarios de 847–3.229 μm , cada uno con dos polinios compactos y yuxtapuestos de 471–1.822 μm . Morfología variada: elongados, elípticos, obovados, redondos o en forma de casco; dos caudículas

apendiculares, en *E. difforme*, *E. ellipsophyllum* y *E. fastigiatum* la caudícula posee en su interior un tejido rígido con textura estriada; dentro del polinio las tétrades pueden estar desde unidas a separadas, en algunas se distinguen los granos de polen individuales. Ornamentación psilada, fosulada, perforada, rugulada y con verrugas. Periferia de las tétrades con verrugas, clavas, gemas o báculas (Fig. 31E-H).

Isochilus

Isochilus linearis presenta dos polinarios de 1.180–1407 μm , cada uno con dos polinios yuxtapuestos, compactos, iguales, obovados, lateralmente aplanados, color marrón oscuro, de 563–656 μm ; una caudícula apendicular por polinario, la inserción a los polinios de tipo basitónica; tétrades inaperturadas, medianamente unidas en el polinio y en la cual no se distinguen los granos de polen que la conforman; ornamentación fosulada–rugulada–perforada homogénea en toda la superficie de la tétrade (Fig. 31I-K).

Jacquiniella

Jacquiniella globosa tiene dos polinarios de 447–499 μm cada uno con dos polinios compactos, yuxtapuestos, circulares, aplanados (217–283 μm), color amarillo brillante; dos caudículas apendiculares, con abundantes tétrades abortadas, mayormente aplastadas y unidas entre sí por bandas de elastoviscina, cada una se inserta basitónicamente a dos polinios; tétrades inaperturadas, medianamente separadas, no se distinguen los granos de polen individuales en la tétrade; ornamentación fosulada-rugulada-perforada de forma homogénea en todas la tétrades (Fig. 31L-Ñ).

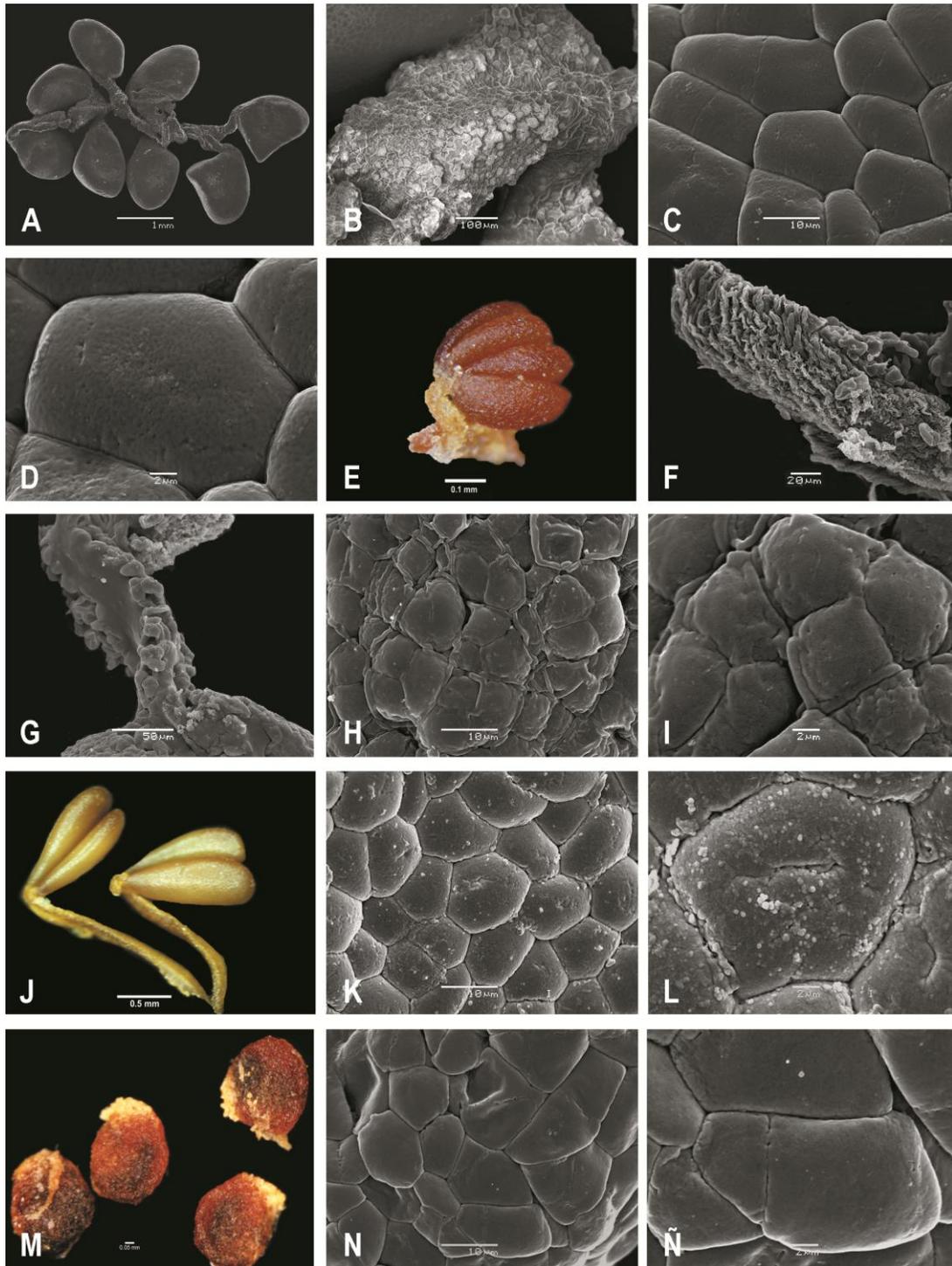


Figura 32. Imágenes tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido. *Laelia anceps* Lindl.: A. Polinario, B. Textura de la caudícula, C. Tétrades, D. Ornamentación de la exina. *Lanium avicula* Lindl.: E. Polinario, F-G. Textura de la caudícula, H. Tétrades, I. Ornamentación de la exina. *Oerstedella wallisii* (Rchb.f.) Hágsater: J. Polinario, K. Tétrades, L. Ornamentación de la exina. *Ponera striata* Lindl.: M. Polinios, N. Tétrades, Ñ. Ornamentación de la exina. Escala: A = 1 mm; B = 100µm; C,H,K,N =10 µm; D,I,L,Ñ =2 µm; E = 0,1 mm; F =20 µm; G =50 µm; J = 0,5 mm; M = 0,05 mm.

Laelia

Laelia anceps, *Laelia* sp. y *L. tenebrosa* tienen cuatro polinarios de 3.779–3.964 μm , formados por dos polinios ovalados con dos de sus lados abruptamente aplanados, de 954–1.303 μm de longitud, cuatro caudículas apendiculares (con poca elastoviscina y numerosas tétrades abortadas), rectangulares, marrón brillante, en cada extremo se inserta un polinio en posición basitónica; tétrades inaperturadas, medianamente unidas dentro del polinio, se distinguen los granos de polen de las tétrades; ornamentación rugulada, psilada con microfósulas y pocas perforaciones (Fig. 32A-D).

Lanium

Lanium avicula presenta dos polinarios de 734–760 μm de longitud, con dos polinios compactos y yuxtapuestos, reniformes-ovovados de color amarillo, de 306–328 μm ; dos caudículas apendiculares con abundante elastoviscina, amarillas, una por polinario, que se insertan basitónicamente a los polinios; tétrades muy unidas dentro del polinario, se observa claramente los granos de polen que conforman la tétrade; ornamentación psilada o fosulada con pocas perforaciones, borde engrosado (Fig. 32E-I).

Oerstedella

Oerstedella wallisii tiene dos polinarios de 3.539–3.899 μm , cada uno con dos polinios obovados, lateralmente aplanados, compactos y yuxtapuestos, color marrón brillante de 1.216–1.353 μm ; dos caudículas freniculares (compuestas solo por elastoviscina), cada una se inserta basitónicamente a dos polinios; tétrades medianamente unidas dentro del polinio, no se distinguen los granos de polen individuales; ornamentación escábrida, con fósulas y

verrugas distribuidas por toda la superficie, en algunas tétrades se observa una zona adelgazada de la exina (Fig. 32J-L).

Ponera

Ponera striata presenta dos polinarios de 784–911 μm de longitud, cada uno con dos polinios, compactos, yuxtapuestos, circulares de 453–517 μm , de color marrón oscuro; dos caudículas apendiculares, amarillas, una por cada dos polinios, que se insertan basitónicamente a estos; tétrades unidas en el polinio, con granos de polen diferenciados; ornamentación psilada con microfósulas, con rúgulas localizadas cerca del borde de la tétrade (Fig. 32M-Ñ).

Prosthechea

Las especies *Prosthechea cochleata* y *P. grammatoglossa* tienen dos polinarios de 899–1.812 μm , formados por dos polinios compactos y yuxtapuestos de 425–953 μm , obovados desiguales, color marrón; dos caudículas apendiculares de color amarillo de 474–858 μm ; tétrades separadas dentro del polinio, se distinguen los granos de polen individuales; ornamentación fosulada, rugulada o escábrida, con algunas perforaciones y verrugas (Fig. 33A-C).

Scaphyglottis

Scaphyglottis graminifolia tiene dos polinarios de 485–1.067 μm , cada uno con dos polinios (320–506 μm), compactos, yuxtapuestos, color marrón oscuro brillante, con forma ovalada, obovados o en forma de casco, con dos de sus lados aplanados; dos caudículas apendiculares amarillas, con abundante elastoviscina cubriendo las tétrades abortadas que la forman, la unión caudícula–polinio es basitónica; tétrades medianamente unidas dentro del polinio, en algunas se diferencian los granos de polen que la

componen; ornamentación rugulada, con algunas microfósulas y verrugas (Fig. 33D-G).

Schomburgkia

Schomburgkia splendida tiene cuatro polinarios de 4.307–4.772 μm , cada uno con dos polinios, compactos, yuxtapuestos, semicirculares aplanados en la parte superior, de color amarillo de 1.168–1.522 μm ; cuatro caudículas apendiculares, largas, rectangulares, amarillas, en cada extremo se insertan basitónicamente un polinio; tétrades medianamente unidas dentro del polinio, no se diferencian los granos de polen; ornamentación escábrida, con verrugas y fósulas (Fig. 33H-K).

Sophronitis

Sophronitis coccinea presenta cuatro polinarios de 1.644–2.087 μm , cada uno con dos polinios compactos, yuxtapuestos, triangulares, color marrón de 528–812 μm ; cuatro caudículas apendiculares (1.116–1.275 μm), marrones, en cada una se inserta un polinio en su extremo; tétrades medianamente unidas en el polinio, se diferencian los granos de polen individuales; ornamentación microfosulada, con perforaciones y algunas verrugas (Fig. 33L-Ñ).

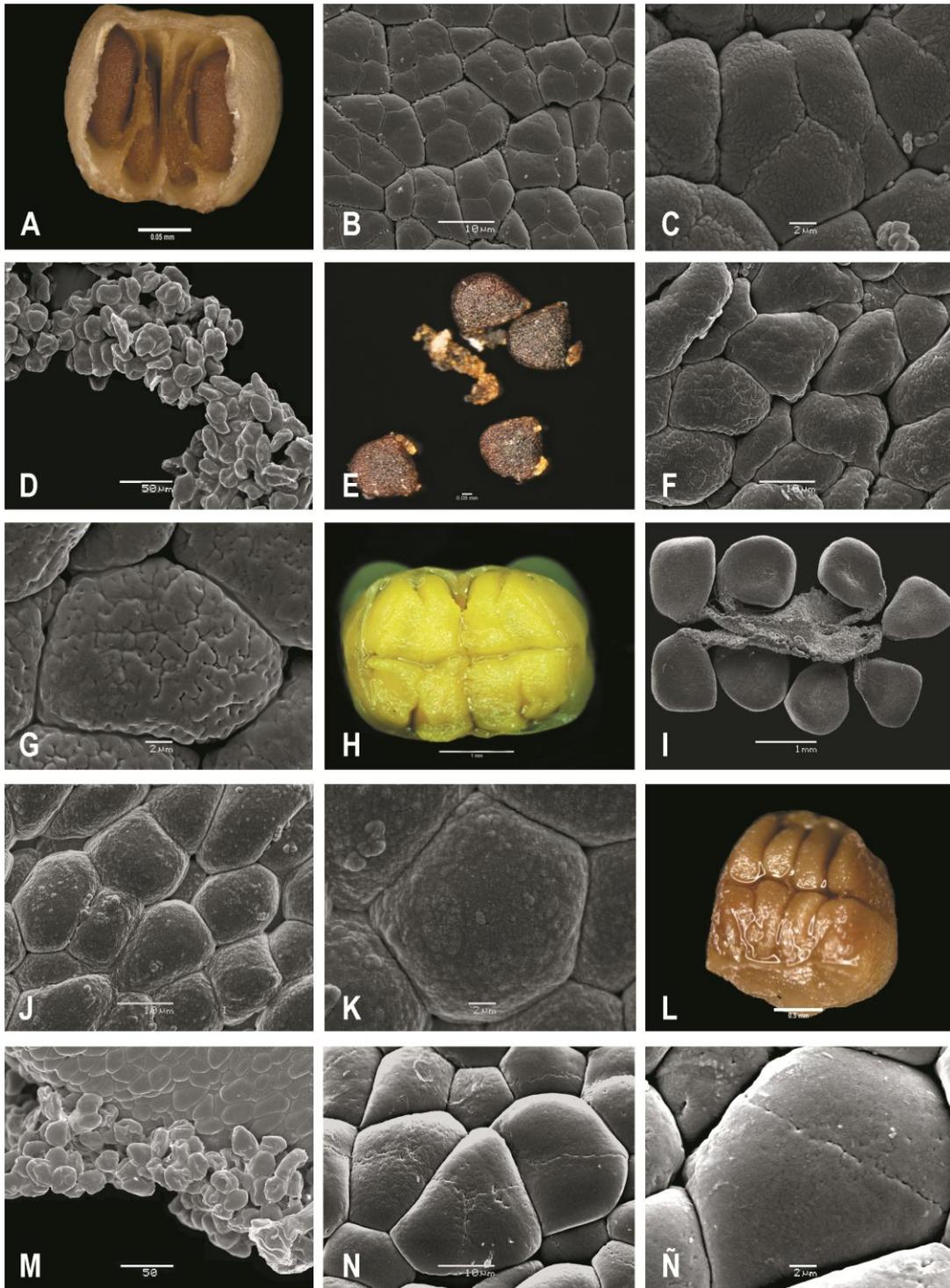


Figura 33. Imágenes tomadas en el esteromicroscopio y microscopio electrónico de barrido. *Prosthechea cochleata* (L.): A. Polinario dentro de la antera *Prosthechea grammatoglossa* (Rchb.f.) W.E. Higgins: B. Tétrades, C. Ornamentación de la exina. *Scaphyglottis graminifolia* Poepp. & Endl.: D. Textura de la caudícula, E. Polinios, F. Tétrades, G. Ornamentación de la exina. *Schomburgkia splendida* Schltr.: H. Polinario dentro de la antera, I. Polinario, J. Tétrades, K. Ornamentación de la exina. *Sophronitis coccinea* Rchb.f.: L. Polinario dentro de la antera, M. Textura caudícula, N. Tétrades, Ñ. Ornamentación de la exina. Escala: A,L = 0,5 mm; B,F,J,N = 10 µm; C,G,K,Ñ = 2 µm; D,M = 50 µm; E = 0,05 mm; H,I = 1 mm.

4.4.1.2 Análisis Cladístico

Con los datos resultantes del estudio de los caracteres del polinario (Tabla 10) y la matriz resultante (Tabla 11), se realizó un cladograma (Fig. 34), que refleja las relaciones entre los géneros analizados en base a los caracteres estudiados. Para este análisis se utilizó como grupo externo (*outgroup*), el formado por muestras de los géneros *Stelis* y *Scaphosepalum* de la subtribu Pleurothallidinae perteneciente a la misma subfamilia (Epidendroideae), pero que presentan estados polínicos (número de polinios, ornamentación, etc.) que se consideran derivados (Stenzel 2000).

La topología del cladograma permite visualizar varias alianzas genéricas, los caracteres decisivos, que aportan información en el establecimiento de los grupos, son el número de polinios y la estructura de la caudícula apendicular (unas largas muy elaboradas y otras cortas e irregulares). Se formaron 4 alianzas con caudículas largas, muy elaboradas y con 8 polinios:

Alianza 1. *Brassavola* y *Sophranitis*: polinario < 2.500 μm , polinios de hasta 900 μm e inserción de 2 polinios por caudícula (uno en cada extremo).

Alianza 2. *Laelia* y *Schomburgkia*: ambas presentan un polinario muy similar de 3.779-3.964 y 4.307-4.772 μm respectivamente, con polinios compactos con tétrades muy unidas, a veces superpuestas en parte de la superficie. Al igual que la alianza número uno, presentó una caudícula para dos polinios con el mismo tipo de inserción.

Con caudícula pero con 4 polinios:

Alianza 3. *Caularthron* y *Encyclia*: con polinios reniformes a obtusamente reniformes, ambos géneros tuvieron afinidades con *Epidendrum*, con quien compartieron la existencia de tétrades con granos de polen no distinguibles y la periferia de la tétrade con verrugas, gemas o báculas; aunque carece de este último carácter, *Oerstedella* mostró su afinidad en el resto de caracteres con los géneros de esta tercer alianza.

Alianza 4. *Jacquinella* y *Scaphyglottis*: con caudículas cortas e irregulares y 4 polinios. Tétrades con patrón de ornamentación rugulado y con algunas verrugas. De este grupo, también forman parte *Isochilus* y *Ponera*, que se diferencian de los taxones anteriores porque tienen las tétrades unidas dentro del polinio.

4.4.1.3 **Discusión**

La gran diversidad del polinario refleja las adaptaciones de las orquídeas para el proceso de polinización, lo que ha garantizado su éxito reproductivo, convirtiéndola en una de las familias más numerosas de las plantas con flores.

Número de polinios

Los géneros estudiados tienen 4 u 8 polinios. Además, se observaron pseudopolinios sobre las caudículas de *Brassavola nodosa* y *B. grandiflora*, con morfología y tamaño diferente al de los polinios funcionales. Las masas de polen adicionales observadas en *Brassavola*, no han sido encontradas en otros grupos de Epidendroideae (Withner 1998).

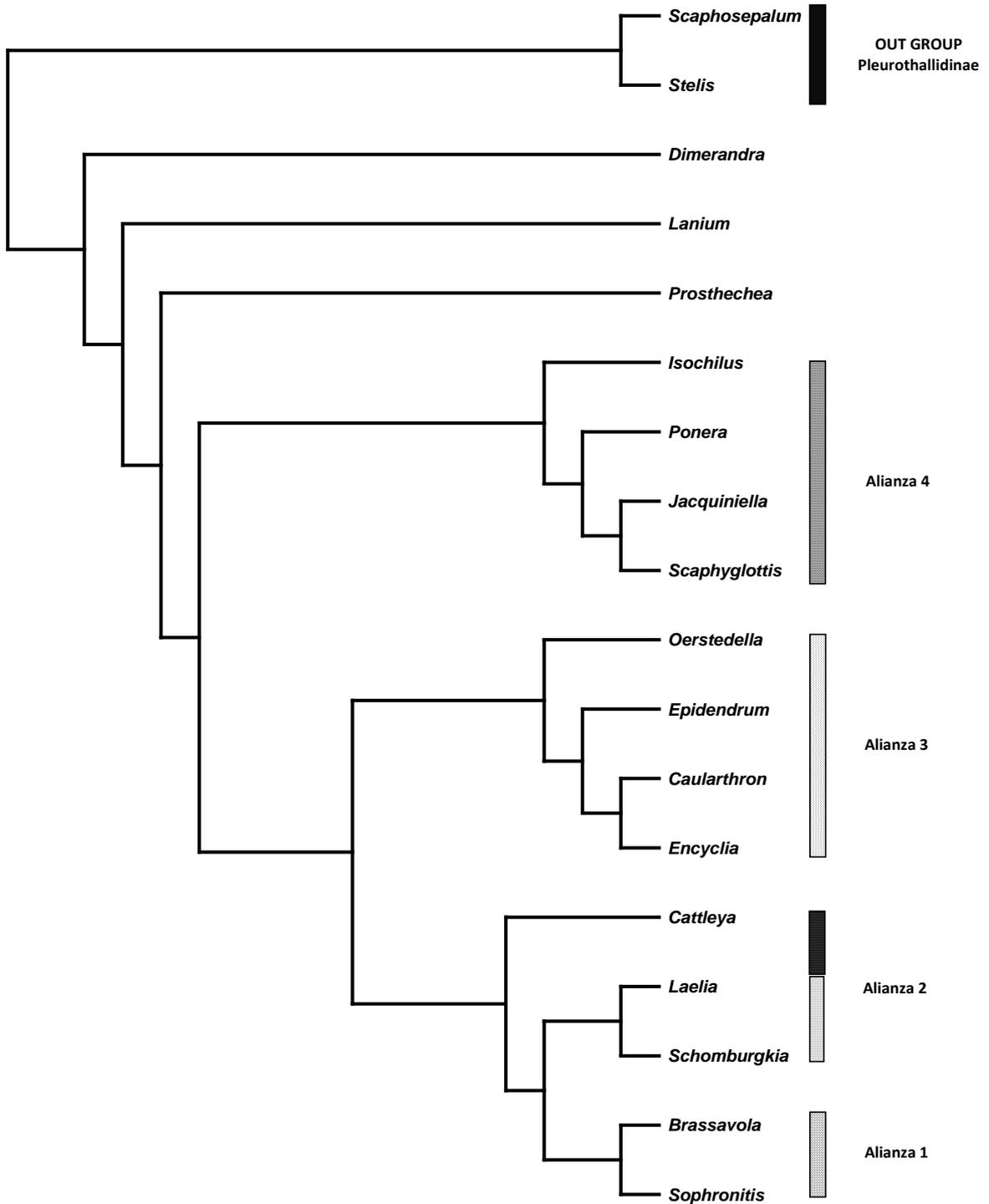


Figura 34. Árbol consenso estricto basado en datos del polinario de 16 géneros de Laeliinae. Longitud del árbol: 56, CI: 0,48, HI: 0,51, RI: 0,63.

El número de polinios varía en Laeliinae de 2 a 8 siendo una de las subtribu Epidendroideae la que posee el mayor número con 8

polinios (Dressler 1993; van den Berg et al. 2000), esta condición ha sido considerada como primitiva por diversos autores (Dressler 1993; Stenzel 2000).

Se ha considerado que los cambios en el número de polinios pudo haberse dado de 8-4-2 (Dressler 1993). En contraste, Freudenstein & Rasmussen (1999) indican que 4 polinios es el número predominante y se encuentra en los grupos de orquídeas supuestamente basales.

Nuestros resultados revelan que los géneros *Laelia*, *Schomburgkia*, *Brassavola* y *Sophranitis* analizados aquí, presentan una antera con dos tecas y cada una de ellas con dos lóculos, en cada uno de éstos encajan perfectamente 2 polinios cuyas caudículas permanecen posadas sobre la zona exterior de la antera; contrario a lo que ocurre con *Dimerandra*, *Lanium*, *Prosthechea*, *Isochilus*, *Ponera*, *Jacquinella*, *Scaphyglottis*, *Oerstedella*, *Epidendrum*, *Caularthron*, *Encyclia* y *Cattleya*, con 4 polinios organizados uno en cada lóculo. En algunas orquídeas la subdivisión del polen dentro de la antera está basada sobre un patrón de 4 lóculos, cada uno produce el polen en masas (Johnson & Edwards 2000).

Probablemente el número y desarrollo de los polinios en Epidendroideae se debe a la presencia de una sola región meristemática que más tarde da lugar a las masas de polen en cada teca. En las etapas tempranas es factible que se produzca la segmentación de estas regiones y por tanto se forman 4 u 8 polinios por antera, sin embargo, cuando no ocurre la segmentación solo se originan dos polinios como sucede en algunos miembros de Epidendroideae (Freudenstein & Rasmussen 1996).

Forma, tamaño y cohesión del polinio

Se ha observado una gran variación morfológica en los polinios, desde trianguloides (*Sophronitis*), elíptico-ovalados (*Laelia* y *Dimerandra*), obovados (*Brassavola*, *Oerstedella*, *Isochilus* y *Prosthechea*), obtusamente reniformes (*Cattleya*, *Caularthron*, *Encyclia* y *Lanium*) a redondeados o semejantes a un casco (*Epidendrum*, *Jacquiniella* y *Scaphyglottis*), todos lateralmente aplanados. Este último carácter es típico en la subtribu Laeliinae, aunque también se ha observado el tipo ovoide (Dressler 1993).

El tamaño de los polinios varía desde unas pocas micras como en *Jacquiniella* (217–283 μm), *Lanium* (306–328 μm), *Ponera* (453–517 μm), hasta valores muy grandes como en *Cattleya* (1.700–2.300 μm), *Schomburgkia* (1.168–1.522 μm), *Oerstedella* (1.216–1.353 μm), aunque resulta llamativo el amplio rango en el tamaño de los polinios de *Epidendrum* con longitudes de 471 μm en *E. baezense* hasta alcanzar 1.822 μm en *E. ionodesme*.

Los polinios analizados son compactos y yuxtapuestos, la disposición espacial de las tétrades dentro del polinio no sigue un patrón regular, la aglutinación del polen sin duda, debe estar condicionada a la cantidad de tétrades existentes en cada polinio.

Se ha estimado que un solo polinio compacto puede contener más de un millón de granos de polen; aunque el cálculo del número de granos de polen por polinio no es tan fácil como en otras familias de plantas, no solo por la compactación sino por las dimensiones de los mismos (Johnson & Edwards 2000).

Los polinios de: *Brassavola*, *Encyclia*, *Epidendrum*, *Oerstedella*, *Scaphyglottis* y *Dimerandra* tienen tétrades medianamente unidas, sin embargo, en *Caularthron* y *Prosthechea* están separadas,

permitiendo ver la periferia de las tétrades. Por el contrario, la mayoría de los géneros tienen las tétrades completamente unidas, en ocasiones superpuestas parcialmente en el borde (*Sophranitis*, *Laelia*, *Schomburgkia*, *Cattleya*, *Jacquinella*, *Ponera*, *Isochilus*).

La cohesión del polen en el polinio puede ser obligada, en cierta medida, por la interferencia causada por las paredes del polen durante la germinación, la reducción de la exina que rodea los granos de polen del interior del polinio puede ser parte del propósito evolutivo de reducir esta interferencia (Johnson & Edwards 2000).

Forma de la tétrade

En la mayoría de los polinios compactos, las tétrades se encuentran muy unidas, por lo que al ser observados en el MEB resultó difícil diferenciar su forma y por ende los granos de polen que la componen. En el caso de los géneros de Laeliinae analizados, solo unos pocos presentan tétrades propiamente diferenciadas (*Dimerandra*, *Encyclia*, *Lanium*, *Prosthechea* y *Sophranitis*), en los restantes géneros solo se pudo visualizar un grano de polen. Quizás la forma de la tétrade varía en gran medida condicionada por su ubicación dentro del polinio, pudiéndose visualizar tétrades tetraédricas hasta las de tipo planar alargadas en la zona periférica del polinio. Los caracteres referentes al tipo de tétrades no han sido tenidos en cuenta para estudios cladísticos porque presentan gran polimorfismo entre los individuos de Orchidaceae, pudiéndose reconocer hasta 6 formas de tétrades en el mismo polinio (Konta & Tsuji 1982; Konta & Hayakawa 1982; Yeung 1987; Freudenstein & Rasmussen 1999).

Ornamentación

La exina en los géneros estudiados se caracteriza por carecer de relieve siendo psilada, escábrida, con microfósulas y perforaciones en: *Brassavola*, *Sophronitis*, *Cattleya*, *Caularthron*, *Encyclia*, *Epidendrum*, *Ponera*, *Isochilus*, *Lanium* y *Dimerandra*, mientras que los géneros *Laelia*, *Schomburgkia*, *Oerstedella*, *Jacquiniella*, *Scaphyglottis* y *Prosthechea* presentaron una exina con relieve (con verrugas y rúgulas). Resultados similares de ornamentación con relieve fueron observados en individuos de: *Epidendrum*, *Encyclia*, *Cattleya*, *Brassavola*, *Sophronitis* e *Isochilus* (Schill & Pfeiffer 1977).

Caudícula

Las caudículas de los géneros analizados presentaron tétrades abortadas, rotas, sin aparente contenido celular, e incluso las tétrades abortadas pueden estar unidas por abundante elastoviscina (*Jacquiniella*), o poca elastoviscina mucho más compacta y aplanada, sin distinción de la forma de las tétrades (*Brassavola*, *Sophronitis*, *Laelia*, *Schomburgkia*, *Cattleya*, *Caularthron*, *Encyclia*, *Oerstedella*, *Scaphyglottis*, *Ponera*, *Isochilus*, *Prosthechea* y *Dimerandra*); incluso existen caudículas granuladas con un tejido rígido de textura estriada en su interior (*Epidendrum* y *Lanium*). Las características de la caudícula permiten deducir que su función dentro del polinario es estrictamente mecánica.

Nuestras observaciones concuerdan con la teoría de que las caudículas son producidas dentro de la antera y pueden ser consideradas una extensión del polinio, su estructura anatómica es consistente con la derivación del tejido esporogénico, la formación de ellas es el único ejemplo de tejido haploide que tienen una función mecánica no sexual (Johnson & Edwards 2000).

Estructura del polinario y su impacto en las alianzas genéricas de Laeliinae

Aunque los datos morfológicos, en ocasiones, no se han considerado soporte sólido en la estructura de los sistemas de clasificación, sobre todo en grupos complejos como es el caso de la familia Orchidaceae, constituyen sin embargo, una información complementaria a los datos de análisis molecular que recientemente se han realizado.

Los caracteres morfológicos de mayor peso en la conformación de las alianzas genéricas fueron sin duda el número de polinios y la estructura de la caudícula apendicular. Las alianzas genéricas establecidas en este trabajo están parcialmente de acuerdo con los resultados encontrados con el análisis de secuencias de cuatro regiones de DNA (trnL, trnL-F, matK trnK) de algunos miembros de esta subtribu (van den Berg & Chase 2004; van den Berg et al. 2009). Los clados formados fueron:

Alianza 1. *Brassavola* y *Sophranitis*: Este grupo se diferencia de los demás por tener un polinario < 2.500 µm, polinios de hasta 900 µm de longitud y la inserción de 2 polinios por caudícula (uno en cada extremo). Además, comparten caracteres morfológicos como hojas carnosas, inflorescencia con pocas flores de medianas a grandes, labelos libres y la ausencia del pie en la columna. Un estudio genético, que incluía estos dos géneros de la alianza 1 (*Brassavola* y *Sophranitis*) junto con *Cattleya*, *Cattleyella*, *Guarianthe*, *Myrmecophila*, *Rhynchoaelia*, ratifica las relaciones existentes en los géneros analizados en nuestra investigación, sin embargo, en ese estudio los autores la nombraron alianza *Cattleya* (van den Berg & Chase 2004).

Alianza 2. *Laelia* y *Schomburgkia*: estos géneros presentan un polinario muy similar en el número y organización de los polinios en la antera. Al igual que la alianza 1, presentó una caudícula para dos polinios con el mismo tipo de inserción. Pese a las diferencias morfológicas, los datos moleculares fueron fundamentales para soportar esta alianza, (van den Berg & Chase 2005; Soto-Arenas 2005). Aunque el género *Cattleya* solo tiene 4 polinios, mostró una afinidad con las alianzas 1 y 2 soportados probablemente por las semejanzas morfológicas de las caudículas apendiculares (con igual longitud y poca elastoviscina).

Se infiere que *Cattleya* puede estar más cercana a la alianza 2, basándonos, entre otras cosas, en la gran similitud en la morfología floral que comparte con *Laelia*. Sin embargo, probablemente *Cattleya* (con cuatro polinios) no evolucionó a la par que *Laelia* (con ocho polinios). La teoría de evolución de los polinios indica que cuatro es el estado plesiomórfico en la familia, mientras que ocho y dos son los estados apomórficos (Freudenstein & Rasmussen 1996).

Alianza 3. *Caularthron* y *Encyclia*: ambos géneros tuvieron afinidades con *Epidendrum*, con quien comparten caracteres de forma y ornamentación de la tétrade; dentro de este grupo *Oerstedella* mostró más cercanía a *Epidendrum*. Con excepción de *Encyclia*, los géneros antes mencionados formaron parte de la Alianza *Epidendrum* reconocida por van den Berg & Chase (2004) en base a datos de cuatro regiones de DNA (ITS, *trnL*, *trnL-F* y *matK*).

Alianza 4. *Jacquinella* y *Scaphyglottis*: ambos géneros fueron incluidos dentro de la Alianza *Scaphyglottis* (van den Berg et al. 2000; van den Berg et al. 2009), basándose también en datos moleculares consiguió un clado moderadamente estable. Los dos géneros de la alianza 4 comparten la morfología del polinio redondo o

en forma de casco con *Ponera*. De igual forma, el género *Isochilus* también muestra cercanía con esta alianza.

Los caracteres aquí analizados no permitieron soportar las relaciones de los géneros *Lanium*, *Prosthechea* y *Dimerandra*, con el resto de taxones usados en este estudio. Sin embargo, estudios moleculares unen a *Dimerandra* junto a *Jacquiniella* y *Scaphyglottis* en la Alianza *Scaphyglottis* y a *Prosthechea* con *Encyclia* en la alianza *Encyclia* (van den Berg & Chase 2004; van den Berg et al. 2009).

Apéndice 3. Lista de taxones utilizados para describir la morfología del polinario en Laeliinae.

Subtribu: Especie, colector y número de colección y herbario. El material fresco es indicado con asterisco (*). Los especímenes están ordenados alfabéticamente.

Subtribu Laeliinae Bentham: *Brassavola grandiflora* Lindl. Misas 21b (HPUJ). **B. Grandiflora** Lindl. Mejía & Pino 064 (*). **B. nodosa** Lindl. Geovo 0112 (*). **Cattleya quadricolor** Lindl. De Angulo 0017 (*). **C. Schroderae** Rchb.f. De Angulo 0018 (*). **C. Trianae** Linden & Rchb.f. De Angulo 0019 (*). **Caularthron bicornutum** (Hook.) Raf. Rodríguez 184 (COL). **Caularthron sp.** Arbeláez et al. 689 (HUA). **Dimerandra buenaventurae** (Kraenzl.) Siegerist. De Angulo 0200 (*). **D. latipetala** Siegerist. Misas 61b (HPUJ). **Encyclia ceratistes** (Lindl.) Schltr. De Angulo 0083 (MEDEL). **E. gilbertoi** (Garay) P. Ortiz. Ospina 703 (JAUM). **E. sceptra** (Lindl.) Carnevali & I. Ramírez. Ortiz 174 (HPUJ). **E. vespa** (Vell.) Dressler. Ortiz 16 (HPUJ). **E. vespa** (Vell.) Dressler. Sánchez et al. 1436 (MEDEL). **E. vespa** (Vell.) Dressler. Geovo 301 (*). **E. vespa** (Vell.) Dressler. SCO 0298 (*). **Epidendrum arevaloi** (Schltr.) Hágsater. Correa et al. 1313 (JAUM). **E. baezense** Hágsater & Dodson. Hágsater 11565 (JAUM). **E. cernuum** Kunth. Ortiz 333 (HPUJ). **E. decurviflorum** Schltr. González 2074 (COL). **E. difforme** Jacq. Mosquera 0109 (*). **E. ellipsophyllum** L.O. Williams. Misas 35a (HPUJ). **E. elongatum** Jacq. Fernández-Alonso et al. 19114 (COL). **E. fastigiatum** Lindl. Ortiz 4166 (HPUJ). **E. ionodesme** Schltr. De Angulo 0084 (*). **E. sympetalostele** Hágsater & L. Sánchez S. Mejía & Pino 0050 (*). **Isochilus linearis** (Jacq.) R. Br. De Angulo 0092 (*). **Jacquiniella globosa** (Jacq.) Schltr. Misas 24a (HPUJ). **J. globosa** (Jacq.) Schltr. Chaparro & Barrera 246 (COL). **Laelia anceps** Lindl. SCO 0168 (*). **L. tenebrosa** (Rolfe) Rolfe. SCO 0170 (*). **L. tenebrosa** (Rolfe) Rolfe. De Angulo 0085 (*). **Laelia sp.** SCO 0169 (*). **Lanium avicula** (Lindl.) Benth. De Angulo 0086 (*). **Oerstedella wallisii** (Rchb.f.) Hágsater. De Angulo 0087 (*). **O. wallisii** (Rchb.f.) Hágsater. Geovo 0317 (*). **Ponera striata** Lindl. Silva 267 (HPUJ). **Prosthechea cochleata** (L.) W.E. Higgins. De Angulo 0213 (*). **P. grammatoglossa** (Rchb. f.) W.E. Higgins. De Angulo 0088 (*). **Scaphyglottis graminifolia** (Ruiz & Pav.) Poepp. & Endl. Misas 56a (HPUJ). **S. graminifolia** (Ruiz & Pav.) Poepp. & Endl. De (*). **Schomburgkia splendida** Schltr. De Angulo 0091 (*). **Sophronitis coccinea** Rchb.f. SCO 0020 (*). **Outgroup: Scaphosepalum antenniferum** (Rchb.f.) Rolfe. De Angulo 0218 (*). **Stelis velutina** Lindl. O. Duque 1277 (JAUM). **Stelis alba** Kunth. SCO 0023 (*).

4.4.2 Estructura del polinario y del pistilo

En este apartado se estudia la variación de los caracteres del polinario y pistilo de 126 taxones, pertenecientes a 95 géneros, 8 tribus y 18 subtribus de la Subfamilia Epidendroideae (Apéndice 4). Con los datos obtenidos, se ha construido una matriz de 57 caracteres de los taxones estudiados, a la que se incorporan otras 14 muestras pertenecientes a las 4 subfamilias de Orchidaceae restantes (Apostasioideae, Cyripedioideae, Orchidoideae y Vanilloideae) que se incluyen en el estudio con fines comparativos.

Epidendroideae es una de las subfamilias con mayor número de géneros y especies de Orchidaceae y se caracteriza por su gran variedad y diversidad de formas (Kuřak et al. 2006). Incluye 19 tribus y 43 subtribus filogenéticamente derivadas y morfológicamente avanzadas (Chase et al. 2003), sin embargo, aún falta conocer la relación entre tribus y subtribus dentro de Epidendroideae a excepción de Epidendreae, Vandaeae y Cymbidieae (Chase 2005).

De las cinco subfamilias de Orchidaceae, solo Orchidoideae y Epidendroideae presentan polinios y polinarios y también son las más ricas en número de especies con al menos un 98% de todas las descritas hasta la fecha (Chase et al. 2003; Singer et al. 2008). Algunos caracteres del polinario han sido estudiados en estas subfamilias por otros autores (Dressler 1993; Freudenstein & Rasmussen 1996, 1997; Johnson & Edwards 2000; Freudenstein et al. 2002; Singer et al. 2008), sin embargo existe poca información sobre los diferentes estados del carácter, la naturaleza y las vías evolutivas del polinario dentro de la subfamilia Epidendroideae, que probablemente presenta la mayor variabilidad en esta estructura de toda la familia.

El polinario ha sido sin duda una innovación clave en la historia evolutiva de Orchidaceae y puede haber desempeñado un papel importante en la promoción de la tremenda radiación del grupo, no solo por la compactación de los granos de polen, sino por la adición de estructuras accesorias (caudícula, estípite y viscidio), para facilitar su transporte por los polinizadores (Johnson & Edwards 2000).

El número de polinios por antera puede ser 2, 4, 6, u 8, siendo usualmente uniforme en cada género y probablemente también en las subtribus y tribus (Freudenstein & Rasmussen 1996).

Con respecto al número de polinios, Dressler (1993) infiere sobre un posible patrón de reducción de 8 a 6, 4 y 2, siendo este último número el más avanzado, sin embargo, Freudenstein & Rasmussen (1996) afirman que cuatro polinios es la condición plesiomórfica en las orquídeas, dos polinios son el resultado de la fusión de los cuatro y la formación de los ocho polinios puede producirse por la división transversal o longitudinal de los sacos polínicos que contenían cuatro polinios.

El polinio puede tener varias texturas en Epidendroideae: compactos, séctiles y granulares. Los polinios compactos representan el mayor grado de cohesión del polen y son depositados en su totalidad dentro del estigma, por el contrario, los polinios séctiles se subdividen en másulas y uno solo puede polinizar a varias flores (Johnson & Edwards 2000). Los granulares están presentes principalmente en los géneros más basales (Hesse et al. 1989; Rothacker 2007).

La ornamentación del grano de polen en Epidendroideae también resulta ser variada al comparar las subtribus, puede ser desde psilada-escábrida-verrugosa-rugulada a foveolada-fosulada-reticulada (Schill & Pfeiffer 1977).

Los caracteres del pistilo han sido poco utilizados en la sistemática de Orchidaceae, sin embargo, pueden proporcionar datos útiles sobre las especies estrechamente relacionadas. Características como el número de carpelos, lóculos, óvulos y tipo de vascularización pueden aportar una información primordial para el entendimiento de la evolución floral de la familia Orchidaceae (Veyret 1981).

La mayor parte de las orquídeas tienen el ovario unilocular, mientras que pocos grupos, supuestamente basales, presentan tres lóculos (Freudenstein & Rasmussen 1999; Cameron 2003).

La vascularización del pistilo es otro tema incipientemente tratado en Orchidaceae. Los patrones de venación floral no solo han sido utilizados para resolver problemas filogenéticos, sino también para establecer homologías entre los órganos florales (Gustafson 1995; Solis & Ferrucci 2009).

4.4.2.1 **Variaciones estructurales del polinario**

La variación que hemos observado en el polinario se refiere al número, textura y organización de los polinios, así como a las estructuras accesorias que posee.

Hay polinios compactos y granulares, caudículas freniculares elásticas o apendiculares (Veyret 1981) compuesta por granos de polen abortados, estípites tegulares cuando está presente y un viscidio difuso o desmontable.

Se ha observado que existe una correspondencia entre el número de polinios y las estructuras accesorias que los acompañan o se unen a él (Tabla 12).

Tabla 12. Caracteres principales del polinario y del pistilo de Epidendroideae. P. polinio, C. caudícula, S, estípita, V. viscidio.

Taxon	Estructuras del polinario	Nº. polinios	Ornamentación del polen	Nº. Carpelos	Nº. Lóculos	Vascularización
Neottieae						
<i>Epipactis</i>	P,V	2	Reticulada	6	1	Haces ventrales
Sobralieae						
<i>Elleanthus</i>	P,C	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Sertifera</i>	P,C,V	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Sobralia</i>	P,C,V	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Calypsoae						
<i>Corallorhiza</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Ponerinae						
<i>Isochilus</i>	P,C,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Bletiinae						
<i>Bletia</i>	P,C	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Pleurothallidinae						
<i>Acronia</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Ancipitia</i>	P,C,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Barbosella</i>	P,C	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Dracula</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Dryadella</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Lepanthopsis</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Masdevallia</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Pleurothallis</i>	P,C,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Porroglossum</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Restrepia</i>	P,C,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Restreplopsis</i>	P,C	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Scaphosepalum</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Stelis</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Trisetella</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Zootrophion</i>	P,C	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Laeliinae						
<i>Brassavola</i>	P,C	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Cattleya</i>	P,C,V	4	No reticulada	3	1	Haces ventrales
<i>Encyclia</i>	P,C,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Epidendrum</i>	P,C,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Laelia</i>	P,C	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Lanium</i>	P,C	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Oerstedella</i>	P,C	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Prosthechea</i>	P,C	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Scaphyglottis</i>	P,C	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Schomburgkia</i>	P,C	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Sophronitis</i>	P,C	8	No reticulada	3	1	Haces ventrales y laterales

Arethusinae						
<i>Arundina</i>	P	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Coelogyntinae						
<i>Coelogyne</i>	P,C,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Dendrochilum</i>	P,C	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Malaxideae						
<i>Liparis</i>	P,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Malaxis</i>	P	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Catasetinae						
<i>Catasetum</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Cynoches</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Galeandra</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Cymbidiinae						
<i>Cymbidium</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
Oncidiinae						
<i>Ada</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Aspasia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y dorsales
<i>Brassia</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Caluera</i>	P,C,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Cischweinfia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Cochloda</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Compartmentia</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Cyrtorchilum</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Ionopsis</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Lockhartia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Macradenia</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Miltonia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Miltoniopsis</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Notylia</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Odontoglossum</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Oncidium</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Ornithocephalus</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Psycmorchis</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Pterostemma</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Rodriguezia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Sigmatostalix</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Solenidium</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Sphyrastylis</i>	P,C,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Symphoglossum</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Tolumnia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Trichocentrum</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y dorsales
<i>Trichopilia</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Stanhopeinae						
<i>Acineta</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales

<i>Gongora</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Houlletia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Paphinia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Polycynis</i>	P,C,S	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Sievekingia</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y dorsales
<i>Stanhopea</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
Coeliopsidinae						
<i>Peristeria</i>	P,C,S,V	2	No reticulada	6	3	Haces ventrales y laterales
Zygopetalinae						
<i>Bollea</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Chondrorhyncha</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Warczewiczella</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Galeottia</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Huntleya</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	3	Haces ventrales y laterales
<i>Kefersteinia</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Maxillariinae						
<i>Anguloa</i>	P,C,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Ida</i>	P,C,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Lycaste</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
<i>Xylobium</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Cryptocentrum</i>	P,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Maxillaria</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales, dorsales y laterales
<i>Trigonidium</i>	P	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales, dorsales y laterales
Polystachyinae						
<i>Polystachya</i>	P,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Aeridinae						
<i>Doritis</i>	P,C,S,V	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Vanda</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Angraecinae						
<i>Angraecum</i>	P,S,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Collabiinae						
<i>Spathoglottis</i>	P,C	8	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Dendrobiinae						
<i>Dendrobium</i>	P	4	No reticulada	6	1	Haces ventrales y laterales
OUTGROUP						
Apostasioideae						
<i>Apostasia</i>	No	No	No reticulada	3	3	Haces ventrales y dorsales
<i>Neuwiedia</i>	No	No	No reticulada	3	3	Haces ventrales y dorsales
Vanilloideae						
<i>Cleistis</i>	P	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Vanilla</i>	P,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
Cypripedioideae						
<i>Cypripedium</i>	No	No	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Paphiopedilum</i>	No	No	No reticulada	6	1	Haces ventrales

<i>Phragmipedium</i>	No	No	No reticulada	3	3	Haces ventrales
<i>Selenipedium</i>	No	No	No reticulada	3	3	Haces ventrales y dorsales
Orchidoideae						
<i>Cyclopogon</i>	P,V	4	Reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Eurystyles</i>	P,V	4	Reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Ophrys</i>	P,C,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Orchis</i>	P,C,V	2	No reticulada	6	1	Haces ventrales
<i>Spiranthes</i>	P,V	4	Reticulada	6	1	Haces ventrales

➤ Polinarios con ocho polinios

Se observaron en *Elleanthus*, *Sertifera* y *Sobralia* (Sobraliinae), *Bletia* (Bletiinae), *Brassavola*, *Laelia*, *Schomburgkia* (Fig. 35A), *Sophronitis* (Laeliinae), *Arundina* (Arethusinae) y *Spathoglottis* (Collabiinae). Solo *Elleanthus* tiene polinios bipartidos, algo inusual, ya que solo se ha citado esta característica en los polinios dobles. La estructura y composición del polinario con este número de polinios es la siguiente:

- 1) Polinios compactos con caudícula apendicular y viscidio difuso se observaron en: *Sobralia* y *Sertifera*.
- 2) Polinios compactos con caudícula apendicular, sin estípite y sin viscidio en *Bletia* (Fig. 35F), *Elleanthus*, *Brassavola*, *Laelia*, *Schomburgkia*, *Sophronitis* y *Spathoglottis*.
- 3) Polinarios granulares y sésiles están presentes en *Arundina*.

➤ Polinarios con cuatro polinios

Están presentes en los miembros de las tribus y subtribus: Calypsoeae, Ponerinae, Pleurothallidinae, Laeliinae, Coelogyninae, Malaxideae, Oncidiinae, Maxillariinae, Zygotetaliinae, Polystachyinae, Aeridinae y Dendrobiinae. En estos casos, los polinios son compactos, heterogéneos y superpuestos, excepto en Laeliinae, Malaxideae y algunos miembros de Maxillarieae (*Cryptocentrum* y *Trigonidium*) con polinios yuxtapuestos.

Se han observado variaciones en relación a la presencia de estructuras accesorias unidas a los polinios, incluso dentro de una misma subtribu como se detalla a continuación:

- 1) Polinarios completos con polinios, caudícula frenicular, estípite tegular y viscidio desmontable están presentes en *Doritis* (Aeridinae), *Anguloa*, (Maxillariinae), *Caluera* y *Sphyrastylis* (Oncidiinae) y también en *Ida* (Maxillariinae) aunque el viscidio es difuso.
- 2) Polinarios con polinios, caudícula apendicular y viscidio difuso, pero carentes de estípite lo presentan *Cattleya*, *Encyclia*, *Epidendrum* (Laeliinae), *Isochilus* (Ponerinae), *Coelogyne* (Coelogyneinae).
- 3) Polinarios con caudícula apendicular lo poseen: *Barbosella*, *Restrepiopsis* (Pleurothallidinae), *Lanium*, *Oerstedella*, *Prosthechea* y *Scaphyglottis* (Laeliinae) y *Dendrochilum* (Coelogyneinae).
- 4) Polinarios con polinios, sin caudícula, pero con estípite tegular y viscidio desmontable se observaron en *Corallorhiza* (Calypsoeae), *Ornithocephalus* (Oncidiinae), *Lycaste*, *Xylobium*, *Maxillaria* (Maxillariinae), *Polystachya* (Polystachyinae), y con viscidio difuso en: *Bollea*, *Chondrorhyncha* (Fig. 35B), *Warczewiczella*, *Galeottia*, *Huntleya* y *Kefersteinia* (Zygopetalinae).
- 5) Polinarios solo con viscidio, lo presentan: *Cryptocentrum*, *Trigonidium* (Maxillariinae) y *Liparis* (Malaxideae).
- 6) Polinios sésiles, sin estructuras accesorias en: *Dendrobium* (Dendrobiinae) (Fig. 35C) y *Malaxis* (Malaxideae).

➤ Polinarios con dos polinios

Esta configuración del polinario se ha observado en 9 subtribus de la subfamilia Epidendroideae: Aeridinae, Angraecinae, Catasetinae, Coeliopsidinae, Cymbidiinae, Neottieae Oncidiinae, Pleurothallidinae, Stanhopeinae. En base a las variaciones en la composición y estructura del polinario se identificaron 5 estados:

- 1) Polinarios con polinios bipartidos (Fig. 35D), caudícula frenicular (Fig. 35E), estípite tegular y con dos tipos de viscidio (desmontable y difuso), siendo desmontable en: *Cycnoches*, *Galeandra* (Catasetinae), *Paphinia*, *Acineta*, *Gongora*, *Sievekingia*, *Stanhopea* (Stanhopeinae), *Cymbidium* (Cymbidiinae), *Ada*, *Aspasia*, *Cochlioda*, *Cischweinfia*, *Cyrtochilum*, *Ionopsis*, *Lockhartia*, *Miltonia*, *Miltoniopsis*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Rodriguezia*, *Solenidium* (Oncidiinae) y difuso en: *Galeandra* (Catasetinae), *Tolumnia* (Oncidiinae), *Houlletia*, *Polycycnis* (Stanhopeinae) y *Peristeria* (Coeliopsidinae).
- 2) Polinarios con polinios bipartidos, caudícula apendicular (Fig. 35F), y viscidio difuso en: *Pleurothallis* y *Restrepia* (Pleurothallidinae).
- 3) Polinarios con polinios, caudícula apendicular, sin estípite y viscidio, en: *Acronia*, *Ancipitia*, *Dracula*, *Dryadella*, *Lepanthopsis*, *Masdevallia*, *Porroglossum*, *Stelis*, *Trisetella* y *Zootrophion* (Pleurothallidinae).
- 4) Polinarios con polinios bipartidos, sin caudícula pero con estípite tegular y viscidio desmontable en: *Catasetum* (Catasetinae), *Brassia*, *Comparettia*, *Macradenia*, *Notylia*, *Psychmorchis*, *Sigmatostalix*, *Trichocentrum* (Oncidiinae), *Vanda* (Aeridinae) y *Angraecum* (Angraecinae) y con viscidio difuso en: *Trichopilia* (Oncidiinae).
- 5) Polinarios solo con polinios y viscidio difuso en *Epipactis* (Neottieae).

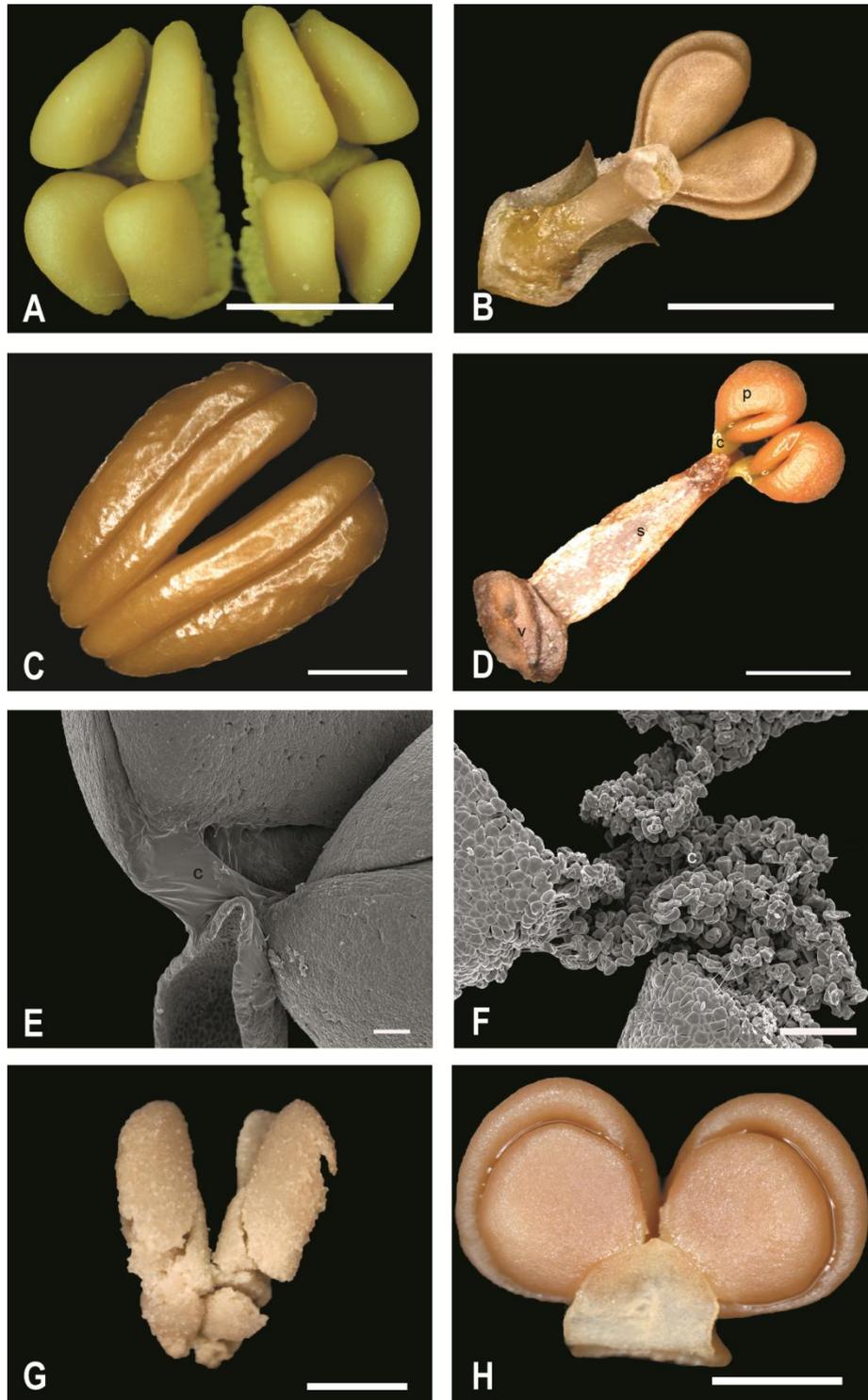


Figura 35. Imágenes del polinario tomadas en el estereomicroscopio y en el MEB: A. *Schomburgkia splendida*: 8 polinios con caudículas apendiculares; B. *Chondrorhyncha amabilis*: 4 polinios con estípite tegular y viscidio desmontable; C. *Dendrobium infundibulum*: 4 polinios sésiles; D. *Cycnoches densiflorum*: 2 polinios (p), caudícula frenicular (c), estípite tegular (s) y viscidio (v); E. *Odontoglossum povedanum*: Caudícula frenicular (c); F. *Bletia purpurea*: Caudícula apendicular (c); G. *Sobralia valida*: Polinios granulares; H. *Maxillaria cucullata*, Polinios compactos. Escala: A-D, G= 1 mm; H=0,5 mm; E= 200 μ m; F= 100 μ m.

➤ Tamaño de los polinios

Los taxones de: Arethusinae, Bletiinae, Coeliopsidinae, Collabiinae, Pleurothallidinae, Ponerinae, Polystachyinae, Neottieae y Calypsoeae presentan polinios con una longitud superior a 901 μm , el resto de los grupos poseen polinios de tamaño menores de 900 μm . Los géneros *Scaphosepalum*, *Restrepiopsis* y *Lepanthopsis* (Pleurothallidinae) son los que tienen los polinios más pequeños (100-268 μm).

4.4.2.2 Variaciones estructurales del pistilo

➤ Número y ordenación de los carpelos

El gineceo en Orchidaceae es sincárpico y el número de carpelos se restringe a 3 (Fig. 36A) o 6 (Fig. 36B), con muchas variaciones morfológicas, de tamaño y de unión, aunque en algunas ocasiones se pueden fusionar las paredes de los carpelos, observándose solo las valvas.

De las muestras de Epidendroideae estudiadas, solo los géneros *Cattleya* y *Sophranitis* (Laeliinae) poseen pistilos con 3 carpelos, el resto de miembros de las subtribus investigadas presentan 6 carpelos heteromórficos como por ejemplo en: *Miltonia*, *Brassia*, *Aspasia* y *Epidendrum* por mencionar algunos géneros de este amplio grupo o semicirculares en *Huntleya*, *Kefersteinia*, *Oncidium*, *Ida* y *Lycaste*.

Los carpelos pueden tener diferentes grados de separación, existiendo los que están unidos solo en la base, carácter distintivo de algunos miembros de Pleurothallidinae (*Ancipitia*, *Masdevallia*, *Pleurothallis*, *Porroglossum*, *Restrepia*, *Restrepiopsis*, *Scaphosepalum*, *Stelis*, *Trisetella*, *Zootrophion*) y de otros géneros como *Cryptocentrum* (Maxillariinae), *Acineta*, *Houlletia*, *Sievekingia*

(*Stanhopeinae*), *Macradenia*, *Miltonia*, *Miltoniopsis* (*Oncidiinae*), *Brassavola*, *Cattleya* (*Laeliinae*) y *Angraecum* (*Angraecinae*), o más bien, pistilos connados entre las zonas laterales como ocurre en los miembros de *Zygopetalinae*. En ambos casos se distinguen completamente las paredes de los carpelos. Sin embargo, hay una condición en la cual las paredes de los carpelos se fusionan formando un pistilo con 6 valvas como en *Epipactis* (*Neottieae*), *Caluera*, *Lockhartia*, *Sphyrastylis* (*Oncidiinae*), *Liparis* y *Malaxis* (*Malaxideae*), *Barbosella* y *Lepanthopsis* (*Pleurothallidinae*) *Ornithocephalus* y *Psycmorchis*.

➤ Número de lóculos, placentación y disposición de los óvulos

El pistilo en *Epidendroideae* es predominantemente unilocular (Fig. 36C); con placentación parietal. Sin embargo, en la subfamilia, la formación de tejido placentario ha sido aparentemente gradual, ocasionando el cambio estructural de uno a tres lóculos, sin embargo el tipo de placentación sigue siendo el mismo. Este caso se observó en *Huntleya* y *Peristeria*, que posee ovarios triloculares con placentación parietal, como resultado de la formación de tejido postgénito en la placenta de cada carpelo que se disponen de forma contigua, sin llegar a la fusión (Fig. 36D-E). Esto se ha observado solo en la zona simplicada del pistilo. Las prolongaciones del tejido placentario sin proximidad entre ellas, se han observado en *Vanda*, *Doritis*, *Angraecum*, *Cattleya*, *Laelia*, *Sophronitis* y *Scaphyglottis* (Fig. 36F-G). Es posible que éstos sean estados previos a la fusión postgénita para la formación de los tres lóculos.

Normalmente, solo la mitad de los carpelos son fértiles (Fig. 36G), sin embargo, en *Stanhopea*, *Miltonia*, *Oncidium*, *Cattleya* y *Sophronitis* todos son fértiles (Fig. 36H).

La placentación parietal en Epidendroideae es de dos formas: la más típica es la placenta linear (Fig. 3A) de uno o dos óvulos en la placenta a lo largo de la zona fértil del ovario, o con placenta difusa (Fig. 3B), como resultado de la presencia de gran cantidad de óvulos dispersos en una parte de la placenta de cada carpelo como se ha observado en: *Arundina*, *Epipactis*, *Corallorhiza*, *Spathoglottis*, *Liparis*, *Malaxis*, *Comparettia*, *Cyrtochilum*, *Ionopsis*, *Lockhartia*, *Macradenia*, *Notylia*, *Odontoglossum*, *Psygmorchis*, *Pterostemma*, *Dracula*, *Dryadella*, *Masdevallia*, *Restrepiopsis*, *Restrepia*, *Stelis*, *Trisetella* y *Zootrophion*.

El óvulo anátropo es el más común, mientras que el tipo ortótropo se observó solo en los géneros *Trigonidium*, *Miltonia*, *Miltoniopsis*, *Oncidium*, *Schomburgkia*.

La mayoría de las especies estudiadas carecen de tricomas en el ovario, sin embargo, hemos observado, en el interior sobre la placenta y el funículo en: *Anguloa*, *Aspasia*, *Bollea*, *Bletia*, *Brassia*, *Cyrtochilum*, *Maxillaria*, *Stanhopea*, *Sievekingia*, *Miltonia* (Fig. 36H), *Oncidium*, *Miltoniopsis*, *Peristeria*, *Sertifera*, *Sobralia*, *Schomburgkia*, *Solenidium*, *Symphyglossum*, *Trichocentrum*, *Tolumnia* y *Vanda* y sobre la superficie externa del ovario, que ocasionalmente es pubescente con tricomas glandulares en: *Epipactis*, *Cryptocentrum*, *Maxillaria*, *Acineta*, *Houlletia*, *Caluera*, *Ornithocephalus*, *Sphyrastylis*, *Spathoglottis*, *Polycychnis*, *Sievekingia*, *Stanhopea*, *Coelogyne*, *Elleanthus*, *Acronia*, *Ancipitia*, *Barbosella*, *Dracula*, *Dryadella*, *Lepanthopsis*, *Pleurothallis*, *Porroglossum*, *Restrepia*, *Restrepiopsis*, *Scaphosepalum*, *Stelis*, *Trisetella* y *Zootrophion*; con tricomas multicelulares multiseriados en: *Ornithocephalus* y *Sphyrastylis* y con tricomas unicelulares uniseriados en *Spathoglottis*.

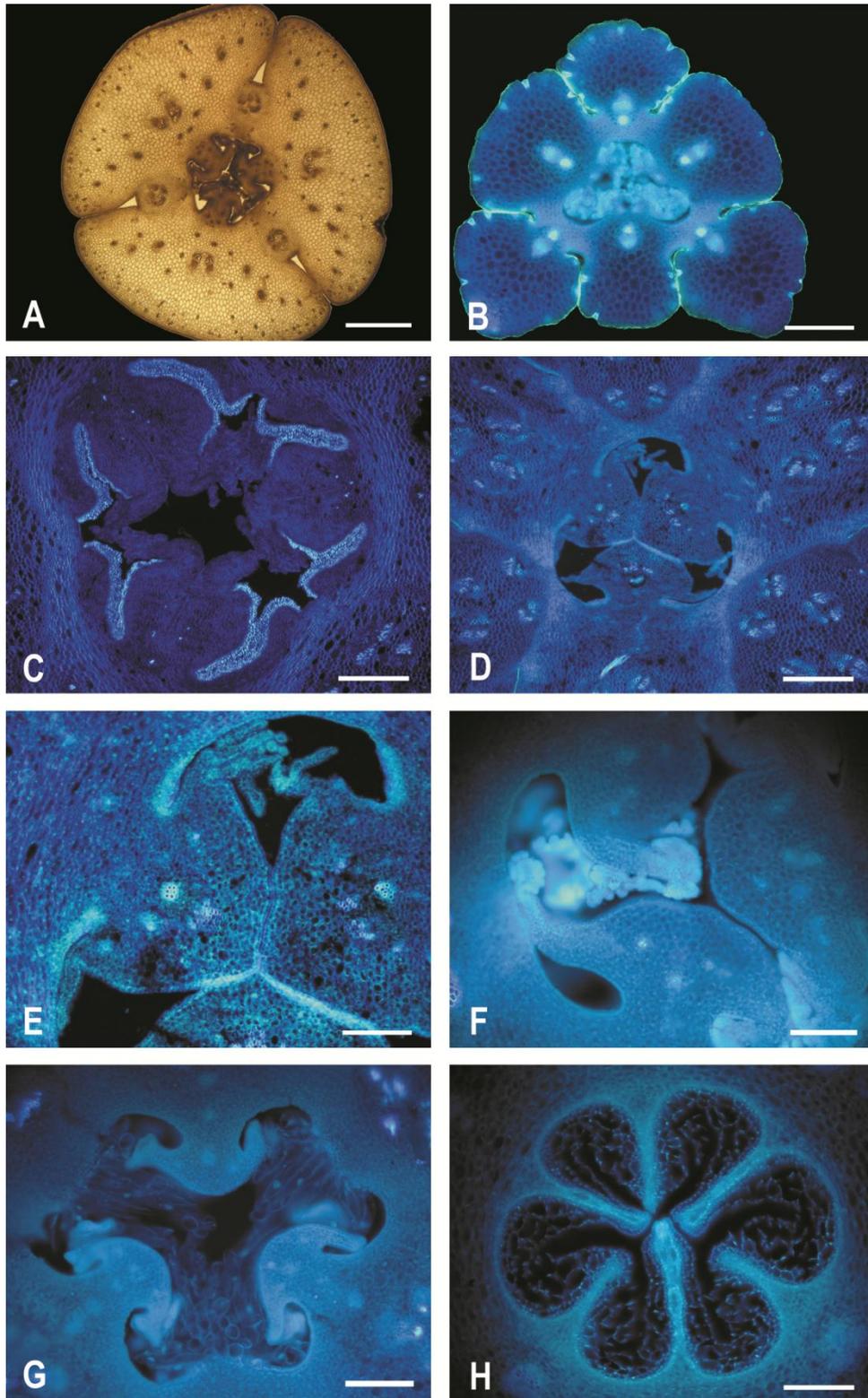


Figura 36. Imágenes de cortes transversales del pistilo, observadas en el microscopio de fluorescencia. A. *Cattleya quadricolor*: 3 carpelos isomórficos. B. *Dryadella meiracyllium*: 6 carpelos. C. *Anguloa clowesii*: ovario unilocular. D. *Huntleya meleagris*: ovario trilocular. E. *H. meleagris*: detalle de la unión de los óvulos. F. *Angraecum sesquipedale*: detalle de la prolongación del tejido placentario. G. *Vanda coerulea*: detalle de estadios intermedios en la prolongación de los óvulos. H. *Miltonia spectabilis*: con tricomas intraováricos. Escala: A-H= 200 μ m.

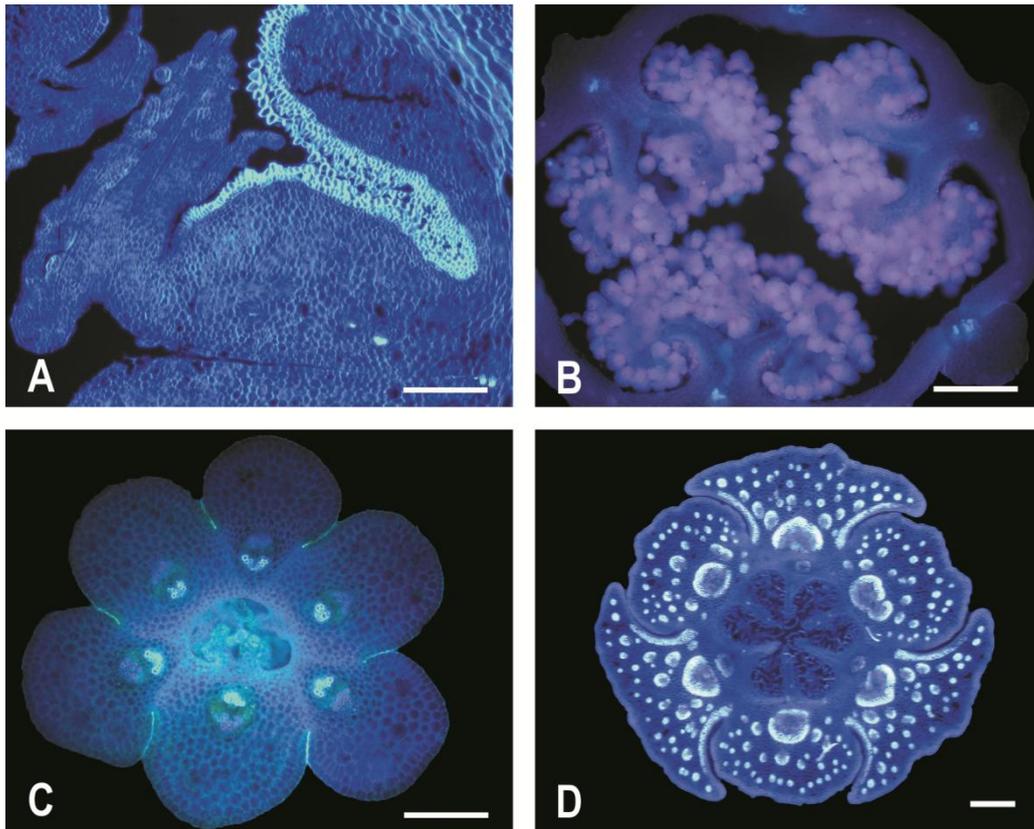


Figura 37. Imágenes de cortes transversales del pistilo, observadas en el Microscopio de fluorescencia que muestran los caracteres anatómicos del pistilo de Epidendroideae en sección transversal. A. *Anguloa clowesii*: Uno de los óvulos insertados linealmente. B. *Epipactis hispanica*: Óvulos insertados de forma difusa. C. *Kefersteinia mystacina*: Carpelos solo con haces ventrales. D. *Stanhopea wardii*: Carpelos muy vascularizados con haces ventrales y laterales.

➤ Patrón de venación

Hay tres tipos de haces vasculares presentes en el pistilo de Epidendroideae: concéntrico perixilemático (*Trigonidium*, *Cryptocentrum*, *Paphinia*, *Stanhopea*, *Brassia*, *Miltonia*, *Oncidium* e *Isochilus*), concéntrico perifloemático (*Maxillaria*, *Trigonidium* y *Sievekingia*) y colateral, el más frecuente dentro de la subfamilia.

El tejido vascular en los carpelos puede estar formado solo por haces ventrales (Fig. 37C), por haces ventrales y dorsales o por haces ventrales, dorsales y laterales (Fig. 37D). En cada carpelo los haces laterales resultan de la ramificación de los dorsales que

recorren la pared de cada carpelo, siendo éstos mucho más pequeños. La mayoría de las especies estudiadas (77%) tienen pistilos poco vascularizados solo con haces ventrales; el 23% restante tienen haces ventrales, dorsales y/o laterales, este es el caso *Epidendrum*, *Schomburgkia*, *Sophronitis* (Laeliinae), *Catasetum* y *Cycnoches* (Catasetinae), *Aspasia* y *Trichocentrum* (Oncidiinae), *Acineta*, *Houlletia*, *Paphinia*, *Sievekingia* y *Stanhopea* (Stanhopeinae), *Peristeria* (Coeliopsidinae), *Huntleya* (Zygopetalinae), *Anguloa*, *Ida*, *Lycaste*, *Maxillaria* y *Trigonidium* (Maxillariinae) y *Dendrobium* (Dendrobiinae).

➤ Estructura y composición del parénquima del carpelo

La anchura del tejido parenquimático en los carpelos de la subfamilia es variable, siendo mucho más pequeño en *Corallorhiza*, *Epipactis*, *Caluera*, *Lockhartia*, *Ionopsis*, *Sphyrastylis*, *Ornithocephalus*, *Gongora*, *Sievekingia*, *Stanhopea*, *Psycmorchis*, *Liparis*, *Malaxis*, *Brassavola*, *Barbosella*, *Lepanthopsis* y *Polystachya*. En estos géneros solo hay 9 o 10 capas de células parenquimáticas redondeadas o poligonales, lo que coincide con la escasa vascularización que tienen. En contraste, los géneros *Anguloa*, *Catasetum*, *Ida*, *Lycaste*, *Cattleya* y *Sophronitis* tienen aproximadamente 30 capas de células parenquimáticas y son los más vascularizados.

De las especies estudiadas sólo *Cryptocentrum*, *Stanhopea*, *Isochilus* y *Angraecum* tienen células de paredes gruesas esclerificadas en la periferia de los carpelos, claramente visibles bajo luz ultravioleta. Los espacios intercelulares son abundantes en las especies epífitas de las subtribus Zygopetalinae (*Bollea*, *Chondrorhyncha*, *Warczewiczella*, *Galeottia*, *Huntleya* y *Kefersteinia*), Maxillariinae (*Anguloa*, *Ida*, *Lycaste*, *Xylobium*, *Maxillaria*),

Coeliopsidinae (*Peristeria*), Oncidiinae (*Cochlioda*, *Comparettia*, *Macradenia*, *Miltonia*, *Miltoniopsis*, *Notylia*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Rodriguezia*, *Sigmatostalix*, *Solenidium*, *Symphyglossum*), Coelogykinae (*Coelogyne*), Laeliinae (*Laelia*, *Prosthechea*, *Scaphyglottis*, *Schomburgkia* y *Oerstedella*), Polystachyinae (*Polystachya*), Aeridinae (*Doritis* y *Vanda*) y Angraecinae (*Angraecum*).

Inclusiones minerales como rafidios y drusas se observaron en el parénquima del pistilo de *Cymbidium*, *Trigonidium*, *Acineta*, *Aspasia*, *Brassia*, *Porroglossum* y *Zootrophion*; y estiloides en *Spathoglottis* y *Cattleya*. Cristales de flavonoides se han observado en el parénquima del pistilo de *Bollea*, *Cyrtochilum*, *Galeottia*, *Maxillaria*, *Encyclia*, *Prosthechea* y *Symphyglossum* de color amarillo o marrón, que dificulta la visibilidad de la estructura y composición de los tejidos de los carpelos.

4.4.2.3 **Análisis cladístico**

El análisis de parsimonia realizado con datos del polen y pistilo de Epidendroideae produjo 10 árboles más parsimoniosos, con una longitud de 487 pasos, índice de consistencia (CI) = 0,1848, índice de homoplasia (HI) = 0,8152, índice de retención (IR) = 0,7854 y un índice de consistencia reescalado (RC) = 0,1451. Los 57 caracteres utilizados fueron informativos. La figura 38 muestra el árbol consenso estricto que representa las semejanzas entre los miembros de la subfamilia Epidendroideae, los valores de "bootstrap" (BP) superiores al 50% se muestra encima de las ramas.

El árbol consenso estricto basado en los datos polínicos y de anatomía del pistilo (Figura 38) no es congruente con los obtenidos por otros autores en base a datos moleculares, y no refleja

claramente las relaciones filogenéticas entre las tribus de Epidendroideae basadas en análisis moleculares, excepto la subtribu Pleurothallidinae, tribu Epidendreae, que resulta con una agrupación semejante. Una de las razones ya esgrimidas en alguno de los grupos anteriormente estudiados, es la gran variabilidad, principalmente del polinario, incluso dentro de las tribus. Sin embargo, el árbol refleja las relaciones entre subtribus de acuerdo a los caracteres comunes de polen y pistilo.

El árbol solo se ha rotado con los miembros del grupo externo que no presentan polinario (Apostasioideae y Cypripedioideae) uno de los estados primitivos en la familia Orchidaceae. Por ello, el cladograma muestra los miembros del grupo externo e interno con presencia de polinario reunidos en algunos casos en un mismo clado, como en el caso de *Ophrys* y *Orchis* (Orchidoideae) intercalados con el *ingroup* conformando un clado pequeño con *Cyrtochilum* y *Gongora*, soportados por la existencia de dos polinios bipartidos con caudícula frenicular, aunque la sutura de Orchidoideae es diferente de la que presentan los miembros de Epidendroideae. Otro de los casos se observó en *Cleistis* y *Vanilla* (Vanilloideae), que se une a *Arundina* con la que tiene en común el polinio granular.

A continuación de la raíz del árbol, se encuentran algunos taxones de Epidendroideae que se asemejan al grupo externo porque también poseen caracteres plesiomórficos incluyendo *Liparis* (Malaxideae) y *Epipactis* (Neottieae). *Liparis* posee una antera con incumbencia tardía, con un solo lóculo por teca y dos polinios por cada lóculo, que están lateralmente aplanados y acompañados de un viscidio alargado. *Epipactis*, también de hábito terrestre, posee solo dos polinios globosos de textura granular, yuxtapuestos, con ornamentación reticulada (estado primitivo). Estos taxones forman un

clado con los miembros de Orchidoideae (*Spiranthes*, *Cyclopogon* y *Eurystyles*) con quienes comparte la presencia del polinario.

El taxón *Malaxis* aparece con el grupo hermano de los principales clados del árbol. Este género presenta caracteres plesiomórficos tales como hábito terrestre, antera erecta con dos lóculos por teca y un polinio por lóculo, un total de cuatro polinios sésiles, compactos, globosos y yuxtapuestos. Además, el ovario es unilocular, hexacarpelar con óvulos dispuestos de forma difusa en la placenta.

La posición en el árbol de los taxones *Lockhartia*, *Psygmorchis*, *Trichocentrum*, *Trichopilia* (Oncidiinae), *Vanda* (Aeridinae), *Angraecum* (Angraecinae), *Arundina* (Arethusinae) y *Dendrobium* (Dendrobiinae), no está bien resuelta, sin embargo, comparte con los miembros del clado 1 el número de polinios, la presencia de solo haces ventrales y la unión basal de los carpelos.

En el cladograma el resto del grupo interno se divide en dos clados principales, que a su vez se subdividen en grupos. Uno de los caracteres responsables son los polinios bipartidos presente en casi todos los géneros del clado 1, pero no en *Arundina* y ausentes en el clado 2 (excepto en *Elleanthus*).

El clado 1 consta de 3 grupos A, B, C. El grupo 1A (Fig. 38) está formado por *Macradenia*, *Notylia*, *Comparettia*, *Sigmatostalix* y *Brassia* (Oncidiinae) y está soportado por la presencia de polinarios sin caudícula, dos polinios globosos, bipartidos con tétrades muy unidas; los géneros *Brassia*, *Comparettia*, *Macradenia* y *Notylia* tienen verrugas en la periferia de la tétrade, en el resto la periferia es psilada. *Catasetum* es el taxón con pistilo más vascularizado, junto con *Brassia* son los únicos que tienen carpelos unidos en toda la

superficie lateral. El resto de integrantes del grupo 1A tienen los carpelos connados sólo en la base.

En el grupo 1B (Fig. 38), algunos taxones pertenecen a Stanhopeinae, entre ellos *Sievekingia*, *Stanhopea*, *Paphinia*, *Acineta*, *Houlletia* y *Polycycnis*, además de *Peristeria* (Coeliopsidinae) y *Cymbidium* (Cymbidiinae). Este grupo está soportado por la presencia de un lóculo por teca y un polinio por lóculo. El polinario es completo con dos polinios bipartidos con una sutura lateral larga. Las tétrades están unidas dentro del polinio excepto en *Cymbidium* que están ligeramente separadas, tienen una caudícula frenicular por polinio.

El ovario es unilocular en todos los miembros del grupo 1B, excepto en *Peristeria* que es trilocular. Solo en *Paphinia*, *Sievekingia*, *Stanhopea* y *Peristeria*, tienen tricomas intraováricos. Estos taxones junto con *Acineta* son los más vascularizados incluso a nivel de la subfamilia. Haces vasculares concéntricos perixilemáticos están presentes en *Paphinia* y *Stanhopea* y concéntricos perifloemáticos en *Sievekingia*. En los demás miembros los haces son colaterales; todos poseen un parénquima ancho excepto en *Sievekingia* que es corto.

Se observaron abundantes rafidios en las células del pistilo de *Cymbidium* y *Acineta*. La superficie externa del pistilo es pubescente con tricomas glandulares en *Acineta*, *Houlletia*, *Polycycnis*, *Sievekingia* y *Stanhopea*. Algunos taxones con pobre resolución y excluidos por sus diferencias en sus respectivas subtribus son *Cyrtochilum*, *Cischweinfia*, *Aspasia* y *Ada* (Oncidiinae), *Cycnoches* (Catasetinae) y *Gongora* (Stanhopeinae) se han unido al grupo 1B. Este grupo es soportado por tener dos polinios bipartidos yuxtapuestos y poco vascularizados.

El grupo 1C (Fig. 38) incluye *Miltonia*, *Oncidium*, *Miltoniopsis*, *Odontoglossum*, *Solenidium*, *Tolumnia*, *Symphyglossum*, *Cochlioda*,

Rodriguezia, *Ionopsis* y *Pterostemma* (Oncidiinae) y *Galeandra* (Catasetinae). Todos estos taxones tienen un polinario completo con dos polinios compactos, bipartidos y yuxtapuestos. La sutura puede ser lateral o ventral con diferentes dimensiones y la caudícula es frenicular, corta e irregular y basitónica. Todos ellos tienen pistilos poco vascularizados y sobre todo con muchos espacios intercelulares. *Miltonia*, *Milioniopsis* y *Oncidium* tienen óvulos ortótropos mientras que en el resto son anátropos. *Oncidium* y *Miltonia* tienen haces vasculares concéntricos perixilemáticos y los demás colaterales.

El clado 2 incluye tres grupos mejor definidos que hemos identificado como A, B y C. El grupo 2A (Fig. 38), formado por *Caluera*, *Sphyrastylis*, *Ornithocephalus*, *Corallorhiza*, *Maxillaria*, *Trigonidium* y *Polystachya*, tiene cuatro polinios superpuestos o yuxtapuestos (*Trigonidium*). *Caluera*, *Ornithocephalus*, *Sphyrastylis* y *Trigonidium* tienen carpelos connados en la superficie lateral, mientras que en el resto de los miembros la unión solo ocurre en la base.

Corallorhiza, *Caluera*, *Ornithocephalus* y *Sphyrastylis* tienen un parénquima estrecho, sin espacios intercelulares. Solo en *Maxillaria* y *Trigonidium* tienen abundante vascularización. *Lycaste* se encuentra alejada de los otros miembros de la subtribu, como clado hermano del grupo 2A con el que comparte cuatro polinios, carpelos connados en la superficie lateral y una abundante vascularización.

El grupo 2B (Fig. 38) está compuesto casi en su totalidad por géneros de Pleurothallidinae: *Dracula*, *Dryadella*, *Barbosella*, *Lepanthopsis*, *Acronia*, *Stelis*, *Trisetella*, *Zootrophion*, *Scaphosepalum*, *Pleurothallis*, *Restrepia*, *Ancipitia*, *Porroglossum* y *Masdevallia*. Está apoyado por la presencia de dos polinios yuxtapuestos, excepto *Barbosella* que tiene 4, una caudícula corta e

irregular en *Acronia*, *Ancipitia*, *Lepanthopsis*, *Masdevallia*, *Pleurothallis*, *Porroglossum*, *Restrepia*, *Restrepiopsis*, *Scaphosepalum*, *Stelis*, *Trisetella* y *Zootrophion*, o por el contrario una caudícula larga y elaborada en *Barbosella*, *Dracula* y *Dryadella*. Todas las especies de la subtribu Pleurothallidinae poseen ovario unilocular formado por 6 carpelos poco vascularizados (solo con haces ventrales) con amplio parénquima excepto en *Barbosella* en donde además no se distinguen las paredes carpelares. La placentación es parietal y la disposición de los óvulos es lineal o difusa. El pistilo es glandular-pubescente. *Restrepiopsis* aparece excluido de este grupo, porque posee 4 polinios en vez de dos como ocurre en casi todos los taxones del grupo 2B.

Además, hay un grupo heterogéneo que se ubica entre el clado 2A y 2B formado por los géneros *Dendrochilum* (Coelogyninae), *Doritis* (Aeridinae), *Anguloa* e *Ida* (Maxillariinae), *Huntleya*, *Bollea*, *Galeottia*, *Warczewiczella*, *Kefersteinia* y *Chondrorhyncha* (Zygopetalinae), todos con 4 polinios superpuestos, pero solo con caudícula en *Doritis*, *Anguloa* e *Ida*. En este grupo *Huntleya* a diferencia del resto posee un ovario trilocular con placentación parietal. La mayoría del grupo tiene muchos espacios intercelulares en el parénquima, excepto *Dendrochilum*.

En el grupo 2C se incluyen C1 que agrupa los géneros *Spathoglottis* (Collabiinae), *Coelogyne* (Coelogyninae), *Elleanthus*, *Sertifera*, *Sobralia* (Sobralieae) *Bletia* (Bletiinae), *Brassavola*, *Laelia*, *Schomburgkia*, *Sophronitis*, *Prosthechea*, *Oerstedella* y *Scaphyglottis* (Laeliinae), soportado por la presencia de cuatro u ocho polinios con caudícula apendicular y C2 integrado por los géneros *Cattleya*, *Epidendrum* y *Encyclia* con cuatro polinios con caudícula y viscidio. *Lanium*, también tiene cuatro polinios.

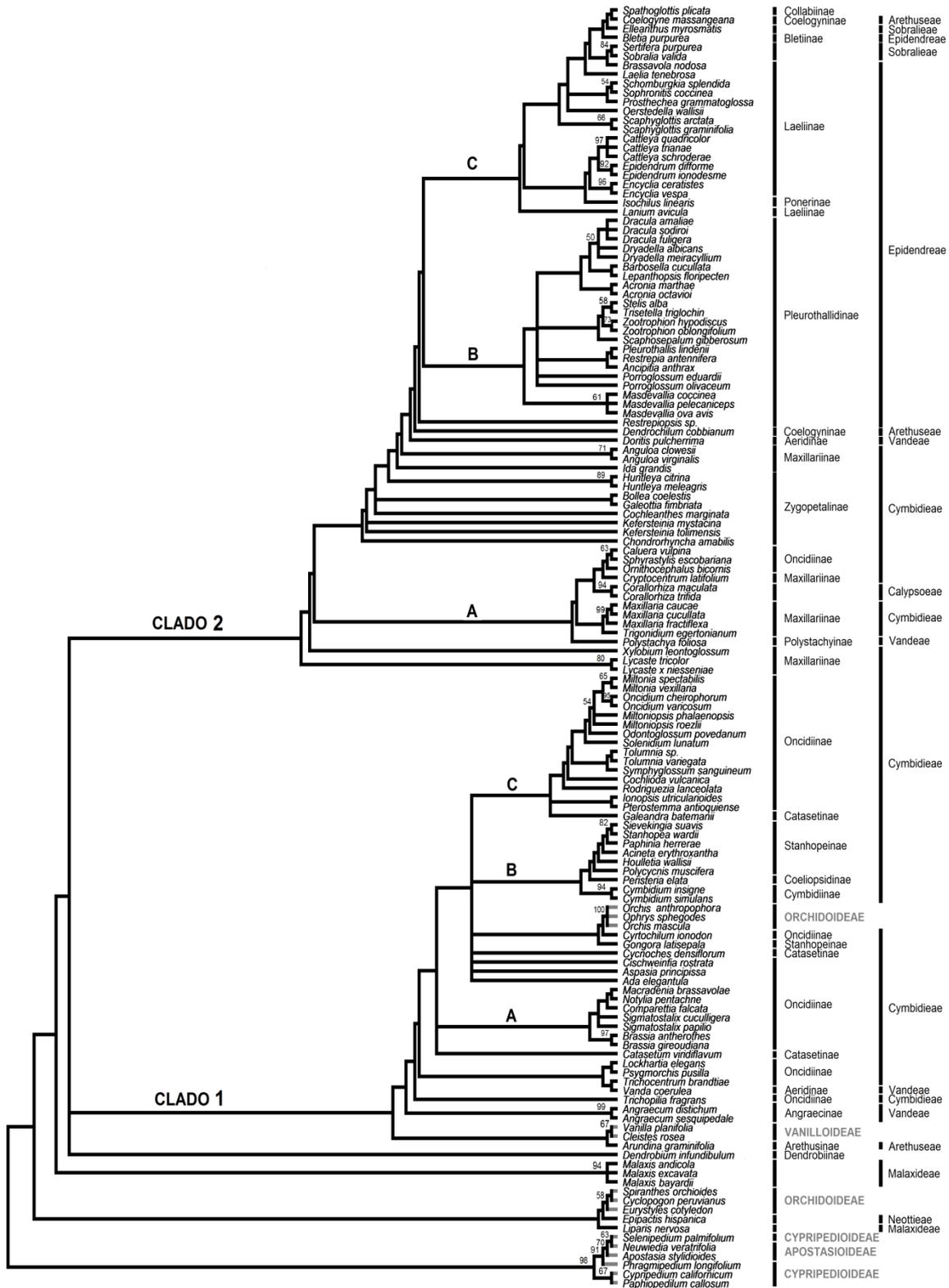


Figura 38. Árbol consenso estricto de máxima parsimonia inferido en los caracteres del polinario y del pistilo. Los valores de "Bootstrap" > 50% aparecen encima de cada rama. L=487 pasos, CI= 0,1848, HI= 0,8152, IR=0,7854, RC=0,1451.

4.4.2.4 **Discusión**

Evolución del polinario

El polinario presenta alta variabilidad dentro de Epidendroideae, y puede estar compuesto por polinios, caudícula, estípite y viscidio. Nuestros resultados determinan que las tribus Vandeeae (Aeridinae) y Cymbidieae (Catasetinae, Coeliopsidinae, Cymbidiinae, Maxillariinae, Oncidiinae y Stanhopeinae), son las que poseen un polinario completo (Fig. 39). Existen muchas similitudes en el polinario de Oncidiinae y Aeridinae, ambas subtribus comparten el mismo número de polinios (2 o 4), enteros o bipartidos, con caudícula frenicular corta e irregular, estípite tegular y un viscidio desmontable con forma de plataforma.

En relación al número de polinios se pueden reconocer tres tendencias en Epidendroideae (Fig. 40):

Una es la que mantiene el carácter plesiomórfico de 4 polinios como ocurre en Aeridinae, Maxillariinae, Oncidiinae, Laeliinae, Pleurothallidinae, Zygopetalinae, Calypsoeae, Coelogyninae, Polystachyinae, Malaxideae y Dendrobiinae.

El otro caso se produce por la división de los 4 polinios iniciales produciendo en total 8, como los observados en Collabiinae, Sobralieae, Laeliinae y Arethusinae y finalmente, en la última vía contraria a las anteriores se produce la reducción de 4 a 2 polinios; caso más frecuente en la mayoría de los taxones de Epidendroideae y lo presentan Oncidiinae, Catasetinae, Stanhopeinae, Coeliopsidinae, Cymbidiinae, Pleurothallidinae, Aeridinae, Angraecinae y Neottieae.

Este cambio en el número de polinios se ha producido de forma especial en 4 subtribus con diferentes tendencias en Aeridinae, Oncidiinae y Pleurothallidinae (con la reducción de 4 a 2) y Laeliinae

(con división de 4 a 8). En Orchidaceae el número, la forma y el tipo de polinios son producidos por la septación o fusión de las regiones meristemáticas, en la subfamilia Epidendroideae, esta septación meristemática produce 4 u 8 polinios por antera, mientras que la falta de septación produce solo dos. Los cuatro polinios son considerados el estado primitivo dentro de la familia a partir de este número se pueden derivar 2 u 8 polinios (Freudenstein & Rasmussen 1996).

Probablemente una de las características persistente sobre el polinio, que permite inferir sobre la reducción es la presencia de la sutura (con diferentes longitudes según el grupo) y que no es exclusiva de los polinios dobles, ya que también fue observada en el taxón *Elleanthus* (Sobralieae) que tiene 8 polinios. Según Freudenstein & Rasmussen (1996) la sutura en los polinios es el resultado de la unión del contenido polínico de dos lóculos en un estado tardío de la ontogenia.

La textura del polinio también ha cambiado en el tiempo. En Orchidaceae, la textura granular (Fig. 35G) de los polinios se considera el estado primitivo y la hemos observado en *Epipactis* (Neottieae), *Sertifera* y *Sobralia* (Sobralieae) y *Arundina* (Arethusinae) dentro de Epidendroideae.

El resto de los taxones analizados muestran un polinio compacto (Fig. 35H), muy común en Epidendroideae, lo que representa el mayor grado de cohesión del polen y se depositan como una unidad dentro del estigma; por el contrario, los polinios séctiles conocidos en Orchidoideae y en algunos géneros de Epidendroideae se subdividen en unidades discretas o másulas y como resultado un solo polinio puede servir para polinizar varias flores (Freudenstein & Rasmussen 1997; Johnson & Edwards 2000; Pacini & Hesse 2002).

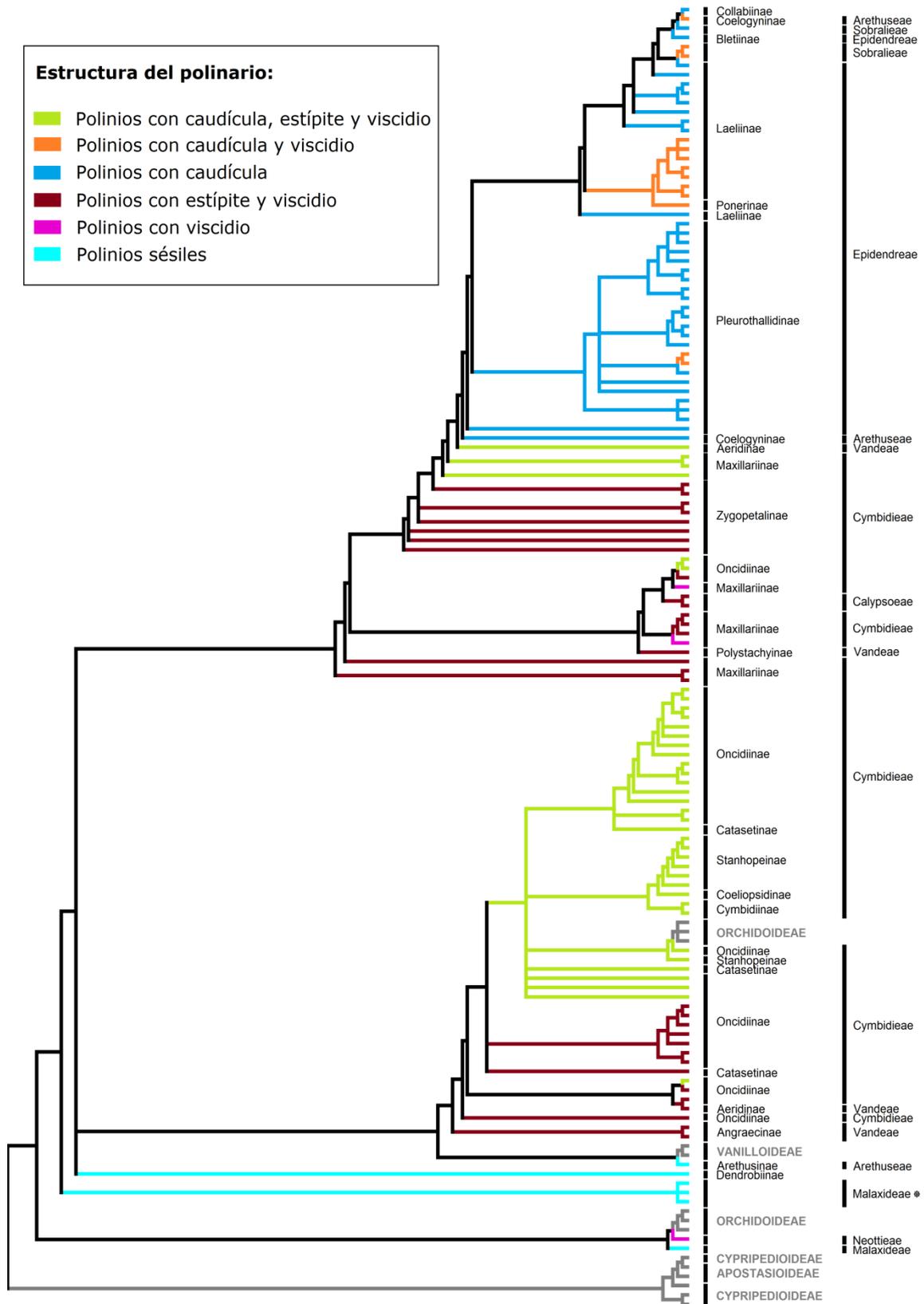


Figura 39. Distribución de los tipos de polinario -polinio con sus estructuras accesorias- en los grupos del árbol consenso estricto de máxima parsimonia de Epidendroideae, obtenido en el análisis de datos del polinario y pistilo. Los taxones del Grupo externo aparecen en con color gris.

El tamaño de los polinios también es variable dentro un mismo grupo, como en *Aeridinae*, *Vanda* posee dos polinios grandes, de c. 1.760 μm y *Doritis* dos pequeños de c. 630 μm . Los taxones con os polinios de mayor tamaño son *Catasetum*, *Acineta*, *Paphinia*, *Angraecum*, *Dendrobium*, *Anguloa*, *Ida*, *Bollea*, *Chondrorhyncha*, *Huntleya*, *Kefersteinia*, *Warczewiczella*, *Peristeria*, *Cattleya* y *Coelogyne* con unas 2.300 μm . En algunos casos las cargas de polen pueden llegar a ser tan grandes que los insectos son incapaces de volar correctamente, lo que ha sido mencionado en el caso de una mariposa que transportaba el polinario de *Disa uniflora* Berg. (Johnson & Edwards 2000). Aunque a veces en los polinios se da una reducción gradual hasta alcanzar el tamaño correcto para poder ser introducido dentro del estigma (Peter & Johnson 2006).

También se observó la pérdida de estructuras en el polinario, como es el caso de *Aeridinae*, *Catasetinae* y *Oncidiinae* presto que algunos de los individuos no tienen caudícula, otros grupos han ido a más, como lo observado en *Maxillariinae* que ha perdido no solo la caudícula sino también el viscidio en algunos de sus individuos, y aunque el viscidio cumple un papel fundamental en el proceso de polinización, otras subtribus como *Laeliinae*, *Pleurothallidinae* y las tribus *Malaxideae* y *Sobralieae* han prescindido de él.

Finalmente en *Arethusinae*, *Dendrobiinae* y *Malaxideae* la configuración del polinario se limita solo a la presencia de polinios sésiles.

Las caudículas en *Orchidaceae* también se han transformado. La caudícula frenicular (elástica y pegajosa) es considerada un estado apomórfico por Freudenstein & Rasmussen (1997) y está presente en: *Cymbidiinae*, *Catasetinae*, *Maxillariinae*, *Stanhopeinae*, *Coeliopsidinae*, *Oncidiinae* y *Aeridinae*.

La caudícula apendicular (estructuradas con elastoviscina y polen abortado) ha sido considerada una extensión del polinio (Freudenstein & Rasmussen 1997) y la tienen: Bletiinae, Collabiinae, Coelogyninae, Sobralieae, Laeliinae y Pleurothallidinae. También hay variación de la longitud de las caudículas, las más largas ocurren en: *Bletia* (Bletiinae), *Spathoglottis* (Collabiinae), *Coelogyne* (Coelogyninae), *Elleanthus* (Sobralieae), *Brassavola*, *Cattleya*, *Epidendrum*, *Isochilus*, *Laelia*, *Lanium*, *Oerstedella*, *Prosthechea*, *Scaphyglottis*, *Schomburgkia* y *Sophronitis* (Laeliinae) y *Barbosella*, *Dracula* y *Dryadella* (Pleurothallidinae).

Debido a que las orquídeas son exclusivamente zoófilas (Pacini 2009), podemos inferir que en ciertos grupos, en ausencia del viscidio, la caudícula es el elemento fundamental para transportar el polinio por la presencia de elastoviscina y ésta junto con los polinios se adhieren al cuerpo del polinizador que los transportará. La función de la caudícula es servir como punto de rotura durante la deposición del polinio en el estigma (Johnson & Edwards 2000).

Dentro de la evolución del polinio no hay una relación dependiente entre el tamaño y el número de ellos. Este hecho es evidente en algunos miembros de Laeliinae (*Brassavola*, *Laeliinae*, *Schomburgkia* y *Sophronitis*) que tienen 8 polinios grandes. Se esperaría que cuanto mayor fuera el número de polinios, menor sería su tamaño, lo que haría más fácil su transporte por los vectores polinizadores. Esto nos permite hipotetizar que probablemente dada la dificultad para el transporte del polinario de estos taxones, presentan una morfología totalmente diferente al resto, ya que sus caudículas se unen formando un tapete con los polinios unidos a ambos extremos de este (Fig. 35A). Un estudio en *Laelia rubescens* reveló que de los 8 polinios solamente 4, se adjuntan como una unidad a través de la columna de material viscoso y son

transportados por el animal vector hasta la flor receptiva, siendo aún el paquete de cuatro polinios bastante grande en relación a la superficie estigmática, por lo que es mecánicamente difícil y poco probable, que polinios de diferentes fuentes puedan ser depositados en ese estigma (Trapnell & Hamrick 2006).

Evolución del pistilo

Al contrario de lo que ocurre en el polen, el pistilo en la subfamilia Epidendroideae tiene muy poca variación. Los resultados de nuestra investigación indican que en esta subfamilia, los pistilos están formados por tres y seis carpelos (Fig. 41); pero el primer caso se observó sólo en los géneros *Cattleya* y *Sophranitis* (Laeliinae) que tienen todos los carpelos fértiles. El segundo caso, que es predominante, sólo la mitad de los seis carpelos son fértiles y están situados alternativamente. El número de carpelos que forman el pistilo en Orchidaceae ha sido motivo de controversia. Se ha mencionado como característica de la familia la presencia de seis (Vermeulen 1966; Puri 1951), pero también se ha indicado que no hay evidencias de que el gineceo conste de seis carpelos (Kurzweil 1998). En otros casos, como en la subfamilia Apostasioideae, se han reportado solo 3 carpelos, todos fértiles (Kocyan & Endress 2001).

Además, no hay una clara diferenciación de los carpelos que forman el pistilo, probablemente debido a la fusión de las paredes de estos, por lo que fueron considerados pistilos con seis valvas. Este es el caso de algunos miembros de Neottieae, Oncidiinae, Malaxideae y Pleurothallidinae. Esta misma característica se había observado anteriormente en *Cypripedium*, *Liparis* y *Malaxis* (Sood 1989, 1992; Sood & Mohana 1998).

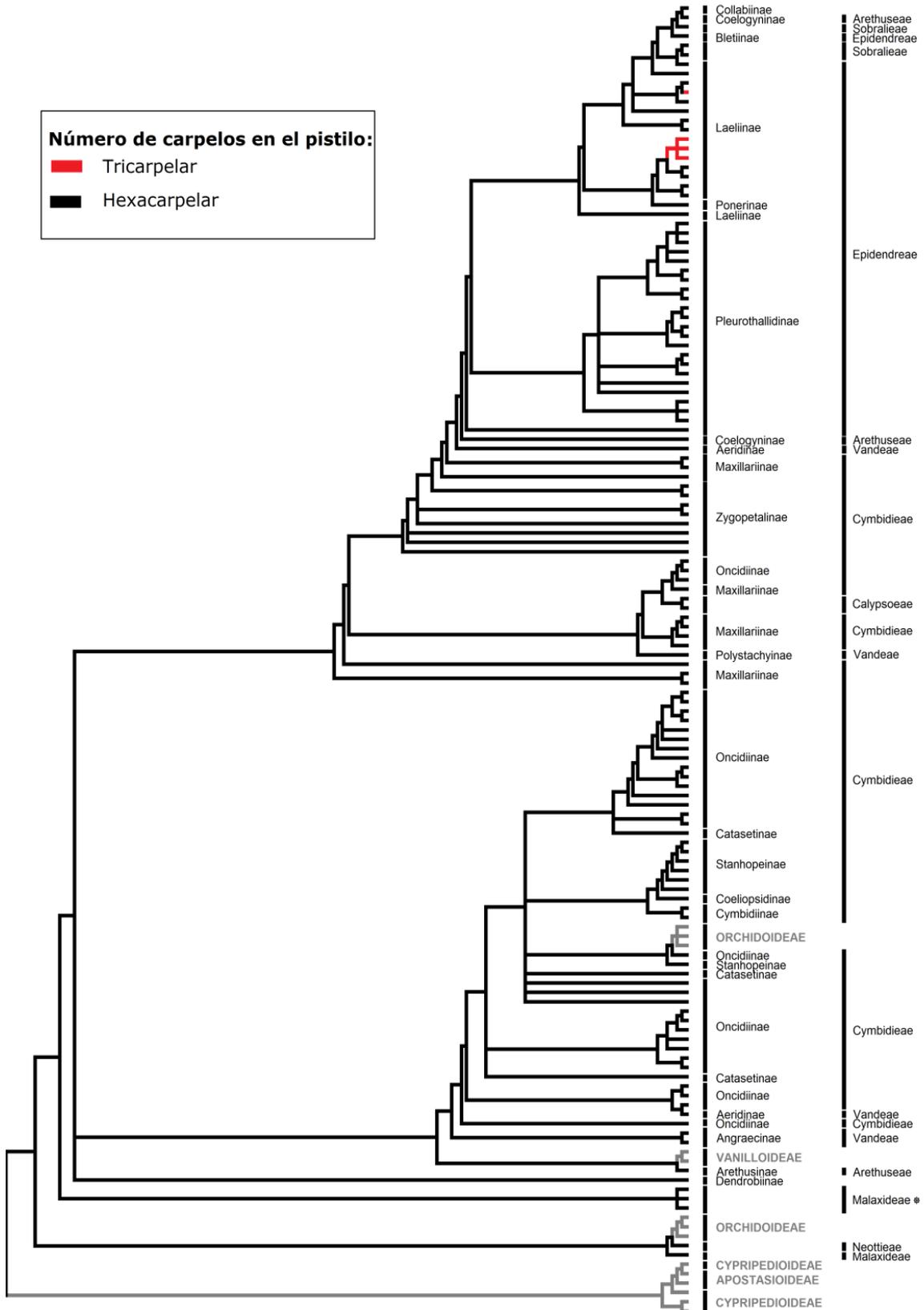


Figura 41. Distribución del nº de carpelos en el árbol consenso estricto de máxima parsimonia obtenido en base a datos del polinario y del pistilo de Epidendroideae. Los taxones del Grupo externo aparecen en con color gris.

Los cambios estructurales en el carpelo son una clara evidencia de las tendencias de evolución en la ontogenia de Orchidaceae, de tres isomórficos en Apostasioideae y algunas Cyripedioideae a seis heteromórficos bien definidos propios de la mayoría de las Epidendroideae estudiadas. Es probable que la división del ovario en esas seis valvas se produzca por un desarrollo tardío en la ontogenia (Kurzweil 1998).

Por otro lado, el pistilo es mayoritariamente unilocular (estado apomórfico) (Fig. 41). Solamente, en *Huntleya* (Zygopetalinae) y *Peristeria* (Coeliopsidinae) se presenta la condición trilocular (Fig. 41), resultante de la fusión postgénita de la placenta de cada carpelo, lo que ocasiona la formación de falsos lóculos, aunque el tipo de placentación sigue siendo parietal. Este estado de carácter se considera plesiomórfico en la familia, en base a la comparación con miembros de taxones próximos a Orchidaceae (Cameron 2003). Además, considera que esta condición es poco común en esta familia y solo atribuye su presencia a solo tres de las cinco subfamilias Apostasioideae, Cyripedioideae y Vanilloideae, dejando de lado a Epidendroideae, por lo que nuestros resultados sirven para ampliar el rango de presencia.

Otros taxones *Cattleya*, *Laelia*, *Sophronitis*, *Scaphyglottis* (Laeliinae), *Vanda* y *Doritis* (Aeridinae) y *Angraecum* (Angraecinae), destacan por la prolongación del tejido placentario (Fig. 41), lo que permite hacer inferencias sobre un hipotético estado intermedio en la prolongación de las placentas para producir el cambio de uno a tres lóculos y viceversa. Dentro de un contexto filogenético la mayor retracción de la placenta para formar un ovario unilocular se ha producido al menos cuatro veces en las orquídeas (Cameron 2003).

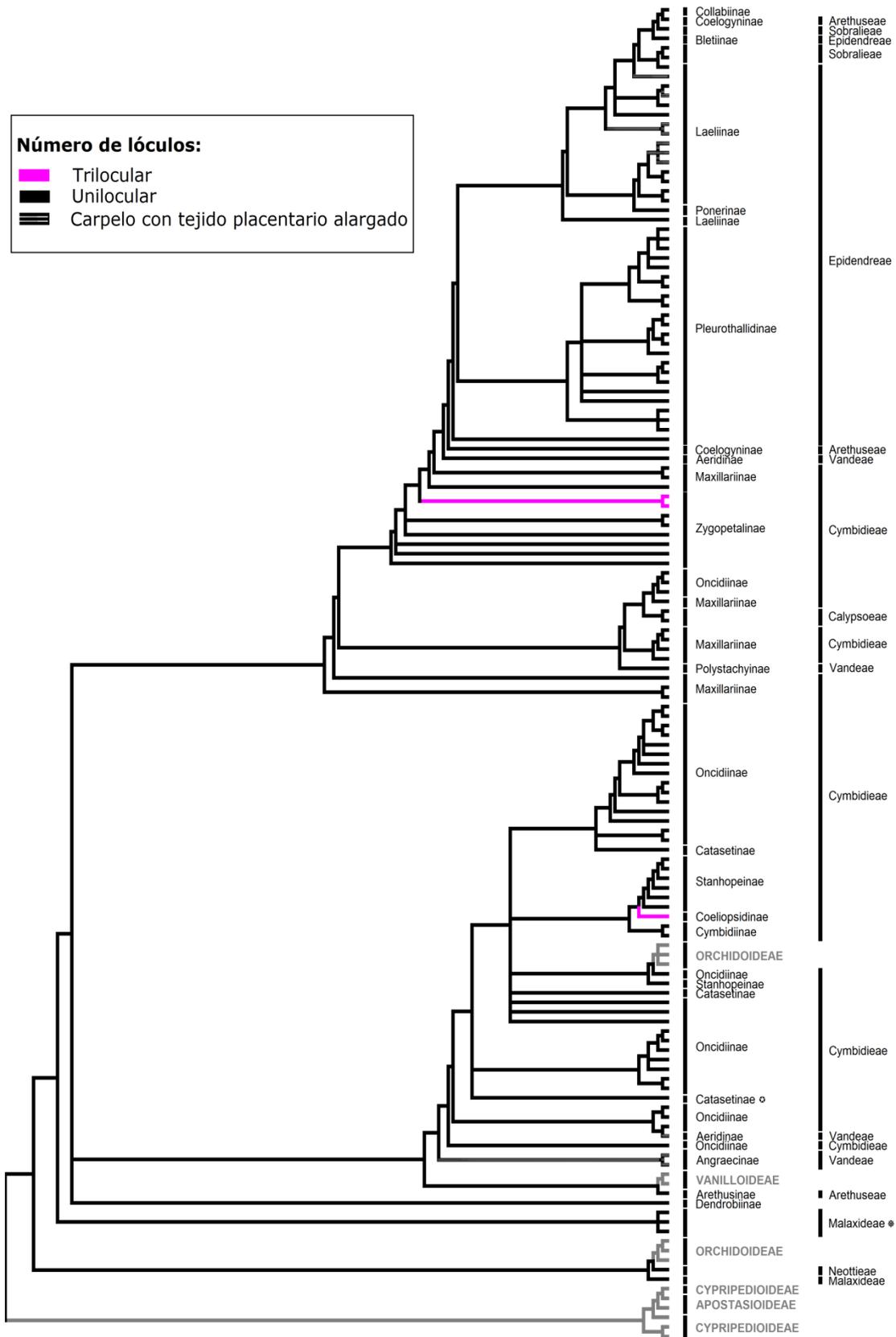


Figura 41. Distribución de los pistilos uniloculares y triloculares en los grupos obtenidos en el análisis de máxima parsimonia de Epidendroideae, basado en caracteres palinológicos y anatomía del pistilo. Los taxones del Grupo externo aparecen en color gris.

Probablemente la condición unilocular de Epidendroideae que se ha alcanzado en el proceso evolutivo, resulta ser muy ventajosa para la polinización, dado el número elevado de óvulos (generalmente 10^4 - 10^6) que se unen a la placenta, la disponibilidad de una amplia región dentro del carpelo, facilitaría el crecimiento de numerosos tubos polínicos de los granos de polen aglutinados en los polinios (Rudall et al. 2002). En consonancia con esto, es de esperar que los géneros *Epipactis*, *Corallorhiza*, *Spathoglottis*, *Dryadella*, *Restrepiopsis*, *Masdevallia* y *Trisetella* que poseen una disposición de óvulos de forma difusa (dentro de los rangos manejables del grupo es la de mayor cantidad) tienen mucho más éxito en el proceso de fecundación con relación a otros miembros de Epidendroideae cuyos óvulos están dispuestos linealmente (1 o 2) en una zona de la placenta a lo largo del ovario.

Orchidaceae está incluida dentro del grupo de familias con mayor número de óvulos, que por cierto coincide con la presencia de polinios que pueden aglutinar entre 5000 – 4.000.000 de granos de polen (Schill et al. 1992), hay dos maneras de interpretar este fenómeno:

Una es la posibilidad de que la selección haya favorecido la formación de numerosas y pequeñas semillas, en este caso la aglutinación del polen es una adaptación secundaria o lo que es lo mismo, se promueve la compactación del polen y en este caso la producción de un gran número de óvulos es una adaptación secundaria para asegurar la fertilización de gran número de óvulos (Johnson & Edwards 2000).

Otro carácter interesante es la presencia de tricomas intraováricos sobre la placenta y funículo de: *Bletia*, *Sertifera*, *Sobralia*, *Schomburgkia*, *Cyrtochilum*, *Miltonia*, *Miltoniopsis*, *Paphinia*,

Sievekingia, Stanhopea, Peristeria, Oncidium, Solenidium, Symphyglossum, Tolumnia, Trichocentrum, Trigonidium, Maxillaria, Anguloa, Bollea, Galeottia y Vanda, que también fueron citados para Asteliaceae (Kocyan & Endress 2001).

Hemos detectado variaciones de organización del tejido vascular que irradia los pistilos. Los carpelos son en su mayoría poco vascularizados, solamente con haces ventrales. En las orquídeas más primitivas (Apostasioideae y Cypripedioideae) seis haces vasculares entran y atraviesan longitudinalmente el pistilo, mientras que en las otras subfamilias solo son tres, que luego se ramifican (Swamy 1948; Lavarack 1971; Rao 1974).

Otro componente del sistema vascular son los haces laterales, que están situados en la periferia de los carpelos o se dispersan sin seguir un patrón regular. Estos son más pequeños que los dorsales y ventrales y se derivan de la bifurcación de los haces vasculares dorsales (Hardy & Stevenson 2000).

Se puede inferir que la condición de abundante vascularización en: *Aspasia, Trichocentrum, Catasetum, Cycnoches, Cattleya, Epidendrum, Laelia, Schomburgkia, Sophronitis, Anguloa, Ida, Lycaste, Maxillaria, Trigonidium, Acineta, Houletia, Paphinia, Sievekingia, Stanhopea, Peristeria, Huntleya y Dendrobium*, que tienen haces vasculares ventrales, dorsales y laterales, no es igual al estado plesiomórfico indicado por Rao (1974) para *Apostasia, Neuwiedia y Selenipedium*. Por el contrario, es una condición derivada, curiosamente muy relacionada con los carpelos de amplios parénquimas.

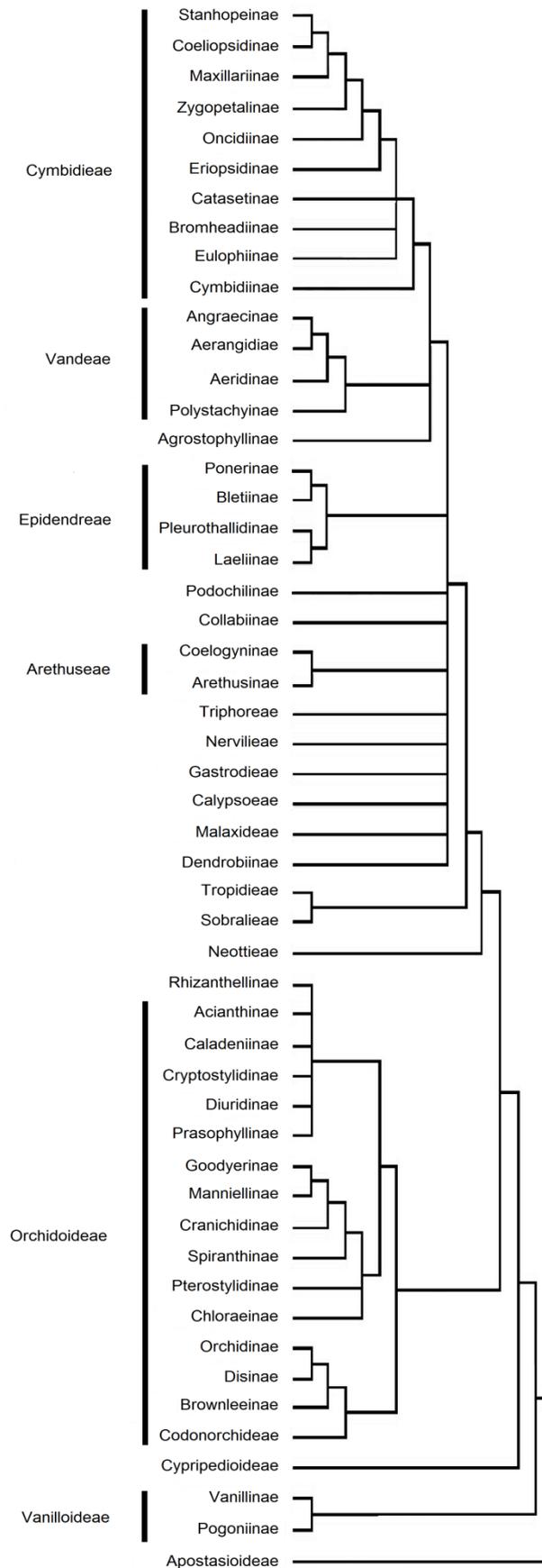
Análisis cladístico con datos del polinario y pistilo

En términos generales, cuando se compara la topología del árbol basado en datos del polinario y anatomía del pistilo (Fig. 38), con el árbol basado en datos moleculares obtenido por Chase et al. (2003), encontramos algunas semejanzas, por ejemplo en la proximidad de las tribus Cymbidieae, Vandeeae, Epidendreae y Arethuseae (Fig. 43A-B). Sin embargo, las relaciones entre los integrantes de las tribus varían notablemente, como Bletiinae (Epidendreae) que resulta más próxima a las tribus Arethuseae y Sobralieae mientras que en los árboles moleculares resulta estrechamente emparentada con otros miembros de la tribu. Esta diferencia se debe, básicamente, a que comparte con ellos la presencia de 8 polinios. A pesar de la distribución y diferente origen de las tribus mencionadas, Arethuseae, Epidendreae y Sobralieae, entre ellas existen similitudes morfológicas, probablemente debido a convergencias florales (van den Berg et al. 2005).

La subtribu más estable y mejor soportada en el cladograma es Pleurothallidinae (Fig. 43A-B) en la que solo el taxón *Restrepiopsis* aparece excluido, porque difiere del resto por tener dos lóculos por teca y cuatro polinios superpuestos.

No obstante, las relaciones entre los géneros de Pleurothallidinae estudiados, varían en relación a las obtenidas en el cladograma basado en marcadores nucleares ITS (Pridgeon et al. 2001). *Cleistes* y *Vanilla* (Vanilloideae), resultan próximos a *Arundina*. Todos ellos tienen en común un polinio granular. Sin embargo, el tipo de unidad polínica es mónade en *Vanilla* y posiblemente tétrade en *Cleistes* y *Arundina*. Esta proximidad queda de manifiesto, además, porque Vanilloideae comparte la antera incumbente con la mayoría de Epidendroideae (Pridgeon et al. 2009).

B



Teniendo en cuenta que nuestros resultados indican que los cambios en el polinario y pistilo no se han producido de forma lineal, consideramos que estos resultados no son comparables a la posición actual aceptada de las tribus y subtribus de Epidendroideae basada en datos moleculares (Whitten et al. 2000; Pridgeon et al. 2001, 2003; Borba et al. 2002; van Den Berg et al. 2005; Kułak et al. 2006; Sandoval-Zapotitla et al. 2010). Sin embargo, si representan una contribución para el entendimiento de la evolución de los órganos reproductivos dentro del grupo (Fig. 44).

Probablemente, la rápida radiación de Epidendroideae, esté asociada con la especialización en los síndromes de polinización. Como resultado de ello, este grupo tiene un mosaico de caracteres morfológicos primitivos y derivados, con pocas autapomorfías y menos sinapomorfías (Cameron et al. 1999; Chase 2003; Rothacker 2007).

Los constantes cambios estructurales en el pistilo y polinario de las orquídeas establecen un cerco mucho más estrecho entre ellas y los animales polinizadores con los que interactúan, lo que podría conducir a la eliminación de la competencia entre y dentro de los taxones de esta familia.

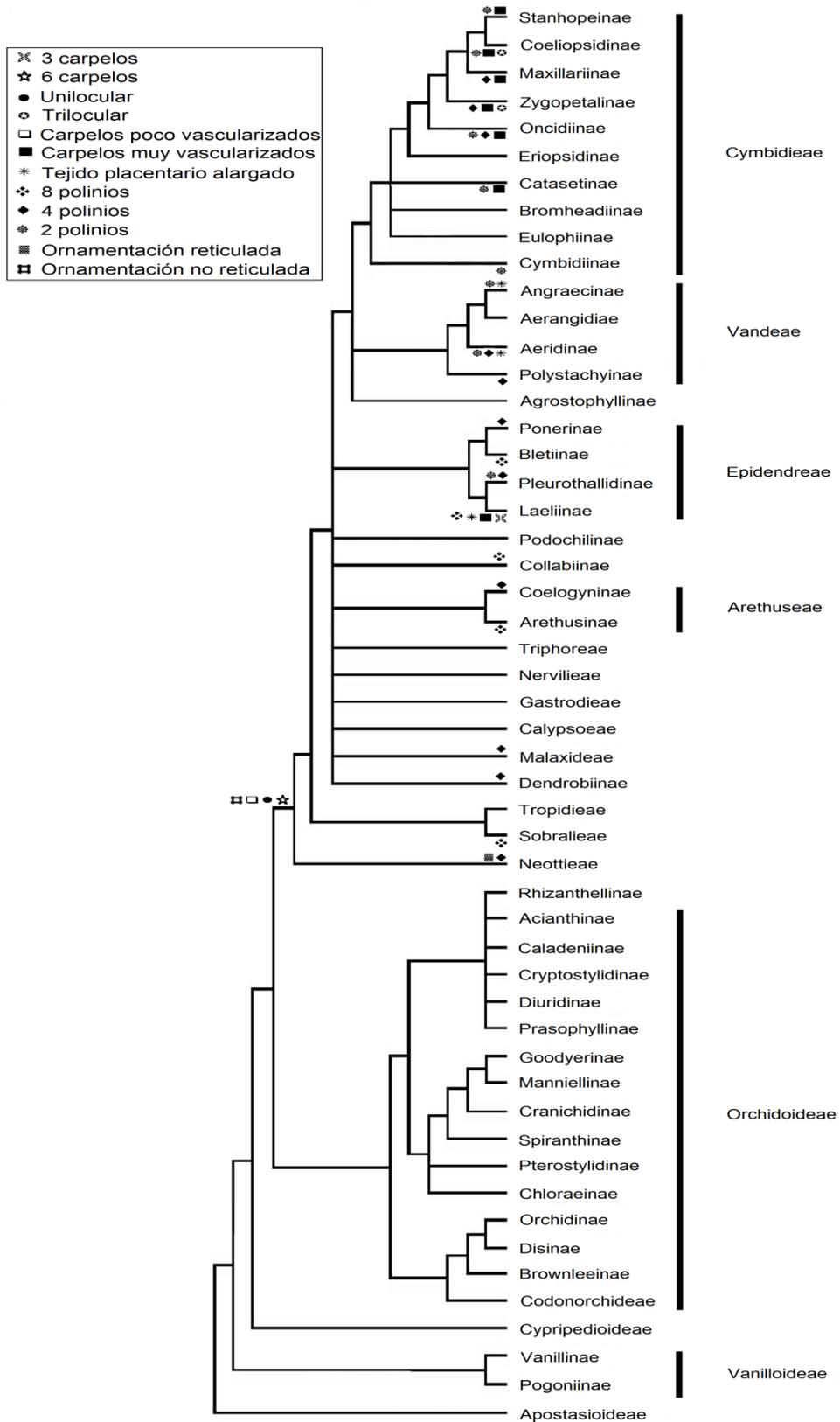


Figura 44. Distribución de los caracteres del polinario y del pistilo en el árbol resumen de Orchidaceae, elaborado con datos de ADN (Chase & al. 2003). Los estados de carácter aparecen arriba o debajo de cada rama.

Apéndice 4. Lista de taxones y muestras representativas usados en el estudio del polinario y pistilo de Epidendroideae.

Tribu: Especie, colector y número de colección, país y herbario. El material fresco es indicado con asterisco (*). Los especímenes están ordenados alfabéticamente.

Subfamilia Epidendroideae: Tribu Arethuseae Lindl.: Subtribu Arethusinae Benth. & Hook. f. *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr., Geovo 0116, Colombia (*). **Subtribu Coelogyneae** Benth. *Coelogyne massangeana* Rchb.f., De Angulo, 0082, Colombia (*). *Dendrochilum cobbianum* Rchb.f., De Angulo 0115, Colombia (*). **Tribu Calypsoeae** Dressler: **Sin subtribu asignada.** *Corallorhiza maculata* (Raf.) Greene, Thompson W. 6567, United States of America (Kew). *Corallorhiza trifida* Châtel., Herrero A. & al. 728220, Bulgaria (MA). **Tribu Cymbidieae Pfitz.: Subtribu Catasetinae** Schlecht. *Catasetum viridiflavum* Hook., Mejía 0062, Colombia (*). *Cycnoches densiflorum* Rolfe, SCO 0001, Colombia (*). *Galeandra batemanii* Rolfe, SCO 0002, Colombia (*). **Subtribu Coeliopsidinae** Szlach. *Peristeria elata* Hook., SCO 0008, Colombia (*). **Subtribu Cymbidiinae** Benth. *Cymbidium insigne* Rolfe., Geovo 0100, Colombia (*). *C. simulans* Rolfe., Geovo 0102, Colombia (*). **Subtribu Maxillariinae** ex Benth. *Anguloa clowesii* Lindl., De Angulo 0054, Colombia (*). *A. virginalis* Hort, De Angulo 0055, Colombia (*). *Ida grandis* A.Ryan & Oakeley, De Angulo 0056, Colombia (*). *Lycaste tricolor* Rchb.f., De Angulo 0057, Colombia (*). *L. x niesseniae* Oakeley, De Angulo 0058, Colombia (*). *Xylobium leontoglossum* Benth. ex Rolfe, Ospina H.M. 149, Colombia (JAUM). *Cryptocentrum latifolium* Schltr., De Angulo, 0059, Colombia (*). *Maxillaria caucea* Garay, De Angulo 0120, Colombia (*). *M. cucullata* Lindl., De Angulo 0060, Colombia (*). *M. fractiflexa* Rchb.f., De Angulo 0061, Colombia (*). *Trigonidium egeronianum* Bateman, Geovo 0114, Colombia (*). **Subtribu Oncidiinae** Benth. *Ada elegantula* (Rchb.f.) N.H. Williams, De Angulo 0063, Colombia (*). *Aspasia principissa* Rchb.f., Geovo 0108, Colombia (*). *Brassia antherothes* Rchb.f., De Angulo 0064, Colombia (*). *B. gireoudiana* Rchb.f. & Warsz., De Angulo 0065, Colombia (*). *Caluera vulpina* Dodson & Determann, SCO 0009, Colombia (*). *Cischweinfia rostrata* Dressler & N.H. Williams, De Angulo 0066, Colombia (*). *Cochlioda vulcanica* (Rchb.f.) Benth. & Hook.f. ex A.H.Kent, De Angulo 0067, Colombia (*). *Comparettia falcata* Poepp. & Endl., Salinas N.R. 141 (COL). *Cyrtochilum ionodon* (Rchb.f.) Dalström SCO 0010, Colombia (*). *Ionopsis utricularioides* Lindl., Mosquera, H. 0108, Colombia (*). *Lockhartia elegans* Hook., De Angulo 0068, Colombia (*). *Macradenia brassavolae* Rchb.f., Geovo 0109, Colombia (*). *Miltonia spectabilis* Lindl., De Angulo 0069, Colombia (*). *M. vexillaria* G.Nicholson, Betancur J. & al. 841, Colombia (HUA). *Milioniopsis phalaenopsis* (Linden & Rchb.f.) Garay & Dunst., De Angulo 0070, Colombia (*). *M. roezlii* (Rchb.f.), De Angulo 0071, Colombia (*). *Notylia pentachne* Rchb.f., De Angulo 0072, Colombia (*). *Odontoglossum povedanum* P.Ortíz, De Angulo 0073, Colombia (*). *Oncidium cheiroporum* Rchb.f., De Angulo 0074, Colombia (*). *O. varicosum* Lindl., De Angulo 0075, Colombia (*). *Ornithocephalus bicornis* Lindl., Misas U.G. 184, Colombia (HUA). *Psygmorhis pusilla* (L.) Dodson & Dressler, Geovo 0110, Colombia (*). *Pterostemma antioquiense* F.Lehm. & Kraenzl., SCO 0011, Colombia (*). *Rodriguezia lanceolata* Ruiz & Pav., Gutierrez G. 899 (MEDEL). *Sigmatostalix cuculligera* (Schltr.) Garay, De Angulo 0076, Colombia (*). *S. papilio* Koniger & R.Escobar, De Angulo 0077, Colombia (*).

Solenidium lunatum Schltr., *De Angulo* 0078, Colombia (*). ***Sphyrastylis escobariana*** Garay, *SCO* 0012, Colombia (*). ***Symphyglossum sanguineum*** Schltr., *De Angulo* 0079, Colombia (*). ***Tolumnia*** Raf., *SCO* 0013, Colombia (*). ***Tolumnia variegata*** (Sw.) Braem, *SCO* 0014, Colombia (*). ***Trichocentrum brandtiae*** Kraenzl. *De Angulo* 0080, Colombia (*). ***Trichopilia fragrans*** Rchb.f., *De Angulo* 0081, Colombia (*). **Subtribu Stanhopeinae** Benth. ***Acineta erythroxantha*** Rchb.f., *SCO* 0005, Colombia (*). ***Gongora latisejala*** Rolfe, *Geovo* 0106, Colombia (*). ***Houlletia wallisii*** Linden & Rchb.f., *Ospina H.M.* 623, Colombia (JAUM). ***Paphinia herrerae*** Dodson, *SCO* 0006, Colombia (*). ***Polycycnis muscifera*** Rchb.f., *SCO* 0007, Colombia (*). ***Sievekingia suavis*** Rchb.f., *Geovo* 0107, Colombia (*). ***Stanhopea wardii*** Lodd. ex Lindl., *De Angulo* 0062, Colombia (*). **Subtribu Zygopetalinae** Schlecht. ***Bollea coelestis*** Rchb.f., *SCO* 0003, Colombia (*). ***Chondrorhyncha amabilis*** Schltr., *SCO* 0004, Colombia (*). ***Galeottia fimbriata*** (Linden & Rchb.f.) Schltr., *Geovo* 0103, Colombia (*), CPGF0093 (CHOCO). ***Huntleya citrina*** Rolfe, *Geovo* 0104, Colombia (*). ***Huntleya meleagris*** Lindl., *Geovo* 0105, Colombia (*). ***Kefersteinia mystacina*** Rchb.f., *De Angulo* 0052, Colombia (*). ***K. tolimensis*** Schltr., *De Angulo* 0053, Colombia (*). ***Warczewiczella marginata*** Rchb.f., *De Angulo* 0051, Colombia (*). **Tribu Epidendreae** Humb., Bonpl. & Kunth: **Subtribu Blettiinae** Benth. ***Bletia purpurea*** DC., *Ospina H.M.* 62, Colombia (JAUM). **Subtribu Laeliinae** Benth. ***Brassavola nodosa*** Hook., *Geovo* 0112, Colombia (*). ***Cattleya quadricolor*** Lindl., *SCO* 0017, Colombia (*). ***C. schroderae*** Rchb.f., *SCO* 0018, Colombia (*). ***C. trianae*** Linden & Rchb.f., *SCO* 0019, Colombia (*). ***Encyclia ceratistes*** Schltr., *De Angulo* 0083, Colombia (*). ***E. vespa*** (Vell.) Dressler, *Ortíz P.* 16 (HPUJ). ***Epidendrum difforme*** Jacq., *Mosquera* 0109, Colombia (*). ***E. ionodesme*** Schltr., *De Angulo* 0084, Colombia (*). ***Laelia tenebrosa*** (Rolfe) Rolfe, *De Angulo* 0085, Colombia (*). ***Lanium avicula*** Lindl. ex Benth., *De Angulo* 0086, Colombia (*). ***Oerstedella wallisii*** (Rchb.f.) Hágsater, *De Angulo* 0087, Colombia (*). ***Prosthechea grammatoglossa*** (Rchb.f.) W.E.Higgins, *De Angulo* 0088, Colombia (*). ***Scaphyglottis arctata*** (Dressler) B.R.Adams, *De Angulo* 0089, Colombia (*). ***S. graminifolia*** (Ruiz & Pav.) Poepp. & Endl., *De Angulo* 0090, Colombia (*). ***Schomburgkia splendida*** Schltr., *De Angulo* 0091, Colombia (*). ***Sophronitis coccínea*** Rchb.f., *SCO* 0020, Colombia (*). **Subtribu Pleurothallidinae** Lindl. ex G.Don ***Acronia marthae*** (Luer & R.Escobar) Luer, *De Angulo* 0093, Colombia (*). ***A. octavioi*** (Luer & R.Escobar) Luer, *De Angulo* 0094, Colombia (*). ***Ancipitia anthrax*** (Luer & R.Escobar) Luer, *De Angulo* 0095, Colombia (*). ***Barbosella cucullata*** (Lindl.) Schltr., *Echeverry D.L.* 478, Colombia (HUA). ***Dracula amaliae*** Luer & R.Escobar, *De Angulo* 0096, Colombia (*). ***D. fuligera*** Luer, *De Angulo* 0097, Colombia (*). ***D. sodiroi*** (Schltr.) Luer, *De Angulo* 0098, Colombia (*). ***Dryadella albicans*** (Luer) Luer, *De Angulo* 0099, Colombia (*). ***D. meiracyllium*** (Rchb.f.) Luer, *De Angulo* 0100, Colombia (*). ***Lepanthopsis floripecten*** (Rchb.f.) Ames, *De Angulo* 0101, Colombia (*). ***Masdevallia coccinea*** Linden ex Lindl., *De Angulo* 0102, Colombia (*). ***M. ova-avis*** Luer, *De Angulo* 0103, Colombia (*). ***M. pelecanceps*** Luer, *De Angulo* 0104, Colombia (*). ***Pleurothallis lindenii*** Lindl., *De Angulo* 0105, Colombia (*). ***Porroglossum eduardii*** (Rchb.f.) H.R.Sweet, *De Angulo* 0106, Colombia (*). ***P. olivaceum*** H.R.Sweet, *SCO* 0031, Colombia (*). ***Restrepia antennifera*** Kunth, *De Angulo* 0107, Colombia (*). ***Restreplopsis*** Luer, *De Angulo* 0108, Colombia (*). ***Scaphosepalum gibberosum*** Rolfe, *De Angulo* 0109, Colombia (*). ***Stelis alba*** Kunth,

SCO 0023, Colombia (*). **Trisetella trigloch** (Rchb.f.) Luer, *De Angulo 0110*, Colombia (*). **Zootrophion hypodiscus** (Rchb.f.) Luer, *De Angulo 0111*, Colombia (*). **Z. oblongifolium** (Rolfe) Luer, *De Angulo 0112*, Colombia (*). **Subtribu Ponerinae** Pfitz **Isochilus linearis** (Jacq.) R.Br., *De Angulo 0092*, Colombia (*). **Tribu Malaxideae** Lindl.: **Sin subtribu asignada. Liparis nervosa** (Thunb.) Lindl., *Langenheim, J.H. 3324* (COL). **Malaxis andicola** Kuntze, *Cogollo 3893*, Colombia (JAUM). **M. bayardii** Fernald, *Ospina H.M. 1356*, Colombia (COL). **M. excavata** Kuntze, *Figuroa & al. 555*, Colombia (COL). **Tribu Neottieae** Lindl.: **Sin subtribu asignada. Epipactis hispanica** Benito & C.E.Hermos, *Llamas & Acedo 82*, España (*), CPEH0014 (CHOCO). **Tribu Sobralieae** Lindl.: **Sin subtribu asignada. Elleanthus myrosomatis** Rchb.f., *SCO 0016*, Colombia (*). **Sertifera purpurea** Rchb.f., *Bristol 550* (COL). **Sobralia valida** Rolfe, *Geovo 0117*, Colombia (*). **Tribu Vandeeae** Lindl.: **Subtribu Aeridinae** Pfitz. **Doritis pulcherrima** Lindl., *SCO 0025*, Colombia (*). **Vanda coerulea** Griff. ex Lindl, *SCO 0026*, Colombia (*). **Subtribu Angraecinae** Summerh. **Angraecum distichum** Lindl., *SCO 0027*, Colombia (*). **A. sesquipedale** Thouars, *SCO 0028*, Colombia (*). **Subtribu Polystachyinae** Schlecht. **Polystachya foliosa** Rchb.f., *SCO 0024*, Colombia (*). **Sin tribu asignada. Subtribu Collabiinae** Schlecht. **Spathoglottis plicata** Blume, *Geovo 0111*, Colombia (*). **Subtribu Dendrobiinae** Lindl. **Dendrobium infundibulum** Lindl., *De Angulo 0113*, Colombia (*).

Outgroup:

Subfamilia Apostasioideae: Apostasia stylioides (F.Muell.) Rchb.f., *Billy Baa 82940*, United Kingdom (Kew). **Neuwiedia veratrifolia** Blume, *Lamb A. 929*, United Kingdom (Kew).

Subfamilia Vanilloideae: Cleistes rosea Lindl., *Mosquera 0110*, Colombia (*). **Vanilla planifolia** Andrews., *Gomez 1450*, Colombia (HUA).

Subfamilia Cypripedioideae: Cypripedium californicum A.Garay,, *Hrusa G.F. 10445*, España (MA). **Paphiopedilum callosum** (Rchb.f.) Stein, *SCO 0029*, Colombia (*). **Phragmipedium longifolium** (Warsz. & Rchb.f.) Rolfe, *Geovo 0115*, Colombia (*). **Selenipedium palmifolium** Rchb.f., *Jenman 6680*, United Kingdom (Kew).

Subfamilia Orchidoideae: Cyclopogon peruvianus Schltr., *Fernandez & al. 19044*, Colombia (COL). **Eurystyles cotyledon** Wawra, *De Angulo 0118*, Colombia (*). **Ophrys sphegodes** Mill., *Barbero & al. 0001*, España (*). **Orchis mascula** (L.) L., *Mosquera 0119*, Colombia (*). **O. anthropophora** All., *Mosquera 0117*, Colombia (*). **Spiranthes orchioides** Hemsl., *Haught 2680*, Colombia (COL).

4.5 Discusión General: diversidad del polen, polinario y pistilo en Orchidaceae y su importancia en la clasificación

Para concluir, hemos reunido en este apartado una discusión general sobre la variación morfológica del polen, polinario y anatomía del pistilo de los 129 géneros de Orchidaceae estudiados, pertenecientes a las 5 subfamilias actualmente reconocidas: Apostasioideae, Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae, Epidendroideae (Apéndice 5), con el objetivo de interpretar de forma conjunta las posibles vías evolutivas de estos caracteres en la familia e integrar la información disponible, elaborando una clave de identificación que permite la identificación de subfamilias y géneros en base a los caracteres estudiados.

Las clasificaciones clásicas de Orchidaceae, se basaban principalmente en los caracteres de la columna o ginostemo, antera y polinario (Dressler & Dodson 1960; Garay 1960, 1972; Dressler 1981, 1993; Burns-Balog & Funk 1986; Szlachetko 1995) y las propuestas actuales se basan en datos moleculares (Chase et al. 2003; Freudenstein et al. 2004). Estas clasificaciones reconocen cinco subfamilias monofiléticas: Apostasioideae, Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae y Epidendroideae, basadas en estudios de secuencias de *atpB*, *rbcl*, *matK*, *psaB*, *trnL-F*. El análisis de estos datos de DNA plastidial determinó que Apostasioideae es hermana del resto seguida sucesivamente por Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae y Epidendroideae (Chase et al. 2003; Freudenstein et al. 2004).

Posiblemente Orchidaceae es la familia con mayor diversidad de formas de agregación del polen, desde mónades agrupadas por elastoviscina como en Cyripedioideae, hasta varias formas y número

de polinios conformados por mónades o tétrades (Harder & Johnson 2008).

El polinio junto con las estructuras accesorias del polinario (caudícula, estípite y viscidio), ha sido clave en la historia evolutiva de Orchidaceae y probablemente haya tenido un papel protagonista en la tremenda radiación del grupo (Dressler 1993).

En contraste, el ovario de las orquídeas es uno de los órganos incipientemente estudiados. Se han mencionado ovarios triloculares en Apostasioideae (Dressler 1993; Kocyan & Endress 2001), Cyripedioideae (Dressler 1993, Cox et al. 1997) y Vanilloideae (Cameron 2003) y uniloculares en Epidendroideae y Orchidoideae (Dressler 1993) y en los géneros *Cypripedium*, *Paphiopedilum* de la subfamilia Cyripedioideae (Burns-Balog & Funk 1986; Cox et al. 1997).

Los ovarios tricarpelares son propios de Apostasioideae, Cyripedioideae (Cox et al. 1997; Kocyan & Endress 2001) y los formados por seis carpelos característicos de Epidendroideae, Orchidoideae y Vanilloideae.

En esta síntesis, se resaltan los caracteres del polinario, polen y pistilo de los integrantes estudiados de todas las subfamilias de Orchidaceae, permitiendo con ello revelar la variabilidad existente en y entre las subfamilias. La información resultante proporciona nuevos indicios para el entendimiento de la evolución morfológica de los órganos reproductivos de la familia más evolucionada de las plantas con flores.

La variación de la mayoría de los caracteres estudiados se ilustra con fotografías de estereomicroscopio, microscopios de campo claro y de fluorescencia y microscopio electrónico de barrido (MEB)

para una mejor comprensión. Debido al elevado número de imágenes procesadas, aquellas seleccionadas para documentar este capítulo, se presentan por subfamilias y géneros ordenados alfabéticamente.

En lo que se refiere a los caracteres estudiados, es de destacar que aquí solo presentamos una síntesis de aquellos que permiten caracterizar taxones de mayor rango taxonómico –subfamilias, tribus y géneros- y, que la exposición más detallada puede consultarse en el capítulo específico sobre el grupo taxonómico.

4.5.1 Características del polen y polinario

➤ Tipos de organización del polen en la antera

Los géneros *Apostasia* y *Neuwiedia* (Apostasioideae) y *Cypripedium*, *Paphiopedilum*, *Phragmipedium* y *Selenipedium* (Cypripedioideae) poseen el polen en mónade disperso en la antera, sin la compactación en masas de polen, que en orquídeas es generalmente conocida como polinio. En ambas subfamilias el polen está cubierto por elastoviscina excepto en el género *Neuwiedia*, que parece no tener esta sustancia viscosa, pegajosa que permite la adhesión del polen al cuerpo del animal polinizador y por ende favorece su transporte y el proceso de polinización.

En Apostasioideae las mónades son monosulcadas, con ornamentación reticulada y exina semitectada, en *Neuwiedia* el retículo tiene lúmenes irregulares, mientras que en *Apostasia* los lúmenes son más homogéneos.

El polen de Cypripedioideae tiene ornamentación psilada y exina tectada, es inaperturado en los géneros *Paphiopedilum* y *Phragmipedium*, mientras que en *Cypripedium* es monosulcado y en *Selenipedium* puede ser bisulcado.

La otra organización del polen son los polinios y está restringida a las subfamilias Vanilloideae, Orchidoideae y Epidendroideae. Uno de los caracteres variables en los polinios es la textura, de la que se diferencian tres tipos:

- 1) Polinios granulares: son masas suaves de polen formadas por mónades o tétrades. Este tipo de polinio se observó en miembros de las subfamilias Vanilloideae en: *Cleistes* y *Vanilla*, una exina tectada con ornamentación rugulada, perforada. Orchidoideae en: *Aa*, *Cranichis*, *Cyclopogon*, *Eurystyles*, *Gomphichis*, *Spiranthes*, *Stenorhynchos* con exina semitectada con ornamentación reticulada y Epidendroideae en: *Arundina*. Los granos de polen que lo integran son aperturados (con poros, úlceras o sulcos), excepto en *Arundina* que es inaperturado con exina tectada con ornamentación rugulada-fosulada- perforada.
- 2) Polinios séctiles. Formados por másulas de tamaño y forma irregular, que contienen tétrades inaperturadas agrupadas por una pared común, con exina tectada con ornamentación rugulada, psilada-escábrida, fosulada- perforada. O también semitectada con ornamentación reticulada. Polinios como estos están presentes solo en algunos miembros de Orchidoideae en: *Barlia*, *Coeloglossum*, *Dactylorhiza*, *Erythrodes*, *Habenaria*, *Neotinea*, *Nigritella*, *Ophrys* y *Orchis*.
- 3) Polinios compactos. Representa el mayor grado de cohesión del polen. Están formados por tétrades inaperturadas agrupadas en una masa compacta con una exina tectada con ornamentación rugulada, fosulada-perforada, verrugosa, gemada y psilada-escábrida. Predominan en casi todas las tribus de la subfamilia Epidendroideae (Sobralieae,

Epidendreae, Arethuseae, Calypsoae, Malaxideae, Cymbidieae y Vandeeae).

➤ Número de polinios por antera

Los taxones examinados, que tienen polinio, presentan dos, cuatro u ocho polinios. Como se ha mencionado, este carácter es variable en cada subfamilia de Orchidaceae.

Los géneros *Cleistes* y *Vanilla*, de la subfamilia Vanilloideae, tienen solo dos polinios por antera, mientras que en la Subfam. Orchidoideae poseen cuatro polinios *Erythrodes*, *Stenorhynchos* y *Spiranthes* (Spiranthinae) y solo dos *Cyclopogon*, (Spiranthinae), *Erythrodes* (Goodyerinae), *Cranichis*, *Gomphichis* y *Aa* (Cranichidinae), *Barlia*, *Ophrys*, *Neotinea*, *Orchis*, *Coeloglossum*, *Nigritella*, *Dactylorhiza* y *Habenaria* (Orchidinae). La mayor variabilidad en el número de polinios (dos, cuatro u ocho) corresponde a la subfamilia Epidendroideae.

Presentan dos polinios las subtribus Pleurothallidinae, Angraecinae, Catasetinae, Oncidiinae, Cymbidiinae, Eulophiinae, Stanhopeinae, Coeliopsidinae, Aeridinae. Con cuatro polinios por antera Calypsoae, Ponerinae, Laeliinae, Oncidiinae, Coelogyninae, Dendrobiinae, Zygopetalinae, Malaxideae, Maxillariinae, Polystachyinae y Pleurothallidinae. El número máximo de polinios – ocho- es propio de *Arundina* (Arethusinae), *Bletia* (Bletiinae), *Elleanthus*, *Sertifera* y *Sobralia* (Sobralieae), *Brassavola*, *Laelia*, *Schomburgkia* y *Sophronitis* (Laeliinae) y *Spathoglottis* (Collabiinae).

El número de polinios en Orchidaceae no siempre es uniforme en la misma subtribu. Ejemplo de ello son Spiranthinae (Orchidoideae), Pleurothallidinae, Oncidiinae y Aeridinae

(Epidendroideae) con dos o cuatro polinios, y Laeliinae con cuatro u ocho polinios.

➤ Orientación de los polinios en la antera

Los polinios pueden estar yuxtapuestos dentro de la antera, es decir, ubicados uno al lado del otro, o por el contrario estar superpuestos ubicados uno sobre otro.

Solo en la subfamilia Vanilloideae, los polinios son exclusivamente yuxtapuestos. En el caso de Orchidoideae los polinios de las subtribus Goodyerinae, Cranichidinae y Orchidinae, que incluyen géneros como: *Ophrys*, *Orchis*, *Coeloglossum* y *Dactylorhiza*, son yuxtapuestos, mientras que la subtribu Spiranthinae posee polinios con los dos tipos de orientación.

En Epidendroideae la mayoría de las subtribus (Oncidiinae, Pleurothallidinae, Catasetinae, Cymbidiinae, Eulophiinae, Coeliopsidinae, Aeridinae, Stanhopeinae, Laeliinae y Collabiinae tienen los polinios yuxtapuestos, característica que también fue observada en las tribus Neottieae y Sobralieae. Por el contrario, los polinios superpuestos son propios en los individuos de Zygopetalinae, Maxillariinae, Polystachyinae, Dendrobiinae, Coelogyninae, Arethusinae, Ponerinae y en las tribus Calypsoae y Malaxideae.

Las subtribus Oncidiinae, Pleurothallidinae y Aeridinae tienen dos o cuatro polinios con diferente orientación. Siempre que hay polinios dobles, la orientación es yuxtapuesta, pero cuando hay cuatro polinios es superpuesta. Sin embargo la existencia de más de dos polinios no es condicionante para que la organización sea superpuesta, ejemplo de ello son los géneros *Bletia*, *Elleanthus*, *Laelia*, *Sobralia*, *Schomburgkia* y *Spathoglottis* con ocho polinios dentro de una misma antera pero con una orientación yuxtapuesta.

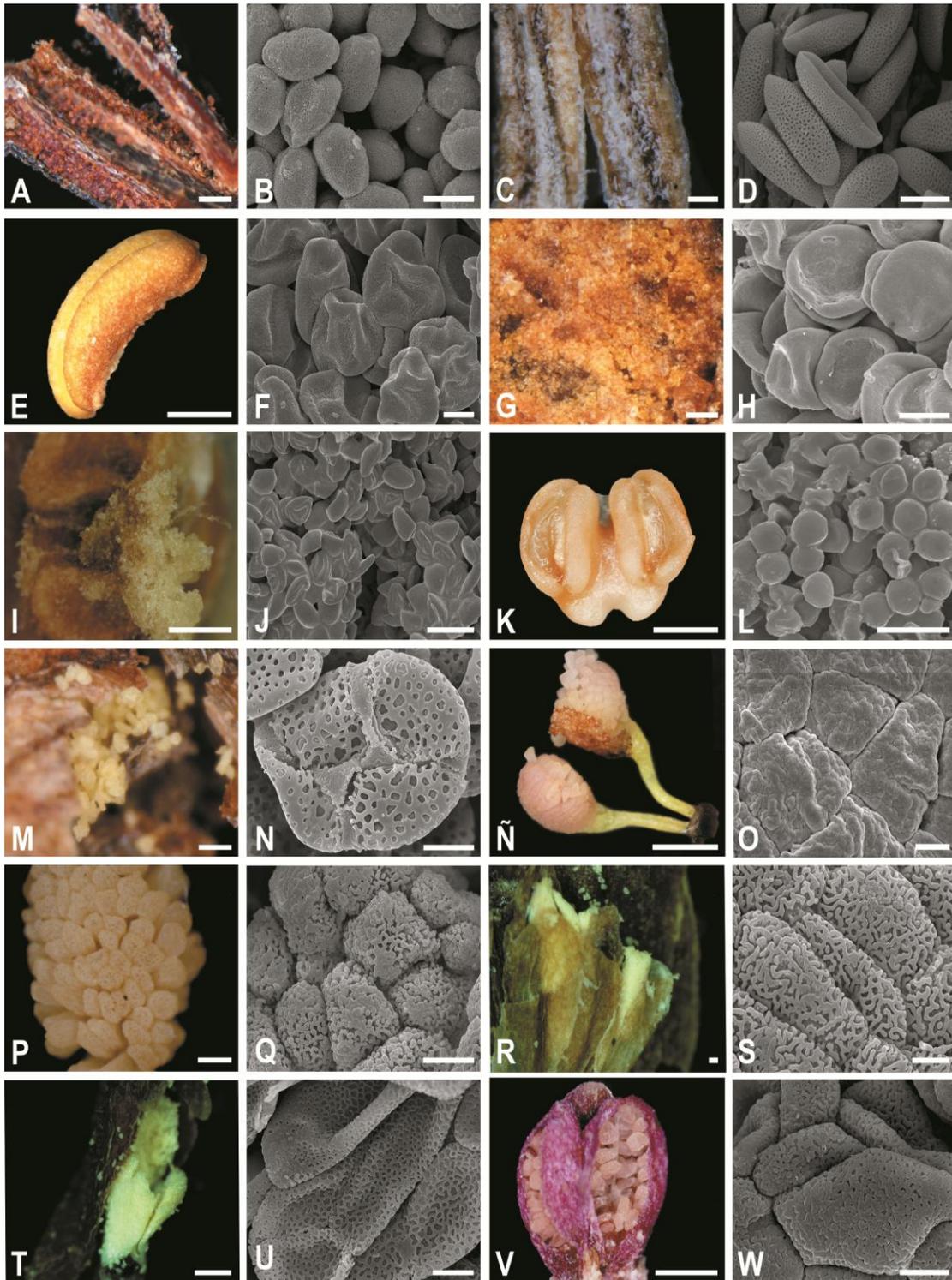


Figura 45. Imágenes del polinario de **Apostasioideae** tomadas al estereomicroscopio y MEB. A-B. *Apostasia stylidioides*, C-D. *Neuwiedia veratrifolia*. **Vanilloideae**: E-F. *Cleistes rosea*, G-H. *Vanilla odonata*. **Cypripedioideae**: I-J. *Cypripedium californicum*, K-L. *Phragmipedium longifolium*. **Orchidoideae**: M-N. *Aa maderoj*, Ñ-O. *Barlia robertiana*, P-Q. *Coeloglossum viride*, R-S. *Cranichis antioquiensis*, T-U. *Cyclopogon elatus*, V-W. *Dactylorhiza incarnata*. Escala: A, C, G, M, N, P, T = 0,1 mm, B, D, F, H, Q, U, W = 10 μ m; E, K, Ñ = 1 mm, I, V = 0,5 mm, J, L = 50 μ m, O, S = 5 μ m, R = 0,05 mm.

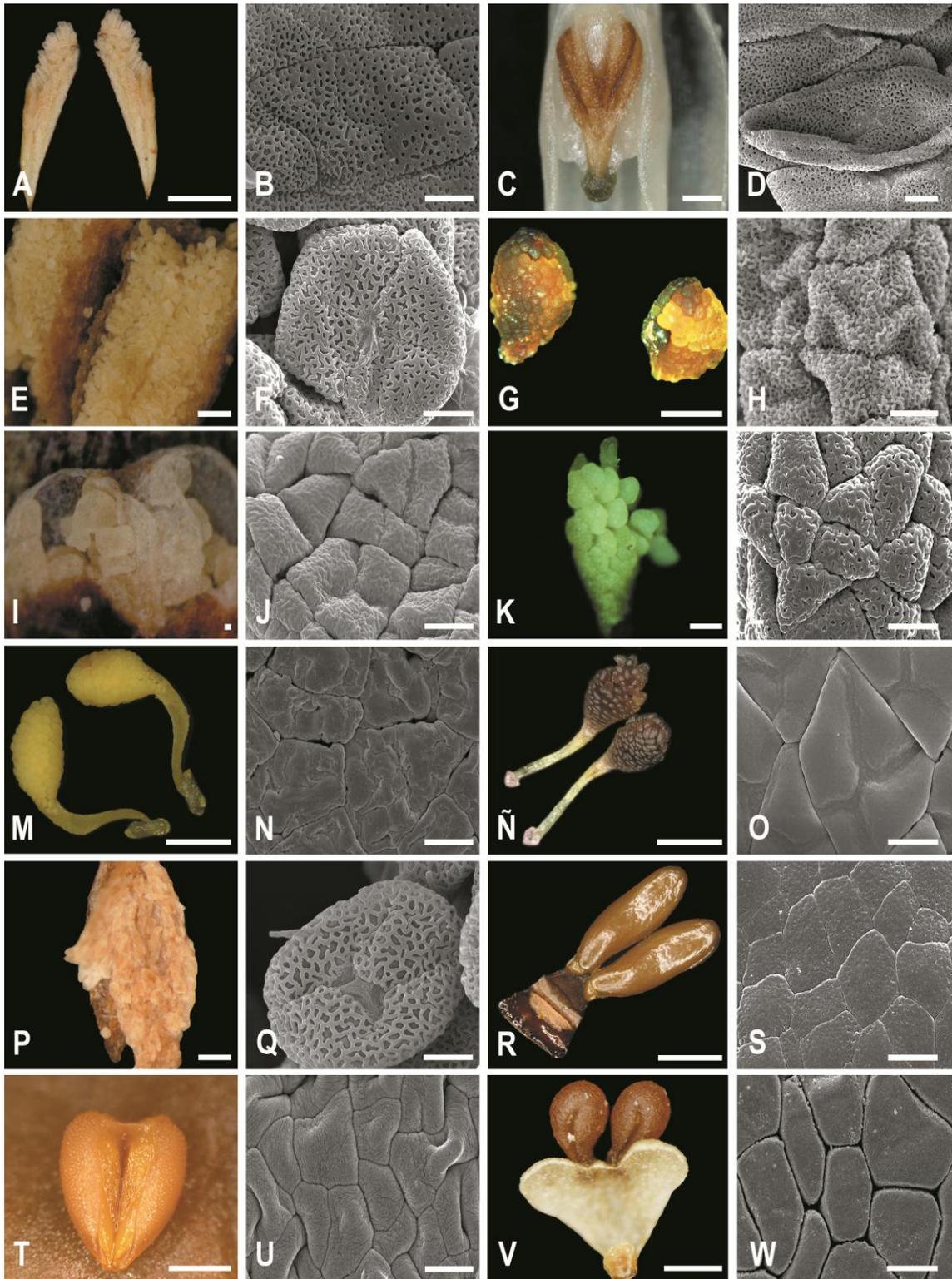


Figura 46. Imágenes del polinario tomadas en el estereomicroscopio y MEB. **Orchidoideae:** A-B. *Erythrodes major*, C-D. *Eurystyles cotyledon*, E-F. *Gomphichis traceyae*, G-H. *Habenaria parviflora*, I-J. *Neotinea maculata*, K-L. *Nigritella gabasiana*, M-N. *Ophrys apifera*, Ñ-O. *Orchis mascula*, P-Q. *Spiranthes aestivalis*. **Epidendroideae:** R-S. *Acineta erythroxantha*, T-U. *Acronia marthae*, V-W. *Ada elegantula*. Escala: A, C, G, Q, T, V = 0,5 mm, B, D, F, H, J, L, N, O, P, R, S, U, W = 10 μ m, E, I, Ñ = 0,1 mm, M, O, K = 1 mm.

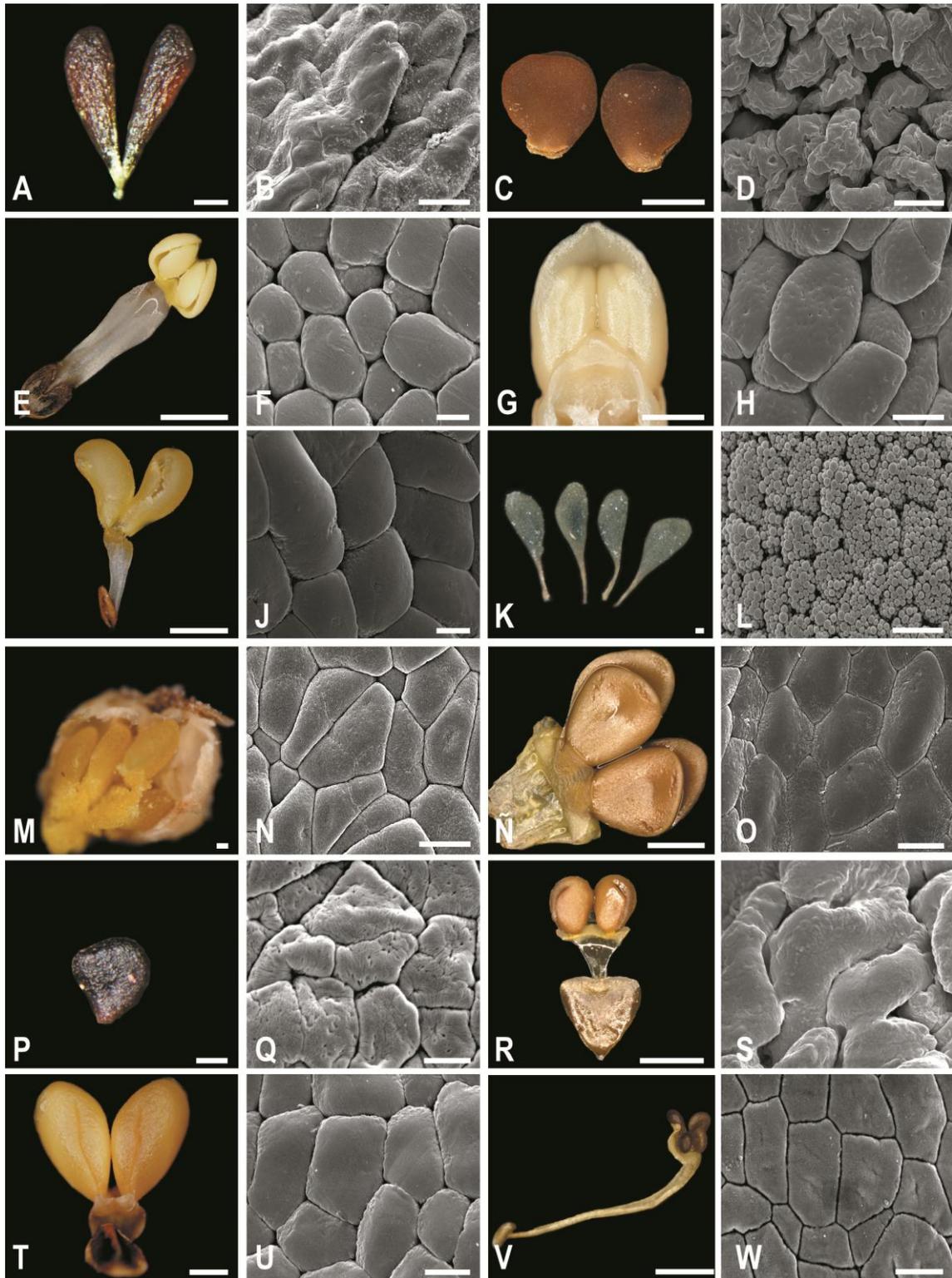


Figura 47. Imágenes del polinario tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido de **Epidendroideae**: A-B. *Ancipitia anthrax*, C-D. *Angraecum sesquipedale*, E-F. *Anguloa clowesii*, G-H. *Arundina graminifolia*, I-J. *Aspasia principissa*, K-L. *Barbosella cucullata*, M-N. *Bletia purpurea*, Ñ-O. *Bollea coelestis*, P-Q. *Brachionidium* sp. R-S. *Brachycladium platysepalum*, T-U. *Brassia gireoudiana*, V-W. *Caluera vulpina*. Escala: A, P = 0,1 mm; B, D, H, L, N, O, S, U, W = 10 μ m; C, E, G, I, Ñ, R = 1 mm; F, J = 5 μ m; K, M = 0,05 mm, Q = 2 μ m; T, V = 0,5 mm.

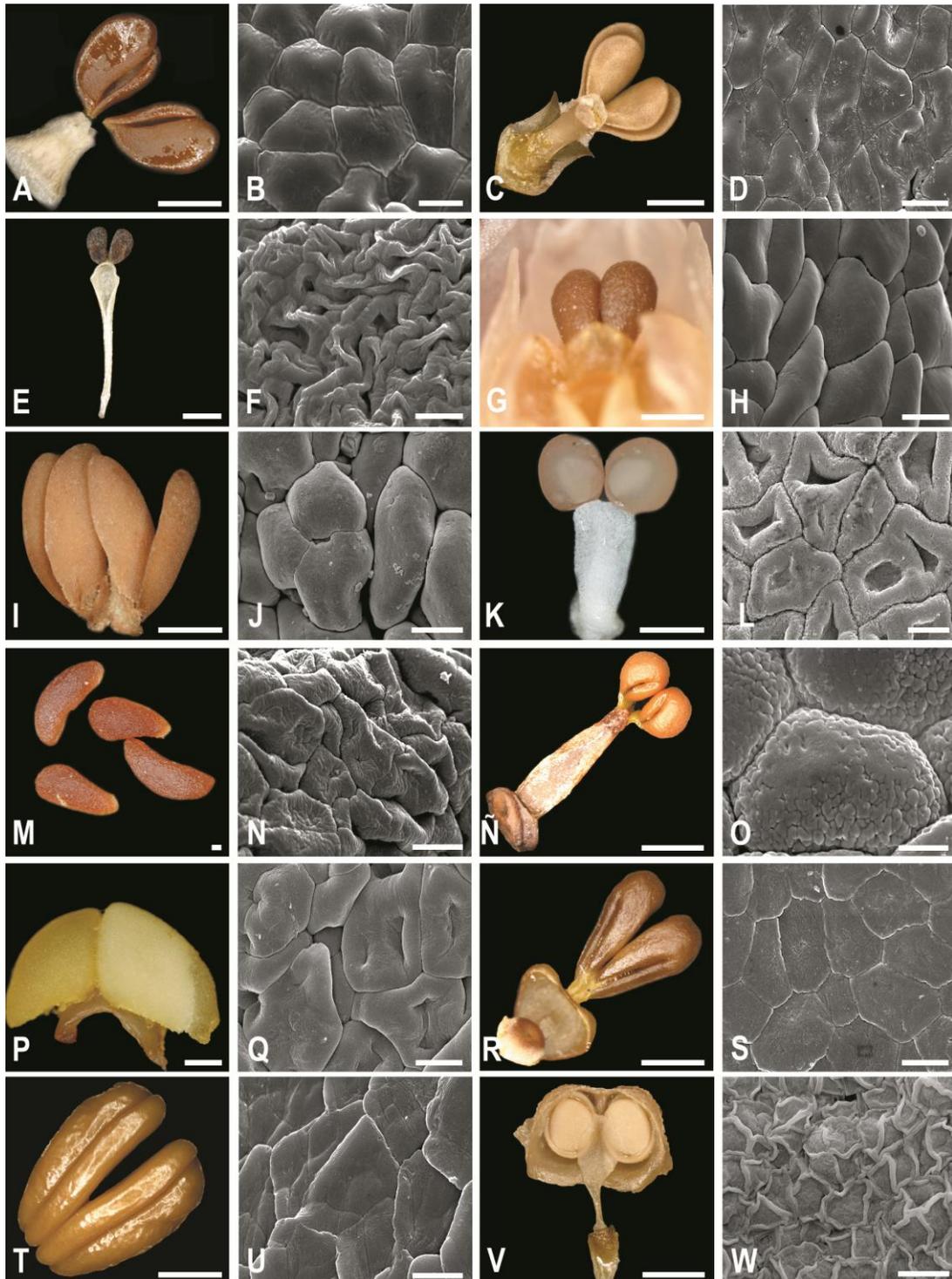


Figura 48. Imágenes del polinario tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido de **Epidendroideae**: A-B. *Catasetum viridiflavum*, C-D. *Chondrorhyncha amabilis*, E-F. *Cischweinfia dasyandra*, G-H. *Cochlioda vulcanica*, I-J. *Coelogyne massangeana*, K-L. *Comparettia falcata*, M-N. *Cryptocentrum latifolium*, Ñ-O. *Cycnoches densiflorum*, P-Q. *Cymbidium simulans*, R-S. *Cyrtochilum ionodon*, T-U. *Dendrobium infundibulum*, V-W. *Dichaea morrisii*. Escala: A, C, I, Ñ, R, V = 1 mm; B, D, F, H, J, N, Q, S, U = 10 µm; E, G, K, P = 0,5 mm; L = 5 µm, M = 0,05 mm, O, W = 2 µm, T = 0,1 mm.

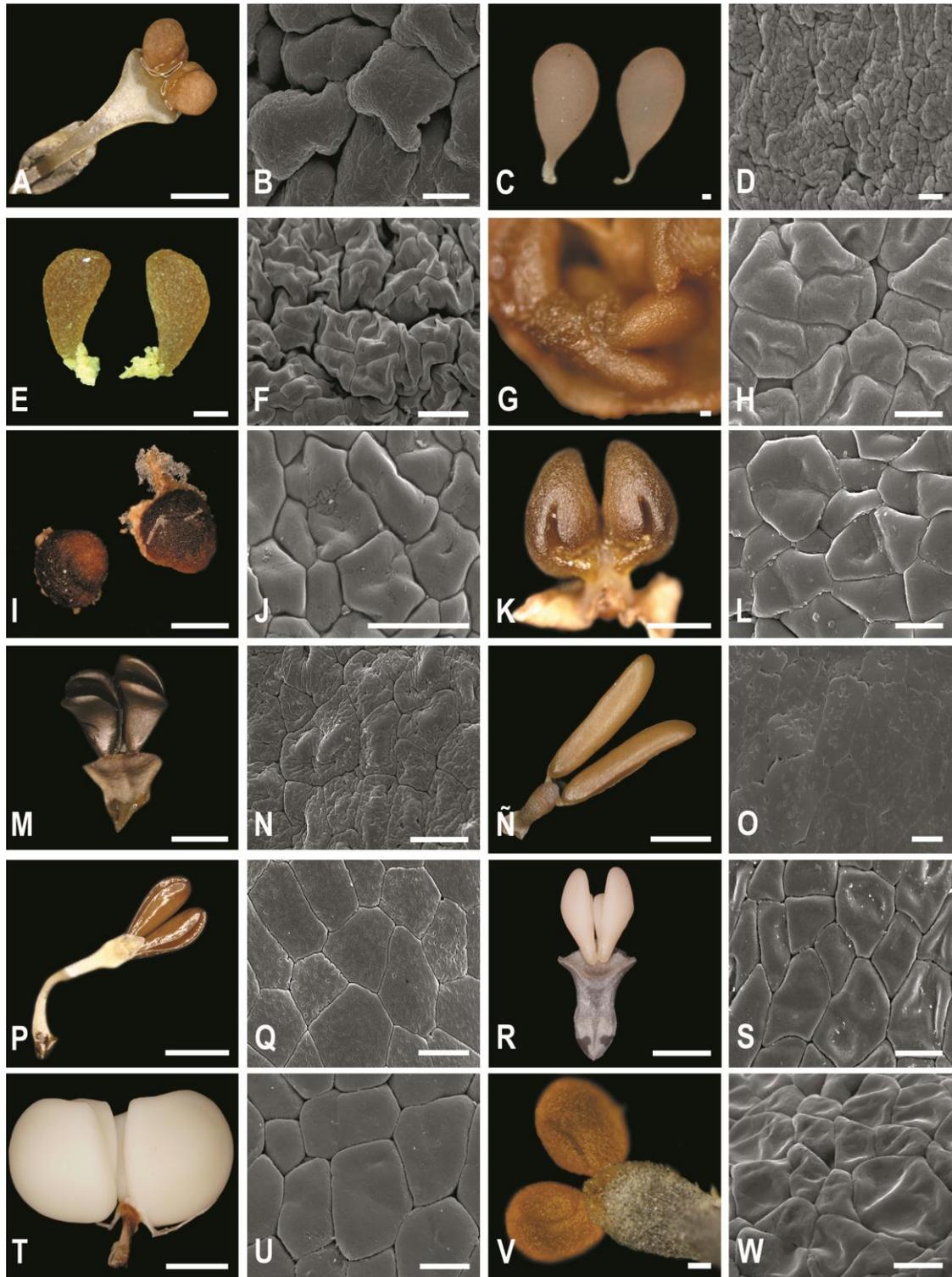


Figura 49. Imágenes del polinario tomadas en el estereomicroscopio y microscopio electrónico de barrido de **Epidendroideae**: A-B. *Doritis pulcherrima*, C-D. *Dracula lotax*, E-F. *Dryadella albicans*, G-H. *Elleanthus myrosomatis*, I-J. *Eulophia alta*, K-L. *Galeandra batemanii*, M-N. *Galeottia fimbriata*, Ñ-O. *Gongora latisejala*, P-Q. *Houlletia wallisii*, R-S. *Huntleya meleagris*, T-U. *Ida grandis*, V-W. *Ionopsis utricularioides*. Escala: A, M, Ñ, P, R, T = 1 mm; B, F, H, J, L, N, O, Q, S, U, W = 10 μ m; C, E = 0,1 mm; D = 2 μ m, G = 0,05 mm; I, K = 0.5 mm; V = 0,06 mm.

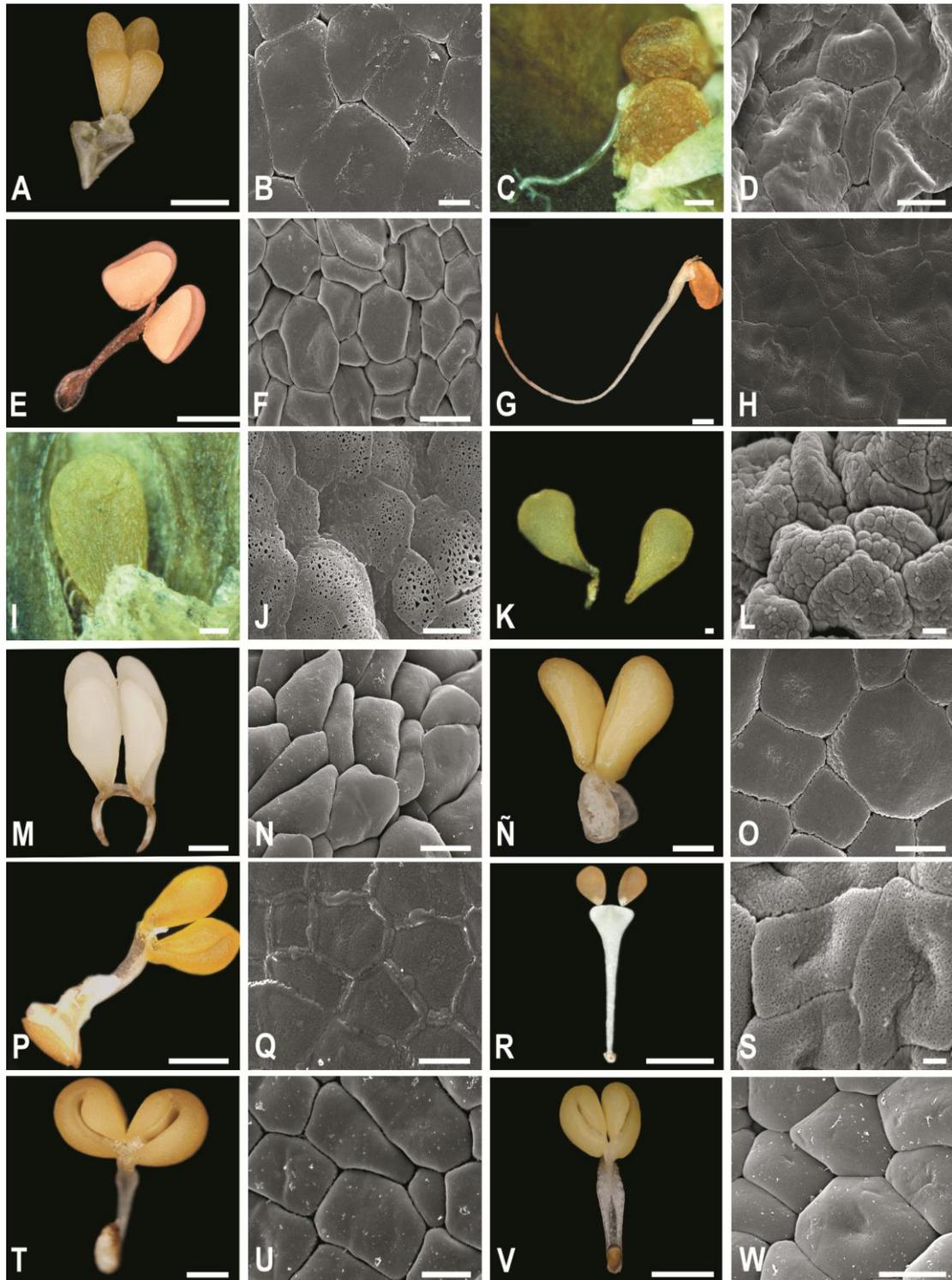


Figura 50. Imágenes del polinario de **Epidendroideae** tomadas en el estereomicroscopio y MEB: A-B. *Kefersteinia mystacina*, C-D. *Liparis nervosa*, E-F. *Lycaste x niesseniae*, G-H. *Macradenia brassavolae*, I-J. *Malaxis andicola*, K-L. *Masdevallia coccinea*, M-N. *Maxillaria cauceae*, Ñ-O. *Miltonia vexillaria*, P-Q. *Miltoniopsis roezlii*, R-S. *Notylia pentachne*, T-U. *Odontoglossum povedanum*, V-W. *Oncidium varicosum*. Escala: A, E, P, R, V = 1 mm; B, P = 5 μ m; C, I = 0,1 mm; D, F, H, J, N, Q, U, W = 10 μ m; G = 0,3 mm; K = 0,05 mm; L, S = 2 μ m, M, Ñ, T = 0,5 mm.

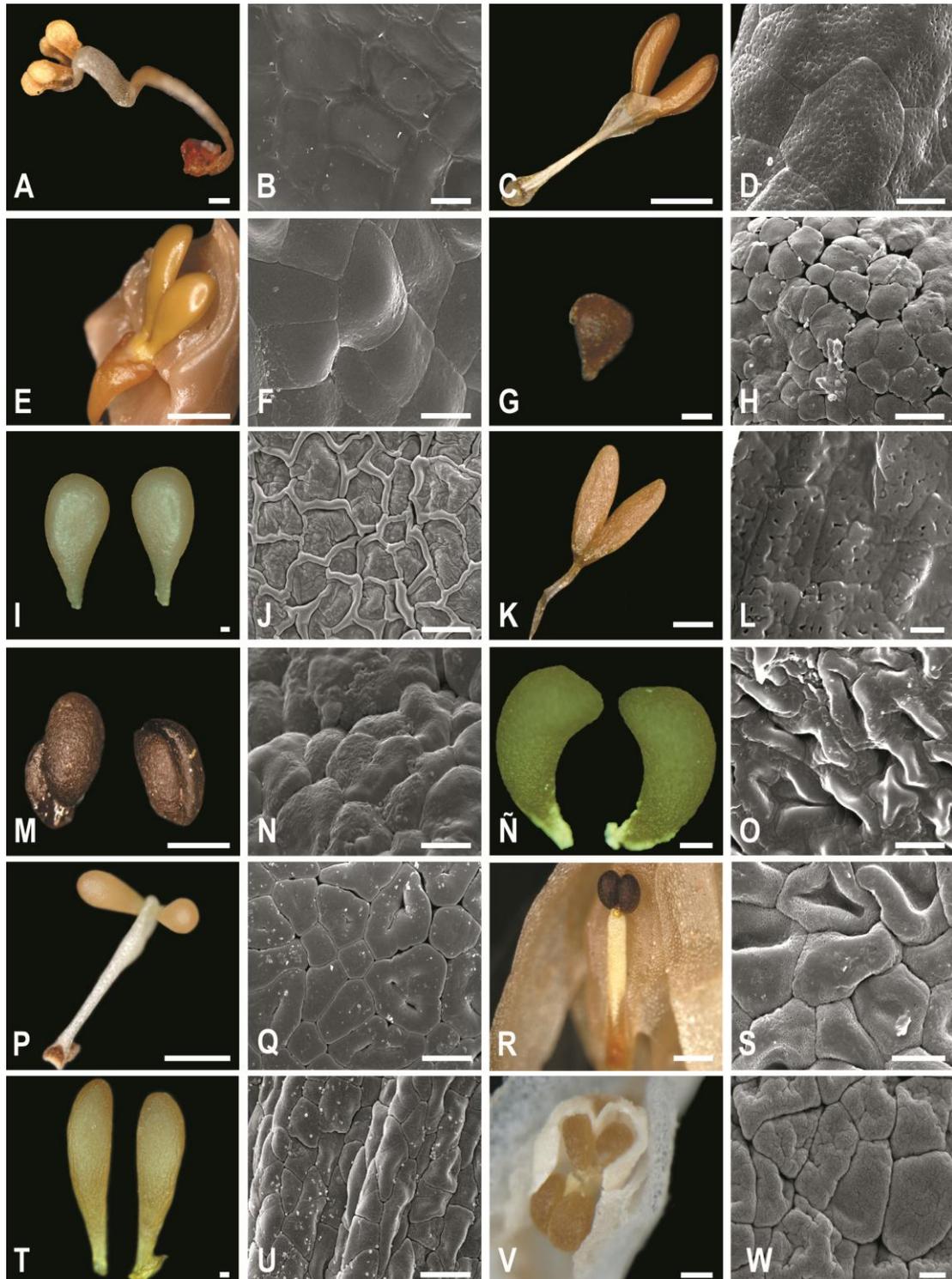


Figura 51. Imágenes del polinario de **Epidendroideae** tomadas en el estereomicroscopio y MEB: A-B. *Ornithocephalus bicornis*, C-D. *Paphinia herrerae*, E-F. *Peristeria elata*, G-H. *Platystele densiflora*, I-J. *Pleurothallis lindenii*, K-L. *Polycycnis muscifera*, M-N. *Polystachya foliosa*, Ñ-O. *Porroglossum eduardii*, P-Q. *Psygmorchis pusilla*, R-S. *Pterostemma antioquiense*, T-U. *Restrepia antennifera*, V-W. *Restrepiopsis tubulosa*. Escala: A, G, Ñ, V = 0,1 mm, B, D, F, H, J, N, O, Q, S, U = 10 μ m, C, E = 1 mm, I, T = 0,05 mm, K, M, P, R = 0,5 mm, L = 5 μ m, W = 2 μ m.

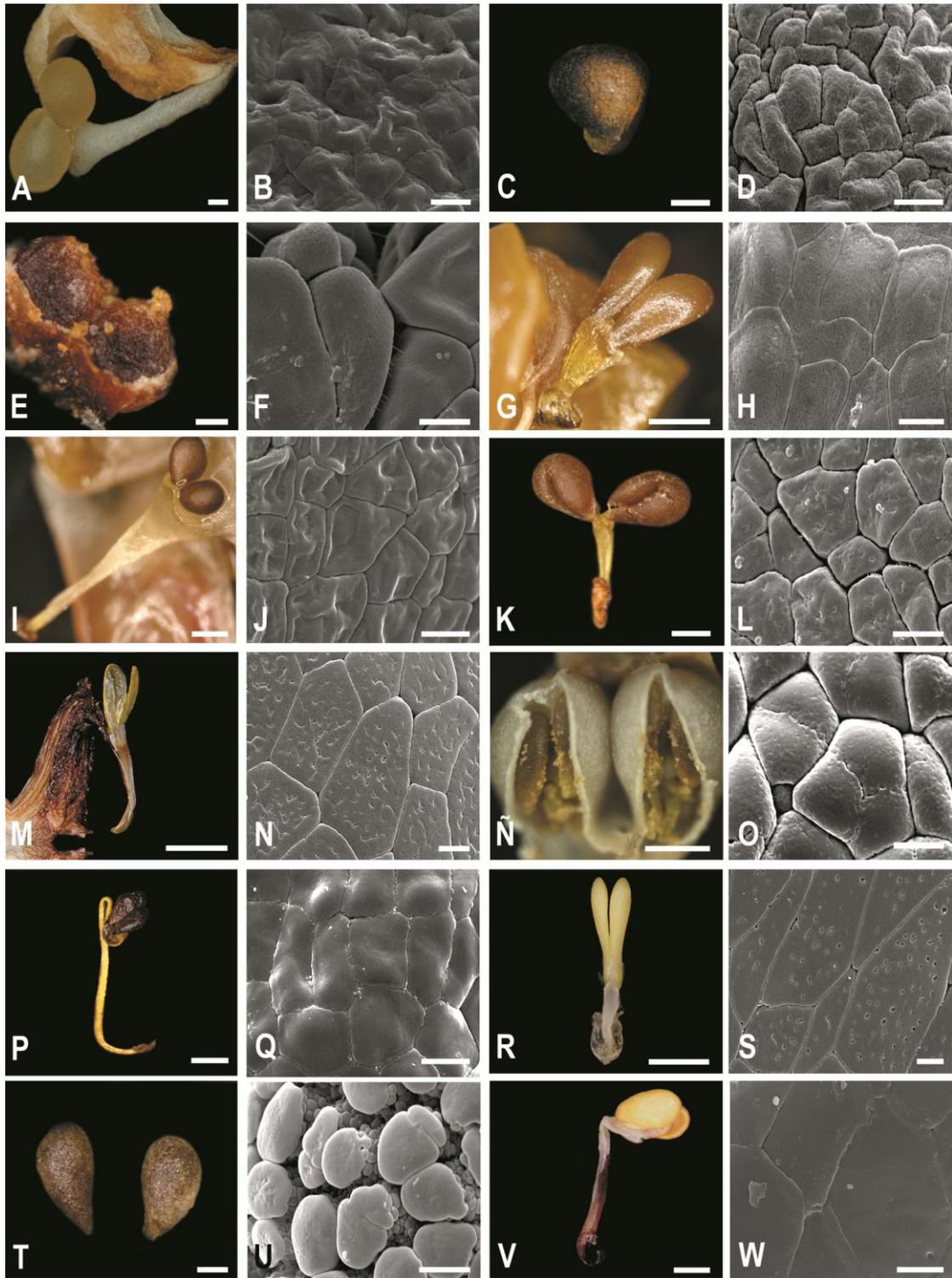


Figura 52. Imágenes del polinario de **Epidendroideae** tomadas en el estereomicroscopio y MEB: A-B. *Rodriguezia lanceolata*, C-D. *Scaphosepalum antenniferum*, E-F. *Sertifera lehmanniana*, G-H. *Sievekingia suavis*, I-J. *Sigmatostalix papilio*, K-L. *Solenidium lunatum*, M-N. *Soterosanthus shephardii*, Ñ-O. *Spathoglottis plicata*, P-Q. *Sphyrastylis escobariana*, R-S. *Stanhopea wardii*, T-U. *Stelis alba*, V-W. *Telipogon leila-alexandrae*. Escala: A = 0,2 mm, B, D, F, H, J, L, O, Q, W = 10 μ m, C, E, G, R, T = 0,1 mm, G, I, R, Ñ, P, V = 0,5 mm, M = 1 mm, N,S,U = 5 μ m.

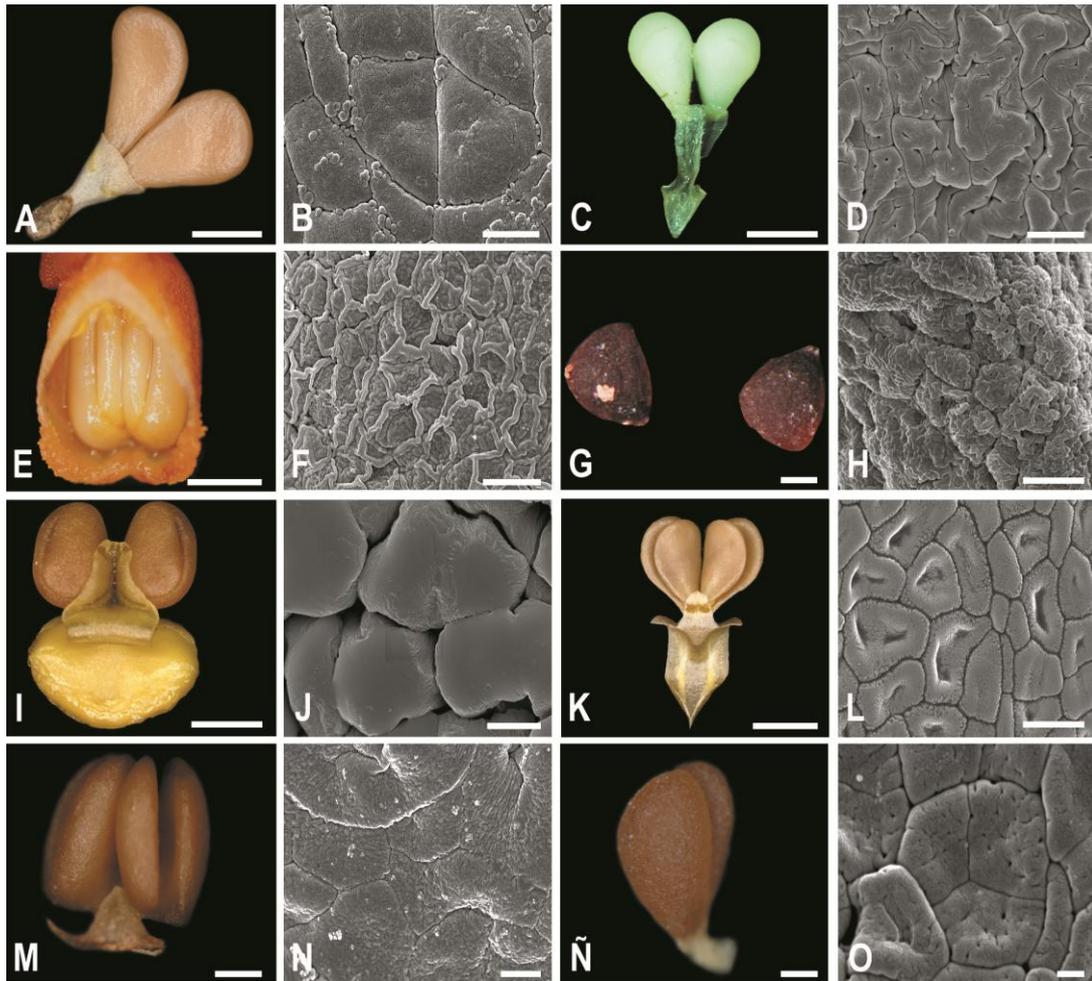


Figura 53. Imágenes del polinario de **Epidendroideae** tomadas en el estereomicroscopio y MEB: A-B. *Trichocentrum brandtiae*, C-D. *Trichopilia fragrans*, E-F. *Trigonidium egertonianum*, G-H. *Trisetella triglochis*, I-J. *Vanda coerulea*, K-L. *Warczewiczella marginata*, M-N. *Xylobium leontoglossum*, Ñ-O. *Zootrophion hypodiscus*. Escala: A, C, I, K = 1 mm; B, D, F, H, J, L = 10 μ m; C, M = 0,5 mm; G, Ñ = 0,1 mm; N = 5 μ m; O = 2 μ m.

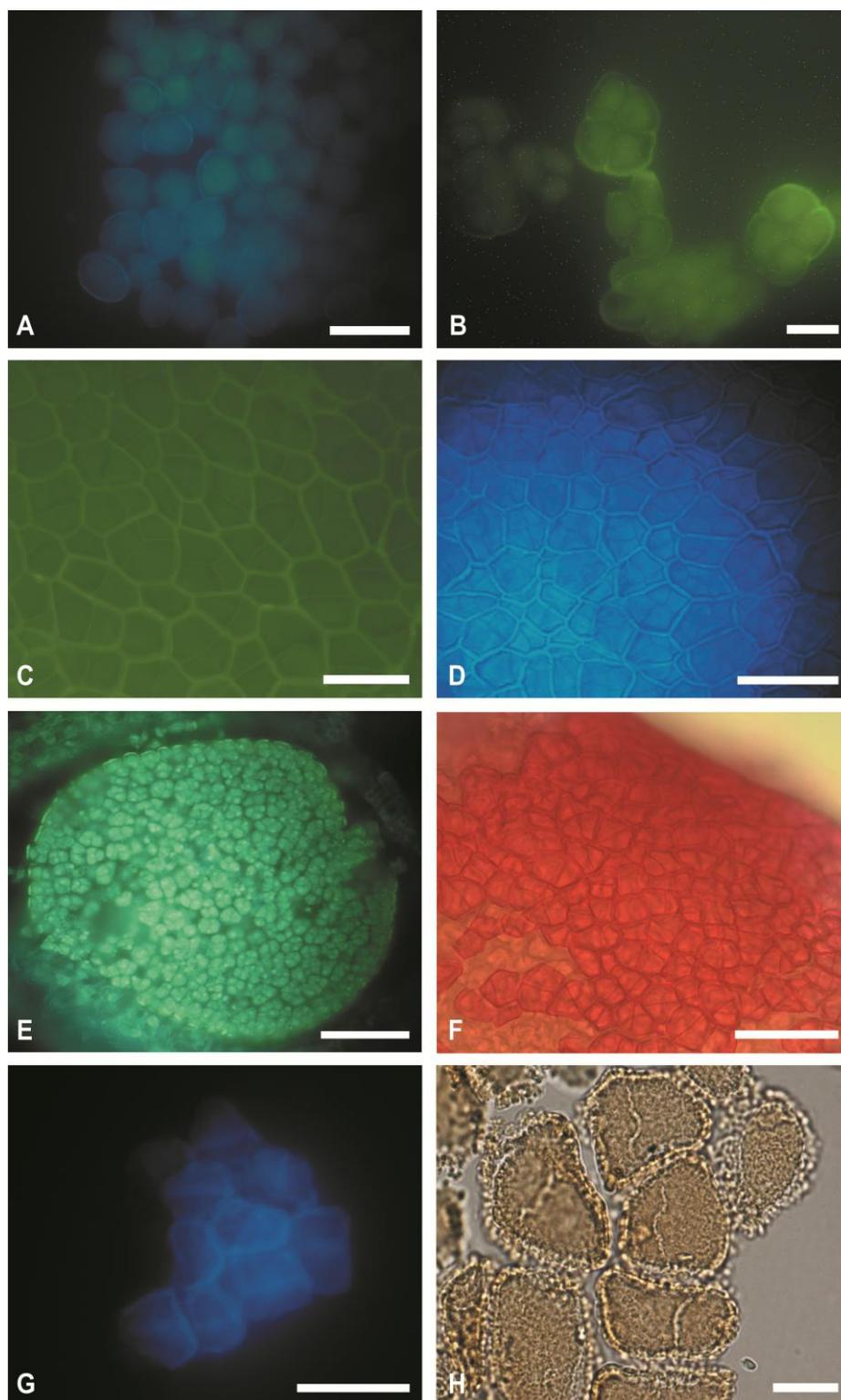


Figura 54. Imágenes de polen acetolizado al microscopio de fluorescencia y de campo claro: A. *Phragmipedium longifolium*, B. *Arundina graminifolia*, C. *Cymbidium insigne*, D. *Polystachya foliosa* E. *Lepanthopsis floripecten*, F. *Macradenia brassavolae*, G. *Oerstedella wallisii*, H. *Epidendrum difforme*. Escala. A-E,G = 50 μm, F = 1000 μm, H = 10 μm.

4.5.2 Características del pistilo

➤ Número de carpelos y estructura vascular

Los taxones estudiados presentan carpelos con muchas variaciones morfológicas, de tamaño, unión, estructura y composición vascular.

La presencia de pistilos tricarpelares está restringida a muy pocos géneros de tres subfamilias diferentes (Apostasioideae, Cyripedioideae y Epidendroideae). En contraste, los pistilos formados por 6 carpelos son los más comunes en Vanilloideae, Orchidoideae y Epidendroideae. La única subfamilia que no presenta 6 carpelos es Apostasioideae.

En la subfamilia Vanilloideae, los géneros *Cleistes* y *Vanilla*, en Cyripedioideae, en los taxones *Cyripedium* y *Paphiopedilum* y en todos los géneros de Orchidoideae y Epidendroideae excepto en *Cattleya* y *Sophranitis*, los carpelos tienen formas diferentes y presentan diferentes grados de separación, desde aquellos connatos solo en la base (estado de carácter distintivo de la mayoría de géneros de Pleurothallidinae) o por el contrario pueden hallarse connatos entre las zonas laterales como ocurre en los Zygotpetalinae. En ambos casos se distinguen completamente las paredes de los carpelos.

Algunos taxones de Epidendroideae poseen carpelos completamente fusionados, que forman un pistilo con seis valvas solo con haces ventrales en: *Caluera*, *Liparis*, *Sphyrastylis*, etc.

El estudio de la organización del sistema vascular resultó en el caso de Apostasioideae, tanto en *Apostasia* como *Neuwiedia*, que los carpelos tienen un sistema vascular compuesto por haces dorsales y

ventrales del tipo colateral o concéntrico perixilemático. Los haces ventrales se dividen en pequeños hacecillos que llegan hasta la placenta muy próximos a los óvulos, los hacecillos son muy pocos en *Neuwiedia* y muy abundantes en *Apostasia*.

En Cyripedioideae solo *Phragmipedium* y *Selenipedium* tienen tres carpelos con haces colaterales en posición dorsal y ventral. En el género *Phragmipedium* cada haz ventral se subdivide en un hacecillo que se ubica en el centro de la placenta un poco alejado de los óvulos, mientras que en *Selenipedium* los haces ventrales por un lado se irradian en dos hacecillos laterales, uno a cada lado del haz ventral y por el otro en numerosos hacecillos que recorren de un extremo a otro toda la placenta, constituyéndose en el género con la placenta más vascularizada de todos los analizados.

Orchidoideae y Vanilloideae, presentan un sistema vascular muy similar compuesto solo por haces ventrales, en la primera subfamilia el tipo de haz es colateral y en la segunda es concéntrico perixilemático.

En la subfamilia Epidendroideae, solo una pequeña parte de los géneros analizados presentaron una abundante vascularización donde confluyen haces ventrales, dorsales y/o laterales, esto ocurre particularmente en: *Acineta*, *Anguloa*, *Aspasia*, *Catasetum*, *Dendrobium*, *Epidendrum*, *Ida*, *Maxillaria*, *Peristeria*, *Schomburgkia*, *Sievekingia*, *Sophronitis*, *Stanhopea*, *Trichocentrum* y *Trigonidium*.

➤ Número de lóculos, placentación y disposición de los óvulos

En Orchidaceae la mayor parte de los taxones tienen ovarios uniloculares y muy pocos triloculares. Los ovarios uniloculares con placentación parietal son propios de las subfamilias Vanilloideae, Orchidoideae, Epidendroideae y parte de los taxones de

Cypripedioideae. En contraste, los ovarios triloculares son casi exclusivos de los miembros de Apostasioideae (*Apostasia* y *Neuwiedia*), de dos géneros de Cypripedioideae (*Phragmipedium* y *Selenipedium*) y de forma excepcional de algunos taxones de Epidendroideae, *Huntleya* y *Peristeria*.

La estructura anatómica del pistilo de los taxones analizados indica que el tipo de ovario trilocular se produce por la prolongación gradual del tejido placentario (en un proceso de crecimiento postgénito), ocasionando el cambio estructural de uno a tres lóculos, sin embargo, el tipo de placentación sigue siendo parietal. Este suceso es claramente visible dentro de Epidendroideae en los ovarios de: *Angraecum*, *Doritis* y *Vanda*, con estados intermedios del crecimiento de la placenta y en *Huntleya*, donde la placenta de cada carpelo crece al punto de estar unidos en la zona central y formar el ovario trilocular.

De forma contraria, el ovario unilocular es el producto de la pérdida o encogimiento de la placenta en los individuos triloculares. En este sentido, es en los taxones de la subfamilia Cypripedioideae donde se refleja muy bien este suceso, en el género *Phragmipedium* después de la zona de inserción de los óvulos se da una formación de tejido placentario en cada uno de los tres carpelos confluyendo en la zona central y dando origen a los tres falsos lóculos, mientras que en *Paphiopedilum* se percibe la ausencia de ese tejido postgénito de la placenta y por ende el ovario es unilocular.

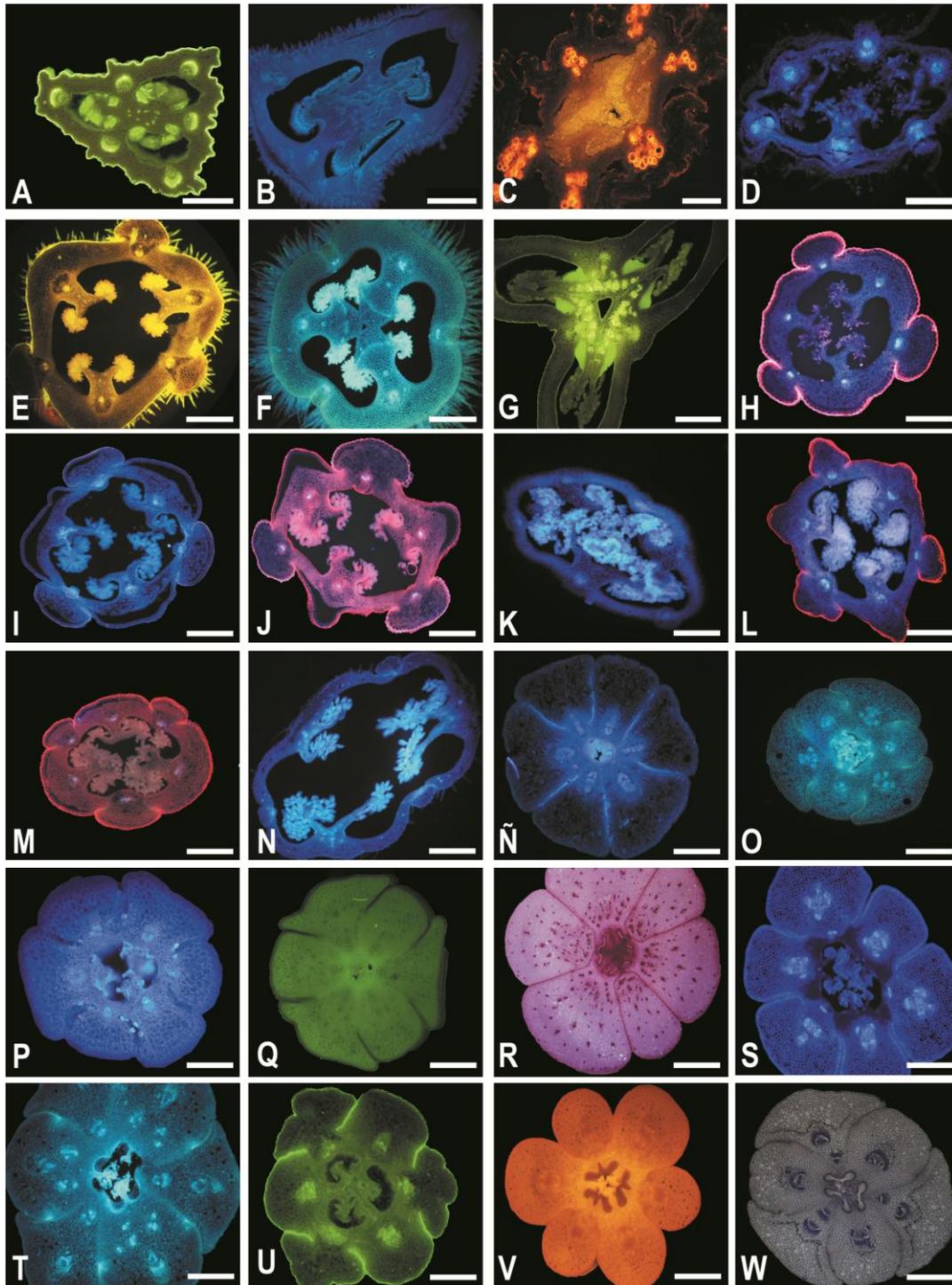


Figura 55. Imágenes de cortes transversales del ovario de **Apostasioideae**: A. *Apostasia stylidioides*, B. *Neuwiedia veratrifolia*. **Vanilloideae**: C. *Cleistes rosea*. **Cypripedioideae**: D. *Cypripedium californicum*, E. *Paphiopedilum callosum*, F. *Phragmipedium* sp., G. *Selenipedium chica*. **Orchidoideae**: H. *Barlia robertiana*, I. *Coeloglossum viride*, J. *Dactylorhiza sambuccina*, K. *Eurystyles cotyledon*, L. *Ophrys apifera*, M. *Orchis mascula*, N. *Spiranthes orchioides*. **Epidendroideae**: Ñ. *Acronia marthae*, O. *Ada elegantula*, P. *Ancipitia anthrax*, Q. *Angraecum sesquipedale*, R. *Anguloa clowesii*, S. *Arundina graminifolia*, T. *Aspasia principissa*, U. *Bletia purpurea*, V. *Bollea coelestis*, W. *Brassia gireoudiana*. Escala: 500 µm.

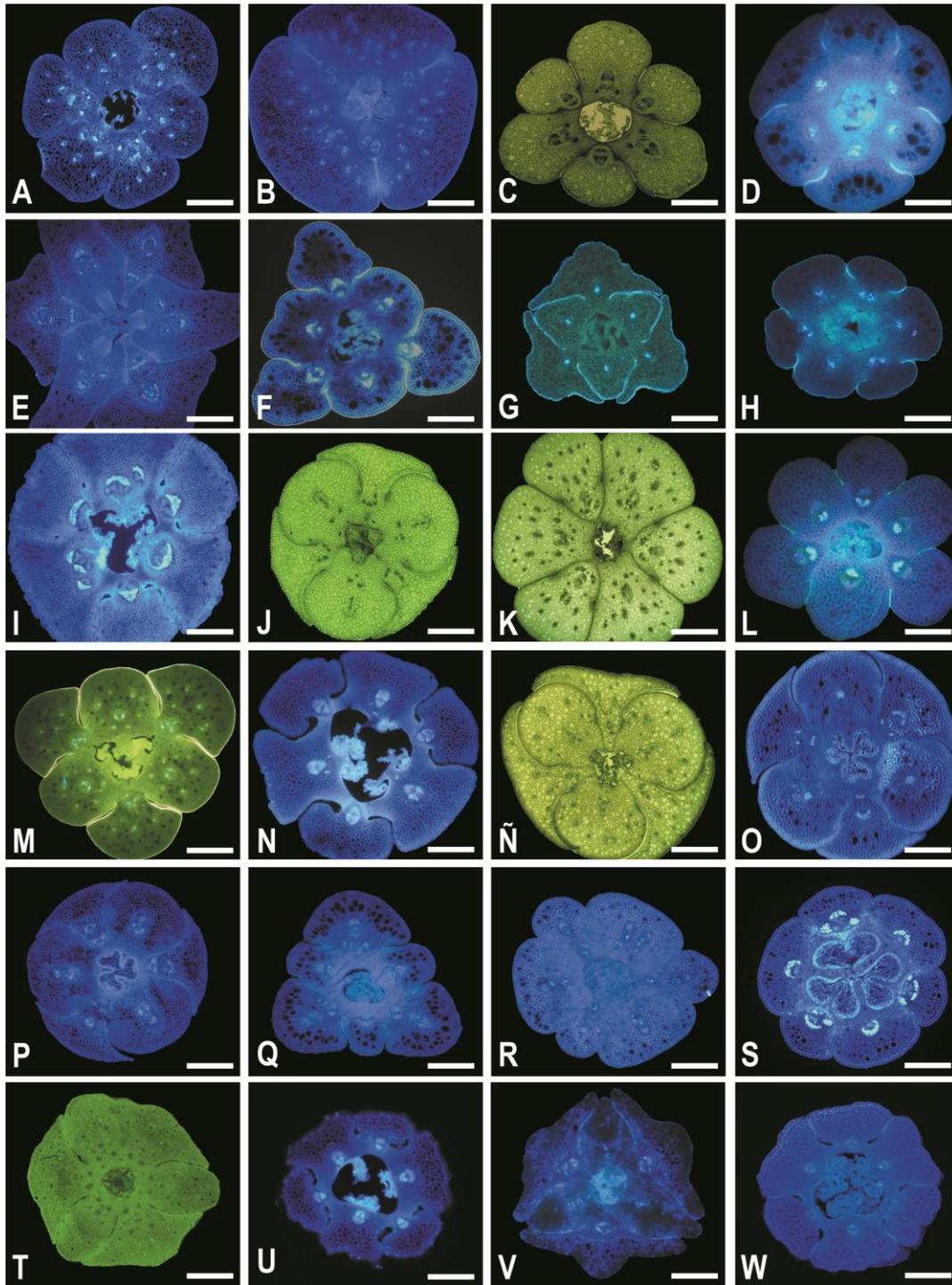


Figura 56. Imágenes de cortes transversales del ovario de Epidendroideae: A. *Catasetum viridiflavum*, B. *Cattleya trianae*, C. *Chondrorhyncha amabilis*, D. *Cochlioda vulcanica*, E. *Coelogyne massangeana*, F. *Comparettia falcata*, G. *Cryptocentrum latifolium*, H. *Doritis pulcherrima*, I. *Dracula amaliae*, J. *Epidendrum difforme*, K. *Ida grandis*, L. *Kefersteinia mystacina*, M. *Laelia tenebrosa*, N. *Masdevallia coccinea*, Ñ. *Maxillaria cucullata*, O. *Miltonia vexillaria*, P. *Miltoniopsis phalaenopsis*, Q. *Odontoglossum povedanum*, R. *Oerstedella wallisii*, S. *Oncidium varicosum*, T. *Peristeria elata*, U. *Porroglossum eduardii*, V. *Prosthechea grammatoglossa*, W. *Restrepia antennifera*. Escala: 500 μ m.

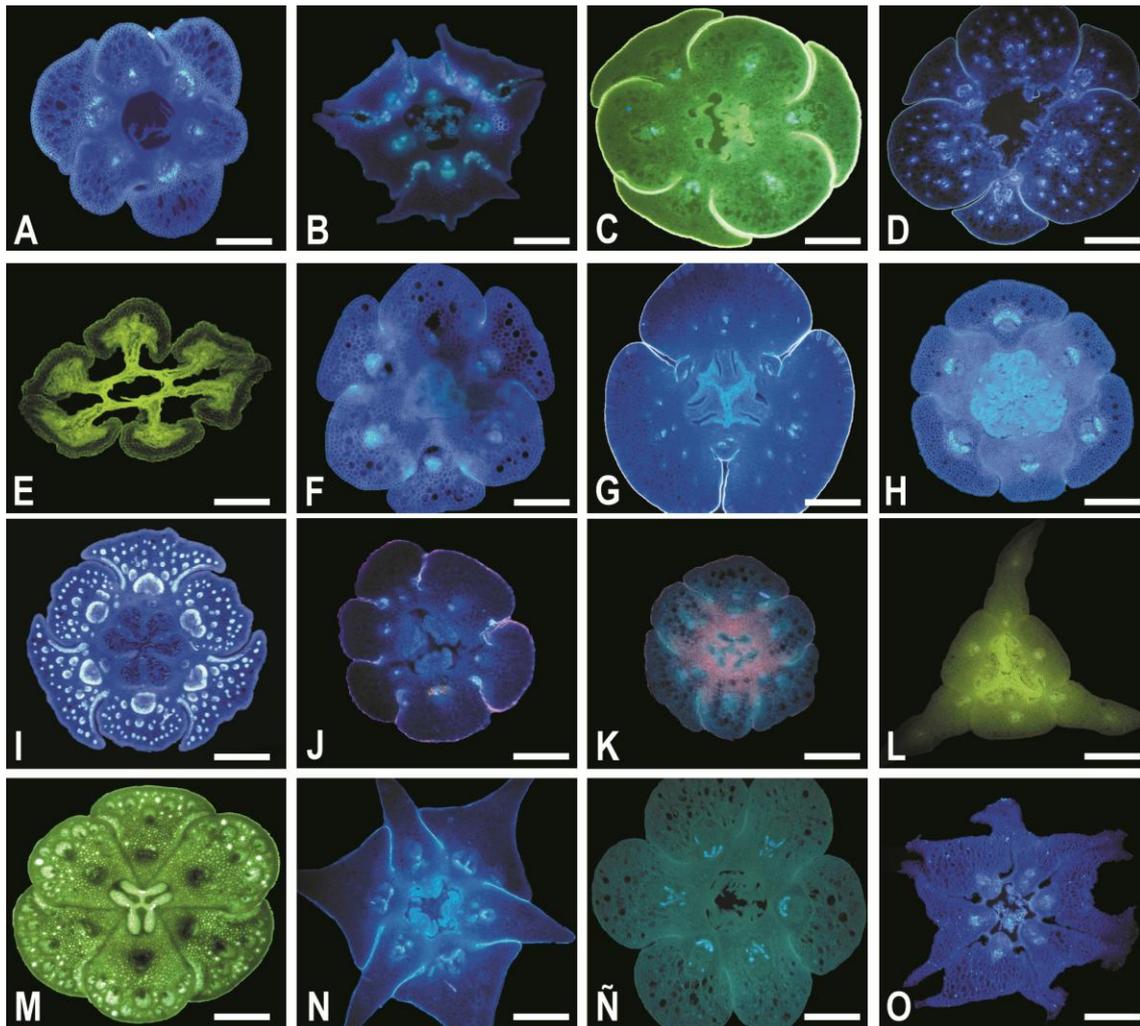


Figura 57. Imágenes de cortes transversales del ovario de **Epidendroideae**: A. *Rodriguezia lanceolata*, B. *Scaphosepalum gibberosum*, C. *Scaphyglottis arctata*, D. *Schomburgkia splendida*, E. *Sievekingia suavis*, F. *Sigmatostalix papilio*, G. *Sophronitis coccinea*, H. *Spathoglottis plicata*, I. *Stanhopea wardii*, J. *Stelis alba*, K. *Symphyglossum sanguineum*, L. *Trichocentrum brandtiae*, M. *Trichopilia fragrans*, N. *Trigonidium egertonianum*, Ñ. *Vanda coerulea*, O. *Warczewiczella marginata*, P. *Zootrophion hypodiscus*. Escala: 500 μ m.

Cuando la placentación es parietal se diferenciaron dos tipos, relacionados principalmente con la cantidad de óvulos insertados en la placenta. Uno es el tipo de inserción difusa, en ésta se observa un amontonamiento de óvulos en la placenta a lo largo del ovario. Este tipo es predominante en las subfamilias Apostasioideae, Cyripedioideae, Vanilloideae, Orchidoideae y de forma excepcional se presenta en unos pocos miembros de Epidendroideae (como por ejemplo en *Arundina*). El otro, es el tipo de inserción lineal, común en

la subfamilia Epidendroideae en los géneros *Cattleya*, *Miltonia*, *Oncidium* y *Vanda*, que consta de una o dos filas de óvulos adheridos en la placenta a lo largo de la zona fértil del ovario.

Los resultados obtenidos en las investigaciones realizadas, tanto los referidos a los caracteres morfológicos del polen como a la anatomía del ovario de los géneros estudiados, permiten la diferenciación de las cinco subfamilias de Orchidaceae, lo que se facilita mediante el uso de la clave dicotómica que se propone a continuación para una más fácil comprensión de estos caracteres.

Clave de identificación de taxones de Orchidaceae basada en caracteres palinológicos y anatómicos del pistilo

1. Polen en mónade, con o sin elastoviscina (Fig.45 A-D & I-L) _____ 2
- 1' Polen agregado en polinios (Fig 45-53) _____ 3
2. Polen con ornamentación reticulada; pistilo tri-carpelar y tri-locular _____ APOSTASIOIDEAE
- 2' Polen con ornamentación psilada; pistilo tri-carpelar o hexa-carpelar con uno o tres lóculos _____ CYPRIPEIDIOIDEAE
3. Polinios granulares, polen en mónades o tétrades, sulcados o porados _____ VANILLOIDEAE
- 3' Polinios granulares, séctiles o compactos, tétrades con granos de polen aparentemente inaperturados _____ 4
4. Polinios séctiles ó granulares; pistilo hexa-carpelar poco vascularizado, con numerosos óvulos insertados de forma difusa en la placenta _____ ORCHIDOIDEAE
- 4' Polinios compactos ó granulares; pistilo hexa-carpelar ó tri-carpelar poco o muy vascularizados con haces ventrales, dorsales y laterales, con numerosos óvulos insertados de forma lineal o difusa en la placenta _____ EPIDENDROIDEAE

APOSTASIOIDEAE

- 1. Granos de polen con elastoviscina; ovario trilocular con fusión postgénita en la zona simplicada (Fig. 45A-B, 55A) _____ *Apostasia*
- 1' Granos de polen sin elastoviscina; ovario trilocular sin fusión postgénita en la zona simplicada, con el tejido placentario solo contiguo sin llegar a la fusión (Fig. 45C-D, 55B) _____ *Neuwiedia*

VANILLOIDEAE

- 1. Polen puede estar agrupado en tétrade y con ornamentación rugulada; pistilos con placenta no vascularizada (Fig. 45E-F, 55C) _____ *Cleistis*
- 1' Polen en mónade, con ornamentación psilada-perforada; pistilos con placenta poco vascularizada (Fig. 45G-H) _____ *Vanilla*

CYPRIPEDIOIDEAE

- 1. Ovario unilocular _____ 2
- 1' Ovario trilocular _____ 3
- 2. Tricomas multicelulares uniseriados no glandulares en la pared externa del ovario (Fig. 55E) _____ *Paphiopedilum*
- 2' Tricomas multicelulares uniseriados glandulares en el ovario (Fig. 45I-J, 55D) _____ *Cypripedium*
- 3. Tejido placentario contiguo sin llegar a la fusión postgénita en la zona simplicada y sin tricomas sobre la placenta y funículo (Fig. 45K-L, 54A, 55F) _____ *Phragmipedium*
- 3' Tejido placentario fusionado y con tricomas sobre la placenta y funículo (Fig. 55G) _____ *Selenipedium*

ORCHIDOIDEAE

- 1. Polinarios con polinios granulares, con o sin caudícula apendicular _____ 2
- 1' Polinarios con polinios séctiles, con caudícula frenicular _____ 8
- 2. Con 4 polinios _____ 3
- 2' Con 2 polinios _____ 5
- 3. Polinarios con caudícula apendicular (Fig. 45T-U) _____ *Cyclopogon*

3'	Polinarios sin caudícula _____	4
4.	Polen con exina reticulada de lúmenes $\leq 2,5 \mu\text{m}$ (Fig. 46C-D, 55K) _____	<i>Eurystyles</i>
4'	Polen con exina reticulada de lúmenes $\geq 4,0 \mu\text{m}$ _____	<i>Stenorhynchos</i>
5.	Ovarios con tricomas glandulares en la pared externa del ovario _____	6
5'	Ovarios sin tricomas _____	7
6.	Polen con exina reticulada de muros $< 0,7 \mu\text{m}$ (Fig. 46P-Q, 55N) _____	<i>Spiranthes</i>
6'	Polen con exina reticulada de muros $> 1 \mu\text{m}$ (Fig. 46E-F) _____	<i>Gomphichis</i>
7.	Polen con exina reticulada con muros continuos (Fig. 45M-N) _____	<i>Aa</i>
7'	Polen con exina reticulada con muros fragmentados (Fig. 45R-S) _____	<i>Cranichis</i>
8.	Polinios séctiles con másulas $> 250 \mu\text{m}$ de longitud _____	9
8'	Polinios séctiles con másulas $< 199 \mu\text{m}$ de longitud _____	11
9.	Polen con exina reticulada de muros continuos (Fig. 46A-B) _____	<i>Erythrodes</i>
9'	Polen con exina perforada-fosulada-verrugosa _____	10
10.	Carpelos con espacios intercelulares en el parénquima (Fig. 46M-N, 55L) _____	<i>Ophrys</i>
10'	Carpelos sin espacios intercelulares en el parénquima (Fig. 45Ñ-O, 55H) _____	<i>Barlia</i>
11.	Polen con exina reticulada ó retículo-clavada _____	12
11'	Polen con exina de otro tipo _____	15
12.	Polen con exina reticulada _____	13
12'	Polen con exina retículo-clavada _____	14
13.	Polen con exina reticulada de lúmenes isodiamétricos (Fig. 46G-H) _____	<i>Habenaria</i>
13'	Polen con exina reticulada de lúmenes alargados (Fig. 45V-W 55J) _____	<i>Dactylorhiza</i>
14.	Polinios con másulas de $< 50 \mu\text{m}$ de longitud (Fig. 46K-L) _____	<i>Nigritella</i>
14'	Polinios con másulas de $> 55 \mu\text{m}$ de longitud (Fig. 45P-Q, 55I) _____	<i>Coeloglossum</i>
15.	Polen con exina rugulada (Fig. 46I-J) _____	<i>Neotinea</i>
15'	Polen con exina no rugulada (Fig. 46Ñ-O, 55M) _____	<i>Orchis</i>

EPIDENDROIDEAE

1.	Polinios granulares _____	2
1'	Polinios compactos _____	4
2.	Pistilos hexacarpelares con placenta difusa (Fig. 47G-H, 54B, 55S) _____	<i>Arundina</i>

2'	Pistilos hexacarpelares con placenta linear _____	3
3.	Carpelos con un solo haz vascular ventral, concéntrico perixilemático (Fig. 52E-F) _____	<i>Sertifera</i>
3'	Carpelos con 4 o 5 haces vasculares ventrales, colaterales _____	<i>Sobralia</i>
4.	Polinarios con 8 polinios _____	5
4'	Polinarios con 4 o 2 polinios _____	11
5.	Pistilos tricarpelares (Fig. 57G) _____	<i>Sophranitis</i>
5'	Pistilos hexacarpelares _____	6
6.	Polinios bipartidos (Fig. 49G-H) _____	<i>Elleanthus</i>
6'	Polinios enteros _____	7
7.	Polinarios con una caudícula cilíndrica por polinio (Fig. 52Ñ-O, 57H) _____	<i>Spathoglottis</i>
7'	Polinarios con dos caudículas aplanadas por polinio _____	8
8.	Polinios desiguales _____	<i>Brassavola</i>
8'	Polinios iguales _____	9
9.	Caudícula < 0,5 mm de longitud (Fig. 47M-N, 55U) _____	<i>Bletia</i>
9'	Caudícula > 1,8 mm de longitud _____	10
10.	Polen con exina verrugosa-escábrida (Fig. 57D) _____	<i>Schomburgkia</i>
10'	Polen con exina rugulada ó psilada-microfosulada (Fig. 56M) _____	<i>Laelia</i>
11.	Con 4 polinios _____	12
11'	Con 2 polinios _____	51
12.	Polinarios con todas las estructuras accesorias _____	13
12'	Polinarios con ausencia de algunas estructuras accesorias _____	17
13.	Polinario con estípite corto, caudícula larga y viscidio difuso (Fig. 47T-U, 56k) _____	<i>Ida</i>
13'	Polinario con estípite con otras características _____	14
14.	Pistilos muy vascularizados, con tricomas intraováricos (Fig. 47E-F, 55R) _____	<i>Anguloa</i>
14'	Pistilos poco vascularizados sin tricomas intraováricos _____	15
15.	Paredes de los carpelos bien diferenciadas (Fig. 49A-B, 56H) _____	<i>Doritis</i>
15'	Paredes de los carpelos no diferenciadas _____	16
16.	Epidermis del pistilo con tricomas glandulares (Fig. 47V-W) _____	<i>Caluera</i>
16'	Epidermis del pistilo con tricomas multicelulares multiseriados (Fig. 52P-Q) _____	<i>Sphyrastylis</i>
17.	Polinarios con caudícula y con o sin viscidio, con o sin estípite _____	18
17'	Polinarios sin caudícula _____	32

18.	Con viscidio _____	19
18'	Sin viscidio _____	24
19.	Polinios < 700 µm de longitud; pistilos poco vascularizados _____	20
19'	Polinios > 1000 µm de longitud; pistilos muy vascularizados _____	21
20.	Pistilos con haces colaterales y óvulos de disposición difusa _____ <i>Cryptarrhena</i>	
20'	Pistilos con haces concéntricos perixilemáticos y óvulos dispuestos de forma lineal _____ <i>Isochilus</i>	
21.	Polinios más largos que anchos (Fig. 48I-J, 56E) _____ <i>Coelogyne</i>	
21'	Polinios de igual longitud que anchura _____	22
22.	Polinios amarillos (Fig. 54H, 56J) _____ <i>Epidendrum</i>	
22'	Polinios naranjas o marrones _____	23
23.	Tétrades del polinio con periferia verrugosa y gemada _____ <i>Encyclia</i>	
23'	Tétrades del polinio con periferia psilada (Fig. 56B) _____ <i>Cattleya</i>	
24.	Una caudícula por polinio _____	25
24'	Una caudícula para dos polinios _____	28
25.	Caudícula ≥ 0,2 mm _____	26
25'	Caudícula ≤ 0,1 mm _____	27
26.	Caudícula que no se disgrega; epidermis del pistilo con tricomas glandulares (Fig. 47K-L) _____ <i>Barbosella</i>	
26'	Caudícula que se disgrega; epidermis del pistilo sin tricomas glandulares _____ <i>Dimerandra</i>	
27.	Epidermis del pistilo con tricomas unicelulares (Fig. 51V-W) _____ <i>Restrepiopsis</i>	
27'	Epidermis del pistilo sin tricomas _____ <i>Dendrochilum</i>	
28.	Polinarios con caudículas freniculares (Fig. 54G, 56R) _____ <i>Oerstedella</i>	
28'	Polinarios con caudículas apendiculares _____	29
29.	Pistilo con cristales de flavonoides en el parénquima _____	30
29'	Pistilos sin cristales de flavonoides en el parénquima _____	31
30.	Carpelos estériles prolongados sobre los fértiles (Fig. 56V) _____ <i>Prosthechea</i>	
30'	Carpelos estériles no prolongados sobre los fértiles _____ <i>Ponera</i>	
31.	Carpelos estériles muy reducidos (Fig. 57C) _____ <i>Scaphyglottis</i>	
31'	Carpelos estériles no muy reducidos _____ <i>Lanium</i>	
32.	Polinarios con estípite tegular _____	33
32'	Polinarios sin estípite tegular _____	47
33.	Polinarios con viscidio desmontable _____	34
33'	Polinarios con viscidio difuso _____	42
34.	Polinios iguales _____	35
34'	Polinios desiguales _____	36

35.	Polinios con < 900 µm de longitud (Fig. 51A-B)	<i>Ornithocephalus</i>
35'	Polinios con >1000 µm de longitud (Fig. 51M-N, 54D)	<i>Polystachya</i>
36.	Polinios con < 900 µm de longitud	<i>Corallorhiza</i>
36'	Polinios con >1000 µm de longitud	37
37.	Pistilos poco vascularizados	38
37'	Pistilos muy vascularizados	39
38.	Pistilos con pocos espacios intercelulares	<i>Stellilabium</i>
38'	Pistilos con muchos espacios intercelulares (Fig. 53M-N)	<i>Xylobium</i>
39.	Pistilos con espacios intercelulares con paredes gruesas	40
39'	Pistilos con espacios intercelulares sin paredes gruesas	41
40.	Pistilos con espacios intercelulares en la periferia del carpelo (Fig. 48V-W)	<i>Dichaea</i>
40'	Pistilos con espacios intercelulares dispersos en el carpelo (Fig. 50E-F)	<i>Lycaste</i>
41.	Pistilos con tricomas sobre el funículo y la placenta (Fig. 50M-N, 56Ñ)	<i>Maxillaria</i>
41'	Pistilos sin tricomas sobre el funículo y la placenta (Fig. 52V-W)	<i>Telipogon</i>
42.	Polinios blancos o amarillos	43
42'	Polinios marrón oscuro o claro	44
43.	Polinios blancos; ovario trilocular, carpelos con haces ventrales y laterales (Fig. 49R-S)	<i>Huntleya</i>
43'	Polinios amarillos; ovario unilocular, carpelos solo con haces ventrales (Fig. 50A-B, 56L)	<i>Kofersteinia</i>
44.	Polinios marrón oscuro (Fig. 49M-N)	<i>Galeottia</i>
44'	Polinios marrón claro	45
45.	Polinios superpuestos con los de menor tamaño delante (Fig. 48C-D, 56C)	<i>Chondrorhyncha</i>
45'	Polinios superpuestos con los de mayor tamaño delante	46
46.	Pistilo con tricomas sobre el funículo y la placenta (Fig. 47Ñ-O, 55V)	<i>Bollea</i>
46'	Pistilo sin tricomas sobre el funículo y la placenta (Fig. 53K-L, 57O)	<i>Warczewiczella</i>
47.	Polinios > 3.000 µm (Fig. 48T-U)	<i>Dendrobium</i>
47'	Polinios < 1.500 µm	48
48.	Polinios > 800 µm	49
48'	Polinios < 600 µm	50

49.	Carpelos estériles prolongados sobre los fértiles (Fig. 48M-N, 56G)	<i>Cryptocentrum</i>
49'	Carpelos estériles no prolongados sobre los fértiles (Fig. 53E-F, 57N)	<i>Trigonidium</i>
50.	Pistilos de tamaño < 900 µm (Fig. 50C-D)	<i>Liparis</i>
50'	Pistilos de tamaño > 1100 µm (Fig. 50I-J)	<i>Malaxis</i>
51.	Polinarios con polinios enteros	52
51'	Polinarios con polinios bipartidos	65
52.	Polinios amarillos	53
52'	Polinios marrones	59
53.	Polinios < 300 µm	54
53'	Polinios > 400 µm	56
54.	Pistilo ≤ 300 µm de diámetro y glabro (Fig. 51G-H)	<i>Platystele</i>
54'	Pistilo > 400 µm de diámetro y con tricomas glandulares	55
55.	Pistilos con 6 carpelos con paredes distinguibles (Fig. 52C-D, 57B)	<i>Scaphosepalum</i>
55'	Pistilos con 6 carpelos con paredes no distinguibles (Fig. 54E)	<i>Lepanthopsis</i>
56.	Pistilo triangular en sección transversal (Fig. 49E-F)	<i>Dryadella</i>
56'	Pistilo no triangular en sección transversal	57
57.	Pistilos con 6 carpelos de paredes no separadas (Fig. 49C-D, 56I)	<i>Dracula</i>
57'	Pistilos con 6 carpelos de paredes libres	58
58.	Pistilos con cutícula gruesa (Fig. 51Ñ-O, 56U)	<i>Porroglossum</i>
58'	Pistilos con cutícula delgada (Fig. 50K-L, 56N)	<i>Masdevallia</i>
59.	Polinarios con una caudícula para dos polinios (Fig. 47A-B, 55P)	<i>Ancipitia</i>
59'	Polinarios con una caudícula por polinio	60
60.	Pistilos con 6 carpelos conectados en la base por un puente de células (Fig. 53Ñ-O, 57P)	<i>Zootrophion</i>
60'	Pistilos con 6 carpelos conectados de otra forma	61
61.	Pistilos con carpelos iguales	62
61'	Pistilos con carpelos diferentes	63
62.	Pistilos < 1.300 µm de diámetro	<i>Ophidion</i>
62'	Pistilos > 2.000 µm de diámetro (Fig. 46T-U, 55N)	<i>Acronia</i>
63.	Pistilos > 1.200 µm de diámetro (Fig. 47P-Q)	<i>Brachionidium</i>
63'	Pistilos < 1000 µm de diámetro	64

64.	Pistilos con tricomas glandulares en la pared externa del ovario (Fig. 53G-H) _____	<i>Trisetella</i>
64'	Pistilos sin tricomas (Fig. 52T-U, 57J) _____	<i>Stelis</i>
65.	Polinarios con caudícula _____	66
65'	Polinarios sin caudícula _____	96
66.	Polinarios con caudícula apendicular _____	67
66'	Polinarios con caudícula frenicular _____	68
67.	Polinios clavado-alargados (Fig. 51T-U, 56W) _____	<i>Restrepia</i>
67.	Polinios obovados (Fig. 51I-J) _____	<i>Pleurothallis</i>
68.	Polinarios con viscidio difuso _____	69
68'	Polinarios con viscidio desmontable _____	73
69.	Polinios con sutura ventral _____	70
69'	Polinios con sutura lateral _____	71
70.	Pistilos con numerosos espacios intercelulares en el parénquima (Fig. 49I-J) _____	<i>Eulophia</i>
70'	Pistilos sin espacios intercelulares en el parénquima (Fig. 49K-L) _____	<i>Galeandra</i>
71.	Pistilos triloculares (Fig. 51E-F, 56T) _____	<i>Peristeria</i>
71'	Pistilos uniloculares _____	72
72.	Pistilos con 6 carpelos iguales y poco vascularizados (Fig. 51K-L) _____	<i>Polycynis</i>
72'	Pistilos con 6 carpelos desiguales y muy vascularizados (Fig. 49P-Q) _____	<i>Houlletia</i>
73.	Polinios con sutura ventral _____	74
73'	Polinios con sutura lateral _____	86
74.	Polinarios con estípite triangular _____	75
74'	Polinarios con estípite de otra forma _____	77
75.	Pistilo con flavonoides en el parénquima (Fig. 48R-S) _____	<i>Cyrtochilum</i>
75'	Pistilo sin flavonoides en el parénquima _____	76
76.	Pistilos con numerosos espacios intercelulares en el parénquima (Fig. 48G-H, 56D) _____	<i>Cochlioda</i>
76'	Pistilos con pocos espacios intercelulares en el parénquima (Fig. 46V-W, 55O) _____	<i>Ada</i>
77.	Polinios con caudícula muy fina _____	78
77'	Polinarios con caudícula bien diferenciada _____	79
78.	Pistilo con epidermis estratificada y numerosos espacios intercelulares (Fig. 52-B, 57A) _____	<i>Rodriguezia</i>

78'	Pistilo con epidermis simple y pocos espacios intercelulares (Fig. 49V-W) _____	<i>Ionopsis</i>
79.	Polinios < 600 µm (Fig. 51R-S) _____	<i>Pterostemma</i>
79'	Polinios > 900 µm _____	80
80.	Polinios con una sutura hasta la mitad de su longitud (Fig. 48Ñ-O) _____	<i>Cycnoches</i>
80'	Polinios con una sutura mayor de la mitad de su longitud _____	81
81.	Pistilos sin tricomas sobre el funículo y placenta (Fig. 50T-U, 56Q) _____	<i>Odontoglossum</i>
81'	Pistilos con tricomas sobre el funículo y placenta _____	82
82.	Pistilos con todos los carpelos fértiles _____	83
82'	Pistilos con la mitad de los carpelos fértiles _____	84
83.	Carpelos con haces vasculares concéntricos perixilemáticos (Fig. 50V-W, 56S) _____	<i>Oncidium</i>
83'	Carpelos con haces vasculares colaterales (Fig. 50P-Q, 56P) _____	<i>Miltoniopsis</i>
84.	Pistilos con haces vasculares dorsales y ventrales (Fig. 47I-J, 55T) _____	<i>Aspasia</i>
84'	Pistilos solo con haces vasculares ventrales _____	85
85.	Pistilos con flavonoides y numerosos espacios intercelulares (Fig. 57Q) _____	<i>Symphyglossum</i>
85'	Pistilos sin flavonoides y con pocos espacios intercelulares (Fig. 52K-L) _____	<i>Solenidium</i>
86.	Polinarios con estípites triangular _____	87
86'	Polinarios con estípites de otra forma _____	90
87.	Pistilos con tricomas en la epidermis _____	88
87'	Pistilos glabros _____	89
88.	Pistilos con 6 carpelos conectados en la base por un puente de células (Fig. 52G-H, 57E) _____	<i>Sievekingia</i>
88'	Pistilos con 6 carpelos conectados de otra forma (Fig. 52M-N) _____	<i>Soterosanthus</i>
89.	Pistilos con 6 carpelos, los estériles muy reducidos (Fig. 53-C-D, 57M) _____	<i>Trichopilia</i>
89'	Pistilos con 6 carpelos similares (Fig. 47R-S) _____	<i>Brachycladium</i>
90.	Polinios en forma de casco y estípites rectangular (Fig. 48P-Q, 54C) _____	<i>Cymbidium</i>
90'	Polinios y estípites de otra forma _____	91
91.	Polinios < 700 µm _____	92

91'	Polinios > 1.400 μm _____	93
92.	Pistilos con carpelos desiguales, células del parénquima con paredes delgadas (Fig. 50Ñ-O, 56O) _____	<i>Miltonia</i>
92'	Pistilos con carpelos iguales, células del parénquima con paredes gruesas (Fig. 48E-F) _____	<i>Cischweinfia</i>
93.	Pistilos con epidermis glabra _____	94
93'	Pistilos con epidermis pubescente _____	95
94.	Pistilos solo con haces ventrales colaterales (Fig. 46R-S) _____	<i>Acineta</i>
94'	Pistilos con haces ventrales y laterales concéntricos perixilemáticos (Fig. 51C-D) _____	<i>Paphinia</i>
95.	Pistilos con 6 carpelos iguales, poco vascularizados (Fig. 49Ñ-O) _____	<i>Gongora</i>
95'	Pistilos con 6 carpelos desiguales, muy vascularizados (Fig. 52R-S, 57I) _____	<i>Stanhopea</i>
96.	Polinios con sutura ventral incompleta _____	97
96'	Polinios con sutura lateral _____	98
97.	Polinios con una sutura mayor de la mitad de su longitud. Con estiloides en el pistilo (Fig. 47T-U, 55W) _____	<i>Brassia</i>
97'	Polinios con una sutura menor de la mitad de su longitud. Sin estiloides en el pistilo (Fig. 52I-J) _____	<i>Sigmatostalix</i>
98.	Polinios con sutura lateral muy corta _____	99
98'	Polinios con sutura lateral larga _____	102
99.	Pistilos con haces vasculares dorsales y ventrales (Fig. 53A-B, 57L) _____	<i>Trichocentrum</i>
99'	Pistilos con haces vasculares ventrales _____	100
100.	Pistilos con 6 carpelos desiguales (Fig. 50G-H, 54F) _____	<i>Macradenia</i>
100'	Pistilos con 6 carpelos iguales _____	101
101.	Pistilos con carpelos obtusos (Fig. 50R-S) _____	<i>Notylia</i>
101'	Pistilos con carpelos agudos (Fig. 51P-Q) _____	<i>Psygmorechis</i>
102.	Pistilos con haces vasculares ventrales y laterales _____	103
102'	Pistilos con haces vasculares ventrales _____	104
103.	Óvulos con inserción lineal en la placenta (Fig. 47C-D, 55Q) _____	<i>Angraecum</i>
103'	Óvulos con inserción difusa en la placenta (Fig. 48A-B, 56A) _____	<i>Catasetum</i>
104.	Pistilos con 6 carpelos agudos; con óvulos con inserción lineal en la placenta (Fig. 53I-J, 57Ñ) _____	<i>Vanda</i>
104'	Pistilos con 6 carpelos obtusos; con óvulos con inserción difusa en la placenta (Fig. 48K-L, 56F) _____	<i>Comparettia</i>

4.5.3 Discusión

Tanto el polen como el ovario de las orquídeas constituyen una importante fuente de información taxonómica que interpretadas junto con la información molecular, ayudan al entendimiento de sus vías evolutivas en la familia y en la consolidación de los sistemas de clasificación.

Probablemente Orchidaceae es la familia de angiospermas con la mayor variabilidad posible de unidades de dispersión del polen, presentando desde polen aislado (mónade) en Apostasioideae y Cyripedioideae, hasta diferentes tipos de polinio (granular, séctil o compacto) en Vanilloideae, Orchidoideae y Epidendroideae. Nuestros resultados varían respecto a los obtenidos por Singer et al. (2008) quienes reconocen solo la presencia de polinios en Orchidoideae y Epidendroideae. Además, de acuerdo a nuestro análisis, Epidendroideae es la que manifiesta la mayor variabilidad en el polinario.

Los polinios presentan una gran diversificación, reflejada en el tipo de compactación, tamaño, número y posición en la antera, siendo caracteres potencialmente útiles para delimitar grupos dentro de la familia. En Orchidaceae la ausencia de polinios y la unidad polínica en mónade se consideran estados primitivos, mientras que la compactación del polen en polinios y las unidades polínicas tétrades y másulas son reconocidas como los estados de carácter más avanzados (Dressler 1993).

La subfamilia Apostasioideae, posee polen en mónade con muy poca elastoviscina o con ausencia de ella, mientras que en Cyripedioideae el polen es también en mónade, pero se encuentra impregnado de abundante elastoviscina, lo que hace que su

organización en la antera sea mucho más aglomerada que en Apostasioideae.

Vanilloideae, al contrario de las dos subfamilias anteriores, presenta un estado intermedio en la compactación del polen, ya que posee polinios del tipo granular con unidades polínicas distintas en los géneros analizados, por ejemplo en *Vanilla* el polen es en mónade y en *Cleistis* puede ser en tétrades. En la subfamilia Vanilloideae, simultáneamente se presenta tanto el estado de carácter derivado (2 polinios) como el primitivo (textura granular del polinio) en las tribus Pogoniieae y en Vanillineae.

En Orchidoideae el polen se organiza en polinios séctiles compuestos por másulas, tipo de organización exclusivo de esta subfamilia, y concretamente de los miembros de las subtribus Orchidinae y Goodyerinae. Sin embargo, también hemos observado polinios granulares compuestos por tétrades en las subtribus Cranichidinae y Spiranthinae; estos tipos de polinios fueron reconocidos previamente en la subfamilia por otros autores (Singer et al. 2008; Harder & Johnson 2008). En relación al número de polinios, el estado ancestral de este carácter (cuatro polinios) solo se observó en los géneros *Cyclopogon*, *Eurystyles* y *Stenorhynchos* de la tribu Cranichideae, sin embargo, otros géneros de esta tribu: *Aa*, *Cranichis*, *Erythrodes*, *Gomphichis* y *Spiranthes*, al igual que *Barlia*, *Coeloglossum*, *Dactylorhiza*, *Habenaria*, *Neotinea*, *Nigritella*, *Ophrys*, *Orchis* que pertenecen a la tribu Orchideae presentan solo dos polinios (estado avanzado). Se destaca la presencia de una sutura lateral en todos los polinios de la tribu Orchideae, lo que nos permite inferir que esta sea la posible huella de la fusión de cuatro a dos polinios de acuerdo con la tendencia evolutiva propuesta para Orchidaceae (Freudenstein & Rasmussen 1996).

Por último, los taxones de Epidendroideae estudiados poseen polinios compactos (excepto en el género *Arundina* que posee polinios granulares), enteros o bipartidos, compuestos por tétrades. El polinio compacto es el más abundante de Orchidaceae y representa el mayor grado de cohesión del polen (Johnson & Edwards 2000).

En Epidendroideae, la evolución del número de polinios ha sido mucho más compleja que en el resto de Orchidaceae. Este grupo presenta todos los estados de carácter (2, 4, 6 y 8 polinios) reconocidos para la familia. En nuestra investigación se han observado tres de los estados, sin embargo, en esta subfamilia se ha referenciado la presencia de seis polinios en el género *Chamelophyton* (Stenzel 2000).

En la subfamilia Epidendroideae, la tribu Epidendreae es la que presenta mayor variabilidad en el número de polinios con dos, cuatro y ocho polinios (Fig. 58). La evolución del número de polinios siguió dos tendencias diferentes, por un lado se produjo la reducción de cuatro a dos polinios y por el otro la multiplicación de cuatro a ocho polinios.

Tendencias similares se observaron en Cymbidieae y Vandeeae (con la fusión de cuatro a dos polinios) y en Arethuseae (con división de cuatro a ocho). En el resto de los grupos de la subfamilia solo se observó un estado de este carácter, cuatro (Calypsoae y Malaxideae), dos (Neottieae) y ocho (Sobralieae y en la subtribu Collabiinae).

En Epidendroideae la mayoría de los polinios dobles son bipartidos, con suturas de diferentes longitudes. Al igual que en Orchidoideae consideramos que puede ser un indicio de la fusión de los polinios.

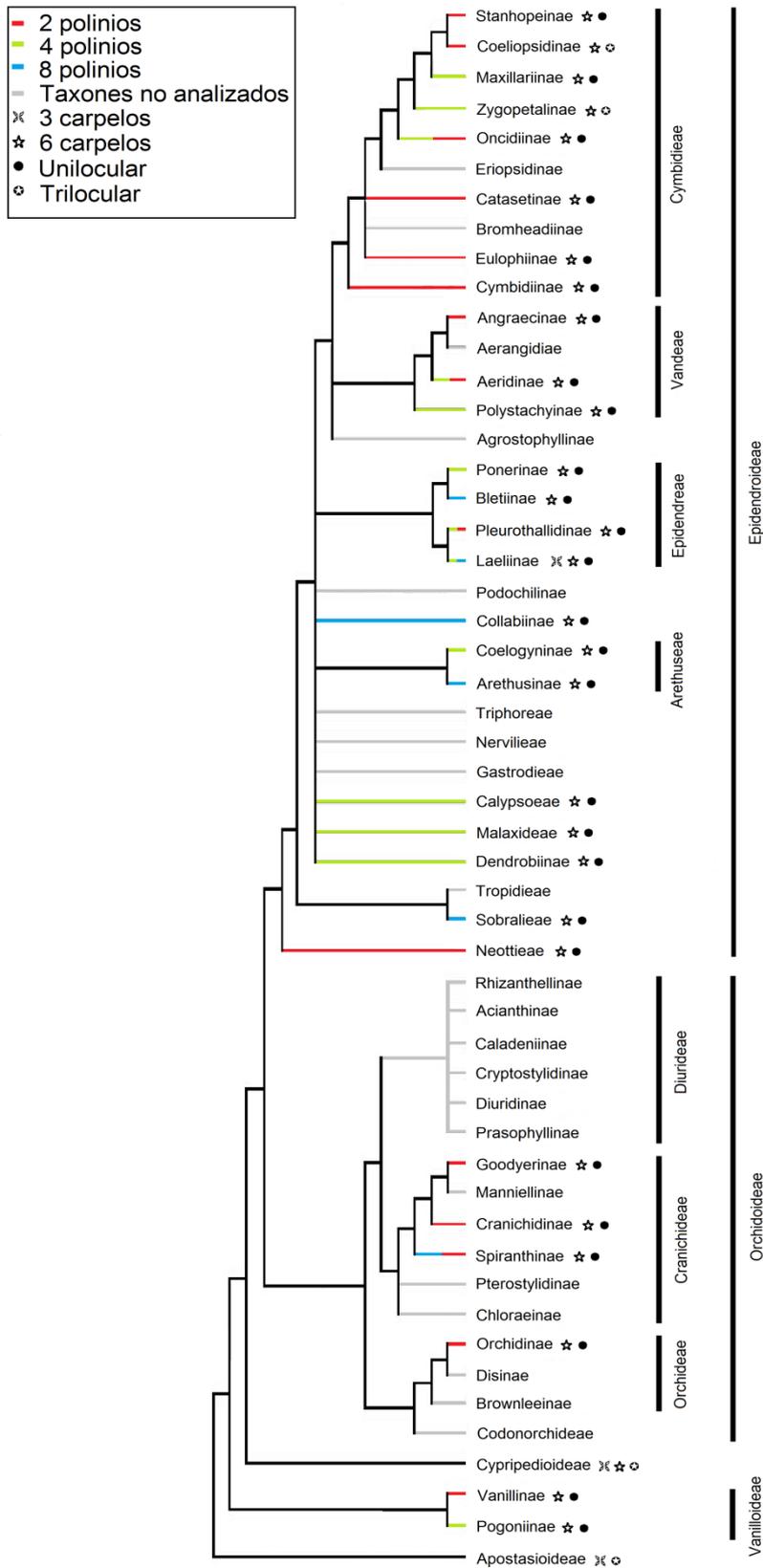


Figura 58. Reconstrucción de algunos caracteres del polen y ovario sobre un árbol que resume la clasificación de Chase et al (2003).

Algunos de los caracteres del androceo, sin duda alguna, han podido provocar procesos adaptativos del gineceo (estigma) de la familia. Los diferentes grados de compactación del polen en Orchidaceae han conllevado el perfeccionamiento de las estrategias de deposición del polen en el estigma. En el caso de los polinios séctiles o granulares típicos de Orchidoideae, un solo polinio puede polinizar varias flores (Johnson & Edwards 2000), debido a que los polinios se desintegran en pequeñas cargas de polen apenas se da el contacto con la superficie pegajosa del estigma (Jersakova et al. 2006), en estos taxones los estigmas tiene la superficie plana o ligeramente convexa para facilitar la deposición del polen (Johnson & Edwards 2000). En contraste, los polinios compactos de Epidendroideae son depositados como una unidad dentro del estigma. En este caso la superficie del estigma es cóncava, cubierta con un fluido que alcanza mayor profundidad que en el caso anterior, además de ello la presencia de los polinios compactos también ha implicado que se efectúen algunas modificaciones en el rostelo (Burns-Balogh & Bernhardt 1985; Johnson & Edwards 2000).

Este fenómeno también ha sido observado en otras familias como Fabaceae, en concreto *Acacia* (Mimosoideae) con polen agrupado en poliades (Wyatt & Lipow 2007), con una cavidad estigmática grande y adecuada para recibir la poliade cómodamente (Kenrick & Knox 1982).

Se observó una reciprocidad entre el número de polinios (ocho) con el tamaño de la flor y del estigma en las especies de *Arundina*, *Bletia*, *Elleanthus* y *Sertifera* las cuales tienen polinios pequeños y estigmas pequeños; por el contrario las especies de *Spathoglottis*, *Brassavola*, *Laelia*, *Schomburgkia*, *Sophronitis* y *Sobralia* tienen polinios grandes y estigmas grandes. En lo referente a la relación número de polinios y tamaño de los mismos, se esperaría que a

mayor número de polinios menor fuese el tamaño de los mismos, para facilitar tanto el transporte del polen, como la deposición en el estigma. Sin embargo, la situación por ejemplo en los taxones *Brassavola* y *Schomburgkia* es totalmente diferente, ya que presentan el número máximo de polinios con un gran tamaño. Sin embargo, en ocasiones en los polinios se da una reducción gradual hasta alcanzar el tamaño correcto para poder ser depositado dentro del estigma (Peter & Johnson 2006).

De los caracteres analizados en Orchidaceae, el pistilo es el que refleja una mayor estabilidad, con la presencia de solo dos estados de carácter tanto en el número de lóculos (unilocular y trilocular), como en el número de carpelos (tricarpelar y hexacarpelar).

Solo tres de las cinco subfamilias de Orchidaceae, presentan una morfología del pistilo altamente estable. Una de ellas es Apostasioideae, en donde todos los individuos son tricarpelares y triloculares (Veyret 1981; Dressler 1993; Cox et al. 1997; Kocyan & Endress 2001). También mostraron estabilidad las subfamilias Vanilloideae y Orchidoideae, aunque con estados opuestos ya que presentan el ovario unilocular y hexacarpelar (Dressler, 1993).

Nuestros resultados nos llevan a inferir que posiblemente en la familia, en más de una ocasión se hayan producido cambios en el número de lóculos del ovario y en dos direcciones (evolución y reversión). Este suceso lo evidenciamos tanto en Cyripedioideae como en Epidendroideae. En esta última subfamilia se observa el incremento del tejido de la placenta en Aeridinae, Angraecinae, Coeliopsidinae, que ocasionan probablemente el paso de uno a tres lóculos como finalmente se observa en Zygopetalinae y Laeliinae. Esta misma hipótesis fue propuesta por Cameron (2003), que además indica que el resultado final daría origen a tres falsos lóculos.

En la familia los ovarios triloculares han sido citados en Vanilloideae -géneros *Eriaxis*, *Clematepistephium*, *Lecanorchis*- y también Apostasioideae -*Apostasia* y *Neuwiedia*- (Cameron 2003). El estudio del ovario de estos dos últimos géneros ha permitido concluir que el ovario ínfero en un principio fue unilocular y luego se convirtió en trilocular por la fusión postgénita de los septos del ovario y por el desarrollo de una corta zona sinascidiada (Kocyan & Endress 2001).

Es muy probable que estos cambios estructurales estén relacionados con las estrategias reproductivas de las orquídeas, tema del cual sería interesante profundizar en posteriores investigaciones.

Por otro lado, una dilatada discusión se ha centrado en determinar el número total de carpelos en Orchidaceae. Algunos autores consideran que el ovario de las orquídeas está formado solo por tres carpelos (Dressler 1981; Kurzweil 1998; Rasmussen & Johansen 2006), mientras que otros señalan la existencia de seis carpelos, tres fértiles y tres estériles (Camus 1928; Vermeulen 1966). Sin embargo, nuestros resultados del estudio de la anatomía del ovario en Epidendroideae, revelaron la presencia de ovarios con 3 o 6 carpelos incluso dentro de la misma tribu, como es el caso de Laeliinae.

En relación a la fertilidad de los ovarios, son frecuentes los ovarios triloculares con todos los carpelos fértiles y los ovarios hexacarpelares con solo la mitad de ellos fértiles. Aunque los géneros *Stanhopea*, *Miltonia*, *Oncidium*, *Cattleya* y *Sophronitis* han sido la excepción a la regla porque presentaron los seis carpelos fértiles. En la mayoría de los casos los ovarios tuvieron la placentación parietal, excepto en los géneros *Apostasia* y *Selenipedium* que es axilar.

El análisis conjunto de los caracteres del pistilo y polinario permite deducir que tanto el polen como el ovario de cada subfamilia

están al mismo nivel evolutivo. Los estados primitivos (unidad polínica en mónade, pistilo tricarpelar y trilocular) se encuentran en las subfamilias basales (Apostasioideae y Cyripedioideae), mientras que los estados más avanzados como presencia de polinios granulares, séctiles o compactos y pistilos con ovarios uniloculares están presentes en las subfamilias Vanilloideae, Orchidoideae y Epidendroideae, estas dos últimas consideradas las más avanzadas en las clasificaciones de diferentes autores (Dressler 1993; Cameron et al. 1999; Chase et al. 2003; Freudenstein et al. 2004). No obstante, fueron observadas algunas excepciones en los taxones *Cyripedium*, *Paphiopedilum* (Cyripedioideae) con polen no compacto y ovario unilocular y también en *Huntleya*, *Peristeria* (Epidendroideae) con polinios compactos, pero con ovario trilocular.

Aunque en el sistema de clasificación de Chase et al. (2003) proponen el siguiente orden sistemático [Apostasioideae [Vanilloideae [Cyripedioideae [Epidendroideae, Orchidoideae]]]], en relación a las estructuras estudiadas, se observan muchas convergencias entre las subfamilias Apostasioideae y Cyripedioideae en algunos caracteres (ovario trilocular, tricarpelar, polen no compactado). La posición del resto de subfamilias coincide con la presencia de los estados de caracteres más avanzados del polen y pistilo.

La representación de los caracteres del polen y ovario sobre un árbol que resume la clasificación de Chase et al (2003), ayuda a entender de una forma mejor, los diferentes cambios sufridos en estos caracteres en el tiempo (Fig. 58).

Dada la escasa información sobre los caracteres del pistilo en las subfamilias de Orchidaceae, nuestros resultados se convierten en un importante aporte para futuros tratamientos taxonómicos y/o sistemáticos en la familia. El pistilo trilocular también observado en

Huntleya y *Peristeria* (Epidendroideae) constituye información novedosa en la subfamilia, ya que de las Epidendroideae, este estado solo había sido observado en *Palmorchis* (Veyret 1981) y en estudios posteriores sobre la presencia de ovarios triloculares en Orchidaceae, no fue incluida Epidendroideae entre las subfamilias que presentaban este carácter (Cameron 2003).

Apéndice. 5 Lista de taxones utilizados para describir la palinología y anatomía del pistilo en las subfamilias Apostasioideae, Vanilloideae, Cyripedioideae, Orchidoideae y Epidendroideae.

Subfamilia: Especie, colector y número de colección, país, herbario. El material fresco es indicado con asterisco (*). Los especímenes están ordenados alfabéticamente.

Subfamilia Apostasioideae. *Apostasia stylidioides* (F. Muell) Rchb.f., *Bau 82940*, Reino Unido (K). *A. wallichii* R. Br., *Kaire 25569*, Reino Unido (K). *Neuwiedia veratrifolia* Blume., *Lamb 129*, Reino Unido (K).

Subfamilia Vanilloideae: *Cleistes abdita* G. A. Romero & Carvali, *García Barriga et al. 15842*, Colombia (COL). *C. rosea* Lindl., *Arias 042*, Colombia (CHOCO). *Vanilla chamissonis* Klotzsch, *Silva 555*, Brasil (HUCSS). *V. odonata* Andrews, *Gómez 1450*, Colombia (HUA).

Subfamilia Cyripedioideae. *Cyripedium californicum* A. Garay, *Hrusa 10445*, España (MA). *Paphiopedilum callosum* (Rchb.f.) Stein, *SCO 0029*, Colombia (*). *Phragmipedium besseae* Dodson and Kuhn., *De Angulo 0121*, Colombia (*). *Phragmipedium longifolium* (Rchb.f. and Warsz) Rolfe., *Geovo 0115*, Colombia (*). *Phragmipedium Rolfe*, *De Angulo 0246*, Colombia (*). *Selenipedium chica* Rchb.f., *Powell 258*, Reino Unido (K). *Selenipedium palmifolium* Rchb.f., *Jenman 6680*, Reino Unido (K).

Subfamilia Orchidoideae: *Aa maderoi* Schltr., *Ortíz 1048*, Colombia (HPUJ). *Barlia robertiana* (Loisel.) Greuter, *Barbero et al. 0003*, España (*). *Coeloglossum viride* Hartm., *Fernández s.n.*, España (LEB). *Cranichis ciliata* Kunth, *Callejas et al. 7757*, Colombia (HUA). *Cyclopogon peruvianus* (C. Presl) Schltr., *Fernandez et al. 19044*, Colombia (COL). *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó, *Llamas & C. Acedo s.n.*, España (*). *D. sambuccina* (L.) Soó, *Mosquera 158*, España (*). *Erythrodes major* Ames, *Ospina 580*, Colombia (JAUM). *E. boliviensis* (Cogn.) Dodson & M.W. Chase, *Ledezma et al 523*, Colombia (CHOCO). *Eurystyles cotyledon* Wawra, *De Angulo 0118*, Colombia (*). *Gomphichis traceyae* Rolfe, *Schneider 1*, Colombia (COL). *Habenaria parviflora* Lindl., *Groenendijk 1589*, Colombia (COL). *Neotinea maculata* (Desf.) Stearn, *Llamas s.n.*, España (LEB). *Nigritella gabasiana* Teppner & E. Klein, *C. Acedo, F. Llamas & A. Alonso s.n.*, Andorra (sin testigo*). *Ophrys apifera* Huds., *Barbero et al. 0002*, España (*). *O. sphegodes* Mill., *Barbero et al. 0001*, España (*). *Orchis anthropophora* (L.) R. Br., *Mosquera et al. 0038*, España (*). *O. langei* K. Richt., *Barbero et al. 0003*, España (*). *O. mascula* (L.) L., *Mosquera 0119*, España (*). *O. morio* L., *Llamas & C. Acedo 37*, España (*). *Spiranthes orchioides* Hemsl., *Haught 2680*, Colombia (COL). *S. spiralis* (L.) Chevall., *C. Acedo 245*, España (LEB). *Stenorhynchos lanceolatum* (Willd.) Rich., *Cardenas 1497*, Colombia (MEDEL).

Subfamilia Epidendroideae: *Acineta erythroxantha* Rchb.f., *SCO 0005*, Colombia (*). *Acronia marthae* (Luer & R.Escobar) Luer, *De Angulo 0093*, Colombia (*). *A. octavioi* (Luer & R.Escobar) Luer, *De Angulo 0094*, Colombia (*). *Ancipitia anthrax* (Luer & R.Escobar) Luer, *De Angulo 0095*, Colombia (*). *Angraecum distichum* Lindl., *SCO 0027*, Colombia (*). *A. sesquipedale* Thouars, *SCO 0028*, Colombia (*). *Anguloa clowesii* Lindl., *De Angulo 0054*, Colombia (*). *A. virginalis* Hort, *De Angulo 0055*, Colombia (*). *Arundina graminifolia* (D.Don) Hochr., *Geovo 0116*, Colombia (*). *Barbosella cucullata* (Lindl.) Schltr., *Echeverry*

et al. 478, Colombia (HUA). *B. longipes* Schltr., *De Angulo 0180*, Colombia (*). *B. prorepens* Schltr., *De Angulo 0181*, Colombia (*). *Bletia purpurea* (Lam.) DC., *Cuadras et al. 7996*, Panamá (COL). *Bollea coelestis* Rchb.f., *SCO 0003*, Colombia (*). *Brachionidium* sp. *Benavides & Franc 3186*, Colombia (HUA). *Brachycladium platysepalum* (Luer & R. Escobar) Luer, *SCO 0237*, Colombia (*). *Brassavola grandiflora* Lindl., *Misas 21b*, Colombia (HPUJ). *B. nodosa* Lindl., *Geovo 0112*, Colombia (*). *Brassia antherothes* Rchb.f., *De Angulo 0064*, Colombia (*). *Brassia gireoudiana* Rchb.f. & Warsz., *De Angulo 0065*, Colombia (*). *Caluera vulpina* Dodson & Determann, *SCO 0009*, Colombia (*). *Catasetum viridiflavum* Hook., *Mejía & Pino 0062*, Colombia (*). *Cattleya quadricolor* Lindl., *SCO 0017*, Colombia (*). *C. schroderae* Rchb.f., *SCO 0018*, Colombia (*). *C. trianae* Linden & Rchb.f., *SCO 0019*, Colombia (*). *Chondrorhyncha amabilis* Schltr., *SCO 0004*, Colombia (*). *Cis Schweinfia dasyandra* (Rchb.f.) Dressler & N.H. Williams, *SCO 0190*, Colombia (*). *C. rostrata* Dressler & N.H. Williams, Colombia, Popayán, *De Angulo 0066* (*). *Cochlioda rosea* Benth. & Hook.f., *Fonnegra et al. 4593*, Colombia (HUA). *Cochlioda vulcanica* (Rchb.f.) Benth. & Hook.f. ex A.H. Kent, *De Angulo 0067*, Colombia (*). *Coelogyne massangeana* Rchb.f., *De Angulo 0082*, Colombia (*). *Comparettia falcata* Poepp. & Endl., *Salinas et al. 141*, Colombia (COL). *Corallorhiza maculata* (Raf.) Raf., *Jefferson 6567*, USA (KEW). *C. trifida* Châtel, *Herrero et al. 2213*, Bulgaria (MA). *Cryptarrhena lunata* R.Br., *Ramírez & Cardenas 661*, Colombia (JAUM). *Cryptocentrum latifolium* Schltr., *De Angulo 0059*, Colombia (*). *Cynoches densiflorum* Rolfe, *SCO 0001*, Colombia (*). *Cymbidium insigne* Rolfe., *Geovo 0100*, Colombia (*). *C. simulans* Rolfe., *Geovo 0102*, Colombia (*). *Cyrtorchilum diceratum* Kraenzl., *Zarucchi & Echeverry 5159*, Colombia (HUA). *C. ionodon* (Rchb.f.) Dalström, *SCO 0010*, Colombia (*). *Dendrobium infundibulum* Lindl., *De Angulo 0113*, Colombia (*). *D. cobbianum* Rchb.f., *De Angulo 0193*, Colombia (*). *Dendrochilum cobbianum* Rchb.f., *De Angulo 0115*, Colombia (*). *Dichaea morrisii* Fawc. & Rendle, *De Angulo 0198*, Colombia (*). *D. pendula* Cogn., *Albert & Velásquez 7340*, Colombia (HUA). *Dimerandra buenaventurae* (Kraenzl.) Siegerist, *De Angulo 0200*, Colombia (*). *D. elegans* (Focke) Siegerist, *Cardenas 541*, Colombia (JAUM). *D. latipetala* Siegerist, *Misas 61b*, Colombia (HPUJ). *Doritis pulcherrima* Lindl., *SCO 0025*, Colombia (*). *Dracula amaliae* Luer & R. Escobar, *De Angulo 0096*, Colombia (*). *D. benedictii* (Rchb.f.) Luer, *Escobar 969*, Colombia (JAUM). *D. fuligera* Luer, *De Angulo 0097*, Colombia (*). *D. lotax* (Luer) Luer, *De Angulo 0201*, Colombia (*). *D. sodiroi* (Schltr.) Luer, *De Angulo 0098*, Colombia (*). *Dryadella albicans* (Luer) Luer, *De Angulo 0099*, Colombia (*). *D. meiracyllium* (Rchb.f.) Luer, *De Angulo 0100*, Colombia (*). *D. simula* (Rchb.f.) Luer, *Yepes 925*, Colombia (CAUP). *Elleanthus aurantiacus* Rchb.f., *Fernández et al. 294*, Colombia (MEDEL). *E. columnaris* Rchd.f., *Franco et al. 4700*, Colombia (COL). *E. hirtzii* Dodson, *Cogollo & Ramírez 3171*, Colombia (JAUM). *E. myrosomatis* Rchb.f., *SCO 0016*, Colombia (*). *Encyclia ceratistes* Schltr., *De Angulo 0083*, Colombia (*). *E. cordigera* (Kunth) Dressler, *Araque 331*, Colombia (MEDEL). *E. onciodioides* Schltr., *Ortiz 175*, Colombia (HPUJ). *E. sceptrum* (Lindl.) Carnevali & I. Ramírez, *Ortiz 177*, Colombia (HPUJ). *E. vespa* (Vell.) Dressler, *Ortiz 16*, Colombia (HPUJ). *Epidendrum arevaloi* (Schltr.) Hágsater, *Correa et al. 1313*, Colombia (JAUM). *E. cernuum* Kunth, *Ortiz 333*, Colombia (HPUJ). *E. decurviflorum* Schltr., *González et al. 2074*, Colombia (COL). *E. difforme* Jacq., *Mosquera 0109*, Colombia (*). *E. ellipsophyllum* L.O. Williams, *Misas 35^a*, Colombia (HPUJ). *E. fimbriatum* Vell., *Pino et al. 108*, Colombia (CHOCO). *E. ionodesme* Schltr., *De Angulo 0084*, Colombia (*). *E. sympetalostele* Hágsater & L. Sánchez, *Mejía & Pino 0050*, Colombia (*). *Eulophia alta* Fawc. & Rendle, *Ospina & Mosquera 2440*, Colombia (CHOCO). *Galeandra batemanii* Rolfe, *SCO 0002*, Colombia (*). *Galeottia fimbriata* (Linden & Rchb.f.) Schltr., *Geovo 0103*, Colombia (*). *Gongora latisejala* Rolfe, *Geovo 0106*, Colombia (*). *Houlletia wallisii* Linden & Rchb.f., *Ospina 623*, Colombia (JAUM). *Huntleya citrina* Rolfe, *Geovo 0104*, Colombia (*). *H. meleagris* Lindl., *Geovo 0105*, Colombia (*). *Ida grandis* A. Ryan & Oakeley, *De Angulo 0056*, Colombia (*). *Ionopsis utricularioides* Lindl., *Mosquera 0108*, Colombia (*). *Isochilus linearis* (Jacq.) R.Br., *De Angulo 0092*, Colombia (*). *Kefersteinia mystacina* Rchb.f., *De*

Angulo 0052, Colombia (*). *K. tolimensis* Schltr., *De Angulo 0053*, Colombia (*). *Laelia tenebrosa* (Rolfe) Rolfe, *De Angulo 0085*, Colombia (*). *Lanium avicula* Lindl. ex Benth *De Angulo 0086*, Colombia (*). *Lepanthes mastodon* Luer, *De Angulo 0202*, Colombia (*). *L. tracheia* Rchb.f., *De Angulo 0203*, Colombia (*). *Lepanthopsis floripecten* (Rchb.f.) Ames, *De Angulo 0101*, Colombia (*). *L. peniculus* Luer, *Schneider 200K*, Colombia (COL). *Liparis nervosa* (Thunb.) Lindl., *Langenheim 3324*, Colombia (COL). *L. elata* Lindl., *Ortíz 345*, Colombia (JAUM). *Lycaste tricolor* Rchb.f., *De Angulo 0057*, Colombia (*). *L. x niesseniae* Oakeley, *De Angulo 0058*, Colombia (*). *Macradenia brassavolae* Rchb.f., *Geovo 0109*, Colombia (*). *Malaxis andicola* Kuntze, *Cogollo 3893*, Colombia (JAUM). *M. bayardii* Fernald, *Ospina 1356*, Colombia (COL). *M. excavata* Kuntze, *Figueroa et al. 555*, Colombia (COL). *Masdevallia coccinea* Linden ex Lindl., *De Angulo 0102*, Colombia (*). *M. ova-avis* Luer, *De Angulo 0103*, Colombia (*). *M. pelecanceps* Luer, *De Angulo 0104*, Colombia (*). *Maxillaria caucuae* Garay, *De Angulo 0120*, Colombia (*). *M. cucullata* Lindl., *De Angulo 0060*, Colombia (*). *M. fractiflexa* Rchb.f., *De Angulo 0061*, Colombia (*). *M. fulgens* (Rchb.f.) L.O.Williams, *Misas 160*, Colombia (HPUJ). *M. graminifolia* Rchb.f., *Zarucchi et al. 6124*, Colombia (HUA). *Miltonia spectabilis* Lindl., *De Angulo 0069*, Colombia (*). *M. vexillaria* G.Nicholson, *Betancur et al. 841*, Colombia (HUA). *Miltoniopsis phalaenopsis* (Linden & Rchb.f.) Garay & Dunst., *De Angulo 0070*, Colombia (*). *M. roezlii* (Rchb.f.), *De Angulo 0071*, Colombia (*). *Notylia pentachne* Rchb.f., *De Angulo 0072*, Colombia (*). *Odontoglossum povedanum* P.Ortíz, *De Angulo 0073*, Colombia (*). *O. spathaceum* Lindl., *Londoño et al. 32*, Colombia (MEDEL). *Oerstedella wallisii* (Rchb.f.) Hágsater, *De Angulo 0087*, Colombia (*). *Oncidium abortivum* Rchb.f., *Londoño et al. 70*, Colombia (MEDEL). *O. cheirophorum* Rchb.f., *De Angulo 0074*, Colombia (*). *O. jamesonii* Rchb.f., *Pérez 600*, Colombia (MEDEL). *O. varicosum* Lindl., *De Angulo 0075*, Colombia (*). *Ophidion cunabulum* (Luer & R.Escobar) Luer, *De Angulo 0208*, Colombia (*). *Ornithocephalus bicornis* Lindl., *Misas 184*, Colombia (HUA). *O. gladius* Hook., *Giraldo 775*, Colombia (HUA). *Paphinia herrerae* Dodson, *SCO 0006*, Colombia (*). *Peristeria elata* Hook., *SCO 0008* (*). *Platystele densiflora* P. Ortiz, *De Angulo 0210*, Colombia (*). *P. umbellata* P. Ortiz, *De Angulo 0209*, Colombia (*). *Pleurothallis apoxys* Luer & R.Escobar, *Duque 2257*, Colombia (JAUM). *P. lindenii* Lindl., *De Angulo 0105*, Colombia (*). *Polycycnis muscifera* Rchb.f., *SCO 0007*, Colombia (*). *Polystachya foliosa* Rchb.f., *SCO 0024*, Colombia (*). *Ponera striata* Lindl., *Silva 267*, Colombia (HPUJ). *Prosthechea aemula* (Lindl.) W.E.Higgins, *Misas 27*, Colombia (HPUJ). *P. cochleata* (L.) W.E.Higgins, *De Angulo 0213*, Colombia (*). *P. grammatoglossa* (Rchb.f.) W.E.Higgins, *De Angulo 0088*, Colombia (*). *P. vespa* (Vell.) W.E.Higgins, *Misas 28*, Colombia (HPUJ). *Psygmorechis pusilla* (L.) Dodson & Dressler, *Geovo 0110*, Colombia (*). *Pterostemma antioquiense* F.Lehm. & Kraenzl., *SCO 0011*, Colombia (*). *Restrepia antennifera* Kunth, *De Angulo 0107*, Colombia (*). *R. chocoensis* Garay., *De Angulo 0215*, Colombia (*). *Restrepiopsis tubulosa* (Lindl.) Luer, *Ospina 25*, Colombia (JAUM). *Rodriguezia lanceolata* Ruiz & Pav., *Gutierrez 899*, Colombia (MEDEL). *Scaphosepalum gibberosum* Rolfe, *De Angulo 0109*, Colombia (*). *Scaphyglottis arctata* (Dressler) B.R.Adams, *De Angulo 0089*, Colombia (*). *S. graminifolia* (Ruiz & Pav.) Poepp. & Endl., *De Angulo 0090*, Colombia (*). *S. huebneri* Schltr., *Misas 57a*, Colombia (HPUJ). *Schomburgkia splendida* Schltr., *De Angulo 0091*, Colombia (*). *Sertifera lehmanniana* (Kraenzl.) Garay, *Forero et al. 2079*, Colombia (COL). *S. purpurea* Rchb.f., *Bristol 550*, Colombia (COL). *Sievekingia suavis* Rchb.f., *Geovo 0107*, Colombia (*). *Sigmatostalix cuculligera* (Schltr.) Garay, *De Angulo 0076*, Colombia (*). *S. papilio* Koniger & R.Escobar, *De Angulo 0077*, Colombia (*). *Sobralia mutisii* P. Ortiz, *Ortiz 1149*, Colombia (HPUJ). *S. dichotoma* Ruiz & Pav., *Ospina 217*, Colombia (JAUM). *S. valida* Rolfe, *Geovo 0117*, Colombia (*). *Solenidium lunatum* Schltr., *De Angulo 0078*, Colombia (*). *Sophronitis coccinea* Rchb.f., *SCO 0020*, Colombia (*). *Soterosanthus shepherdii* (Rolfe) Jenny, *Geovo 0217*, Colombia (*). *Spathoglottis plicata* Blume, *Geovo 0111*, Colombia (*). *Sphyrastylis escobariana* Garay, *SCO 0012*, Colombia (*). *Stelis alba* Kunth, *SCO 0023*, Colombia (*). *S. rostrata* Luer, *O.Duque 2135*, Colombia (JAUM). *S. velutina* Lindl., *O.Duque 1277*, Colombia (JAUM).

Stanhopea pulla Rchb.f., *Geovo 0211*, Colombia (*). *S. wardii* Lodd. ex Lindl., *De Angulo 0226*, Colombia (*). *Stellilabium andinum* (L.O.Williams) Garay & Dunst., *Albert & Uribe 3647*, Colombia (HUA). *Symphyglossum sanguineum* Schltr., *De Angulo 0079*, Colombia (*). *Telipogon hemimelas* Rchb.f., *Londoño et al. 509*, Colombia (HUA). *T. leila-alexandrae* Braas, *Escobar & Portillo 3641*, Costa Rica (JAUM). *T. pulcher* Rchb.f., *SCO 0107*, Colombia (*). *Trichocentrum brandtia* Kraenzl. *De Angulo 0080*, Colombia (*). *Trigonidium egertonianum* Bateman, *Geovo 0114*, Colombia (*). *Trisetella triglochin* (Rchb.f.) Luer, *De Angulo 0110*, Colombia (*). *Vanda coerulea* Griff. ex Lindl, *SCO 0026*, Colombia (*). *Warczewiczella marginata* Rchb.f., *De Angulo 0051*, Colombia (*). *W. discolor* Rchb.f., *SCO 0191*, Colombia (*). *Xylobium leontoglossum* Benth. ex Rolfe, *Ospina 149*, Colombia (JAUM). *Zootrophion hypodiscus* (Rchb.f.) Luer, *De Angulo 0111*, Colombia (*). *Z. oblongifolium* (Rolfe) Luer, *De Angulo 0112*, Colombia (*).



Conclusiones



A partir de los resultados obtenidos en los estudios palinológicos y anatómicos del pistilo de la familia Orchidaceae, podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. Se demuestra que la evolución de los caracteres palinológicos y anatómicos del ovario en Orchidaceae no se ha producido de forma lineal. Los caracteres han sufrido reversiones, probablemente más de una vez en cada tribu y subtribu.
2. Se evidencia, que la reducción de tres estambres a uno en Orchidaceae ha ocasionado la agregación del polen originando el polinio; el cual tiene diferentes texturas de acuerdo a las estrategias de dispersión de cada taxón.
3. La presencia de los estados de carácter primitivos en la antera, polen y ovario, ratifican la posición basal de la subfamilia Apostasioideae con respecto a las demás subfamilias de Orchidaceae.
4. No se debe inferir un parentesco entre Vanilloideae y Epidendroideae primitivas a pesar de la coincidencia en los polinios granulares y los ovarios hexacarpelares y uniloculares, puesto que los datos moleculares la relacionan más estrechamente con Apostasioideae.
5. Se infiere que existe una concordancia entre la diversificación de los caracteres palinológicos y anatómicos, y la alta diversidad que presenta la tribu Epidendreae, que con 88 géneros y casi 6000 especies, presenta todos los estados de carácter primitivos y avanzados en el polinario y en el pistilo.
6. Las tétrades, en los polinios compactos, no se organizan siguiendo un patrón espacial regular. Probablemente, se ajustan al espacio disponible, por lo que en ocasiones solo se

- pueda visualizar un grano de polen de la tétrade e impide determinar su forma.
7. Las aperturas de los granos de polen solo son evidentes en las subfamilias cuya unidad de dispersión son las mónade (Apostasioideae y Cypripedioideae), o polinios granulares (algunas Orchidoideae). En cambio, parecen faltar en los polinios compactos y en algunos séctiles con másulas.
 8. La aparición del polinio conllevó la formación de estructuras accesorias que intervienen en el transporte por los polinizadores. Incluso las caudículas, en los polinarios sin viscidio, además de tener una función mecánica, facilitan su fijación al polinizador.
 9. Una de las tendencias evolutivas, que comparten las subfamilias Orchidoideae y Epidendroideae, es la evolución del número de polinios. En ambas, por fusión, se pasó del estado primitivo, cuatro polinios, a solo dos. La huella de esa fusión aún persiste en algunos taxones en forma de sutura.
 10. El número de lóculos del ovario, en Orchidoideae y Epidendroideae, cambia de uno a tres por desarrollo de las placentas hasta fusionarse o estar muy próximas. Por el contrario, el cambio de tres lóculos a uno es ocasionado por la disminución o pérdida del tejido placentario de cada carpelo.
 11. Aunque los caracteres palinológico y anatómicos del pistilo han sufrido reversiones en el tiempo, y por sí solos no son consistentes para establecer una clasificación bien soportada de la familia, permiten interpretar las tendencias evolutivas de los órganos reproductivos en Orchidaceae e inferir cuales han sido los procesos que han originado los estados actuales.



Bibliografía



- Ackerman, J.D. & Williams, N.H. 1980. Pollen morphology of the tribe Neottieae and its impact on the classification of the Orchidaceae. *Grana* 19: 7–18.
- Arber, A. 1925. Monocotyledons: A morphological study. Cambridge, England. Axelrod, D.L.
- Albert, V. 1994 Cladistic relationships of the slipper orchids (Cypripedioideae: Orchidaceae) from congruent morphological and molecular data. *Lindleyana* 9: 115–132.
- Albert, V.A & Chase, M.W. 1992. *Mexipedium*: a new genus of slipper orchid (Cypripedioideae: Orchidaceae). *Lindleyana* 7: 172-176.
- Atwood, J.T. 1984. The relationships of the slipper orchids (subfamily Cypripedioideae, Orchidaceae). *Selbyana* 7: 129 - 247.
- Barone-Lumaga, M.R., Cozzolino, S. & Kocyan, A. 2006. Exine Micromorphology of Orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae): Phylogenetic Constraints or Ecological Influences? *Ann. Bot.* 98: 237–244.
- Bentham, G. 1881. Notes on Orchideae. *Bot. J. Linn. Soc.* 18: 281–360.
- Bern (2009). Investigación de orquídeas. <http://www.biorquidtropico.com/esp/art.htm> . (Consultado: 21 agosto de 2009).
- Bonifacino, M. 2012. Sistemática de plantas tropicales 2005-18 / Morfología de Angiospermas. http://www.fagro.edu.uy/~botanica/www_botanica/Enlaces.html (Consultado: 7 abril de 2012).

- Borba, E.L., Shepherd, G.J., van Den Berg, C. & Semir, J. 2002. Floral and vegetative morphometrics of five *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: Correlation with taxonomy, phylogeny, genetic variability and pollination systems. *Ann. Bot.* 90: 219-230.
- Bradshaw, E., Rudall, P.J., Devey, D.S., Thomas, M.M., Glover, B.J. & Bateman, R.M. 2010. Comparative labellum micromorphology of the sexually deceptive temperate orchid genus *Ophrys*: diverse epidermal cell types and multiple origins of structural colour. *Bot. J. Linn. Soc.* 162: 504-540.
- Brieger, F.G. 1977. Gattungsreihe Epidendra. *In*: F. G. Brieger *et al.* (eds.) *Die Orchideen*. 509-549. Paul Parey, Berlin.
- Buanafina, M.M. de O. 2009. Feruloylation in grasses: Current and future perspectives. *Mol. plant* 2(5): 861-872.
- Burns-Balogh, P. 1983. A theory on the evolution of the exine in Orchidaceae. *Amer. J. Bot.* 70: 1304-1312.
- Burns-Balogh, P. & Bernhardt, P. 1985. Evolutionary trends in the androecium of the Orchidaceae. *Plant Syst. Evol.* 149: 119-134.
- Burns-Balogh, P. & Funk, V. 1986. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae. *Smithsonian Contributions to Botany* 61: 1-79.
- Burns-Balogh P. & Hesse, M. 1988. Pollen morphology of Cypripedioid orchids. *Plant Syst. Evol.* 158: 165-182.
- Cameron, K.M. 2003. The Structure and Occurrence of Trilocular Ovaries within Orchidaceae. The Lewis B. & Dorothy Cullman Program for Molecular Systematics Studies, The New York Botanical Garden, Bronx, NY.

- Cameron, K.M., Chase, M.W., Whitten, W.M., Kores, P.J., Jarrell, D.C., Albert, V.A., Yukawa, T., Hills, H.G. & Goldman, D.H. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: Evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *Am. J. Bot.* 86(2): 208-224.
- Cameron, K.M., Chase, M.W., Whitten, W.M., Kores, P.J., Jarrell, D.C., Albert, V.A., Yukawa, T., Hills, H.G. & Goldman, D.H. 1999. A phylogenetic analysis of the Orchidaceae: Evidence from *rbcL* nucleotide sequences. *Am. J. Bot.* 86(2): 208-224.
- Camus, E.G., A. Camus, & H. Lecomte. 1928. *Iconographie des orchidées d'Europe et du Bassin Méditerranéen*. Ed. P. Lechevalier. Paris.
- Chase, M.W. 2001 .The origin and biogeography of Orchidaceae pp. 1-5 in : Pridgeon, A.M., Cribb, P.J ., Chase, M.W, & Rasmussen, F. (eds.), *Genera orchidacearum* Vol. 2. Oxford : Oxford University Press.
- Chase, M.W. 2005. Classification of Orchidaceae in the age of DNA data. Published by Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
- Chase, M.W, Fay, M.F, Devey, D.S, Maurin, O., Rønsted, N., Davies, T.J. 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary. *Aliso* 22: 63–75.
- Chase, M.W., Cameron, K.M., Barrett, R.L. & Freudenstein, J.V. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification. Pp. 69-89 in: Dixon, K.M., Kell, S.P., Barret, R.L. & Cribb, P.J. (eds.), *Orchid conservation*, Natural History Publications. Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia.
- Chen, S.-C. .1982. The origin and early differentiation of the Orchidaceae. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 20: 1-20.

- Cox, A., Pridgeon, A., Albert, V. & Chase, M. 1997. Phylogenetics of the slipper Orchids (Cypripedioideae, Orchidaceae): nuclear rDNA ITS sequences. *Plant Syst. Evol.* 208: 197-223.
- Cribb, P.J. 1999. Morphology. Pp. 13–23 in: Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase, M.W., Rasmussen, F.N. (eds.), *Genera Orchidacearum Vol. 1: General Introduction, Apostasioideae, Cypripedioideae*. Oxford: Oxford University Press.
- Dahlgren, R.M.T., Clifford, H.T & Yeo, P.F. 1985. The families of the monocotyledons, structure, evolution and taxonomy. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- De Laet, J., Clinckemaiilie, D., Jansen, S. & Smets, E. 1995. Floral Ontogeny in the Plumbaginaceae. *Journal of Plant Research* 108:289-304.
- De Oliveira-pires, M. De F., Semir, J., De A. Melo De Pinna, G.F. & Felix, P. 2003. Taxonomic separation of the genera *Prosthechea* and *Encyclia* (Laeliinae: Orchidaceae) using leaf and root anatomical features. *Bot. J. Linn. Soc.* 143: 293-303.
- Dressler, R.L. & C.H. Dodson. 1960. Classification and phylogeny in the Orchidaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 47: 25-68.
- Dressler, R.L. 1981. The orchids: natural history and classification. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Dressler, R.L. 1981. *The orchids: natural history and classification*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Dressler, R.L. 1986. Recent advances in orchid phylogeny. *Lindleyana* 1: 5–20.

- Dressler, R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Portland, OR: Dioscórides Press. Melbourne, Australia.
- Dressler, R.L. & CHASE, M.W. 1995. Whence the orchids? Pp. 217–226 in: Rudall, P., Cribb, P., Cutler, D. & Humphries, C. (eds.), *Monocotyledons: systematics and evolution*, Royal Botanic Gardens, Kew.
- Dueñas, H.C. & Fernández-Alonso, J.L. 2007. Sinopsis de la subfamilia Spiranthoideae (Orchidaceae) en Colombia, parte I. *J. Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 31(118): 1-23.
- Duran, F., Mateos, J.A. & Álvarez, B. 2006. Guía de orquídeas de Extremadura. <http://www.retamatour.com/web/02web/orquideas/proyecto%20orquidea/GuiaPOversiondigital.pdf> (Consultado: 15 de abril de 2008).
- Endress, P.K. 1994. *Diversity and evolutionary Biology of tropical flowers*. Cambridge University Press.
- Erdtman, G. 1944. Pollen morphology and plant taxonomy II. Notes on some monocotyledonous pollen types. *Sven. Bot. Tidskr.* 38: 163-168.
- Erdtman, G. 1969. *Handbook of Palynology. Morphology-Taxonomy-Ecology. An introduction to the study of pollen grains and spores*. Munksgaard, Copenhagen.
- Esaú, K. 1959. *Anatomía Vegetal*. Ed. Omega S.A. California.
- Fay, M. F. & Chase, M.W. 2009. Orchid biology: from Linnaeus via Darwin to the 21st century. *Ann. Bot.* 104(3): 359-364.
- Fraga, C.N., Borges, R.A. X. & Fontana, A.P. 2008. Notes on *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) from Brazil. *Neodiversity*. 3: 21-24.

- Freudenstein, J.V. 1994. Gynostemium structure and relationship of the Corallorhizinae (Orchidaceae: Epidendroideae). *Plant Systematics and Evolution* 193: 1-19.
- Freudenstein, J.V. & Rasmussen, F.N. 1996. Pollinium development and number in the Orchidaceae. *Amer. J. Bot.* 83(7): 813-824.
- Freudenstein, J.V. & Rasmussen, F.N. 1997. Sectile pollinia and relationships in the Orchidaceae. *Plant Syst. Evol.* 205: 125-146.
- Freudenstein, J.V. & Rasmussen, F.N. 1999. What does morphology tell us about Orchid relationships?- A cladistic analysis. *Am. J. Bot.* 86(2): 225-248
- Freudenstein, J.V., Harris, E.M. & Rasmussen, F.N. 2002. The evolution of anther morphology in orchids: Incumbent anthers, superposed pollinia, and the Vandoid complex. *Am. J. Bot.* 89(11): 1747-1755.
- Freudenstein, J.V., van den Berg, C.D., Goldman, H., Kores, P.J., Molvray, M. & Chase, M.W. 2004. An expanded plastid DNA phylogeny of Orchidaceae and analysis of jackknife branch support strategy. *Am. J. Bot.* 91(1): 149-157.
- Furness, C.A. & Rudall, P.J. 1998. The tapetum and systematics in Monocotyledons. *Bot. Rev.* 64(3): 201-239.
- Garay, L.A. 1960. On the origin of the Orchidaceae. *Botanical Museum Leaflets Harvard University.* 19: 57-96.
- Garay, L.A. 1972. On the origin of the Orchidaceae II. *Journal of the Arnold Arboretum.* 53: 202-215.
- Gasser, C.S. & Robinson-Beers, K. 1993. Pistil Development. *Plant Cell.* 5:1231-1239.

- Goldberg, A. 1989. Classification, evolution and phylogeny of the families of monocotyledons. *Smithsonian contributions to botany* 71:1-78.
- Gravendeel, B., Smithson, A., Slik, F.J.W. & Schuiteman, A. 2004. Epiphytism and pollinator specialisation: drivers for orchid diversity? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 359: 1523–1535.
- Gustafson, M.H.G. 1995. Petal venation in the Asterales and related orders. *Bot. J. Linn. Soc.* 118: 1-18.
- Halbritter H., Weber, M., Zetter, R., Frosch-Radivo, A., Bruchner, R., & Hesse, M. 2006. *Paldat-Illustrated Handbook on Pollen Terminology*. Vienna.
- Harder, L.D. & Johnson, S.D. 2008. Function and evolution of aggregated pollen in Angiosperms. *Int. J. Plant Sci.* 169(1): 59-78.
- Hardy, C.R. & Stevenson, D. 2000. Development of the gametophytes, flower, and floral vasculature in *Cochliostema odoratissimum* (Commelinaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 134: 131-157.
- Harris, P.J. & Hartley, R.D. 1976. Detection of bound ferulic acid in cell walls of the Gramineae by ultraviolet fluorescence microscopy. *Nature* 259: 508–510.
- Hatfield, R.D., Wilson, J.R. & Mertens, D.R. 1999. Composition of cell walls isolated from cell types of grain sorghum stems. *J. Sci. Food Agric.* 79: 891-899.
- Hesse, M. 1988. Form and function of the pollen walls in *Stereosandra javanica* (Epidendroideae, Orchidaceae). In: Proc.

- 9th EUREM York. (ed. H. G. Dickinson & P. J. Goodhew), *Inst. Phys. Conf. Ser.* 93(3): 87-88.
- Hesse, M. 2000. Pollen wall stratification and pollination. *Plant Syst. Evol.* 222: 1-17.
- Hesse, M., Burns-Balogh, P. & Wolff, M. 1989. Pollen morphology of the "primitive" epidendroid orchids. *Grana* 28: 261-268.
- Hesse, M., Halbritter, H. Zetter, R., Weber, M., Buchner, R., Frosch-Radivo, A. & Ulrich, S. 2009. *Pollen terminology—An illustrated handbook*. Springer Wien, New York.
- Hickey, M. & King, C. 2000. *The Cambridge, illustrated glossary of botanical terms*. Cambridge University Press.
- Hutchinson, J. 1959. The families of flowering plants, 2nd ed., vol. 2, Monocotyledons. Oxford University Press, London.
- IPNI (The International Plant Names Index). <http://www.ipni.org/ipni/plantnamesearchpage.do> (Consultado: 13 de abril de 2009).
- Jersakova, J. & Johnson, S.D. 2006. Lack of floral nectar reduces self-pollination in a fly-pollinated orchid. *Oecologia* 147: 60–68.
- Johnson, S.D. & Edwards, T.J. 2000. The structure and function of orchid pollinaria. *Plant Syst. Evol.* 222: 243-269.
- Johnston, B. 2012. Imagen de *Paphiopedilum maudiae*. <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artjan12/bj-slipper3.html> (Consultado: 06 de mayo de 2012).
- Jones, H.G. 1966. Some notes on the genus *Schomburgkia* Lindl. of Orchidaceae and its relationships. *Ann. Naturhistor. Mus. Wien.*, 69: 57-67.

- Joshi, A.C. 1940. The conservative character of vascular system: Comparative anatomy of normal and pentaphytous bicarpellary flowers of *Gagea fascicularis*. *Ann. Bot.* 4: 664-669.
- Judd, W.S., Stern, W.L. & Cheadle, V.I. 1993. Phylogenetic position of *Apostasia* and *Neuwiedia* (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 113: 87-94.
- Kant, R. & Bhanwra, R.K. 2010. Development of Anther in relation to Saccate Pollinium in *Zeuxine strateumatica* (Lindl.) *Schltr. J Bio Life Sci.* 1(1): 5-12.
- Kenrick, J. & Knox, R.B. 1982. Function of the polyad in reproduction of *Acacia*. *Ann. Bot.* 50: 721-727.
- Kocyan, A. & Endress, P.K. 2001. Floral structure and development, and systematic aspects of some 'lower' Asparagales. *Plant Syst. Evol.* 229: 187-216.
- Kocyan, A., Qiu, Y.L., Endress, P.K. & Conti, E. 2004. A phylogenetic analysis of Apostasioideae (Orchidaceae) based on ITS, trnL-F and matK sequences. *Plant Syst. Evol.* 247:203-213. doi 10.1007/s00606-004-0133-3.
- Kocyan, A. 2007. The Discovery of Polyandry in Curculigo (Hypoxidaceae): Implications for androecium evolution of Asparagoid Monocotyledons. *Annals of Botany* 100: 241-248.
- Konta, F. & Hayakawa, E. 1982. Preliminary study of the pollen tetrads in the Orchidaceae. *Reports of the Faculty of Science, Shizuoka University*, 16: 103-108.
- Konta, F. & Tsuji, M. 1982. The types of pollen tetrads and their formation in some species of Orchidaceae in Japan. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 33: 206-217.

- Kułak, M., Górniak, M. & Romowicz, A. 2006. Tribal and subtribal relationship of Epidendroideae Lindl. (Orchidaceae) with emphasis on Epidendreae Humb., Bonpl. & Kunth based on *matK* gene. *Biodiv. Res. Conserv.* 3-4: 205-209.
- Kurzweil, H. 1987. Developmental studies in orchid flowers I: Epidendroid and Vandoid species. *Nordic Journal of Botany* 7: 427-442.
- Kurzweil, H. 1993. Developmental studies in orchid flowers IV. Cyprapedioid species. *Nordic Journal of Botany* 13:423-430.
- Kurzweil, H. 1998. Floral ontogeny of orchids: a review. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 71: 45-100.
- Lavarack, P.S. 1971. The taxonomic affinities of the Neottioideae. Dissertation. University of Queensland. Saint Lucia, Queens-land.
- Lindley, J. 1940. The genera and species of orchidaceous plants. 553 ss. Ridgways, London.
- Lindley, J. 1853. The vegetable kingdom. London: Bradbury and Evans.
- Mayer, J.L., Carmello-Guerreiro, S.M. & Appezzato-da-Glória, B. 2011. Anatomical development of the pericarp and seed of *Oncidium flexuosum* Sims (Orchidaceae). *Flora* 206:601-609.
- McNeill, J., Barrie F.R, Burdet H.M., Demoulin V., Hawksworth D.L., Marhold K., Nicolson D.H., Prado J. Silva P.C., Kog J.E., Wiersema J. H. & Turland N.J. 2006. International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code). Regnum Vegetabile 146. A.R.G. Gantner Verlag KG.ISBN 3-906166-48-1.

- Melchior, H. 1964. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien. Bd. 2. Bornträger, Berlin.
- Migne, C., Prensier, G., Uille, J.P., Angibeaud, P., Cornu, A. & Grenet, E. 1998. Immunocytochemical localisation of paracoumaric acid and feruloyl-arabinose in the cell walls of maize stem. *J. Sci. Food Agric.* 78:373–381.
- Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org/> (Consultados:13 de abril de 2009).
- Mondragón-Palomino, M. & Theißen, G. 2009. Why are orchid flowers so diverse? Reduction of evolutionary constraints by paralogues of class B floral homeotic genes. *Ann. Bot.* 104: 583–594, doi:10.1093/aob/mcn258.
- Novo, E. 2008. Lignificación en cultivos celulares de gimnospermas basales. Tesis doctoral, Universidad de la Coruña. A Coruña.
- Pacini, E. & Hesse, M. 2002. Types of pollen dispersal units in orchids, and their consequences for germination and fertilization. *Ann. Bot.* 89: 653-664.
- Pacini, E. 2009. Orchids Pollen Dispersal Units and reproductive consequences. In: Kull, Arditti & Wong (eds.), *Orchid Biology: Reviews and Perspectives, X*, Springer Science, Business Media B.V.
- Page, R.D.M. 2000. Tree drawing software for Apple Macintosh and Microsoft Windows. ©2000. Roderic D. M. Page.
- Paniagua, R., Nistal, M., Álvarez-Utría, M., Fraile, B., Anadón, R. & Sáez, F.J. 2002. *Citología e histología vegetal y animal, biología de las células y tejidos animales y vegetales*. 3ª edición. McGraw – Hill, Interamericana de España.

- Pansarin, E.R. & de Barros, F. 2008. Taxonomic notes on Pogonieae (Orchidaceae): *Cleistesiopsis*, a new genus segregated from *Cleistis*, and description of two new South American species, *Cleistis batistana* and *C. elongata*. *Kew Bulletin* 63: 441–448.
- Penet, L., Nadot, S., Ressayre, A., Forchioni, A., Dreyer, L. & Gouyon. H. 2005. Multiple developmental Pathways Leading to a single Morph: Monosulcate Pollen (Examples from the Asparagales) *Ann. Bot.* 95:331-343.
- Peter, C.I. & Johnson, S.D. 2006. Doing the twist; a test of Darwin's cross-pollination hypothesis for pollinium reconfiguration. *Biol. Letter* 2: 65-68.
- Pfitzer, E. 1889. Orchidaceae. II.B.13. Monandreae-Laeliinae, II.B.13.a. Monandreae-Laeliinae-Ponereae. Pp. 52–222 in: Engler, A. (ed.). *Die Natürlichen Pflanzenfamilien Ergänzungsheft*. Leipzig: Engelmann.
- Phillips, R.D., Brown, A.P., Dixon, K.W. & Hopper S.D. 2011. Orchid biogeography and factors associated with rarity in a biodiversity hotspot, the Southwest Australian Floristic Region. *J. Biogeogr* 38:487-501
- Pridgeon, A.M. 2009. From linnaeus to *Genera Orchidacearum*: the evolution of orchid classification. Pp 129-144 in: Pridgeon, A.M. & Suárez, J.P. (eds), *Proceedings of the Second Scientific Conference on Andean Orchids*. Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.
- Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase M.W. & Rasmussen, F.N. 2005. *Genera Orchidacearum*. Vol. 4. Epidendroideae (Part one). U.K., Oxford University Press.

- Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. 2003. *Genera Orchidacearum*. Vol. 3. Orchidoideae (Parte two): Vanilloideae. U.K. Oxford: Oxford University Press.
- Pridgeon, A.M., Cribb, P.J., Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. 2009. *Genera Orchidacearum*. Vol. 5. Epidendroideae (Part two). U.K. Oxford: Oxford University Press.
- Pridgeon, A.M., Solano, R. & Chase, M.W. 2001. Phylogenetic relationships in Pleurothallidinae (Orchidaceae): Combined evidence from nuclear and plastid DNA sequences. *Amer. J. Bot.* 88(12): 2286-2308.
- Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S. & Le Thomas, A. 1994. Glossary of pollen and spore terminology. - LPP Contributions Series No. 1. LPP Foundation, Utrecht.
- Puri, V. 1951. The role of floral anatomy in the solution of morphological problems. *Bot. Rev.* 17(7): 472-534.
- Puri, V. 1952. Placentation in angiosperms. *The Botanical Review* 28 (9):603-651.
- Rambaut, A. 2009. FigTree, Tree figure drawing tool, version 1.3.1, Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Germany.
- Rao, V.S. 1974. The relationships of the Apostasiaceae on the basis of floral anatomy. *Bot. J. Linn. Soc.* 68: 319-327.
- Rasmussen, F. N. 1985. Orchids. Pp 249- 274 in: Dahlgren, R., Clifford, H.T. & Yeo, P.F. (eds.), *The Families of the Monocotyledons: Structure, Evolution, and Taxonomy*, Berlin, New York: Springer Verlag.

- Rasmussen, F.N. & Johansen, B. 2006. Carpology of orchids. *Selbyana* 27: 44–53.
- Remizowa, M., Sokoloff, D. & Rudall, P.J. 2006. Evolution of the monocot gynoecium: evidence from comparative morphology and development in *Tofieldia*, *Japonolirion*, *Petrosavia* and *Narthecium*. *Plant Syst. Evol.* 258: 183–209.
- Román, B. 1971. *Tejidos vegetales*. Talleres gráficos A. Pons. Badalona, España.
- Rosso, S.W. 1966. The vegetative anatomy of the Cyripedioideae (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 59: 309-341.
- Rothacker, E.P. 2007. The primitive Epidendroideae (Orchidaceae): Phylogeny, character evolution and the systematic of *Psilochilus* (Triphoreae). Dissertation, The Ohio State University.
- Rudall, P.J. & Bateman, R.M. 2002. Roles of synorganisation, zygomorphy and heteromorphy in floral evolution: the gynostemium and labellum of orchids and other lilioid monocots. *Biol. Rev.* 77: 403-441.
- Rudall, P.J. 2003. Unique floral structures and iterative evolutionary themes in Asparagales: Insights from a morphological cladistic analysis. *Bot. Rev.* 68(4): 488-509.
- Rudall, P.J., Remizowa, M.V., Beer, A.S., Bradshaw, E., Stevenson, D.W., Macfarlane, T.D., Tuckett, R.E., Yadav, S.R. & Sokoloff, D.D. 2008. Comparative Ovule and Megagametophyte Development in Hydatellaceae and Water Lilies Reveal a Mosaic of Features Among the Earliest Angiosperms. *Ann. Bot.* 101: 941-956.

- Rutkowski, P. 2000. *Klasyfikacja rzędu Orchidales świetle analizy fenetycznej*. <http://www.statsoft.pl/czytelnia/badaniaukowe/d1biolmed/klasyfikacjarzedu.pdf>. (Consultado 31 de marzo 2009).
- Sáenz, C. 2004. Glosario de términos palinológicos. *Lazaroa* 25: 93-112.
- Salazar, G.A., Chase, M.W., Soto-Arenas, M.A. & Ingrouille, M. 2003. Phylogenetic of Cranichideae with emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae): Evidence from plastid and nuclear DNA sequences. *Am. J. Bot.* 90(5): 777-795.
- Sandoval-Zapotitla, Terrazas, T. & Villaseñor, J.L. 2010. Diversidad de inclusiones minerales en la subtribu Oncidiinae (Orchidaceae). *Rev. Biol. Trop.* 58(2): 733-755.
- Saunders, E.R. 1923. A reversionary character in the Stock (*Matthiola Incana*) and its significance in regard to the structure and evolution of the gynoeceum in the Rhoadales, the Orchidaceae, and other families. *Ann. Bot.* 37:451-482.
- Schill, R. & Pfeiffer, W. 1977. Untersuchungen an orchideenpollinien unter besonderer beruecksichtigung ihrer feinskulpturen. *Pollen et spores* 19(1): 5-118.
- Schill, R., Dannenbaum C., & Neyer, P. 1992. Quantitative Untersuchungen an Orchideen-pollinien. *Bot. Jahrb. Syst.* 114: 153-171.
- Schlechter, R. 1926. Das System der Orchidaceen. *Notizblatt des Botanischen Gartens und Museums zu Berlin-Dahlem* 9 (88): 563-591.

- Singer, R.B., Gravendeel, B., Cross, H. & Ramírez, S.R. 2008. The use of orchid pollinia or pollinaria for taxonomic identification. *Selbyana* 29(1): 6-19.
- Solís, S.M. & Ferrucci, M.S. 2009. Patrones de venación floral en tres especies de Paullinieae (Sapindaceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 44 (3-4): 317-327.
- Sood, S.K. & Mohana, R.P.R. 1998. Studies in the embryology of the diandrous orchid *Cypripedium cordigerum* (Cypripedieae, Orchidaceae). *Plant Syst. Evol.* 160 (3-4): 159-168.
- Sood, S.K. 1989. Embryology and systematic position of *Liparis* (Orchidaceae). *Plant Syst. Evol.* 166: 1-9.
- Sood, S.K. 1992. Embryology of *Malaxis saprophyta* with comments on the systematic position of *Malaxis* (Orchidaceae). *Plant Syst. Evol.* 179(1-2): 95-105.
- Soto-Arenas, M.A. 2005. *Laelia*. Pp.265–271 in: Pridgeon A.M., Cribb, P.J. Chase, M.W. & Rasmussen, F.N. (eds.) *Genera Orchidacearum*, Vol. 4. Oxford: Oxford University Press.
- Soto-Arenas, M.A., Salazar G. & van Den Berg, C. 2007. New combinations in *Domingoa*, *Homalopetalum* (Orchidaceae: Laeliinae) and *Nemaconia* (Orchidaceae: Ponerinae). *Neodiversity*, 2: 7–9.
- Stenzel, H. 2000. Pollen morphology of the subtribe Pleurothallidinae Lindl. Orchidaceae. *Grana*, 39: 108-125.
- Sterling, C. 1974. Comparative morphology of the carpel in the Liliaceae: *Baeometra*, *Burchardia* and *Walleria*. *Bot. J. Linn. Soc.* 68:115-125.

- Sterling, C. 1977. Comparative morphology of the carpel in the Liliaceae: Uvularieae. *Bot. J. Linn. Soc.* 74: 63-69
- Sterling, C. 1978. Comparative morphology of the carpel in the Liliaceae: Hewardieae, Petrosavieae and Tricyrteae. *Bot. J. Linn. Soc.* 77:95-106.
- Stern W.L. & Carlsward, B.S. 2009. Comparative vegetative anatomy and systematics of Laeliinae (Orchidaceae). *Bot. J. Linn. Soc.*, 160: 21-41.
- Stern, W.L., Cheadle, V.I. & Thorsch, J. 1993. Apostasiads, systematic anatomy, and the origins of Orchidaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 111: 411-455.
- Stüber, K. 1999. Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz in Wort und Bild für Schule und Haus. Gera –Untermhaus de Thomé, O. W. 1885-1905. Formato digital. <http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/thome/index.html> (Consultado: 1 de abril de 2009).
- Swamy, B.G. 1948. Vascular anatomy of orchid flowers. *Bot. Mus. Leaf. Harv. Univ.* 13: 61-95.
- Swamy, B.G. 1949. Embryological studies in the Orchidaceae, II. Embryogeny. *Amer. Mid-land Natur.* 41: 202-232.
- Swanson, E.S., Cunningham, W.P. & Holman, R.T. 1980. Ultrastructure of glandular ovarian trichomes of *Cypripedium calceolus* and *C. reginae* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 67(5): 784-789.
- Swarts N.D & Dixon K.W. 2009. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Ann. Bot.*104: 543–556.

- Swartz, O. 1800. Afhandling on orchidemes slægter och deras systematiska indelning. *Kongl Vetenskaps Academiens Nya Handlingar* 21:115-138.
- Swofford, D.L. 2002. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4.0b10. – Sunderland, Sinauer Associates.
- Szlachetko, D.L. 1994. Genera and species of the subtribe Spiranthinae (Orchidaceae). II *Cocleorchis* and *Warscea*. Two new genera of the *Cyclopogon* complex. *Fragm. Flor. Geobot.* 39(2):555-562.
- Szlachetko, D.L. 1995. Systema orchidalium. *Fragm. Flor. Geobot. Supplementum* 3: 1-152.
- Trapnell, D.W. & Hamrick, J.L. 2006. Floral display and mating patterns within populations of the neotropical epiphytic orchid *Laelia rubescens* (Orchidaceae). *Am. J. Bot.* 93(7): 1010-1018.
- Tremblay R.L. 1991. Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: evolution and systematics. *Can. J. Bot.* 70: 642-650.
- van Den Berg, C. & Chase, M. W. 2005. Nomenclatural notes on Laeliinae. IV. New combinations in *Laelia* and *Sophronitis*. *Kew Bulletin*, 59: 565–567.
- van Den Berg, C. & Chase, M.W. 2000. Nomenclatural notes on Laeliinae. I. *Lindleyana*, 15: 115–119.
- van Den Berg, C. & Chase, M.W. 2001. Nomenclatural notes on Laeliinae. II. Additional combinations and notes. *Lindleyana*, 16: 109–112.

- van Den Berg, C. & Chase, M.W. 2004. A chronological view of Laeliinae taxonomical history. *Orchid Digest*, 68: 226–254.
- van Den Berg, C. 2001. Nomenclatural notes on Laeliinae-III. Notes on *Cattleya* and *Quisqueya*, and a new combination in *Prosthechea*. *Lindleyana*, 16(3): 142-143.
- van Den Berg, C. 2008. New combinations in the genus *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae). *Neodiversity*, 3: 3-12.
- van Den Berg, C., Goldman, D.H., Freudenstein, J.V., Pridgeon, A.M., Cameron, K.M. & Chase, M.W. 2005. An overview of the phylogenetic relationships within Epidendroideae inferred from multiple DNA regions and recircumscription of Epidendreae and Arethuseae (Orchidaceae). *Amer. J. Bot.* 92(4): 613-624.
- van Den Berg, C., Higgins, W.E., Dressler, R.L., Whitten, W.M., Soto-Arenas, M.A., Culham, A. & Chase, M.W. 2000. A phylogenetic analysis of Laeliinae (Orchidaceae) based on sequence data from nuclear transcribed spacers (ITS) of ribosomal DNA. *Lindleyana*, 15(2): 96–114.
- van Den Berg, C., Higgins, W.E., Dressler, R.L., Whitten, W.M., Soto-Arenas, M.A. & Chase, M.W. 2009. A phylogenetic study of Laeliinae (Orchidaceae) based on combined nuclear and plastid DNA sequences. *Ann. Bot.* 104: 417–430.
- van der Pijl, L. & Dodson, Ch. 1966. *Orchid flowers: their pollination and evolution*. University of Miami Press, Miami.
- van der Schoot, C., Dietrich, M.A., Storms, M., Verbeke, J.A. & Lucas, W.J. 1995. Establishment of a cell-to-cell communication pathway between separate carpels during gynoecium development. *Planta* 195: 450-455.

- Vermeulen, P. 1965. The place of *Epipogium* in the system of Orchidales. *Acta Bot. Neerl.* 14: 230-41.
- Vermeulen, P. 1966. The System of the Orchidales. *Acta Bot. Neerl.* 15: 224-253.
- Vermeulen, P. 1966. The System of the Orchidales. *Acta Bot. Neerl.* 15: 224-253.
- Veyret, Y. 1981. Quelques aspects du pistil et de son devenir chez quelques Sobraliinae (Orchidaceae) de Guyane. *Bull. Mus. natn. Hist. Nat. Adansonia*: 1:75-83.
- Walker, D.B. 1975. Postgenital carpel fusion in *Catharanthus roseus* III. Fine structure of the epidermis during and after fusion. *Protoplasma* 86: 43-63.
- Whitten, W.M., Williams, N.H. & Chase, M.W. 2000. Subtribal and generic relationships of Maxillarieae (Orchidaceae) with emphasis on Stanhopeinae: Combined molecular evidence. *Amer. J. Bot.* 87(12): 1842-1856.
- Withner, C.L. 1998. The Cattleyas and their relatives: *Brassavola*, *Encyelia*, and other genera of México and Central America. Ed. Timber Press. Portland, Obregon.
- Wolter, M. & Schill, R. Ontogenie von pollen, massulae und pollinien bei den Orchideen. *Trop. Subtrop. Pfl.* 56:1-93
- Wyatt, R. & S. R. Lipow. 2007. A new explication for the evolution of pollinia and loss of carpel fusion in *Asclepias* and the Apocynaceae S.L. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 94: 474-484.
- Yeung, E.C. 1987. Development of pollen and accessory structures in orchids. In: J. Arditti (ed.), *Orchid biology, reviews and*

perspectives, 4: 193–226. Comstock, Cornell University Press, Ithaca, NY.

Yoshizawa, N., Watanabe, N., Yokota, S. & Toshinaga, I. 1993. Distribution of guaiacyl and syringyl lignins in normal and compression wood of *Buxus microphylla* var. *Insularis* Nakai. *IAWA Journal* 14(2): 139-151.

Zappi, D.C. 1995. Nomenclatural notes on some *Cattleya* and *Laelia* species (Orchidaceae). *Kew Bull.* 50(2): 423-425.

Zavada, M.S. 1990. A contribution to the study of pollen wall ultrastructure of Orchid pollinia. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 77(4): 785-801.