

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MILENA DO CARMO SANTOS

ANATHALLIS BARB.RODR. *s.str.* (ORCHIDACEAE: PLEUROTHALLIDINAE) PARA
O ESTADO DO PARANÁ E ESTUDOS FLORAIS NO GÊNERO

CURITIBA

2015

RESUMO

O gênero *Anathallis* compreende cerca de 140 espécies, distribuídas nos trópicos. Pertence à subtribo Pleurothallidinae, uma das mais numerosas dentro da família Orchidaceae. Para o Brasil são identificadas cerca de 75 espécies válidas, destas, 26 são citadas para o Paraná. Trabalhos filogenéticos dentro da subtribo veem sendo realizados entretanto o gênero *Anathallis* ainda necessita de maiores estudos e sua circunscrição atual é controversa devido á baixa amostragem e uso de marcadores pouco variáveis. Com o intuito de aumentar o conhecimento do gênero, este projeto propõe um estudo taxonômico inédito para o estado do Paraná, área de grande ocorrência de espécies, incluindo descrições, ilustrações, mapas e chaves de identificação. Adicionalmente será realizado estudos sobre a superfície floral utilizando a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), que em trabalhos recentes demonstraram uma grande variedade estrutural existente nas superfícies das pétalas, sépalas e principalmente do labelo dessas plantas, auxiliando na identificação e aumentando os números de caracteres para diferenciação de complexos de espécies.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae é considerada a segunda maior família do reino vegetal, onde existem aproximadamente 736 gêneros, que constantemente vêm sofrendo modificações em sua classificação (Chase *et al.* 2015).

A distribuição geográfica das orquídeas é bem ampla sendo encontradas em todos os continentes, entretanto sua maior concentração ocorre em climas tropicais e é nos trópicos que elas exibem uma grande variedade de formas e cores (Hoehne 1940). Devido à grande adaptação morfológica das flores, observa-se o sucesso evolutivo dessas plantas no grande número de gêneros e espécies pertencentes à família (Hoehne 1940).

Segundo Pabst e Dungs (1975; 1977), o Brasil possui cerca de 2.350 espécies pertencentes à família Orchidaceae distribuídas em 200 gêneros. Os últimos levantamentos demonstraram um aumento deste número para aproximadamente 2.553 espécies para o território brasileiro, sendo distribuídos em 238 gêneros (Barros *et al.* 2015).

A subtribo Pleurothallidinae contém ca. 4.100 espécies neotropicais distribuídas em aproximadamente 40 gêneros (Pridgeon 2005), o que representa ca. 16% das Orchidaceae. São caracterizadas em sua grande maioria por apresentar crescimento simpodial, ausência de pseudobulbos, presença de ânulos nos caules unifoliados e uma articulação entre o pedicelo e o ovário (Pridgeon & Chase 2003; Van den Berg *et al.* 2005). O subgênero foi descrito com base no número de polínias – oito, seis, quatro ou duas (Luer 1986).

A inflorescência é geralmente composta por flores simples ou recemosas, emergentes com uma bráctea especializada em varias espécies formando uma espata. As três sépalas são geralmente similares e vários aspectos como conação e adnação podem ocorrer. Duas das três pétalas presentes são análogas entre si, porém com modificações que podem caracterizar as diferentes espécies. O labelo é a pétala mais modificada, pode apresentar lobos, calos e diversas adaptações que auxiliam na identificação da espécie e no processo de polinização cruzada (Luer 1986). A coluna é o órgão mais modificado, podendo se apresentar de diversas formas, sendo através dela reconhecido diversos subgêneros dentro de *Pleurothallis* (Luer 1986).

Através de dados moleculares, foi identificado que a subtribo Pleurothallidinae forma um grupo monofilético posicionado dentro da tribo Epidendreae (Van den Berg *et al.* 2005). Diversos trabalhos filogenéticos com a subtribo vêm sendo realizados, as mais recentes revisões da classificação (Pridgeon & Chase 2001; Pridgeon 2005), basearam-se basicamente nos resultados dos estudos moleculares realizados por Pridgeon *et al.* (2001b), onde

analisaram amostras de 185 das ca. 4.100 espécies do grupo, utilizando-se uma região nuclear e 58 táxons para uma análise de três regiões plastidiais.

Vários dos resultados obtidos por Pridgeon *et al.* (2001b) concordaram com as classificações baseadas em morfologia citadas por Luer (1986), entretanto, em alguns casos a diferença foi tão expressiva que gerou uma série de críticas (Luer 2002; Stenzl 2004). Um estudo realizado por Karremans *et al.* (2013), que se baseia em evidências do genoma nuclear (nrITS), demonstraram que os gêneros *Anathallis* Barb. Rodr., *Pabstiella* Brieger & Senghas, *Pleurothallis* R.Br. e *Stelis* Sw., não são monofiléticos, de acordo com os resultados obtidos várias espécies do gênero *Anathallis* parecem possuir maior afinidade com *Stelis* do que com outras espécies de *Anathallis* (Chiron *et al.* 2012; Karremans 2014). Demonstrando assim, a necessidade de maiores estudos com os gêneros pertencentes à subtribo.

O gênero *Anathallis*, foi descrito por João Barbosa Rodrigues em 1877, com base em duas espécies brasileiras: *Anathallis fasciculata* Barb.Rodr. (= *A. obovata* (Lindl.) Pridgeon & M.W.Chase) e *Anathallis racemosa* Barb.Rodr. (= *Anathallis acuminata* (Kunth) Pridgeon & M.W. Chase). Apesar de não se saber exatamente o número de espécies pertencentes ao gênero, Karremans (2014) estima que exista cerca de 140 espécies dentro de *Anathallis* sensu stricto distribuídas nos trópicos americanos. Segundo Barros *et al.* (2015) existem cerca de 94 espécies de *Anathallis* para a flora brasileira, das quais 78 são endêmicas, entretanto as espécies recentemente transferidas para os gêneros *Stelis* e *Lanksteriana* (Karremans *et al.* 2013; Karremans 2014) não estão sendo contabilizadas.

Estudos recentes realizados por Karremans *et al.* (2013) e Karremans (2014), com base em análise do nrITS, demonstraram que as espécies de *Anathallis* incluídas por Luer (1999) em *Pleurothallis* subgen. *Acuminatia* sect *Acuminatae* Luer, estão mais relacionadas ao gênero *Stelis* do que a outras espécies de *Anathallis*. Devido a esse dado, foi proposto por Karremans (2014) que todas as espécies desse grupo fossem transferida para o gênero *Stelis*.

Com os novos rearranjos genéricos realizados por Karremans (2013, 2014) restam no Brasil aproximadamente 74 espécies válidas de *Anathallis*. O gênero tem uma alta complexidade em seus diversos agrupamentos. Como há uma enorme falta de revisões taxonômicas para esse grupo, necessita-se de uma análise detalhada tanto molecular, quanto morfológica e nomenclatural das espécies de *Anathallis*, com o intuito de contribuir para a solução dos problemas de identificação que ocorrem no gênero.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) vem sendo utilizada em vários trabalhos como Nunes *et al.* (2014) com *Bulbophyllum* Thouars e Ignowski (in prep) com *Stelis* Sw, com o intuito de obter um número maior de caracteres florais e elucidar a homologia entre

estas estruturas. Este tipo de abordagem vem demonstrando que a diversidade estrutural das flores em relação à superfície das sépalas, pétalas e, principalmente, do labelo, é muito mais variável e informativa do que quando observada apenas no microscópio estereoscópico.

Dessa forma o presente trabalho tem como objetivo a realização de um levantamento florístico e tratamento taxonômico das espécies do gênero *Anathallis* para o estado do Paraná utilizando da microscopia eletrônica de varredura para contribuir para o reconhecimento da flora local assim como, para o entendimento da morfologia e conseqüentemente das relações entre as espécies do gênero de maneira mais ampla.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

O estado do Paraná localiza-se na Região Sul brasileira, tendo nos limites o estado de São Paulo ao Norte, Santa Catarina ao Sul, Mato Grosso ao oeste e a orla o oceano atlântico ao leste (Maack 2012). Situa-se numa posição interessante sobre o ponto de vista fitogeográfico, mesclando elementos tropicais e subtropicais em sua flora, com isso é considerado dentro dos estados brasileiros mais ricos em termos de biodiversidade (Labiak 2014).

O Paraná é um estado que se caracteriza por apresentar um relevo distinto, constituído basicamente por escarpas e planaltos, sendo dividido em cinco tipos: Litoral, Serra do Mar, primeiro planalto, segundo planalto e terceiro planalto (Maack 2012). Segundo a classificação de Köppen, o Paraná se enquadra nos tipos climáticos Cfa (subtropical) com verões quentes e Cfb (temperado) com verões frescos, com temperatura média inferior a 18°C no mês mais frio e superior a 22°C no mês no mais quente (Caviglione *et al.* 2000).

PESQUISA DE CAMPO

O levantamento de campo será realizado através de expedições de coleta em locais definidos previamente, levando em consideração as áreas onde foram coletadas as exsicatas do gênero *Anathallis* para o estado bem como a visita de prováveis locais de ocorrência, ainda pouco amostrados. O material coletado será herborizado segundo especificações de Fidalgo & Bonnoni (1984). Nas coletas, serão observados e anotados dados biológicos como: períodos de floração, habitats preferenciais e características ambientais das áreas de ocorrência, os

quais servirão de base para complementar a caracterização das espécies em estudo e para construção de mapas de distribuição geográfica das mesmas.

ANÁLISE DO MATERIAL BOTÂNICO

A análise do material será realizada a partir das ilustrações, descrições e também das exsicatas de diversos herbários, principalmente o MBM (Herbário do Museu Botânico Municipal) e o UPCB (Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná) no estado do Paraná, nos estados vizinhos de Santa Catarina e São Paulo (SPF, SP) e também os principais herbários nacionais no estado do Rio de Janeiro (R, RB, Bradeanum), sendo incluídos nas análises caracteres qualitativos e quantitativos. Os caracteres serão escolhidos com base na observação da diversidade morfológica encontrada nos órgãos vegetativos (rizoma, pseudobulbo e folha) e reprodutivos (inflorescência, flores, sépalas, pétalas, labelo, coluna e polinário). A terminologia empregada na descrição dos caracteres e seus respectivos estados serão extraídos de Luer (1986), Harris & Harris (1999), Stearn (2004).

ELABORAÇÃO DAS CHAVES DE IDENTIFICAÇÃO, MAPAS DE DISTRIBUIÇÃO E STATUS DE CONSERVAÇÃO

A chave analítica para o estado e a descrição das espécies será elaborada, a partir da análise morfológica de exsicatas, das coletas realizadas em campo bem como dos resultados obtidos por MEV. A distribuição geográfica dos táxons no estado do Paraná será mapeada através do programa DIVA-GIS 7.5 (Hijmans *et al.* 2012), a partir dos pontos de coleta presentes nas exsicatas, e pelo estudo levantado em campo.

Para a padronização das descrições será utilizado o programa Open DELTA (Dallwitz *et al.* 2013). O estado de conservação de cada táxon será inferido seguindo as recomendações do sistema IUCN (2013) utilizando o programa GEOCAT (Bacman 2011) levando em consideração o número de localidades, área, extensão e qualidade do habitat.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As amostras das flores inteiras e das estruturas florais separadas (sépalas, pétalas e labelo) serão armazenadas em álcool 70% e submetidas à desidratação em séria etílica até

álcool absoluto e posteriormente secas via ponto crítico com CO₂ no aparelho Bal-Tec CPD 030, afixadas em suportes metálicos com fita de cobre adesiva e metalizadas com ouro através do metalizador (MED 010 da Balzers) para análise em MEV JEOL JSM – 6360LV Scanning Electron Microscope (JEOL Ltd, Tokyo, Japan), no Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR. Paralelamente, as amostras herborizadas serão reidratadas segundo a técnica de Smith & Smith (1942) e armazenadas em álcool 70% para aplicação do processo anteriormente descrito.

VIABILIDADE DE EXECUÇÃO

O projeto a ser realizado não conta com grandes problemas que possam impedir a consolidação do mesmo. Este é integrante do projeto “Estudos filogenéticos e taxonômicos em Pleurothallidinae e Oncidiinae clado Ornithocephalus (Orchidaceae)”, PVE-CAPES-2014-2017 (Proposta 235621), valor R\$106.752,80, com isso os instrumentos necessários para a identificação do material coletado e realização do MEV já se encontram na instituição de estudo onde o projeto será realizado. No Laboratório de Sistemática de Fanerógama, serão realizadas as identificações dos espécimes e no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UPCB) serão depositadas as exsiccatas.

PREVISÃO DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Estima-se que sejam divulgados os dados preliminares em congresso Nacional de Botânica na forma de pôsteres e realizados trabalhos de tratamentos taxonômicos como “Flora de Fanerógamas do Paraná – *Anathallis* Barb. Rodr. (Orchidaceae)” a ser enviado para a revista *Rodriguésia* (Qualis B3), “Estudos florais em *Anathallis* Barb. Rodr. (Orchidaceae)” a ser enviado para a revista *Plant Systematics and Evolution* (Qualis B1), entre outras publicações que venham a surgir.

REFERÊNCIAS

- Bachman S, Moat J, Hill AW, Delatorre J, Scott B. 2011. Supporting Red List Treat assessments wit GeoCAT: geospatial conservation assessment tool. In: Smith V, Penev L. (eds.) e-Infrastructures for data publishing in biodiversity science. Zookeys. p. 117-126.
- Barros F, Vinhos F, Rodrigues VT *et al.* 2015. Orchidaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>. (Acesso em: 22 Abr. 2015)
- Caviglione JH, Kiihl LRM, Caramori PH *et al.* 2000. Cartas climáticas do Paraná – edição 2000. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná.
- Chase MW, Cameron KM, Freudenstein JV *et al.* 2015. An updated classification of Orchidaceae *Botanical Journal of the Linnean Society*. 177: 151–174.
- Chiron GR, Guiard J, Van den Berg C. 2012. Phylogenetic relationships in Brazilian *Pleurothallis sensu lato* (Pleurothallidinae, Orchidaceae): evidence from nuclear *ITS* nrDNA sequences. *Phytotaxa* 46: 34–58.
- Dallwitz MJ, Paine TA, Zurcher EJ. 2015 Principles of Interactive Keys. <http://delta-intkey.com/www/interactivekeys.pdf> (Acessado em: 27 Abr. 2015)
- Dressler LR. 1993. Phylogeny and Classification of the Orchid Family. Portland: Dioscorides.
- Fidalgo O, Bononi VL. 1984. Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico. Vol.4. Instituto de Botânica, São Paulo.
- Harris JG, Harris MW. 1999. Plant identification terminology: an illustrated glossary. Spring Lake Publishing, Utah.
- Hijmans RJ, Guarino L, Bussink C *et al.* 2012. DIVA-GIS: A geographic information system for the analysis of species distribution data. Versão 7.5. <http://www.diva-gis.org/>. (Acesso em: 27 Abr. 2015).
- Hoehne FC. 1940. *Orchidacea* In: Hoehne FC. (ed.) Flora Brasílica. São Paulo: Secretaria da agricultura, Indústria e Comércio de São Paulo. 12: 1-254.

IUCN. 2003. Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional Levels: Version 3.0. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Karremans AP, Bakker FT, Pupulin F, Solano-Gomez R, Marinus JM, Smulders MJM. 2013. Phylogenetics of *Stelis* and closely related genera (Orchidaceae: Pleurothallidinae). *Plants Systematic Evolution*. 299: 151–176.

Labiak PHE. 2014. Aspectos fitogeográficos do Paraná. In: Kaehler M, Goldenberg R, Labiak PHE, Ribas OS, Vieira AOS, Hatdchbach GG. *Plantas vasculares do Paraná*. Curitiba: Departamento de Botânica p. 7-22.

Luer C A. 1986. *Icones Pleurothallidarum I: Systematics of the Pleurothallidinae*. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. 15: 29–34.

Luer CA. 2002. A systematic method of classification of the Pleurothallidinae versus a strictly phylogenetic method. *Selbyana* 23(1): 57–110.

Maack, R. 2012. *Geografia física do Estado do Paraná*. 4th eds. Ponta Grossa: Editora UEPG

Nunes ELP, Smidt EC, Stützel T, Coan AI. 2014. What do floral anatomy and micromorphology tell us about Neotropical *Bulbophyllum* section *Didactyle* (Orchidaceae: Bulbophyllinae)? *Botanical Journal of the Linnean Society*. 175: 438-452.

Pabst GFJ, Dungs F. 1975. *Orchidaceae Brasilienses*. Vol. I. Hildesheim: Kurt Schmersonw.

Pabst GFJ, Dungs F. 1977. *Orchidaceae Brasilienses*. Vol. II. Hildesheim: Kurt Schmersonw.

Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW, Rasmussen FN. 1999. *Genera Orchidacearum*. Vol. I. New York: Oxford University.

Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW, Rasmussen FN. 2001a. *Genera Orchidacearum* Vol. II. *Orchidoideae (Part One)*. Oxford University, Oxford.

Pridgeon AM, Solano R, Chase MW. 2001b. Phylogenetic relationships in Pleurothallidinae (Orchidaceae): combined evidence from nuclear and plastid DNA sequences. *American Journal of Botany* 88(12): 2286–2308.

Pridgeon AM, Chase MW. 2003. Phylogenetics of The subtribe Pleurothallidinae (Epidendreae: Orchidaceae) based on Combined Evidence from DNA Sequences. *Lankesteriana* 7: 49-50.

Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW, Rasmussen FN. 2005. *Genera Orchidacearum*. Vol.4. Epidendroideae (Part One). Oxford University, Oxford.

Smith FH, Smith EC. 1942. Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *American Journal of Botany*. 29: 464-471.

Stern WT. 2004. *Botanical Latin*. Timber press. Oregon.

Stenzel H. 2004. Systematics and evolution of the genus *Pleurothallis* R. Br. (Orchidaceae) in the Greater Antilles. Dissertation Thesis. Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I der Humboldt- Universität zu Berlin.

Toscano de Brito ALV, Cribb P. 2005. *Orquídeas da Chapada Diamantina*. São Paulo: Nova Fronteira.

Van den Berg C, Goldman DH, Freudenstein JV, Pridgeon AM, Cameron KM, Chase MW. 2005. An overview of the phylogenetic relationships within Epidendroideae (Orchidaceae) inferred from multiple DNA regions and recircumscription of Epidendreae and Arethuseae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 92: 613–624.