



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Estrategias reproductivas de la orquídea
Epidendrum xanthinum Lindl., en la Cordillera
Occidental, Valle del Cauca

Julián Camilo Farfán Camargo

Universidad Nacional de Colombia
Facultad Ciencias, Departamento Biología
Bogotá, Colombia

2008

Estrategias reproductivas de la orquídea
Epidendrum xanthinum Lindl., en la Cordillera
Occidental, Valle del Cauca

Julián Camilo Farfán Camargo

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al
título

Magister en Ciencias Biológicas

Director (a):

Ph.D., Biología Joel Tupac Otero

Línea de Investigación:

Biodiversidad y Conservación

Grupo de Investigación:

En Orquídeas, Ecología y Sistemática Vegetal

Universidad Nacional de Colombia

Facultad Ciencias, Departamento Biología

Bogotá, Colombia

2008

(Dedicatoria o lema)

A mis padres

A mi abuelita Lucia

Agradecimientos

A mis padres por el apoyo incondicional durante mis años de estudio.

A mi director Dr. Tupac Otero, no sólo por sus grandes aportes académicos, sino por brindarme su ayuda incondicional, su amistad y por su constante interés en la elaboración de éste proyecto.

A la Universidad Nacional de Colombia por haberme brindado un espacio para mi formación académica.

Al Dr. Raymond Tremblay por sus consejos sobre ecología de orquídeas y enseñanzas en metodologías para el estudio de éstas.

A Valentín por que su compañía y por su gran ayuda que hicieron mas agradable la estadía en la Reserva de Yotoco.

A las familias Otero-Flanagan y Suárez por acogerme en sus hogares durante mis estadías en Cali.

A Nelson Camargo, Gladys Galindo por haberme brindado su apoyo incondicional, hacerme parte de su familia y haber acogido en su hogar durante los años que viví en Bogotá.

Al Profesor Jaime Aguirre por sus acertados consejos.

A Luis Antonio González, por la determinación de los Lepidopteros.

Resumen

Se estudiaron aspectos de la historia de vida de la orquídea *Epidendrum xanthinum*, como biología reproductiva, demografía y reproducción asexual. Esta especie es dependiente del polinizador para producción de frutos, registrándose su polinización por nueve especies de Lepidópteros diurnos, atraídos mediante un sistema de engaño alimenticio, por ende la producción de frutos es baja (1-3%); situación que podría ser compensada con estrategias como floración durante todo el año, relativa baja especificidad en los polinizadores, gran cantidad semillas por fruto. En los sitios estudiados no hubo aporte de individuos por reclutamiento pero si gran producción de vástagos aéreos. Conesiderando que los tamaños poblacionales son relativamente grandes, hipótetizamos que esta orquídea además de tener una amplia adaptabilidad a condiciones ambientales fluctuantes, una estrategia de reproducción mixta (sexual y asexual) puede ayudarle notablemente a incrementar su valor adaptativo.

Palabras clave: Ecología, Orchidaceae, Epidendrum, biología reproductiva, demografía, polinización. :

Abstract

Reproductive strategies of the orchid *Epidendrum xanthinum* were studied, such as reproductive biology, demography and related aspects with asexual reproduction. The species depends on pollinator for fruit production. Nine diurnal butterfly pollinator were recorded. They were attracted to the flowers by a food deceive system. The fruit production percentage were low (1-3%), nevertheless it is compensated with several strategies such as all year blossom, relatively low pollinator specificity and high seed production per fruit. New recruitment or

migration individuals were no recorded on the census; nevertheless, the population size were relatively high. In consequence we developed the hypothesis that *E. xanthinum*, has a broad adaptation to changing environmental conditions and a mixture of reproductive strategies including sexual and asexual reproduction. A little production of clones would help to increase their fitness with a great impact on the population dynamics.

Keywords: Ecología, Orchidaceae, Epidendrum, biología reproductiva, demografía, polinización. :

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras	XIII
Lista de tablas	XIV
Introducción	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
Especie de estudio	5
1. Capítulo 1: Biología Reproductiva de Epidendrum xanthinum Lindl., en dos sitios de la cordillera Occidental (Valle del Cauca).	7
1.1 Objetivos	9
1.2 Métodos	10
1.3 Resultados.....	12
1.3.1 Morfología Floral.....	12
1.3.2 Sistema reproductivo.....	15
Tabla 1-1: Porcentaje de producción de frutos (“fruit set”) para los tratamientos.....	15
1.3.3 Mecanismo de polinización y polinizadores.....	16
Tabla 1-2: Especies polinizadoras de <i>E. xanthinum</i> observadas en dos sitios del Valle del Cauca.....	19
1.3.4 Producción de frutos “fruit set”	19
1.4 Discusión	21
2. Capítulo 2. Aspectos generales de la demografía de <i>Epidendrum xanthinum</i> en dos sitios de la cordillera occidental en el departamento del valle del cauca.....	29
2.1 Métodos	30
2.1.1 Censos.....	32
2.1.2 Calculo básico de parámetros demográficos.....	33
2.1.3 Germinación “in situ”	35
2.2 RESULTADOS	37
2.2.1 Estructura demográfica:	37
2.2.2 Ciclo de vida de <i>E. xanthinum</i>	38
2.2.3 Estructura de la Población y Abundancia	39
Tabla 2-1: Individuos censados en las parcelas de estudio.....	39

2.2.4	Simulaciones en el software RAMAS Ecolab:	41
2.3	DISCUSION.....	44
3.	Capítulo 3 Aproximación a la reproducción asexual en la orquídea <i>Epidendrum xanthinum lindl.</i>, en dos sitios de la cordillera occidental de Colombia, valle del cauca.....	49
3.1	Objetivos	51
3.2	Métodos	51
3.2.1	Censos:.....	52
3.3	Resultados.....	54
Tabla 3-1:	Resumen del censo de Vástagos aéreos.....	56
3.4	Discusión	57
4.	Conclusiones	61
4.1	Conclusiones	61
4.2	Recomendaciones.....	63
A.	Anexo: A	65
B.	Anexo: Nombrar el anexo B de acuerdo con su contenido	67
	Bibliografía	69

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Inflorescencia de <i>E. xanthinum</i>	13
Figura 1-2: Flor de <i>E. xanthinum</i> , teñida (rojo neutro) para resaltar estructuras. 14	14
Figura 1-3: Polinizador <i>Actinote equatoria</i> con polinarios en la probóscide....	17
Figura 1-4: <i>Actinote equatoria</i> polinizando <i>Epidendrum xanthinum</i>	18
Figura 1-5: Hesperidiidae (<i>Chioides catillus</i>) polinizando <i>Epidendrum xanthinum</i> . 18	18
Figura 2-1: a, Plántula (Tomado de Zotz 1998); b, planta adulta.	31
Figura 2-2: Modelo de matriz de proyección, en amarillo esta la diagonal principal (Pij), los otros valores corresponden a un cambio de estado (Gij); sombreado en rojo esta el valor de fecundidad.	34
Figura 2-3: Estructura por clases de edad en los dos sitios de estudio.	37
Figura 2-4: Modelo del ciclo de vida para <i>Epidendrum xanthinum</i> ; P: plántula, J= juvenil; A+=adulto Fértil, A0=Adulto vegetativo; F= tasa de Fecundidad.	38
Figura 2-5: Simulación del crecimiento con valor de F= 1.463, obtenido con el método de Tremblay y Hutchings (2002). Tiempo en años (eje x); abundancia en miles de individuos (eje y).	42
Figura 2-6: Simulación de crecimiento poblacional para el Sitio 1. Tiempo en años (eje x). F=0.03325; $\lambda = 1.0007$	43
Figura 2-7: Simulación de crecimiento poblacional para el Sitio 2. Tiempo en años (eje x). F=0.03325; $\lambda = 1.0007$	43
Figura 3-1: Vástagos aéreos (<i>Keiki</i>), con sistema radicular desarrollado.	54
Figura 3-2: Resultados de proyección de la matriz poblacional, con diferentes valores de aporte de vástagos aéreos	56
Figura 3-3: Resultados de simulación de la proyección de la matriz poblacional, con diferentes valores de aporte de vástagos aéreos	57

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1: Porcentaje de producción de frutos (“fruit set”) para los tratamientos. 15	
Tabla 1-2: Especies polinizadoras de <i>E. xanthinum</i> observadas en dos sitios del Valle del Cauca.....	19
Tabla 1-3: Producción de frutos o “fruit set” en los dos sitios estudiados.	20
Tabla 1-4: Estimación del número de semillas en 5 frutos.	20
Tabla 1-5: Literatura encontrada sobre polinización de la subtribu Laeliinae.....	25
Tabla 2-1: Individuos censados en las parcelas de estudio.....	39
Tabla 2-2: Estructura demográfica para los dos sitios al comienzo del estudio.	40
Tabla 2-3: Probabilidades de Abundancias de individuos en el censo final, al cabo de un año (t+1), para el sitio 1.....	40
Tabla 2-4: Probabilidades de Abundancias de individuos en el censo final, al cabo de un año (t+1), para el sitio 2.....	41
Tabla 3-1: Resumen del censo de Vástagos aéreos.	56

Nota: si es necesario es posible incluir una lista de cuadros, en caso que se utilicen en el desarrollo de la tesis o trabajo de investigación.

Introducción

Este documento consta principalmente de dos partes. Al principio la primera parte corresponde a los capítulos introductorios es decir justificación, objetivos y una descripción del área de estudio. La segunda parte corresponde a tres capítulos en formato de publicación científica, que constituyen el núcleo del documento y cada uno es derivado de los objetivos planteados en la primera parte. Estos tres capítulos incluyen sus propios objetivos, métodos, resultados, discusión y literatura citada. Adicional a estos capítulos se incluyen en otros apartados información que complementa el documento.

Epidendrum xanthinum es una de las especies más frecuentes de orquídeas en Colombia entre 1000 y 2000 metros, pero poco es conocido de sus rasgos de vida. Consideramos que es una especie apta para estudios de rasgos de vida dado sus grandes tamaños poblacionales lo que facilita el hacer experimentos de biología reproductiva y el seguimiento de individuos.

El primer aspecto que se estudio es el de cómo ocurre la reproducción sexual en condiciones naturales y como es la interacción con los polinizadores. Los principales aspectos de la ecología de la polinización son presentados en el capítulo 1.

Dado que se observo baja producción de frutos, se procedió a estudiar la estructura demográfica de la especie, para de esa forma inferir el posible efecto de la baja producción de frutos en la estructura demográfica, esto se presenta en el capítulo 2.

Finalmente como se observo que esta especie está limitada en cuanto a producción de frutos y tiene una baja tasa de reclutamiento, se hizo una aproximación para medir el aporte de la reproducción asexual en la especie, de esto trata el capítulo 3.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Colombia es uno de los países más diversos en especies de orquídeas a nivel mundial (con más de 3500 especies), pero debido a la pérdida de hábitat y su distribución restringida, muchas de sus especies se encuentran en alto riesgo de extinción (Calderón 1997), y existen muy pocos estudios relacionados con su ecología. Conocer los mecanismos que permiten a algunas orquídeas tener tamaños poblaciones relativamente grandes aún en zonas intervenidas y con disturbio, podría ayudar a entender los procesos relacionados con las dinámicas poblacionales dentro de la familia Orchidaceae. De otra parte, los mecanismos de reproducción sexual han jugado un papel decisivo en la evolución y diversificación de la familia ya que son factores importantes en determinar el flujo genético entre poblaciones (Tremblay et al. 2005).

Las orquídeas en general presentan una tendencia a formar poblaciones de tamaños limitados (Neiland y Wilcok 1998), las causas aunque no son constantes para todas las especies, están asociadas a una amplia gama de variables, tales como una limitación en la polinización, baja producción de frutos, limitación de recursos, requerimientos de hábitat (Tremblay et al. 2005) y alta especificidad por hongos micorrízicos apropiados (Otero et al. 2002, 2004). Debido a la poca información disponible en ecología de orquídeas colombianas y a su importancia en procesos evolutivos, este trabajo pretende evaluar las estrategias reproductivas tanto sexuales como asexuales en poblaciones de la orquídea modelo *Epidendrum*

xanthinum Lindl., que le permiten presentar tamaños poblacionales relativamente grandes en zonas intervenidas del Valle del Cauca.

OBJETIVO

Analizar rasgos reproductivos de la historia de vida de la orquídea *Epidendrum xanthinum* Lindl., en dos sitios de la Cordillera Occidental de Colombia en el departamento del Valle del Cauca, debido a que logra mantener grandes tamaños poblacionales.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Generar conocimientos sobre la ecología de la polinización de *E. xanthinum* Lindl., en dos sitios de la Cordillera Occidental en el departamento del Valle del Cauca.

Analizar la demografía de *E. xanthinum* Lindl., en dos sitios de la Cordillera Occidental en el departamento del Valle del Cauca.

Conocer la reproducción asexual (vegetativa) en *E. xanthinum* Lindl. en dos sitios de la Cordillera Occidental en el departamento del Valle del Cauca.

AREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en dos sitios de la cordillera Occidental de Colombia (vertiente oriental) en el Departamento del Valle del Cauca.

El sitio 1 de estudio, se encuentra cerca del corregimiento de El Saladito, en la vereda la vuelta el Cerezo; está localizado cerca de la vía Cali- Buenaventura, en las coordenadas 3°28'12" N, 076°35'22" O, a 1340 m de altitud aproximadamente. El clima (datos de la estación climática del aeropuerto de Cali), de la zona presenta

una temperatura media de 26°C, con un mínimo promedio de 19°C y un máximo promedio de 34°C. La precipitación media anual es de 950 mm, presentándose un régimen bimodal, siendo los meses más lluviosos desde abril a mayo y desde septiembre a noviembre y los meses de menor precipitación van de diciembre a febrero y de junio hasta agosto. La vegetación circundante a las parcelas esta dominada por gramíneas, aunque también es frecuente la presencia de otras hierbas en especial de Asteraceas.

El sitio 2 se localiza en la Reserva Natural bosque de Yotoco y es propiedad de la Universidad Nacional de Colombia, tiene una extensión de 559 hectáreas y esta localizada entre 1200 y 1850 m de altitud. La temperatura media anual de 20 °C, y presenta una precipitación media anual de 1130 mm, el régimen es bimodal similar al del sitio 1. Las parcelas se localizan en las coordenadas 03°53'07 N 076°25'52 W, a 1580 m de altitud aproximadamente. Aunque la zona cuenta con mosaicos de vegetación en los que destaca el bosque de transición subtropical seco-húmedo, la vegetación circundante a las parcelas de estudio está compuesta en su mayoría por plantas de bajo porte, siendo el helecho marranero (*Pteridium aquilinum*) la especie dominante. Aunque también es frecuente la presencia de gramíneas, se debe mencionar que en su mayoría el suelo es desnudo, quizás debido a condiciones de pH que dificultan el establecimiento de otras especies.

Aunque ambos sitios están en la vertiente oriental de la Cordillera Occidental y son relativamente cercanos, las condiciones climáticas son diferentes. El sitio 1 es más seco, tiene una precipitación media anual menor y una temperatura media anual mayor que el sitio 2. Esto se ve reflejado en la vegetación presente, ya que el sitio 1 esta dominado por gramíneas y herbáceas mientras que el sitio 2 está en una zona de talud, rodeada por elementos arbóreos.

Especie de estudio

El género *Epidendrum* fue establecido por Linneo (1754), pertenece a la subfamilia Epidendroideae, acorde al sistema de clasificación de Dressler (1993). Está distribuido desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina y altitudinalmente se encuentra desde el nivel del mar hasta 3500 m de altura. Se estima está conformado por más de 1000 especies (Hágsater 200X), las que son morfológicamente muy variables. La mayoría de plantas presentan tallos tipo caña, no obstante hay especies con pseudobulbos, vegetativamente son muy variables las especies, no obstante la flor es más estereotipada: los caracteres diagnósticos del género son flores con el labelo soldado a la columna, la presencia de cuatro polinarios y una hendidura en el rostelo. A pesar de la gran diversidad del género poco es conocido de la ecología de las especies, los estudios son escasos y hacen referencia a aspectos relacionados con la polinización, en especial sobre mecanismos.

Epidendrum xanthinum Lindl., pertenece al complejo de *E. secundum* Jacq., el cual está conformado por un conjunto de especies afines, con numerosos problemas taxonómicos. En consecuencia la base de datos del International Plant Name Index (www.ipni.org) la considera un taxón válido, pero la del Missouri Botanical Garden (www.tropicos.org) la relega a sinónimo de *E. secundum* Jacq., de otra parte Hágsater (com. Pers.) afirma que es un taxón válido, razón por la cual para el presente trabajo se ha considerado como válido.

Epidendrum xanthinum también es conocida para Ecuador, Brasil, Venezuela. En Colombia se conoce de las tres cordilleras, en zonas de clima medio entre 900-2100 m de altitud; ésta especie se desarrolla bien en bordes de carretera y sitios con vegetación dominada principalmente por gramíneas y herbáceas. Además se ha observado que tiene tamaños poblacionales grandes y que florece durante todo

el año (acorde a la revisión de ejemplares fértiles en las colecciones del Herbario Nacional Colombiano y Herbario Federico Medem).

En el Anexo A, se presenta una planta de *E. xanthinum*, en la cual se aprecia morfología general como son tallos tipos caña, ramificados principalmente en la base, con un rizoma muy corto y apretado, las hojas se encuentran distribuidas a lo largo del tallos y son coriáceas a ligeramente carnosas. La inflorescencia es terminal, en panícula, con numerosas flores de color amarillo, diferente a otras especies del complejo de *E. secundum*, el color de las flores es constante.

1. Capítulo 1: Biología Reproductiva de *Epidendrum xanthinum* Lindl., en dos sitios de la cordillera Occidental (Valle del Cauca).

Las orquídeas están entre las familias de plantas más ricas en especies y son muy reconocidas por su gran diversidad floral y complejas adaptaciones para los polinizadores (Cozzolino y Widmer 2005, Dodson y VanDer Pijl 1966; Van Der Cingel 2001: Darwin 1877 citado en Tremblay et al 2005). Las orquídeas presentan dos tipos de sistemas de polinización: aquellos que ofrecen una recompensa al polinizador, el más común es de tipo nutricional como el néctar, ocasionalmente polen y pseudopolen, aunque también hay otros tipos de recompensas como ceras, aceites, y fragancias; estas últimas, de gran importancia para las orquídeas polinizadas por machos de abejas Euglossini (Dressler 1993, Otero y Sandino 2003); el otro tipo de sistema es de engaño y puede ser de tipo nutricional o sexual (Jersakova, Johnson y Kindlmann 2006; Tremblay et al 2005). Ya que la agamospermia es poco frecuente en orquídeas, la forma más empleada de cuantificar la reproducción sexual es midiendo la producción de frutos (Calvo 1990, Neiland y Wilcock 1998). Sin embargo, el porcentaje de fructificación no es necesariamente un buen indicador del valor adaptativo (fitness), por que los frutos difieren no solo en la cantidad de semillas sino en la calidad de estas (viabilidad y vigor) de acuerdo con la cantidad y calidad del polen depositado en los estigmas. En general todas las orquídeas no autogamas presentan una baja producción de frutos, pero es aun menor en las especies que presentan algún tipo de polinización por engaño que aquellas que ofrecen recompensa (Tremblay et al 2005, Neiland y Wilcock 1998). De esa forma, Neiland y Wilcock (1998) encontraron que en estudios realizados con 117 especies de orquídeas de todo el mundo, la producción de frutos en orquídeas sin néctar es más baja (usualmente <50%) que

en orquídeas nectaríferas. La mayoría de las especies estudiadas presentan sistemas de polinización basados en engaño alimenticio (Jersakova, Johnson y Kindlmann 2006; Tremblay et al 2005; Neiland y Wilcock 1998).

Los factores limitantes de la polinización en orquídeas son diversos y están ligados a la planta, al polinizador (abundancia, frecuencia, efectividad), al hábitat y a las interacciones entre éstos, de esa forma se determina la composición de las poblaciones lo cual desempeña un importante papel en su evolución (Cozzolino y Widmer 2005). El primer paso para entender mejor cuales son las limitaciones de la producción de frutos, es realizar un abordaje desde la planta, ya que esta puede tener barreras fisiológicas y genéticas que impidan la formación de frutos. En consecuencia, la identificación del sistema reproductivo ayudara a comprender mejor la biología reproductiva de la especie que se estudia; básicamente los sistemas sexuales en plantas, pueden ser de dos tipos: auto-compatibles o auto-incompatibles; en cambio los asexuales incluyen la reproducción vegetativa como la agamosperma (Niklas 1997). Los sistemas auto-incompatibles promueven la polinización cruzada, de esa forma buscan mantener una mayor diversidad genética y evitar la depresión por endogamia.

La baja producción de frutos en muchas especies de orquídeas tiene consecuencias sobre los tamaños poblacionales (Calvo 1990), además como la carga genética esta dada por pocos individuos, hace que estos determinen las diferencias genéticas entre y dentro de las poblaciones. Tremblay y Ackerman (2001) plantean que como muchas especies tienen tamaños poblacionales reducidos y los eventos reproductivos son raros, se dé una gran diferenciación genética entre poblaciones aisladas, dando paso a la deriva genética para la pérdida y fijación de alelos; lo cuál, combinado con la selección natural, ayuda a explicar mucha de la gran diversidad existente en la familia. Otro modelo evolutivo de especiación propuesto para orquídeas polinizadas por atracción sexual, donde hay una alta especificidad planta-polinizador; y como en especies cercanas los compuestos activos de fragancias florales son similares (ejemplo los géneros *Ophrys* spp. y *Chiloglottis* spp.), es posible que si estas tienen bases genéticas simples, pequeñas mutaciones generen fragancias nuevas debidas a pequeños

cambios en la expresión de genes, lo cual llevaría a un aislamiento reproductivo, dando lugar a especiación simpátrica (Cozzolino y Widmer 2005). Sin embargo este modelo implica que haya pleiotropía en los genes de fragancias florales o que haya mutación en otros genes para que se dé el proceso de cladogenesis. Además Otero y Flanagan (2005), sugieren que dada la dependencia de las semillas de orquídeas de los hongos micorrizicos para poder germinar, la diversificación en la familia también está encaminada no sólo por el engaño sino también por la especificidad de las micorrizas y deriva genética de las poblaciones aisladas reproductivamente.

El género *Epidendrum* L., es uno de los géneros más diversos de orquídeas, contando con más de 1000 especies, que están distribuidas desde el Sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina, pero con una mayor concentración de especies en los Andes entre 1000 y 3000 m de altitud; a pesar de su gran diversidad, aspectos sobre su biología y ecología son limitados y conocidos para tan solo algunas especies.

1.1 Objetivos

Describir la morfología floral de *Epidendrum xanthinum*.

Identificar el sistema reproductivo de *Epidendrum xanthinum*.

Describir el mecanismo de polinización de *Epidendrum xanthinum* e identificar sus polinizadores.

Medir la producción de frutos “fruit set” en los dos sitios de estudio.

1.2 Métodos

Para describir la morfología floral se seleccionaron al azar 2 flores de 20 individuos diferentes de *E. xanthinum* en los dos sitios de estudio (10 individuos en cada sitio) para posteriormente analizarlas en el laboratorio. Las flores frescas se llevaron junto con su inflorescencia en recipientes plásticos al laboratorio de entomología de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira y con la ayuda de un estereoscopio, agujas de disección y una cuchilla se disectaron para describir los rasgos morfológicos relevantes en la polinización de orquídeas, determinar si las flores poseían recompensas florales (néctar, ceras, pseudopolen, etc.) que pudieran ayudar a conocer más sobre el proceso de polinización.

Para evaluar el sistema reproductivo en *E. xanthinum* en cada sitio se modificaron los protocolos de Dafni (1992). se procedió a seleccionar al azar 21 inflorescencias (una por individuo) en temprano estado de desarrollo (botones), luego estas fueron aisladas en bolsas de tul de ojo de malla de 0.4 mm, de esa forma se eliminó el efecto de los polinizadores naturales. Posteriormente, con las flores abiertas para las polinizaciones manuales y emasculación se empleó un alambre delgado para manipular los polinios, los tratamientos elaborados fueron autogamia (se polinizó con los polinios de la misma flor), xenogamia (ó polinización cruzada, usando polen de otro individuo), para la emasculación solo se procedió a retirar los polinarios y marcar las flores tratadas con una cinta delgada y un control el cual consistió en no manipular las flores embolsadas. El objetivo de la emasculación es evidenciar la agamospermia. Realizados los tratamientos se volvió a embolsar las inflorescencias para evitar efectos de predación o alteración por parte de vectores externos y éstas siguieron hasta su máximo desarrollo posible (marchitamiento o producción de frutos). Pasados 2-3 meses las bolsas se abrieron para el conteo de frutos o flores secas (control). Se realizó una prueba de Chi-cuadrado para ver si había diferencias entre la producción de frutos de los dos tratamientos que produjeron frutos (autogamia y xenogamia).

Para describir el mecanismo y los agentes de polinización de *E. xanthinum*, se realizaron observaciones directas en los dos sitios de estudio, desde las 08:00 hasta las 16:00 horas, durante los meses de marzo y abril para el sitio 1, junio y septiembre para el sitio 2, totalizando 80 horas de observación en cada sitio. Allí se registraron las visitas y el comportamiento de los visitantes, en muchos casos estos fueron fotografiados y capturados con una red entomológica, luego se procedió sacrificarlos manualmente y el material se etiquetó y empacó en sobres de papel mantequilla para su transporte hasta el Instituto de Ciencias Naturales, donde fue determinado por especialistas. Sólo se consideraron polinizadores a los individuos que durante su visita lograron remover polinarios, los otros insectos solo se consideraron visitantes. No se realizaron observaciones nocturnas debido a la ausencia de fragancias incluso en horas de la noche, lo cual se ha observado es típico en orquídeas polinizadas por lepidópteros nocturnos, no obstante durante 4 días en horas de la tarde se marcaron 15 inflorescencias para hacer seguimiento de si había remoción de polinarios, para esto se dejaron cerradas en bolsas de tela y se abrieron durante toda la noche hasta a las 7 am del día siguiente, y se revisó si habían sido removido polinarios.

Para medir el “fruit set” se contabilizó la producción total de flores entendida como la suma de flores abiertas y del total de cicatrices florales en los pedicelos florales aún verdes (Calvo 1990), y se contabilizó el número de frutos producidos por planta; para todos los individuos encontrados en 10 parcelas de 4 m² (2m X 2m) para cada sitio.

Para estimar la cantidad de semillas por fruto, se modificó la metodología de Nazarov y Gerlach (1997). En una balanza analítica se procedió a pesar el total de semillas para 5 frutos, colectados al azar. Posteriormente se tomaba una porción de semillas, la cual se pesaba y luego era diluida en 50 cc de agua con una gota de detergente líquido. Luego en cajas de petri se vertían 1.5 cc de la solución y con la ayuda de un estereoscopio binocular se contaban el total de semillas observadas

en dicha muestra, se hacían 10 repeticiones para cada muestra. Dicha información se extrapolo para calcular el total de semillas por fruto.

1.3 Resultados

1.3.1 Morfología Floral

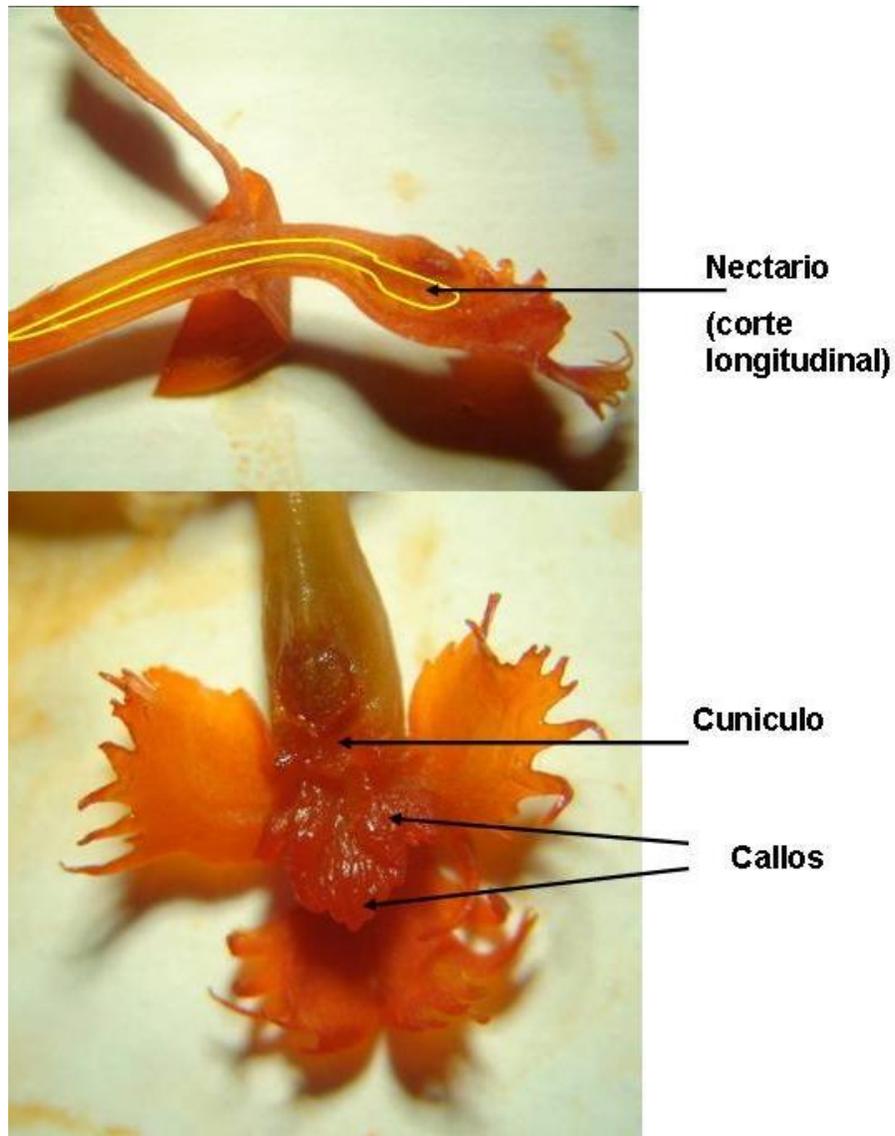
Epidendrum xanthinum, tiene una inflorescencia terminal, en panículas usualmente densas, que pueden tener hasta 150 flores, ver figura 1-1; además puede producir inflorescencias adicionales en los raquis viejos. Las flores son de tamaño medio para el género, de 20 mm de ancho y 15 mm de largo; se presentan como flores no resupinadas, el ovario es pedicelado, bastante largo en proporción a la flor y en la base esta protegido por una pequeña bráctea triangular, ver figuras 1-1 y 1-2. Se observo que en algunas inflorescencias hay presencia de néctar en la base del ovario, el néctar se deposita en pequeñas gotas, las cuáles sirven de alimento a hormigas y avispas (*Pepsis* sp.) que las visitan con bastante frecuencia, no obstante estas especies solo son visitantes de las inflorescencias ya que no logran remover los polinios. Los sépalos y pétalos son amarillos cuando jóvenes y a medida que llegan a la senescencia el color se vuelve más intenso, incluso en muchos casos las columnas y el labelo se torna rojizo. El labelo es trilobado y se encuentra paralelo y fusionado a la columna, los márgenes de los lobos son conspicuamente fimbriados, el lobo central es auriculado con la porción apical conspicuamente emarginada y en la base sobresalen 5 callos piramidales (2 a cada lado y 1 en el centro; Figura 1-2). El labelo al estar soldado a la columna en el ápice forma una entrada semicircular llamada cunículo (Dressler 1993), esta cavidad tubular se proyecta por la parte inferior del ovario hasta casi la base de éste, a modo de nectario; no obstante, no se evidencio la presencia de néctar. La

columna es ligeramente clavada con la antera en posición dorsal y los márgenes del rostelo rodean en su gran mayoría a la antera permitiendo únicamente el acceso solo a ésta por una pequeña hendidura central; la antera posee 4 polinios amarillos, ovoideos ligeramente comprimidos lateralmente, cerosos y unidos por una caudícula amarilla, la cual tiene restos de polen abortivo; el estigma es ventral y pegajoso, lo cual ayuda a fijar el polen. No se observó protandria la cual se ha evidenciado en otras orquídeas de la subfamilia epidendroideae.

Figura 1-1: Inflorescencia de *E. xanthinum*.



Figura 1-2: Flor de *E. xanthinum*, teñida (rojo neutro) para resaltar estructuras.



Los frutos son ovoideos, de color verde-morado o amarillo-morado cuando maduros, dehiscentes. El tiempo de desarrollo de éstos varía entre 3 y 4 meses, pasado ese periodo de tiempo se abren y las semillas son dispersadas por el viento.

1.3.2 Sistema reproductivo

En la Tabla 1, se presentan los resultados de los tratamientos realizados para la identificación del sistema reproductivo, se evaluaron 63 flores de 14 inflorescencias para autogamia, 61 flores de 15 inflorescencias para xenogamia, 55 flores de 12 inflorescencias fueron emasculadas y 292 flores de 12 inflorescencias para control. La tabla muestra el respectivo porcentaje de “fruit set”, y en paréntesis se indica el número total de frutos obtenidos y de flores manipuladas.

Tabla 1-1: Porcentaje de producción de frutos (“fruit set”) para los tratamientos.

Tratamiento	Producción de Frutos (%)	Flores Tratadas	Frutos obtenidos
Autogamia	63.5	63	40
Xenogamia	73.77	61	45
Emasculación	0	55	0
Control	0	292	0

Solo se compararon los tratamientos de autogamia y xenogamia por que fueron los únicos que produjeron frutos. La comparación se hizo mediante una prueba de Chi-cuadrado; como solo se tenía 1 grado de libertad, se realizo una corrección de Yates de continuidad (Sokal y Rohfl 1981). Los resultados encontrados ($\chi^2=0.188$; $\alpha=0.05$) se encuentran en el Anexo B; y nos llevan a aceptar la hipótesis nula, en este caso nos indica que no hay diferencias en la formación de frutos entre autogamia y xenogamia.

1.3.3 Mecanismo de polinización y polinizadores

En total se observaron 31 individuos (Lepidoptera) polinizadores para *E. xanthinum* correspondientes a 9 especies. La Tabla 2, presenta en cada sitio de muestreo las especies polinizadores y el número de veces observadas, aquellas especies que no se pudieron capturar se presentan como morfoespecies, identificadas a familia. Los polinizadores más frecuentes fueron *Urbanus dorantes* (figura 1-1) y *Actinote equatoria* (Ver figuras 1-3 y 1-4), totalizando un 35.5% y 22.6% del total de las visitas registradas respectivamente. No obstante entre sitios si se observo una diferencia entre el número de visitas y los polinizadores, en el sitio 1 se observaron 6 especies polinizadoras mientras que en el sitio 2 se observaron 7. Los polinizadores tuvieron variación entre sitios tanto en frecuencia como en especies (Ver Tabla 2), para el sitio 1 además de las dos especies mencionadas juega un papel importante en la polinización *Chioides catillus* (Ver Figura 1-5), en cambio en el sitio 2 el otro polinizador de gran actividad registrado fue *Polites vibes*. Los polinizadores presentaron una actividad entre las 9:40 am hasta la 1:55 pm, pero el pico de actividad (cerca de la mitad de las visitas) se observo entre las 11 am y las 12 del medio día, ese comportamiento estaba muy ligado a condiciones climáticas, siendo los momentos soleados cuando eran más activos.

La polinización ocurre cuando la mariposa se posa en la inflorescencia (en otra flor), desenrolla su probóscide y la introduce en el cunículo, posteriormente después de un corto periodo de tiempo (menos de 3 segundos), procede a retirarla, si la flor tiene polinarios estos se adhieren a la superficie ventral de la probóscide, lo que dificulta su extracción del cunículo, entonces se ve obligada a empujar vigorosamente el cuerpo hacia atrás, logrando desprender los polinarios de la

columna y los remueve de la flor. En algunos casos el lepidóptero probaba en otras flores de la misma inflorescencia, también era frecuente que se retiraba volando y si se acercaba a otra inflorescencia de *E. xanthinum* la evitaba y ocasionalmente se observó que se alejaba de la inflorescencia y procedía a limpiar la probóscide.

No se encontraron remoción de polinarios en las inflorescencias que se dejaron abiertas durante la noche.

Figura 1-3: Polinizador *Actinote equatoria* con polinarios en la probóscide.



Figura 1-4: *Actinote equatoria* polinizando *Epidendrum xanthinum*.



Figura 1-5: Hesperidae (*Chioides catillus*) polinizando *Epidendrum xanthinum*.

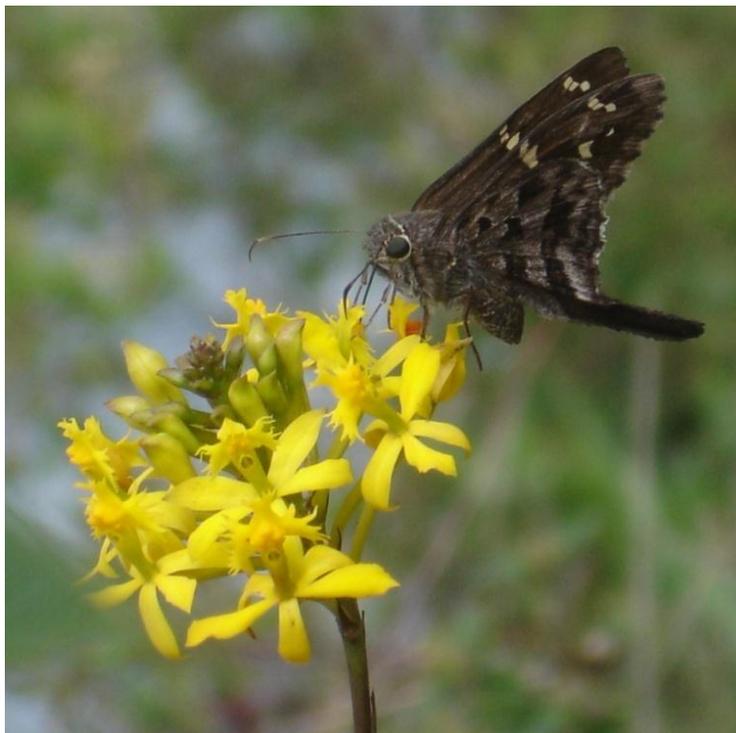


Tabla 1-2: Especies polinizadoras de *E. xanthinum* observadas en dos sitios del Valle del Cauca

Especie de polinizador (Lepidopteros)	Sitio 1: Saladito (# Visitas Registradas)	Sitio 2: Yotoco (# Visitas Registradas)
<i>Actinote equatoria</i>	5	2
<i>Actinote ozomene</i>	1	1
<i>Chioides catillus</i>	4	-
<i>Polites vives</i>	-	2
<i>Urbanus dorantes</i>	8	3
Morfoespecie 1 (Hesperiinae)	1	1
Morfoespecie 2 (Hesperiinae)	-	1
Morfoespecie 3	1	-
Morfoespecie 4	-	1
TOTAL	20	11

1.3.4 Producción de frutos “fruit set”

Se encontró que la tasa de producción de frutos es muy baja, 1.26% para las parcelas localizadas en Cali y 3.1% para las de Yotoco (Tabla 3).

Tabla 1-3: Producción de frutos o “fruit set” en los dos sitios estudiados.

	Flores	Cicatrices	Flores totales	Frutos	“fruit set” (%)
Sitio 1: Cali	1176	2781	3957	50	1.26
Sitio 2: Yotoco	441	1234	1675	52	3.1

La tabla 4 muestra el estimado de semillas para 5 frutos de *Epidendrum*. La cantidad de semillas es variable y está ligada al tamaño de los frutos, no obstante es alta (promedio de 100.337 semillas; DS 23.742) y la tasa de semillas sin embrión y que se consideraron no viables es relativamente baja (promedio de 5.3%). Se encontró gran variación entre el peso de los frutos y la cantidad de semillas y estas variables estaban correlacionadas positivamente (Coeficiente de Pearsons 0.9946).

Tabla 1-4: Estimación del número de semillas en 5 frutos.

Frutos	Peso Neto Semillas (gr)	Estimado de Semillas por fruto
Fruto 1	1.714	135102
Fruto 2	1.324	110663
Fruto 3	1.217	107037
Fruto 4	0.946	82104
Fruto 5	0.729	66780
Promedio	851.335	100337.2
Desv. Estándar	713.86	23742.9

1.4 Discusión

Los tratamientos que evaluaron el sistema reproductivo de *Epidendrum xanthinum* demostraron que aunque la especie es autocompatible es dependiente del polinizador para la formación de frutos. Para orquídeas de la subtribu Laeliinae, los estudios existentes muestran autocompatibilidad para casi todas las especies estudiadas (excepto una) (Tabla 5); por ende, se asume que ésta es una condición frecuente en la subtribu y no sería un factor que limite la formación de frutos. Tampoco en estos trabajos (Tabla 5) ni en *E. xanthinum*, se reporta la formación de frutos por agamosperma, condición poco frecuente y presente en algunas poblaciones de especies de orquídeas y que está dada en función de factores genéticos y de condiciones ambientales extremas (Schmidt y Antlfinger 1992).

Las inflorescencias de *E. xanthinum* presentan nectarios extraflorales visitados frecuentemente por avispas y hormigas, estas estructuras son reportadas en *Epidendrum denticulatum* (Almeida y Figueredo 2003), en esta especie se evidenció que la atracción de las hormigas es una estrategia de protección que favorece el valor adaptativo (*fitness*) de la planta al proteger las estructuras reproductivas de la herbivoría. Considerando que la predación de botones, flores y frutos es rara en ambos sitios de estudio no se descarta que los nectarios extraflorales cumplan esta misma función en la especie de estudio.

La no resupinación de la flor podría desempeñar un papel importante en el mecanismo de la polinización, ya sea por que la posición del labelo y del cunículo favorece la remoción de los polinarios y/o por que las flores vecinas sirven de plataforma para el polinizador.

En las flores disectadas, aunque el cunículo es muy profundo (Figura 1), no se evidenció néctar, ni otro tipo de recompensa floral; esto unido al hecho de visitas de periodos muy cortos por flor (menos de cinco segundos), nos llevan a inferir que es un mecanismo de polinización por engaño. Esto también se había sugerido para especies cercanas (Dodson y VanDer Pijl 1966; Van Der Cingel 2001; Pansarin y Amaral 2008). Aunque el néctar es la recompensa floral más común en orquídeas no es la única (Dressler 1993, VanDer Cingel 2001), por ejemplo para *Epidendrum paniculatum* se sugiere que los polinizadores son lepidópteros buscadores de alcaloides pirrolizadinos, las cuales son sustancias importantes en el cortejo y defensa de machos de mariposas (subfamilias Ithomiinae y Danainae) y de polillas (familias Arctiidae y Ctenuchidae) (DeVries y Stiles 1990) aunque dicho sistema de recompensa es poco mencionado en orquídeas, la evidencia respecto a la producción de estas sustancias podría no ser constante en todas las poblaciones, como ocurre en Brasil (Pansarin 2003). En este estudio no se hicieron pruebas para la detección de dichos alcaloides, porque *E. xanthinum* no presentaba las características observadas para *E. paniculatum*, asociadas a polinización por lepidópteros buscadores de estos alcaloides, es decir una fuerte fragancia, polinizadores de taxa específicos (principalmente Ithomiinae) y visitas de larga duración (DeVries y Styles 1990).

Los polinarios son cerosos y están firmemente unidos y adheridos a la caudícula, en consecuencia siempre son removidos en su totalidad; se considera que esto permite a los polinizadores (lepidópteros) entre visitas de *Epidendrum* ir a flores de otras plantas sin cambiar el destino del polen (Bierzychudek 1981), pero aunque es un sistema muy eficiente de transferencia (Tremblay 1992) no lo es para el transporte, ya que este no siempre llega a su destino, siendo mayor la tasa de remoción que la de formación de frutos en orquídeas epidendroideae no autogamas (Tremblay *et al* 2005), por que cuando los polinarios se pueden fragmentar en masulas como en orquídeas de la subfamilia Orchidoideae, un solo polinario puede polinizar varias flores a la vez (Singer *et al* 2007).

Aunque el género *Epidendrum* cuenta con más de 1000 especies y solo hay estudios para pocas de ellas, se puede asumir que la polinización por lepidópteros (psychofilia y esphingofilia) podría ser más frecuente en el género, tal como lo sugiere Dodson y Van Der Pijl (1966). Ellos solo reportan dos especies de lepidópteros para *E. secundum* (*Urbanus proteus* y *Papilio polyxemes*) y colibríes, nosotros encontramos nueve especies de lepidópteros, uno en común (*Urbanus proteus*) pero nunca registramos como polinizadores a colibríes, a pesar que estos eran muy frecuentes en las zonas de estudio, ni tampoco a especies de Papilionidae, estos polinizadores tampoco son reportados para Brasil (Pansarin y Amaral 2008).

De las teorías que tratan de explicar la evolución y persistencia de la polinización por engaño la que más soporte tiene es la de favorecer la polinización cruzada, especialmente cuando los polinizadores son comunes por que benefician la producción de semillas y la exportación de polen de mayor calidad (Jersakova *et al* 2006; Tremblay *et al* 2005). No obstante para cerca de la mitad de las visitas el polinizador visitó flores vecinas en la misma inflorescencia y después de la remoción de los polinarios no fue posible observar haciendo visitas a otros individuos, consideramos que el comportamiento de los polinizadores favorecía la geitonogamia, éste es uno de los principales factores que regula la producción de frutos y el "fitness" de *E. xanthinum*. De otra parte se considera en orquídeas que el comportamiento no solo afecta las oportunidades para el cruzamiento sino también la frecuencia y distancia sobre el flujo de genes determinando la estructura genética de la población Cozzolino y Widmer (2005).

Para la polinización de orquídeas de especies afines a *E. xanthinum* (morfológicamente), tales como de *E. secundum*, *E. ibaguense* y *E. radicans*, se ha sugerido que en Panamá y Centroamerica forman un complejo mimético con *Asclepias* (*Asclepia curassavica*) y *Lantana* sp., debido a la similitud en color, a la recompensa floral ofrecida por estas dos especies y por que las poblaciones están

solapadas (Boyden 1980; Van der Cingel 2001). No obstante en ninguno de los sitios de estudio se encontró *Asclepias* y aunque solo en el Sitio 1 se observaron algunas plantas de *Lantana*, estas eran escasas y no tenían un color similar (eran moradas) a las de *E. xanthinum*, adicionalmente la fructificación en este sitio fue menor, por lo tanto nuestros datos no permiten soportar esta teoría.

La información existente para orquídeas Laeliinae (tabla 5), muestra que es un grupo donde la polinización por engaño alimentario es frecuente, incluso en taxones no tan cercanos como *Pseudolaelia* y *Cattleya*, además éste el mecanismo mas común de engaño en orquídeas, presente en al menos unas 6500-9000 especies (Jersakova, Johnson y Kindlmann 2006, Dodson y VanDer Pijl 1966; ver también Neiland y Wilcock 1998; Dressler 1993).

Aunque se dice que la alta especificidad (entendida como una relación de una especie de planta a un polinizador) de polinizador es muy común en la familia Orchidaceae, debido a que cerca del 60% de especies solo se les ha reportado un solo polinizador (Tremblay 1992), recientes ideas han sugerido que no es tan alta la especificidad ni siquiera en orquídeas de engaño sexual y consideradas muy especializadas como *Ophrys* (Wasser et al 1996). Los datos existentes para el género *Epidendrum* presentan que éste no es específico sino se puede considerar promiscuo, por ejemplo para *E. paniculatum* DeVries y Styles (1990) se sugieren 21 especies de polinizadores mientras que Pansarin (2003) para la misma planta reporta 10 especies, para *E. secundum* Pansarin y Amaral (2008) reportan 23 especies de polinizadores y en *E. xanthinum* se observaron nueve especies y debido a que hubo diferencia de especies entre los dos sitios, podríamos considerar que la presencia de otras especies en otros sitios diferentes que presenten otras condiciones medioambientales.

Tabla 1-5: Literatura encontrada sobre polinización de la subtribu Laeliinae.

Autores	Especie de Orquídea	Sistema de Polinización	Número de especies de polinizadores	Fruit set (%)	Sistema reproductivo
Pansarin y Amaral, 2008	<i>Epidendrum secundum</i>	Engaño alimenticio	23 especies de lepidopteros	4.6, 6 y 7.5	Autocompatible, dependiente del polinizador
P. De Vries y F. Styles, 1990	<i>Epidendrum paniculatum complex.</i>	Recompensa: Alcaloides Pirrolizidine	21 Especies de Ithomiinae	Sin datos	Sin datos
Almeida y Figueredo, 2003	<i>Epidendrum denticulatum</i>	Posiblemente sea engaño	Posiblemente 2 especies de lepidopteros: <i>Heliconius erato</i> y <i>Euphyes leptosema</i>	0.076+- 0.156 0.035 +- 0.066	Sin datos
Pansarin, 2003	<i>Epidendrum paniculatum complex.</i>	Atraídos por fragancia. Al parecer Engaño no obstante no es claro.	10 Especies de Lepidopteros	Sin datos	Auto-Incompatible
Calvo, 1990	<i>Epidendrum exasperatum</i>	Sin datos	Solo menciona que es por Lepidopteros.	2%	Autocompatible, dependiente del polinizador
Borba y Braga, 2003	<i>Pseudolaelia corcovadensis</i>	Engaño alimenticio: mimetismo, se explota el comportamiento de forrajeo	1 especie (<i>Bombus atratus</i>)	18%	Autocompatible, dependiente del polinizador
Camargo et al, 2006	<i>Cattleya elongata</i>	Engaño alimenticio: mimetismo, se explota el comportamiento de forrajeo	1 Especie (<i>Bombus fervidobombus brevivillus</i>)	25%	Autocompatible, dependiente del polinizador
	<i>Cattleya tenuis</i>	Engaño alimenticio: mimetismo, se explota el comportamiento de forrajeo	1 Especie (<i>Bombus fervidobombus brevivillus</i>)	10%	Autocompatible, dependiente del polinizador

Ackerman J., 1989	<i>Encyclia krugii</i>	Engaño alimenticio	Sin datos	4% al 10%)	Auto-Incompatible
----------------------	------------------------	--------------------	-----------	---------------	-------------------

Los resultados obtenidos y la información existente nos hacen pensar que *Epidendrum*, debido a su morfología floral, puede explotar una amplia gama de polinizadores, en este caso un gremio. Esta condición le confiere ventajas al no depender de una o unas pocas especies de polinizadores, lo cual limitaría más su reproducción. Además considerando que los polinizadores aprenden a reconocer el engaño y consecuentemente a evitarlo, hipotetizamos que *Epidendrum* compensaría esta situación con una floración permanente durante todo el año para de esa forma poder aprovecharse del comportamiento exploratorio tanto de las nuevas generaciones de lepidópteros jóvenes e ingenuas, así como de aquellos que no pueden conseguir recursos suficientes por condiciones ambientales.

Los datos de producción de frutos (fruit set) en *E. xanthinum*, son muy bajos y corresponden a lo esperado para orquídeas neotropicales no autogamas con sistemas de polinización sin recompensas (Tremblay et al 2005). De otra parte se considera que un gran aporte de semillas puede contrarrestar la baja producción de frutos para asegurar la persistencia de las poblaciones; sin embargo podrían existir efectos potenciales de la producción de frutos en poblaciones de orquídeas, sobre la genética tanto de poblaciones como de especies (Calvo 1990). Además los efectos de la baja producción de frutos en orquídeas tropicales podrían estar mitigados con una producción de frutos constante y con un incremento en la longevidad de las plantas (Neiland y Wilckock 1998, Cozzolino y Widmer 2005). Como las semillas de las orquídeas requieren de un hongo micorrizico para su germinación y considerando que el establecimiento de plántulas, más que la producción de semillas, sea el factor determinante en el ciclo de vida de las orquídeas (Calvo 1993), consideramos que el papel de otros mecanismos que favorezcan el crecimiento y establecimiento de semillas tales como una baja especificidad del hongo micorrítico u otros mecanismos los que podrían mitigar los efectos de la baja producción de frutos y que conllevan a que tenga tamaños poblacionales relativamente grandes

2. Capítulo 2. Aspectos generales de la demografía de *Epidendrum xanthinum* en dos sitios de la cordillera occidental en el departamento del valle del cauca

La demografía es el estudio de la estadística de los nacimientos, muertes, enfermedades inmigración y emigración, en una población y de como éstas explican los cambios en sus abundancias a través del tiempo y del espacio (Caswell 1989). Los estudios de demografía tienen como objetivo usar los datos tomados en diferentes intervalos de tiempo para predecir el tamaño y comportamiento poblacional en un tiempo futuro (Tremblay y Hutchings 2002). También estos estudios son esenciales para un mejor entendimiento de las relaciones entre las plantas y la comunidad en la que ellas se encuentran (Zotz y Schmidt 2006), adicionalmente esta información se puede emplear para ayudar a conservacionistas en el desarrollo de decisiones apropiadas para el manejo de flora en paisajes alterados o fragmentados.

Las orquídeas en general presentan una tendencia a formar poblaciones de tamaños limitados (Neiland y Wilcok 1998), las causas aunque no son constantes para todas las especies, están asociadas a una amplia gama de variables, tales como una limitación en la polinización, baja producción de frutos, limitación de recursos, requerimientos de hábitat (Tremblay *et al.* 2005) y alta especificidad por hongos micorrízicos apropiados (Otero *et al.* 2002, 2004; Otero y Flanagan 2006).

Epidendrum xanthinum Lindl. es una especie frecuente en las Cordilleras colombianas en sitios de clima templado y que logra establecer poblaciones abundantes, por lo que consideramos es un buen modelo de estudio, ya que la

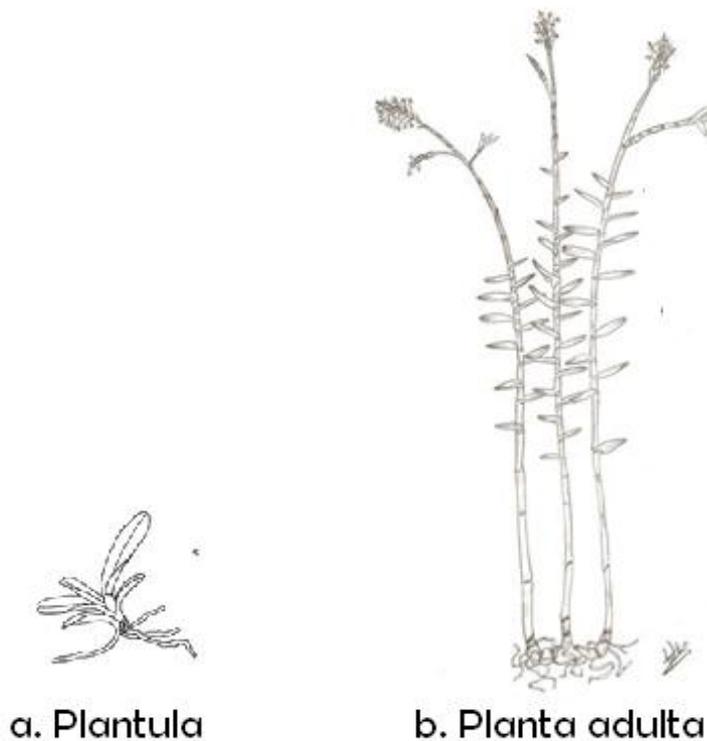
mayoría de orquídeas tienden a tener bajas densidades y tamaños poblacionales reducidos. Este estudio pretende conocer rasgos relevantes de la historia de vida, tales como la estructura demográfica en dos localidades de la cordillera occidental en el Valle del Cauca. Para ello específicamente realizamos las siguientes preguntas: ¿Cómo es el ciclo de vida de *E. xanthinum*? ¿Cómo es la estructura demográfica en dos sitios de estudio? ¿Cómo se comportan las poblaciones en estos dos sitios de estudio?.

2.1 Métodos

Epidendrum xanthinum, es una orquídea principalmente de hábito terrestre y litófito y ocasionalmente epífita, que se observa frecuentemente desde los 900 hasta 2000 m de altura en bordes y barrancos de carretera, en sitios con vegetación escasa o dominada por herbáceas y gramíneas. A pesar de ser una especie de hábito terrestre, no presenta fase de dormancia típica de otros grupos de orquídeas terrestres (Coates, Lunt y Tremblay 2006; Zotz y Schmidt 2006) y que se puede evidenciar en la presencia de estructuras como cormos, bulbos o raíces especiales. Esta es una orquídea perenne, con crecimiento simpodial, formando estructuras como macoyas, cada individuo (*genet*) estructuralmente corresponde a un conjunto de ramas (*ramets*), los cuales están unidos basalmente por un solo rizoma corto y sin otras ramificaciones terrestres, pero ocasionalmente producen vástagos vegetativos aéreos (*vástagos aéreos*) los cuales fisiológicamente y estructuralmente son individuos (adultos y juveniles), pero que permanecen unidos a la planta madre por tiempo indefinido y por lo tanto no son considerados en este estudio como individuos diferentes (Figura 1). Además los individuos con vástagos aéreos se incluyeron en una de las dos categorías de adultos, dada la conexión existente éstos los *ramets*.

La clasificación por estructura demográfica se hizo acorde al desarrollo en clases de estados, donde se identificaron básicamente 4 estados de desarrollo: a) Plántulas que corresponden a individuos que presentan internodos poco desarrollados y usualmente no superaban una altura de 5cm; b) Juveniles, que corresponde a todos los individuos con tallo desarrollado y usualmente más de una rama, pero nunca han florecido; Adultos, esta categoría es la más amplia e incluye a los individuos que han producido una inflorescencia en cualquiera de sus "ramets", en consecuencia pueden estar florecidos (A+) o en estado vegetativo (A0). Adicionalmente se observó otra categoría correspondiente a los individuos con vástagos aéreos o vástagos aéreos, no obstante esta fue incluida dentro de una de las anteriores.

Figura 2-1: a, Plántula (Tomado de Zotz 1998); b, planta adulta.



2.1.1 Censos

El trabajo se realizó en dos sitios de la Cordillera Occidental de Colombia, en el departamento del Valle del Cauca. Información sobre localización de los sitios se encuentra al principio del documento en el apartado de área de estudio.

En cada sitio de estudio se establecieron al azar 10 parcelas de 2x2 m² (40 m² para cada sitio), en cada parcela se censaron y etiquetaron todos los individuos presentes, se recopiló información referente al estado vegetativo y fitosanitario de los individuos, número de ramas y altura de cada una de estas, adicionalmente se tomaron otros datos como producción de frutos. El primer censo se realizó en el año 2007, en los meses de marzo-abril para las parcelas de El Saladito, y en mayo-junio para las localizadas en la reserva de Yotoco, los censos finales se realizaron en el año 2008 abril (El Saladito) y julio (reserva de Yotoco), previamente en octubre-noviembre se realizó un censo intermedio. Como es una planta perenne cuyas generaciones se sobrelapan y no es fácil ni conveniente establecer la edad de los individuos se clasificaron estos acorde a su estado de desarrollo (Calvo y Horvitz 1990, Calvo 1993; Tremblay y Hutchings 2002).

Aunque el concepto de población corresponde a un conjunto de individuos que están geográficamente cercanos y se pueden reproducir entre ellos (hay un flujo génico entre ellos), en ecología una forma práctica de determinar las poblaciones es considerar a los individuos presentes convenientemente en un sitio de estudio (Akçaya, Burgman y Ginzburg 1999). Por eso en algunos casos se emplea el término población para referirse a una subpoblación en un sitio de estudio.

2.1.2 Calculo básico de parámetros demográficos

La información de los censos se organizo en una matriz de proyección (Akçaya, Burgman y Ginzbug 1999; Tremblay y Hutchings 2002), ver figura 2. En esta se emplearon los valores de abundancias del primer (t) y último censo (t+1), de esa forma se obtuvieron las probabilidades de que un individuo cambiara de estado (G_{ij}) o permanecieran en el mismo estado (P_{ij}) entre el censo inicial y el final. En la matriz los valores de la diagonal principal (de arriba izquierda hasta abajo derecha, sombreados con amarillo en la figura 2) representan a P_{ij} , es la probabilidad que sobrevivan y permanezcan en ese estado entre el primer y el último censo (t y t+1); los valores por encima de la diagonal principal corresponden a la probabilidad de que los individuos regresen a un estado anterior, en cambio los valores por debajo de la diagonal corresponden a las probabilidades de los individuos de avanzar a la siguiente etapa de desarrollo. Los valores de la fila superior (excepto el la izquierda) corresponden a la tasa de reproducción, en nuestro caso solo se incluyo este valor para los adultos reproductivos fértiles (valor sombreado en rojo en la figura 2). Dentro de la matriz el valor dominante asociado a ésta (*eigen value*) corresponde biológicamente a la tasa de crecimiento poblacional, la cual es importante debido a que constituye una medida del promedio del valor adaptativo (*fitness*) de la población (Calvo 1993).

La tasa de fecundidad usualmente se estima como el cociente del número de plántulas nuevas (reclutas) sobre el número de todos los adultos potencialmente reproductivos durante un mismo periodo de tiempo (Akçaya, Burgman y Ginzbug 1999):

$$F(t) = \frac{\text{Reclutas}(t+1)}{\text{Adultos Fértiles}(t)}$$

Figura 2-2: Modelo de matriz de proyección, en amarillo esta la diagonal principal (P_{ij}), los otros valores corresponden a un cambio de estado (G_{ij}); sombreado en rojo esta el valor de fecundidad.

	Plántulas (t+1)	Juveniles (t+1)	Adultos Fértiles (t+1)	Adultos Vegetativos (A0) (t+1)
Plántulas	P _{ij}		F	
Juveniles	G _{ij}	P _{ij}		
Adultos Fértiles (A+)		G _{ij}	P _{ij}	G _{ij}
Adultos Vegetativos (A0)			G _{ij}	P _{ij}

No obstante como en ninguno de los sitios fue factible observar reclutas, se puso en práctica otro enfoque empleado en orquídeas y basado en la premisa que el numero de reclutas de una población esta correlacionado con el numero de frutos producido por las plantas en la población y es calculado como el cociente del número total de frutos sobre el número total de individuos fértiles, el cual fue aplicado por Tremblay y Hutchings (2002):

$$F(t) = - \frac{\text{Frutos producidos (t + 1)}}{\text{Adultos Fértiles (t)}} =$$

Se aclara que no fue factible trabajar la tasas de fecundidad relacionándola con el numero semillas, debido a que la cuantificación de inmigrantes y emigrantes en

especies con semillas tan pequeñas como las orquídeas es virtualmente imposible (Tremblay y Hutchings 2002); y adicionalmente la correlación entre el número de semillas con el número de plántulas es muy difícil de hacer por el periodo retardado de germinación (Calvo y Horvitz 1990).

Para analizar parámetros demográficos y hacer simulaciones sobre el comportamiento de la población se empleo el programa RAMAS Ecolab. Se trabajo con un modelo de crecimiento exponencial, no se incluyo estocasticidad demográfica y como en la mayoría de estudios de demografía de orquídeas se asume un crecimiento independiente de la densidad (Tremblay y Hutchings 2002). La proyección se realiza multiplicando la matriz por un vector, cuyos valores representan el número de individuos en cada clase en un tiempo t , y se obtiene la abundancia de estos para cada clase en el tiempo $t+1$ (Bierzychudek 1999). Es necesario enfatizar que las matrices se deben considerar como proyecciones, es decir algo que podría ocurrir a futuro en una población, si las tasas permanecieran sin cambio, en vez de una predicción, o sea algo que le ocurrirá a la población (Caswell 1989 citado por Bierzychudek 1999).

2.1.3 Germinación “in situ”

Para conocer más acerca de cómo ocurre la germinación “*in situ*”, se realizo un experimento que consistió en poner en 5 bolsas de tul un fruto dehiscente de *E. xanthinum* con sustrato que rodeaba a plantas adultas, dichas bolsas se monitoreaban durante el periodo fase de campo (un año), no obstante en campo fue factible cuantificar la cantidad de semillas, por que la idea era obtener un periodo aproximado de germinación.

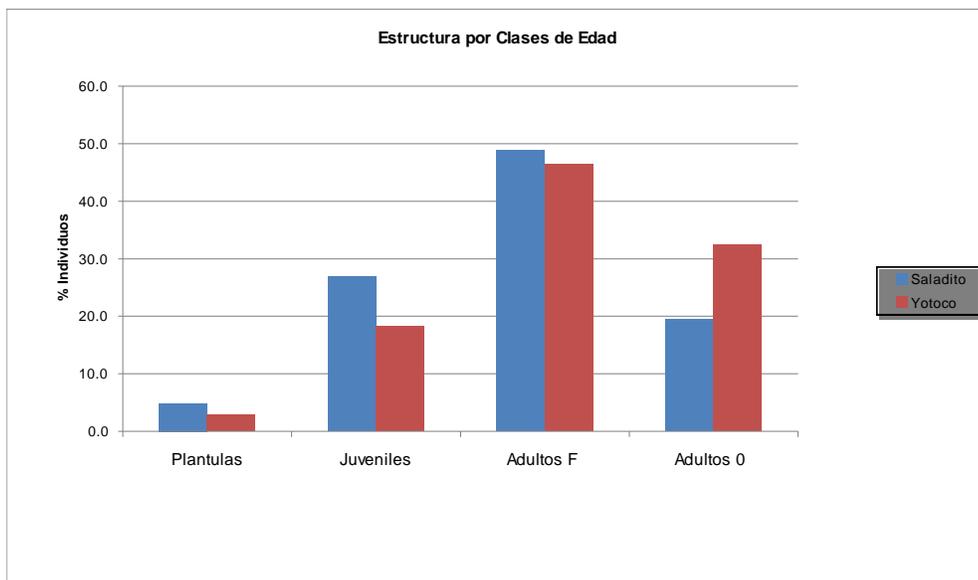
Otro enfoque para obtener una tasa de fecundidad aproximada se realizó con base en las observaciones del experimento de germinación “*in situ*”. De las 5 bolsas del experimento, solo en dos se observó la formación de protocormos de 2-3.5 mm de tamaño al cabo de 11 meses, en las otras no se observó ningún. Considerando que en cultivo “*in Vitro*” la formación de protocormos en híbridos de *Epidendrum ibaguense*, tarda aproximadamente 3 meses, y que la formación de plántulas se logra en 1.5-2 años, se estimó que las plántulas por su tamaño tendrían una edad aproximada de 3 años para el sitio 1.

2.2 RESULTADOS

2.2.1 Estructura demográfica:

La figura 3 nos presenta la estructura por clases de edad en ambos sitios, acorde al desarrollo en donde se identificaron básicamente 4 estados de desarrollo: a) Plántulas; b) Juveniles, c) Adultos, esta categoría incluye a los individuos reproductivos (A+) o en estado vegetativo (A0). También se observa en la figura 3 que en la composición hay una mayor presencia de individuos adultos en ambos sitios y hay pocas plántulas en ambos sitios.

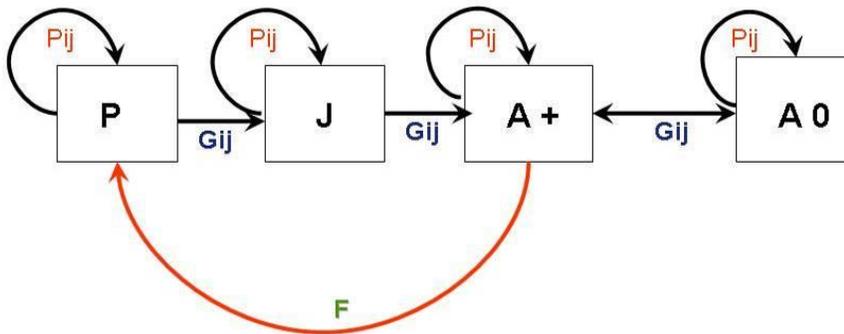
Figura 2-3: Estructura por clases de edad en los dos sitios de estudio.



2.2.2 Ciclo de vida de *E. xanthinum*

Con base en el ciclo de vida se realizó el siguiente modelo del ciclo para *Epidendrum xanthinum* Lindl., dicho modelo se basó en los modelos teóricos de Calvo y Horvitz (1990) y Tremblay y Hutchings (2002), los cuales fueron adaptados y modificados acorde a la historia de vida de la especie (Figura 4).

Figura 2-4: Modelo del ciclo de vida para *Epidendrum xanthinum*; P: plántula, J= juvenil; A+=adulto fértil, A0=Adulto vegetativo; F= tasa de Fecundidad.



En el modelo se observa en cada recuadro la letra inicial del estado reproductivo, las flechas indican el sentido de los cambios de estado, las flechas muestran las probabilidades de los individuos de seguir en un mismo estado (P_{ij}) o moverse (G_{ij}), por ejemplo un adulto fértil puede seguir siendo fértil o pasar a vegetativo y viceversa. La flecha en rojo muestra el posible aporte de individuos adultos fértiles a la población es decir a la clase plántulas.

El crecimiento de los individuos se da mediante la producción y el crecimiento de brotes, los cuáles se convertirán en ramas (*ramets*), su crecimiento aunque es continuo durante el año de estudio, presenta mayor actividad en los meses más lluviosos. Dado el estado de desarrollo de cada planta los “*ramets*” siguen un ciclo diferente, en plantas juveniles y plántulas, cada ramet nuevo presenta mayor altura, mayor número de hojas, mayor tamaño en las hojas. Éstos pueden

quedarse como ramas vegetativas o florecer, en cuyo caso sobre el raquis de la inflorescencia se pueden generar una o varias inflorescencias laterales (usualmente de menor tamaño) y/o vástagos vegetativos aéreos que funcionalmente y estructuralmente pueden llegar a ser un individuo, pero que está ligado al raquis de la planta.

2.2.3 Estructura de la Población y Abundancia

La tabla 2-1 muestra el total de individuos censados para ambos sitios, se encontraron 82 y 71 individuos para el sitio 1 y 2, respectivamente. Esta tabla muestra que en promedio los individuos del sitio 1, eran de mayor tamaño, tenían un mayor número de “ramets” y de vástagos vegetativos (vástagos aéreos). También se presenta la densidad de individuos, el cuál corresponde al número de individuos en las 10 parcelas sobre el área total de éstas (40m²).

Tabla 2-1: Individuos censados en las parcelas de estudio.

	# Total individuos	Densidad ind./m ²	Numero promedio “ramets”/indiv.	Altura promedio de “ramets” (cm)
Sitio 1 (El Saladito)	82	2.05	5.682926829	44.45064378
Sitio 2 (Yotoco)	71	1.775	5.225352113	37.09703504

La tabla 2-2 presenta la estructura demográfica de las poblaciones al comienzo del estudio, se observa que la presencia de plántulas en ambos sitios es muy baja, correspondiente a 4.87% y 2.81 % para los sitio 1 y 2 respectivamente, en contraste la mayoría de plantas caen en la categoría de adultos.

Tabla 2-2: Estructura demográfica para los dos sitios al comienzo del estudio.

	# Plántulas	# Juveniles	Adultos Fértiles (A+)	Adultos Vegetativos (A0)
El saladito (sitio 1)	4	22	40	16
Yotoco (sitio 2)	2	13	33	23

Tabla 2-3: Probabilidades de Abundancias de individuos en el censo final, al cabo de un año (t+1), para el sitio 1.

Sitio 1- El Saladito	P (t+1)	J (t+1)	A+ (t+1)	A 0 (t+1)
Plántulas	0.75		F	
Juveniles	0.25	0.82608		
Adultos +		0.1304	0.8837	0.1923
Adultos 0			0.1162	0.7692

Tabla 2-4: Probabilidades de Abundancias de individuos en el censo final, al cabo de un año (t+1), para el sitio 2.

Sitio 2 Yotoco	P (t+1)	J (t+1)	A+ (t+1)	A 0 (t+1)
Plántulas	1		F	
Juveniles		0.4615		
Adultos +		0.5384	0.8695	0.3030
Adultos 0			0.1304	0.6363

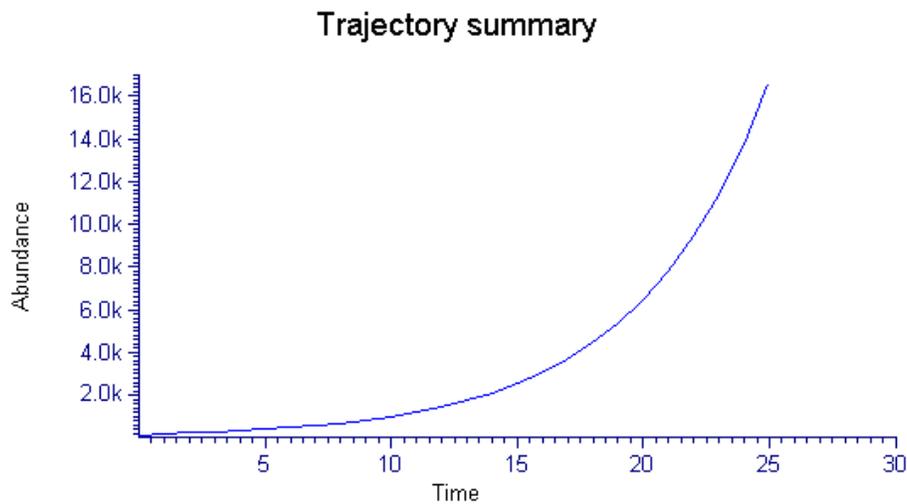
Las tablas 2-3 y 2-4, muestran las probabilidades de cambiar o permanecer en un estadio, no obstante la sumatoria de estos valores de probabilidad no siempre es igual a 1 por que en la tabla no se incluyen los valores de probabilidad correspondientes a mortalidad. El valor correspondiente a F pertenece a la fecundidad, dicho valor solo se incluye a los adultos fértiles, ya que son los únicos que tienen probabilidad de dejar descendencia.

2.2.4 Simulaciones en el software RAMAS Ecolab:

Para realizar las proyecciones de las matrices es necesario además de las abundancias, la tasa de fecundidad. Como se explico al comienzo no fue posible utilizar el método tradicional debido a la falta de reclutas. Entonces empleando el enfoque dado por Tremblay y Hutchings (2002), se obtiene un valor de $F = 1.463$

para la población del sitio 1; en la grafica 3 se presentan los resultados de dicha simulación al cabo de 25 años.

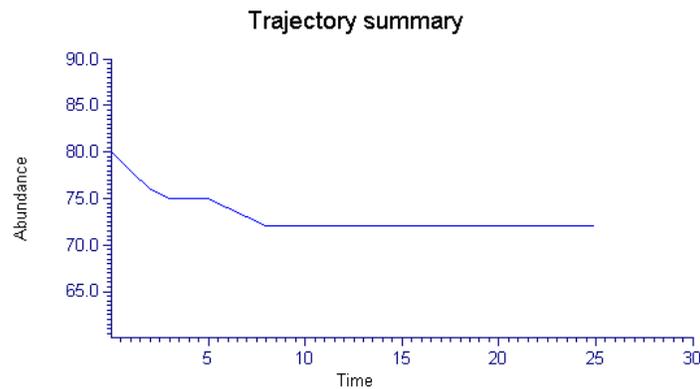
Figura 2-5: Simulación del crecimiento con valor de $F= 1.463$, obtenido con el método de Tremblay y Hutchings (2002). Tiempo en años (eje x); abundancia en miles de individuos (eje y).



La figura 3, nos presenta un modelo de dinámica poblacional elaborado en el programa RAMAS Ecolab, el crecimiento exponencial sucede muy rápido, debido al alto valor de Fecundidad (λ de 1.2073 y $F=1.463$) obtenido mediante el enfoque de Tremblay y Hutchings (2002). Este incremento elevado en poco tiempo, presenta que al cabo de un año aparecerían 60 nuevos individuos ($t+1= 141$ individuos; a los dos años ($t+2=200$) y así sucesivamente), este resultado nos muestra que aplicar esta metodología para hacer la proyección demográfica en *E. xanthinum*, nos llevara en éste estudio a resultados erróneos.

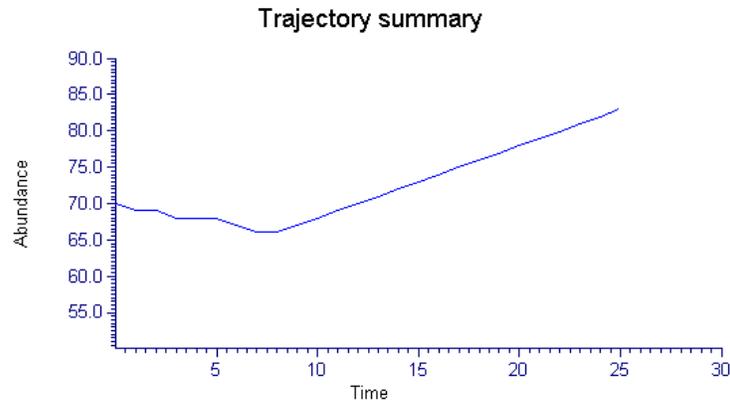
Considerando el tamaño alcanzado de los protocormos “*in situ*”, y observando el tamaño de las plántulas en los dos sitios de estudio, se hizo una aproximación para tratar de inferir una tasa de fecundidad en los dos sitios. De esa forma para el Sitio 1, El Saladito se encontraron 4 plántulas, las cuales creemos tienen una edad estimada de 3 años, obtenemos que el reclutamiento sería de 1.33 individuo por año. Si dicha tasa de reclutamiento se mantuviera para la época del primer censo tendríamos una tasa de fecundidad $F = 0.03325$. Realizando la simulación de la dinámica poblacional (ver Figura 4) con dicho valor de F , observamos que la población estaría en disminución hasta dentro de 9 años momento en el que estaría constante con 77 individuos ($\lambda = 1.0007$).

Figura 2-6: Simulación de crecimiento poblacional para el Sitio 1. Tiempo en años (eje x). $F=0.03325$; $\lambda = 1.0007$.



Aplicando el mismo enfoque anterior. Tenemos para el sitio 2 (Yotoco), que se observaron dos plántulas, una fecundidad calculada de $F=0.0222$; tasa de crecimiento ($\lambda = 1$. aproximado). La dinámica poblacional se puede observar en la Figura 5.

Figura 2-7: Simulación de crecimiento poblacional para el Sitio 2. Tiempo en años (eje x). $F=0.03325$; $\lambda = 1.0007$.



La grafica de la figura 4, aunque nos presenta un crecimiento a partir de los 10 años, el $\lambda \approx 1$, nos indicaría que la población esta muy cerca de ser estable.

2.3 DISCUSION

En ambos sitios la densidad de individuos es baja (2.5 ind./m² para el sitio 1 y 1.7 ind./m² para el sitio 2), si se comparan con las registradas en Panamá para *Epidendrum radicans* (Wolfe 1987) en donde se encontraron valores aproximados de 20 plantas por m². El patrón de distribución observado es el registrado para la mayoría de orquídeas en parches agregados (Ackerman, Sabat y Zimmerman1986).

Se observo que individuos de cualquier clase de tamaño (medidos tanto en número de "ramets" como en altura de éstos) pueden florecer y lo hacen por largos periodos de tiempo, esto puede ser producto de condiciones adversas y/o como estrategia para compensar el bajo "fruit set" producto del mecanismo de polinización por engaño. La estructura poblacional refleja que es una población

relativamente estable, ya que si fuera dinámica presentaría gran cantidad de individuos jóvenes.

Se cree que las diferencias en la densidad de individuos, el tamaño, número de ramets y vástagos aéreos entre los sitios de estudio, están asociados a diversos factores. Bonilla *et al* (2005), encontró diferencias en la distribución del tamaño de los vástagos (“ramets”) entre *Epidendrum chioneum* y *Elleanthus ensatus* y considera que esto puede indicar diferencias entre las edades de las poblaciones o una alta producción de vástagos por parte de una de las especies, en nuestro estudio no consideramos que las diferencias sean atribuidas a edad entre las poblaciones por que la estructura demográfica es similar en ambos sitios, en cambio es posible que estas diferencias sean atribuidas otros factores por ejemplo condiciones ambientales.

Se observo que el crecimiento de los individuos de *E. xanthinum* fue muy lento en el tiempo de estudio, ésto en plantas se asocia a plantas perennes de gran longevidad. Además no es constante sino depende del estado de desarrollo de los individuos, de esa forma las plántulas presentan un crecimiento muy lento, el cual se va incrementando acorde al tamaño (tanto en altura como en “ramets”) del individuo, caso similar se observo en *Dimerandra emarginata* (Zotz 1998) donde adicionalmente se observó un crecimiento poco significativo en plántulas de 3 años de edad, las cuales durante ese periodo no superaron los 3 cm de alto. La mortalidad observada aunque es baja esta relacionada con el tamaño, estado fitosanitario de los individuos y por condiciones climáticas, se observo que en periodos de sequía una gran mortalidad de “ramets”, los cuales pueden llevar a la mortalidad de la planta en aquellas con pocos “ramets”. No se considero el daño por herbivoría ya que en condiciones naturales es mínimo.

La germinación “*in situ*” demostró ser un proceso muy lento, tardándose casi 4 veces mas de lo observado para *Epidendrum ibaguense* en cultivo “*in vitro*”.

Adicional el desarrollo de los primeros estados como plántula es muy lento como se observo en la población 2, en las que éstas crecieron muy poco (menos de 2 cm).

En los dos censos la producción de frutos fue similar en ambos sitios, presentando altos valores en la proporción de frutos/adultos. Dado que el establecimiento de las semillas de orquídeas ocurre cerca del parental y que teóricamente en su mayoría no viajan grandes distancias (Ackerman, Sabat y Zimmerman 1996; Murren y Ellison 1998), y el bajo número de plántulas encontrado, inferimos que ésta es etapa crítica de desarrollo, incluso en la especie de estudio que logra establecer poblaciones grandes para la familia.

Las simulaciones presentaron que en el estudio la tasa calculada de fecundidad aunque es aproximada, si es más aproximada a la realidad estimada con la información disponible. También se puede concluir que los censos que son realizados la proyección de las matrices en otros estudios demográficos del neotrópico (por ej., Calvo y Horvitz 1990; Zotz 1998; Zotz y Schmidt 2006) están calculados con una tasa de fecundidad que no puede ser aplicable para el caso de *E. xanthinum*, puesto que asumen la aparición de los reclutas a un periodo menor correspondiente a 1 año, en cambio se encontró que en dicho periodo no hubo reclutas nuevos y tan sólo se observo germinación se semillas hasta la fase de protocormo.

Bierzzychudek (1999), encontró que la proyección de modelos a mediano plazo (15 años) con datos de cortos periodos de tiempo (3 años de estudio) no siempre es precisa, debido a que no es posible capturar el efecto de la estocasticidad y/o falta de precisión en los datos. Considerando la poca dinámica observada en un año de estudio, el lento crecimiento y desarrollo especialmente en algunos estados, se evidencia que para tener una mayor confiabilidad en las proyecciones de estudios

demográficos en orquídeas estos sean realizados en grandes muestras por largos periodos de tiempo.

3. Capítulo 3 Aproximación a la reproducción asexual en la orquídea *Epidendrum xanthinum lindl.*, en dos sitios de la cordillera occidental de Colombia, valle del cauca.

Los estudios demográficos permiten medir y explicar los cambios en las abundancias de los individuos de una población (Akçakaya, Burgman y Ginzburg, 1999). La gran plasticidad de las plantas permite que se dé el crecimiento clonal, este es un rasgo común en la historia de vida de plantas perennes que pueden extenderse grandes distancias a través de brotes desde un solo individuo (genet) (Harper y White 1974).

Los estudios existentes de demografía en orquídeas principalmente presentan dos enfoques el primero es servir como herramienta para la protección de orquídeas en vía de extinción y el otro está relacionado con evaluación del valor adaptativo y experimentos para evaluar compromisos o “*trade-off*”. Además la mayoría de estudios demográficos de orquídeas presenta un enfoque clásico, es decir emplean información sobre reproducción sexual; poco es conocido sobre estudios que incluyan información de la reproducción asexual en la dinámica poblacional de orquídeas.

De otra parte la reproducción sexual de orquídeas no autogamas presenta una limitación en la producción de frutos los cuales están asociados a diversos factores de la interacción planta-polinizador (Tremblay *et al* 2005) y tiene implicaciones en

los tamaños y distribución de las poblaciones naturales, encontrándose en la mayoría unos tamaños poblaciones pequeños y patrones agregados de distribución. La limitación en la producción de frutos incide en el establecimiento de plántulas, de esa forma Ackerman, Sabat y Zimmerman (1996), encontraron para *Tolumnia variegata* que si se mejorara la producción de frutos, el establecimiento de plántulas responderá positivamente resultando en un crecimiento de la población, sin embargo debe considerarse que encontraron que dicha orquídea era generalista en lo referente a preferencia de forófito y no hallaron evidencias de competencia por sitio ni indicios de efectos denso-dependientes. Adicionalmente la dispersión de semillas, germinación y establecimiento de plántulas son etapas que claramente son cuello de botella en la historia de vida de orquídeas, una sola planta puede producir millones de semillas en una temporada reproductiva y muy pocas, si ocurre, llegaran a ser adultos (Ackerman, Sabat y Zimmerman 1996). Rasmussen y Whingham (1993) sugieren que las diferencias en estrategia de germinación y sitio y especificidad de orquídea-hongo juegan un rol importante en el establecimiento de plántulas.

Los resultados de biología reproductiva muestran que *Epidendrum xanthinum* Lindl., es una orquídea autocompatible pero dependiente del polinizador para su reproducción sexual, presenta un mecanismo de polinización por engaño, el cual incide en que la producción de frutos (*fruit-set*) sea muy bajo en las dos poblaciones (1.26-3.21%).

Adicionalmente los resultados encontrados para la estructura demográfica muestran que en el periodo de 1 año no fue posible observar reclutas y que las plántulas son escasas en la población, en consecuencia la tasa de fecundidad entendida como reclutamiento, es baja, no obstante es una orquídea que logra establecerse exitosamente en bordes de carretera y en zonas de pendiente, en diversas regiones de Colombia. Por lo tanto se hace una aproximación a la importancia de la reproducción asexual (producción de vástagos aéreos). Empleando la información obtenida del enfoque clásico demográfico y biología

reproductiva de esta especie, planteamos las siguientes preguntas: ¿como es la producción de vástagos aéreos en las dos poblaciones en cuanto a su abundancia? ¿Cual es el posible impacto de los vástagos aéreos en la dinámica poblacional?

3.1 Objetivos

Determinar como es la producción en cantidad y tamaño de los vástagos aéreos en dos sitios de la Cordillera Occidental en el departamento del Valle del Cauca?.

Medir es el posible impacto de la producción de vástagos aéreos en la dinámica poblacional en los dos sitios de estudio?

3.2 Métodos

El trabajo se realizo en dos sitios de la cordillera occidental en el Valle del Cauca, uno conocido como El Saladito, cerca del municipio de Cali, el otro en la reserva natural de Yotoco. Información adicional de los sitios se encuentra disponible en el apartado de área de estudio al comienzo del documento.

Epidendrum xanthinum es una orquídea terrestre de amplia distribución en las tres cordilleras colombianas, crece usualmente entre 1100-2000 m de altitud. Esta orquídea presenta principalmente un crecimiento simpodial, es decir en la base del

tallo nacen una serie de ramas (“ramets”). La colonización inicial de un nuevo sitio envuelve el establecimiento de plántulas los cuales provienen de semillas (aporte de reproducción sexual), pero además se observa en campo una gran cantidad de vástagos aéreos en los “ramets” de plantas adultas.

3.2.1 Censos:

En los dos sitios de estudio se establecieron al azar 10 parcelas de 2x2 m (40 m² para cada sitio), en cada parcela se censaron y etiquetaron todos los individuos presentes, se recopiló información referente al estado vegetativo y fitosanitario de los individuos, número de ramas y altura de cada una de estas, adicionalmente se tomaron otros datos como producción de frutos. El primer censo se realizó en el año 2007, en los meses de marzo-abril para las parcelas de El Saladito, y en mayo-junio para las localizadas en la reserva de Yotoco, los censos finales se realizaron en el año 2008 abril (El Saladito) y julio (reserva de Yotoco), previamente en octubre-noviembre se realizó un censo intermedio. Como es una planta perenne cuyas generaciones se sobrelapan y no es fácil ni conveniente establecer la edad de los individuos se clasificaron estos acorde a su estado de desarrollo (Calvo y Horvitz 1990, Calvo 1993; Tremblay y Hutchings 2002).

La información demográfica recolectada de los censos permitió describir rasgos del ciclo de vida de la especie en estudio. La información fue resumida en una matriz que contiene información sobre la supervivencia, desarrollo y reproducción de los individuos en un espacio de tiempo (Caswell 1989). Las matrices más empleadas son las de Leslie y Lefkovitch, en éste estudio se empleó la última, dado que en muchas plantas el crecimiento, la fecundidad y la supervivencia estuvieron relacionadas a un respectivo tamaño o etapa y no a una edad particular (la cual además es difícil de calcular) el cual se emplea en las matrices de Leslie (Caswell 1989). El análisis de las matrices calcula la tasa de crecimiento poblacional (λ), esta información permite hacer predicciones sobre el crecimiento.

La reproducción clonal puede ser asignada tanto a una categoría nueva como incluirse dentro de los nacimientos, si se incluyen en una nueva categoría se asume que es similar al parental en edad y tamaño, pero si los clones difieren marcadamente en tamaño de los “padres” deben ser asignados a los nuevos nacimientos (Cochran y Ellner, 1992). Considerando que hay una marcada diferencia tanto en tamaño como en estructura entre los vástagos aéreos (vástagos aéreos) y los parentales de *E. xanthinum*, se asignó el aporte de individuos clonales al valor de los nacimientos, es decir dicho valor se sumó a la fecundidad en la matriz para de esa forma hacer las proyecciones. El valor de fecundidad (F_k) de los vástagos aéreos se calculó como el cociente del número de Vástagos aéreos (K_i) independientes y sobrevivientes en el censo final ($t+1$), sobre el número de adultos (p) disponibles en el censo anterior (t).

$$F = K_i/p_a$$

También se debe considerar que solo incluimos el aporte de los vástagos aéreos de aquellos que se encontraron caídos y por lo tanto eran independientes del parental (no había conexión), lo anterior debido a que el número de vástagos aéreos producidos por año es alto, pero no todos logran desarrollar un sistema radicular y por lo tanto al tener conexión con el parental podría depender de éste. Tampoco se incluyó información sobre la producción de frutos en la matriz por parte de los vástagos aéreos, debido al bajo aporte de frutos.

Con esta información, se procedió a hacer simulaciones en el programa RAMAS Ecolab, para de esa forma comparar las dinámicas poblacionales con y sin aportes clonales y ver el impacto de éstos. La finalidad del uso de este software es de ser una herramienta para comparar las proyecciones de las matrices, bajo diferentes condiciones, en vez de ser una herramienta que pretenda buscar resultados predictivos. En consecuencia no incluimos en las simulaciones ni la estocasticidad

demográfica y trabajamos con un modelo de crecimiento exponencial (Akçakaya, Burgman y Ginzburg, 1999), además en orquídeas la mayoría de estudios presentan que no hay un efecto densodependiente.

3.3 Resultados

Los vástagos aéreos se desarrollan en los “*ramets*” viejos sobre el raquis de la inflorescencia mucho tiempo posterior a la antesis. Se desarrollan como un individuo de solo 1 ramet y estructuralmente presentan las características de un individuo (ver figura 1). Pero no todos lograron en el tiempo de estudio desarrollar un sistema radicular y de otra parte otros estaban florecidos.

Figura 3-1: Vástagos aéreos (*Keiki*), con sistema radicular desarrollado.



El total de vástagos aéreos, e información relacionada en los censos son presentados en la tabla 1. En el último censo se observaron 91 vástagos aéreos para el sitio 1 y 62 para el sitio 2, esta proporción es alta considerando que para cada sitio se registraron 56 y 55 individuos adultos. No obstante el aporte de vástagos aéreos es hecho por poco individuos adultos (17-23 para el sitio 1 y 13-20 para el sitio 2). La tabla 1 también muestra que a pesar de una alta producción de vástagos aéreos y un rápido desarrollo en tamaño, solo se encontraron 5 vástagos aéreos caídos para el sitio 1 y 3 para el sitio 2.

Las figuras 2 y 3 representan la dinámica poblacional bajo diferentes condiciones de aportes de vástagos aéreos. También se incluye una proyección sin el aporte clonal (Sin incluir vástagos aéreos). Los otros valores representan desde el máximo número de vástagos aéreos encontrados para cada sitio (5 para el sitio 1 y 3 para el sitio 2) hasta un valor mínimo estimado que corresponde a 1 solo keiki en un periodo de dos años. Estos valores menores son incluidos en las proyecciones debido a que observaciones hechas después del último censo comprobaron la sobrevivencia de todos los vástagos aéreos, pero con un desarrollo tardío de “*ramets*”, entonces no fue posible asegurar el establecimiento de los vástagos aéreos encontrados.

Tabla 3-1: Resumen del censo de Vástagos aéreos.

VASTAGOS AEREOS O VÁSTAGOS AÉREOS								
	Total	Vástagos Nuevos	Muertos	Parentales	Altura promedio (cm)	Crecimiento promedio entre censos	Vástagos aéreos con Raíces	Indiv. Caídos
Cali (t)	55			17	12.86		23	
Cali (t+1)	91	46	10	23	12.04	6.33	34	5
Yotoco (t)	48			13	18.06		11	
Yotoco (t+1)	64	23	7	20	9.82	4.89	20	3

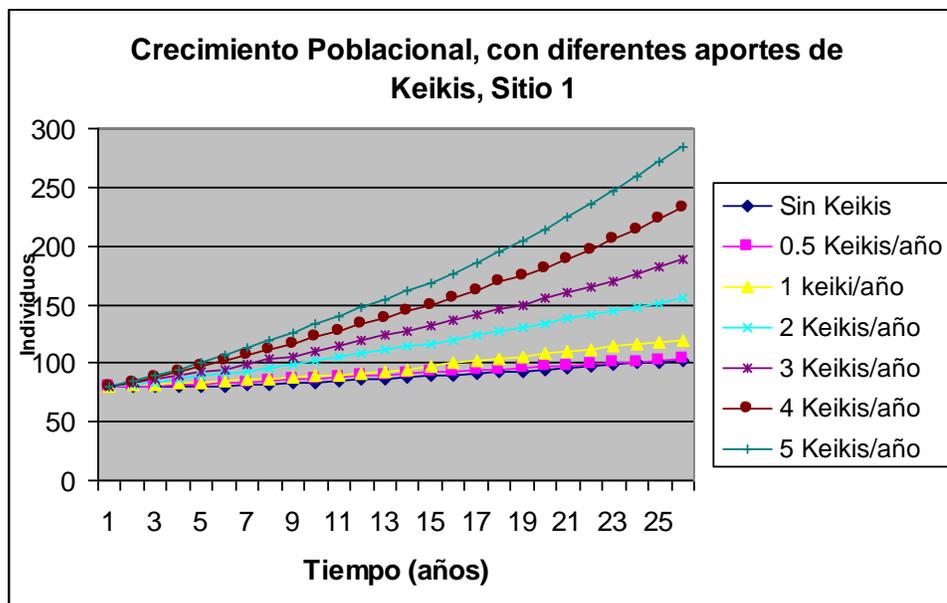
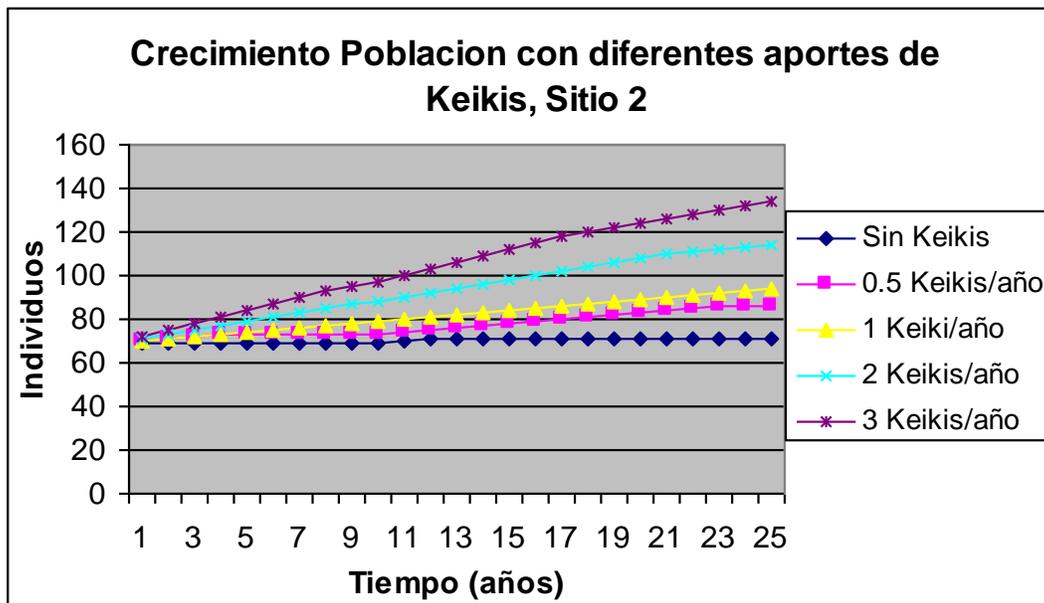
Figura 3-2: Resultados de proyección de la matriz poblacional, con diferentes valores de aporte de vástagos aéreos

Figura 3-3: Resultados de simulación de la proyección de la matriz poblacional, con diferentes valores de aporte de vástagos aéreos



3.4 Discusión

Los vástagos aéreos se presentan como una forma alternativa de propagación asexual en individuos adultos de *E. xanthinum*, especialmente en “ramets” senescentes, siendo la principal forma de colonización la dispersión de semillas. Este mecanismo está predeterminado genéticamente y es producto de la plasticidad, permitiéndole asignar los recursos dependiendo de las condiciones ambientales (López *et al* 2002).

No obstante hay poca información sobre el tiempo desde que las semillas de orquídeas salen de la capsula hasta que las plántulas son visibles en el suelo, también es escasa la información referente a tasas de germinación y de desarrollo

a plántulas (Rasmussen y Whingham 1993). De esa forma para *Platanthera praeclara* (Sharma *et al* 2003), se observaron germinaciones durante un tiempo de 9 meses de incubación, debido a que el proceso de germinación es demorado por que las semillas deben pasar un periodo de latencia y sólo lograron observar en un sitio protocormos a los 20 meses. Arditti *et al* (1981) encontró para 9 especies de orquídeas terrestres en California que el tiempo de germinación es variable, y es comprendido entre 6-20 meses y en algunos casos el desarrollo a plántulas de 3-4 cm se dio hasta los 20 meses, de otra parte en *Tolumnia variegata* (Ackerman, Sabat y Zimmerman 1996) se registró que el tiempo germinación se dio a los 5 meses y observaron plántulas casi al año. Los datos registrados para *E. xanthinum* presentan que el periodo de germinación en condiciones naturales es lento (9-12 meses) y no fue posible observar plántulas y aunque los tiempos y mecanismos difieren entre especies e incluso entre regiones, si es frecuente para la familia un largo periodo de germinación bajo condiciones naturales, incluso en diferentes linajes de orquídeas. Los resultados de las observaciones muestran que la gran mayoría de semillas (ca. 95%) presentaron embrión es decir se pueden considerar como semillas viables.

Teniendo en cuenta que el reclutamiento de nuevos individuos, es dependiente no solo de la viabilidad de las semillas sino de su germinación y sobrevivencia, que podría estar limitada por la disponibilidad de micorrizas (Sharma *et al* 2003) y que además se ha encontrado que la distribución del hongo micorrizico puede ser un factor determinante en el tamaño poblacional y distribución, debido a la variación en los niveles de germinación en la población y la distribución no homogénea de los hongos micorrizicos más efectivos (Otero, Bayman y Ackerman, 2005), se evidencian las ventajas de la reproducción asexual, al no tener que padecer estas restricciones. Por estas razones la germinación y establecimiento de plántulas se mostró como un proceso lento y poco eficiente (el reclutamiento es bajo en proporción al número de semillas producidas), y el crecimiento de éstas fue mínimo en el mismo periodo de tiempo. De otra parte al existir una conexión física entre el individuo (*genet*) y el vástago aéreo, éste puede desarrollarse rápido por que

depende del suministro de recursos del genet para la formación de sus estructuras y no de los propios.

No obstante aunque el desarrollo de vástagos aéreos no es del todo exitoso, no todos logran desarrollar un sistema radicular (solo el 23-42 %) y un bajo aporte de individuos independientes (5 y 3 individuos para los sitios 1 y 2 respectivamente), si es suficiente para influir en la dinámica poblacional. Teóricamente el aporte de tan solo 2 vástagos aéreos por año da un valor de fecundidad ($F=0.0357$) mayor al estimado para reproducción sexual ($F=0.03325$), por lo tanto los resultados de las simulaciones comprueban que en el caso de la orquídea estudiada los aportes clonales en forma de vástagos aéreos pueden ser una estrategia reproductiva de gran impacto en la dinámica poblacional. No obstante estudios de mayor tiempo que incluyan un seguimiento exhaustivo para determinar mecanismos y periodos de los vástagos aéreos son necesarios.

La mayoría de estudios en ecología de poblaciones se centran exclusivamente en las consecuencias de los procesos demográficos (fitness absoluto), sin tener en cuenta las unidades que intervienen en ellos y los niveles que se integran en dichas unidades (Lopez *et al* 2002). Por eso este trabajo examina los diferentes mecanismos de reproducción en nuestra orquídea modelo y por primera vez se presenta para orquídeas una aproximación de la dinámica poblacional integrando datos de reproducción sexual y asexual.

En *E. xanthinum* se observaron las mismas restricciones de reproducción sexual de otras especies de orquídeas no autogamas, tales como baja producción de frutos (*fruit set*), limitación en la germinación, baja tasa de reclutamiento, no obstante logra establecer tamaños poblacionales grandes. Hipótesis que esto es producto de diversas causas entre las que resaltan la amplia adaptabilidad a condiciones ambientales fluctuantes y una estrategia de reproducción mixta (sexual y asexual) la que logra incrementar notablemente su valor adaptativo (*fitness*).

4. Conclusiones

4.1 Conclusiones

Epidendrum xanthinum es una especie con una baja producción de frutos (1.26-3.1%), consecuencia de la interacción con el polinizador, al presentar un mecanismo de polinización por engaño alimenticio.

El mecanismo de polinización presente en *E. xanthinum* y otras especies del género logra sin estructuras complejas atraer a un gran set de polinizadores siendo un mecanismo de baja especificidad (entendida como relación de uno a uno), esto y el hecho de que la planta permanece en constante floración logra explotar el mecanismo exploratorio de los polinizadores.

En *E. xanthinum* se observó un bajo número de plántulas, esto nos presenta que a pesar del gran número de semillas contenido por fruto (promedio 100.000), esta es una etapa crítica (cuello de botella) en la reproducción.

Los vástagos aéreos presentaron ser estructuras de desarrollo rápido, que pueden tener un rol importantísimo en la ecología poblacional de *E. xanthinum*.

Considerando que el proceso de germinación es lento en *E. xanthinum* y en muchos otros grupos de orquídeas y que los ciclos de vida son largos, los estudios demográficos que pretendan predecir dinámicas poblacionales deben realizarse en largos periodos de tiempo.

Si se desea hacer proyección de matrices se recomienda ser cautelosos con las tasas de reclutamiento, se deben hacer experimentos que permitan medir la tasa de germinación, porque es factible omitir el periodo de dormancia de las semillas.

La reproducción asexual, mediante la producción de vástagos aéreos (*keikis*) puede tener un gran impacto en la dinámica poblacional, tal y como se evidencio en las simulaciones.

Considerar los diversos aspectos del ciclo de vida de *E. xanthinum* nos llevo a un mejor entendimiento de la dinámica poblacional. Por eso se recomienda considerar los diversos rasgos de historia de vida acorde a nuestra especie modelo.

Considerando la poca dinámica observada en un año de estudio, el lento crecimiento y desarrollo especialmente en algunos estados, se evidencia que para tener una mayor confiabilidad en las proyecciones de estudios demográficos en orquídeas estos sean realizados en grandes muestras por largos periodos de tiempo.

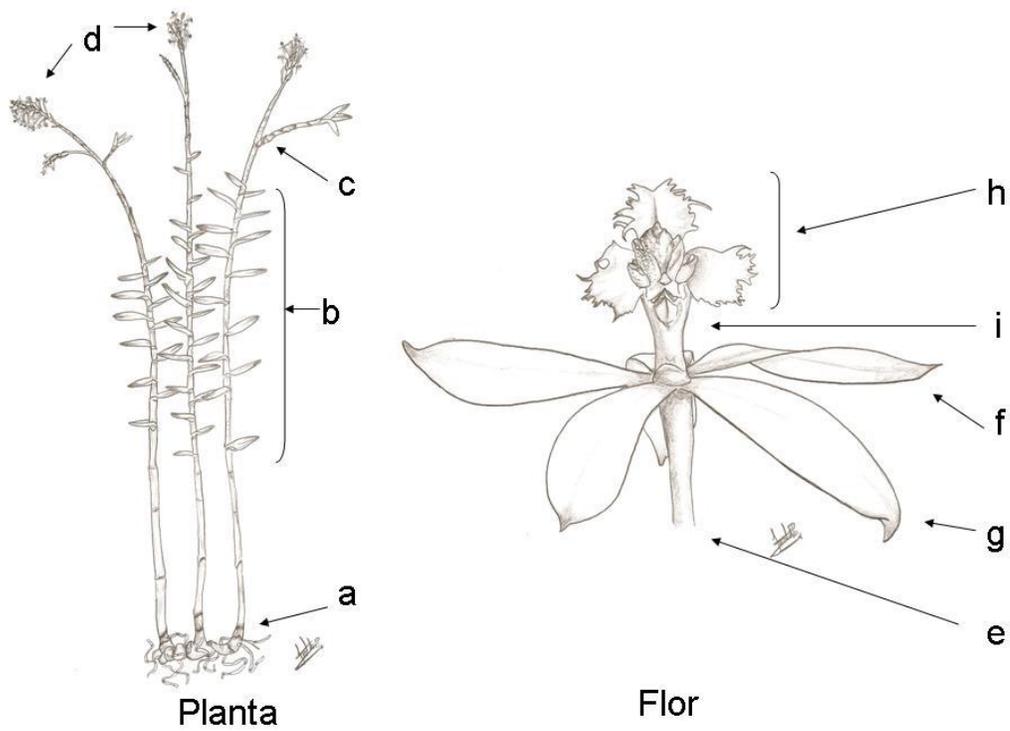
Hipótesisamos que *E. xanthinum* además de tener una amplia adaptabilidad a condiciones ambientales fluctuantes, el hecho de tener una estrategia de reproducción mixta (sexual y asexual) le ayuda notablemente a incrementar su valor adaptativo (*fitness*), ya que aunque el aporte de individuos clonales sea moderado puede tener gran impacto en la dinámica poblacional.

4.2 Recomendaciones

Investigaciones relacionadas con la dinámica de poblaciones de mayor tamaño y en mayor tiempo, enfocadas a la reproducción asexual de la orquídea *Epidendrum*, pueden ayudar a comprender mejor las dinámicas poblacionales. También poder identificar dentro de las poblaciones la diversidad genética existente entre individuos y entre poblaciones, permitirá entender mejor el impacto real de la propagación clonal de vástagos aéreos.

A. Anexo: A

Figura. Morfología general de *E. xanthinum* (a. rizomas cortos; b. hojas; c. vástago aéreo; d. inflorescencia terminal). Flor (e. ovario; f. pétalo; g. sépalo; h. labelo, i columna).



B. Anexo: Nombrar el anexo B de acuerdo con su contenido

	Observados	Esperados	Obs.-esp.	(observados-esperados)/ esperados
Autogamia	40	42,5	-2	0,094117647
Xenogamia	45	42,5	2	0,094117647
Chi -cuadrado				0,188235294

Bibliografía

AKÇAKAYA, Resit; BURGMAN, Mark. y GINZBURG, Lev. 1999. Applied population ecology. Principles and computer exercises using RAMAS Ecolab 2.0. Second Edition, Sinauer Associates, Sunderland Massachusetts, USA. 285 pp

ACKERMAN, James. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). *Systematic botany* 14(1):101-109

ACKERMAN, James; SABAT A. y ZIMMERMAN, Jess. 1996. Seedling establishment in an epiphytic orchid: an experimental study of seed limitation. *Oecologia* 106:192-198

Almeida, A. y R. Figueredo. 2003. Ants visit nectaries of *Epidendrum denticulatum* (Orchidaceae) in a Brazilian rainforest: effects on herbivory and pollination. *Brazilian J. Biol.* 63(4): 551-558

Arditti, J., Michaud J. y A. Oliva. 1981. Seed germination of North American Orchids 1. Native California and related species of Calypso, Epipactis, Goodyera, Piperia and Platanthera. *Botanical Gazette* 142:442-453

Bierzychudek, P. 1981. *Asclepias*, *Lantana*, and *Epidendrum*: a floral mimicry complex?. *Biotropica* 13(2) 54-58

Bierzychudek, P. 1999. Looking backwards: Assessing the projections of a transition matrix model. *Ecological Applications* 9(4): 1278-1287.

Boyden, T. 1980. Floral mimicry by *Epidendrum ibaguense* (Orchidaceae) in Panama. *Evolution* 34(1):135-136

BONILLA, Maria, A. Chaparro, MARTINEZ E y CUERVO, Monica. 2005. Rasgos de la historia de vida de Orquídeas clonales terrestres *Epidendrum chioneum* y *Elleanthus ensatus* del páramo el granizo. En: Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque en la cordillera oriental de Colombia. Bonilla M. Ed. Universidad Nacional de Colombia, pp 306-322

Borba, E. y P. Braga. 2003. Biología reproductiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae) melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. *Revista Brasileira do botanica* 26(4):541-549

Camargo E., Silva V. y E. Borba. 2006. Reproductive biology of two *Cattleya* (Orchidaceae) species endemic to north eastern Brazil. *Plant species biology* 21:85-91

Calvo, R. 1990. Inflorescence size and fruit distribution among individuals in three orchid species. *American journal of botany* 77(10): 1378-1381

Calvo, R. 1993. Evolutionary demography of orchids. Intensity and frequency of pollination and cost of fruiting. *Ecology* 74: 1033-1042

Calvo, R. y C. Horvitz. 1990. Pollinator limitation, cost of reproduction and fitness in plants: a transition matrix demographic approach. *American Naturalist* 136: 499-516

Caswell, H. 1989. Matrix population models: Construction, analysis, and interpretation. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 328 p.

Coates F., Lunt I y R., Tremblay. 2006. Effects of disturbance on population dynamics of the threatened orchid *Prasophyllum correctum* D.L. Jones and implications for grassland management in south-eastern Australia. *Biological Conservation* 129: 59-69.

Cochran M. y S. Ellner. 1992. Simple methods for calculating age based life history parameters for stage-structured populations. *Ecological Monographs* 62(3): 345-364.

Cozzolino, S. y A. Widmer. 2005. Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception?. *Trends in Ecology and Evolution* 20 (9): 487-494

Dafni, A. 1992. Pollination ecology. Oxford University Press. Oxford New York.

DeVries, P. y F. Stiles. 1990. Attraction of pyrrolizidine alkaloid seeking Lepidoptera to *Epidendrum paniculatum* orchid. *Biotropica* 22:290-297

Dressler, R. 1993. Phylogeny and classification of the orchid family. Cambridge University Press 315 pp.

Dodson, C. y L. Van Der Pijl. 1966. Orchid flowers: their pollination and evolution. University of Miami Press. Coral Gables, FL. 214 pp

Hagsater, E. 2001. Icones Orchidacearum 4: t. 485 pp

Harper, J. y J. White. 1974. The demography of plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5:419-463

Jersákova J., Johnson S. y P. Kindlmann. 2006. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biol. Rev.* 81:219-235

López, F., Fungairiño S., Serrano J. de las Heras P. y F. Acosta. 2002. Analysing hierarchically-structures fitness and modular dynamics in plants: integration of concepts from population dynamics.

Murren, C. y a. Ellison. 1998. Seed dispersal characteristics of *Brassavola nodosa* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 85(5): 675-680.

Nazarov V. V. y Gerlach G. 1997. The potential seed productivity of orchid flowers and peculiarities of their pollination systems. *Lindleyana* 12:188-204.

Neiland, M. y C. Wilcock. 1998. *Fruit set*, nectar reward, and rarity in the orchidaceae. *American journal of botany* 85(12): 1657-1671

Niklas K. J. 1997 *The evolutionary biology of plants*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA

Otero, J., Ackerman J. y P. Bayman 2002. Diversity and host specificity of endophytic rhizoctonia-like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany* 89(11): 1852–1858.

Otero, T., Bayman P. y J, Ackerman. 2005. Variation in mycorrhizal performance in the epiphytic orchid *Tolumnia variegata* in vitro: the potential for natural selection. *Evolutionary Ecology* 19:29-43

Otero JT, Ackerman JD, Bayman P. 2004, Differences in mycorrhizal preferences between two tropical orchids. *Molecular Ecology* 13: 2393–2404.

Otero, J.T., y N.S. Flanagan. 2006. Orchid diversity – Beyond diversity. *Trends in Ecology and Evolution*. 21(2):64-65

Pansarin, E. 2003. Biología reproductiva e polinização em *Epidendrum paniculatum* Ruiz y Pavón (Orchidaceae). *Revista Brasil. Bot.* 26(2): 203-211.

Pansarin, E. y C. Amaral. 2008. Reproductive biology and pollination mechanisms of *Epidendrum secundum* (Orchidaceae). Floral variation: a consequence of natural hybridization?. *Plant biology* 10:211-219

Rasmussen, H. y D. Whingham. 1993. Seed ecology of dust seeds *in situ*: A new study technique and its application in terrestrial orchids. *American Journal of Botany* 80(12): 1374-1378

Sharma. J., Zettler, L., J. van Sambeek, Ellersieck M. y J. Christopher. 2003. Symbiotic seed germination and Mycorrhizae of federally Threatened *Platanthera praeclara* (Orchidaceae). *American Midland Naturalist* 149 (1): 104-120.

Schmidt, J. y A. Antlfinger. 1992. The level of agamospermy in a Nebraska population of *Spiranthes cernua* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 79(5): 501-507

Singer, R. 2001. Pollination biology of *Habenaria parviflora* (Orchidaceae: Habenariinae) in southeastern Brazil. *Darwiniana* 39(3-4): 201-207.

Singer, R., Böer T., Flach A. y R. Farias. 2007. The pollination mechanism of *Habenaria pleiophylla* Hoehne y Schlechter (Orchidaceae: Orchidinae). *Functional ecosystems and communities* 1(1): 10-14

Singer, R. y S. Koehler. Notes on the pollination biology of *Notylia nemorosa* (Orchidaceae): Do pollinators necessarily promote cross pollination?. *Journal of Plant Research* 116:19-25

Sokal R. y F. Rohlf. 1981. *Biometría. Principios y Métodos Estadísticos en la Investigación Biológica*. Editorial Blume, Madrid, España. 832 pp.

Tremblay, R. 1992. Trends in the pollination ecology of Orchidaceae: evolution and systematics. *Canadian Journal of Botany* 70:642-650

Tremblay R., J., Ackerman, J., Zimmerman y R., Calvo. 2005. Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of the Linnean Society* 84: 1–54 Blackwell Science,

Tremblay, R. y M. Hutchings. 2002. Population dynamics in orchid conservation: A review of analytical methods, based on rare species *Lepanthes eltoroensis*. En: *Orchid conservation* pp163-183. Natural history Publication Kota Kinabalu, Sabah.

Van der Cingel. 2001. *An atlas of Orchid pollination: America, Africa, Asia y Australia*. Rotterdam, Netherlands. Holland A.A. Balkema. 296 pp

Wolfe, L. 1987. Inflorescence size and pollinaria removal in *Asclepias curassavica* and *Epidendrum radicans*. *Biotropica* 19(1): 86-89

Zotz, G. 1998. Demography of the epiphytic orchid, *Dimerandra emarginata*. *Journal of Tropical Ecology*, 14(6):725-741.

Zotz, G. y G Schmidt. 2006. Population decline in the epiphytic orchid *Aspasia principissa*. *Biological conservation* 29:82-90