UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# Estrategia de reproducción sexual de *Oncidium ornithorhynchum* Kunth (Orchidaceae: Cymbidieae) en un fragmento de bosque en el municipio de La Calera, Cundinamarca

**Dionne Paola Ballesteros Pintor**

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Área Curricular de Biología
Maestría en Ciencias - Biología
Bogotá, Colombia
2017

# Estrategia de reproducción sexual de *Oncidium ornithorhynchum* Kunth (Orchidaceae: Cymbidieae) en un fragmento de bosque en el municipio de La Calera, Cundinamarca

**Dionne Paola Ballesteros Pintor**

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

**Magister en Ciencias - Biología**

Director (a):

Doctora María Argenis Bonilla Gómez

Línea de Investigación:
Ecología
Grupo de Investigación:
Biología de Organismos Tropicales BIOTUN

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Área Curricular de Biología
Maestría en Ciencias - Biología
Bogotá, Colombia
2017

*A Juan Martín Galvis Ballesteros*

*Mi vida es mágica gracias a muchas personas especiales como tú, pero solo tu alegría llena todos los espacios. Espero que la vida te lleve por caminos positivos y constructivos. Te amo.*

# Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia, al Departamento de Biología y al Área Curricular de Postgrado de Biología por contribuir notablemente a mi formación académica y parte de mi formación personal y por ofrecer el personal docente idóneo que me ayudó a entender el mundo de la biología.

Al programa de becas de la Dirección Académica de la sede de Bogotá de la Universidad Nacional de Colombia por darme la oportunidad de explorar la docencia en calidad de asistente y por el estímulo económico a esta labor.

A la familia Tovar Rocha de la vereda Jerusalén, municipio de La Calera, por permitirme trabajar en su propiedad para la toma de los datos y especialmente por su gran amabilidad, hospitalidad y solidaridad conmigo y con mi proyecto.

A mi directora de tesis, María Argenis Bonilla Gómez por sus valiosos aportes a mi trabajo y a mi formación académica y profesional, por su firmeza y exigencia que lograron una mejora en los resultados, por su paciencia y afecto para demostrarme que siempre se puede entregar más.

Al grupo de investigación Biología de Organismos Tropicales de la Universidad Nacional de Colombia BIOTUN y a Carolina Becerra por sus aportes, sus comentarios constructivos y por su disposición a contribuir.

Al estudiante de doctorado  Giovanny Giraldo, de la Universidad de Wisconsin-Madison, por la identificación de la especie de orquídea objeto de estudio.

Al Dr. Alejandro Parra, del laboratorio de abejas silvestres del Departamento de Biología, por su ayuda en la identificación de los visitantes.

A los biólogos Mateo Sebastián Jaimes y Katherine Barragán por su colaboración y aportes con la identificación de las plantas hospederas.

Al profesor Xavier Marquínez por explicarme y facilitarme el uso del estereoscopio y por sus valiosos consejos para obtener mejores resultados.

A mi padre Néstor Ballesteros, a mi madre Belén Pintor, a mi hermano Andrés Ballesteros y a mi esposo Juan Camilo Galvis por el apoyo incondicional, el amor, la paciencia y la solidaridad ofrecida para poder culminar este proyecto.

A mi madre Belén Pintor por ser la persona que más me ha motivado a alcanzar nuevas metas y porque con su ejemplo me ha demostrado el valor de la perseverancia.

# Resumen

Las orquídeas altoandinas son de gran interés ecológico por sus diversas adaptaciones para alcanzar la reproducción sexual, por las interacciones que establecen con diferentes especies de insectos y aves y por su sensibilidad ante la intervención antrópica constante. El objetivo principal de esta investigación fue determinar las características morfológicas de la flor, las adaptaciones y la estrategia que emplea la orquídea epífita *Oncidium ornithorhynchum* en su reproducción sexual. Se realizaron 42 salidas de campo durante los periodos reproductivos de 2013, 2014 y 2016 a la vereda Jerusalén, en el municipio de la Calera, Cundinamarca. Se describió el desarrollo floral y se realizaron mediciones morfológicas, se hizo un conteo semanal de los siguientes estados fenológicos: botones, flores, flores senescentes y frutos en formación de las plantas en condiciones naturales para determinar el patrón fenológico, la sincronía dentro de la inflorescencia y entre inflorescencias y la producción de frutos. Se realizaron experimentos de polinización manual para determinar el sistema reproductivo de la especie y la receptividad estigmática. Se hicieron tinciones con SUDAN III y Lugol en flores frescas para la detección de aceites y/o almidones presentes en las flores. Se llevaron a cabo observaciones focales para la determinación de visitantes y polinizadores. Se encontró que *O. ornithorhynchum* es una especie con reproducciones anuales, presentó un pico de floración en la segunda época seca del año (octubre-noviembre), las flores de una inflorescencia fueron medianamente sincrónicas, mientras que la sincronía entre individuos fue baja a lo largo del periodo reproductivo, especialmente para los individuos con inflorescencias más grandes. El 75% de los individuos logró formar al menos un fruto, el 40% abortó por lo menos un fruto y sólo el 12% de las flores de todos los individuos lograron convertirse en frutos con semillas. Se determinó que *O. ornithorhynchum* fue estrictamente autoincompatible. Las fases femenina y masculina estuvieron separadas espacialmente, el estigma fue receptivo desde antes de iniciar la antesis y hasta antes de iniciar la senescencia, los polinios de flores abriendo y de flores iniciando la senescencia produjeron fecundaciones exitosas, por lo tanto no hubo dicogamia pero sí hercogamia. Esta especie de orquídea fue visitada por *Bombus atratus* y *Thygater aethiops*, dos especies de abejas generalistas que sobreviven en ambientes intervenidos antrópicamente. No se encontró el/los polinizador(es). *O. ornithorhynchum* secretó aceites en los elaióforos que podrían ser la recompensa que ofrece la orquídea a los visitantes y/o polinizadores. Se determinó que *O. ornithorhynchum*, tuvo características similares a otras especies de orquídeas que no ofrecen alguna recompensa, como la visita a pocas flores de la inflorescencia, los despliegues florales grandes que se ven favorecidos por la selección de los polinizadores y la polinización está limitada por los polinizadores.

**Palabras clave:** *Oncidium*, fenología de la floración, orquídeas altoandinas, sincronía floral, autoincompatibilidad, Cundinamarca, *Bombus atratus*, *Thygater aethiops*.

# Abstract

High Andean orchids are of great ecological interest because of their diverse adaptations to achieve sexual reproduction, the interactions they establish with different species of insects and birds and their sensitivity to constant anthropic intervention. The main purpose of this research was to determine the morphological characteristics of the flower, the adaptations and the strategy used by the epiphytic orchid *Oncidium ornithorhynchum* on its sexual reproduction. There were made 42 field trips during sexual reproduction in 2013, 2014 and 2015 to Jerusalén, in La Calera town, Cundinamarca. The floral development was described and morphological measurements were taken. A weekly count of the following phonological states: buds, flowers, senescent flowers and fruits of plants in natural conditions was made to determine the phonological pattern, the synchrony within the inflorescence and between inflorescences and fruit set. Manual pollinations experiments were performed to determine the mating system and stigmatic receptivity. Fresh flowers were stained with SUDAN III and Lugol for the detection of oils and/or starch offered by the flowers. Focal observations were carried out to determine the occurrence of visitors and pollinators. It was found that *O. ornithorhynchum* is a species with annual reproductions, showed a flowering peak in the second dry season of the year (october-november), flowers of an inflorescence were moderately synchronous, while the synchrony between individuals was low throughout the reproductive period, specially, individuals with big inflorescences. 75% of the individuals formed at least one fruit, 40% aborted at least one fruit an only 12% of the total flowers managed to become fruits. *O. ornithorhynchum* was strictly self-incompatible. The female and male phases were spatially separated, the stigma was receptive from before anthesis began, and even before senescence began, pollinaria from flowers in process of opening and from flowers initiating senescence produced successful fertilization, and thus there wasn't dichogamy but hercogamy. This orchid was visited by *Bombus atratus* and by *Thigater aethiops*, two generalist bees that survive in anthropically operated environments. Pollinator was not found. *O. ornithorhynchum* secreted oils in elaiophores that could be the reward the orchid offer to visitors and/or pollinators. It was determined that *O. ornithorhynchum* had characteristics similar to other orchids that don't offer some reward to their pollinators, such as the visit to few flowers of the inflorescence, large flower displays favored by pollinator selection and pollination that is limited by pollinators.

**Keywords:** *Oncidium*, floral phenology, high Andean orchids, floral synchrony, self-incompatibility, Cundinamarca, *Bombus atratus*, *Thygater aethiops.*

# Tabla de contenido

**Pág.**

Agradecimientos .....V

Resumen .....VII

Abstact .....IX

Lista de figuras ..... 11

Lista de tablas ..... 13

1. Introducción ..... 15

2. Objetivos ..... 20
   2.1. Objetivo general……20
   2.2. Objetivos específicos……20

3. Marco teórico ..... 21
   3.1. Sistema reproductivo…..……..23
   3.2. Fenología floral…….....24
   3.3. Despliegue floral……26
   3.4. Producción de frutos……26

4. Estado del arte del genero Oncidium..... 27
   4.1. *Oncidium ornithorhynchum*……..32
   4.1.1. Distribución en Colombia……..33
   4.1.2. Situación de amenaza……34

5. Materiales y métodos ..... 33
   5.1. Área de estudio……..35
   5.2. Especie estudiada……37
   5.3. Biología floral……..38
      5.3.1. Morfología floral……38
      5.3.2. Desarrollo floral……..39
      5.3.3. Recompensas florales……..40
      5.3.4. Receptividad estigmática y viabilidad de los polinios…..……41
   5.4. Fenología de la floración……..41

5.5. Sistema reproductivo……43
5.6. Visitantes y polinizadores……45
5.7. Análisis estadístico……45

6. Resultados ..... 45
6.1. Biología floral……47
6.1.1. Morfología floral……47
6.1.2. Desarrollo floral……..50
6.1.3. Recompensas florales……..53
6.1.4. Receptividad estigmática……55
6.2. Fenología de la floración……..58
6.2.1. Fenología de la floración de la inflorescencia……..58
6.2.2. Fenología de la floración del grupo de plantas..……..62
6.2.3. Producción de frutos……66
6.3. Sistema reproductivo……69
6.4. Visitantes ……..……70

7. Discusión ..... 73
7.1. Biología floral……..73
7.2. Fenología de la floración……..78
7.3. Visitantes ……..……83

8. Conclusiones y recomendaciones ..... 85

Bibliografía ..... 90

# Lista de figuras

**Pág.**

**Figura 5.1:** Mapa del departamento de Cudinamarca (Izquierda) y del municipio de La Calera con sus veredas (derecha). Las flechas indican la ubicación de Bogotá en Cundinamarca y de la vereda Jerusalen en el municipio.....36

**Figura 5.2**: Finca San Isidro, Vereda Jerusalen, La Calera. Presenta pequeños fragmentos de bosque, con arbustos de 1 a 3 metros de altura y árboles de 4 a 6 metros, inmersos en una matriz de pastos para la ganadería……37

**Figura 5.3:** Habito epífito de *O. ornithorhynchum*. Planta con eje en botón (izquierda) y planta con eje floreciendo (derecha)……38

**Figura 5.4:** Morfología de las flores de *O. ornithorhynchum*.. PD= pétalo derecho, CAP= capucha que protege los polinios, SC= sépalo central, PI= pétalo izquierdo. Flechas azules ancho, flechas rojas=largo……39

**Figura 5.5:** Estados de desarrollo de la flor previos a la antesis. A: Yema, B: botón verde (arriba) y botón verde (abajo), C: botón abriendo, D: flor abriendo……40

**Figura 6.1:** Morfología funcional de las flores de *O. ornithorhynchum* involucradas en la polinización. Ela= elaióforo, Col= columna……48

**Figura 6.2:** Análisis de componentes principales de 15 variables morfológicas con correlaciones significativas entre sí……50

**Figura 6.3:** Estados del desarrollo floral de *O. ornithorhynchum*. A: columna inmadura de yema, B: columna inmadura de botón verde, C: columna de botón amarillo, D: botón abriendo, E: flor abriendo, F: flor abierta, G: flor senescente, H: desarrollo ovárico, I: fruto inmaduro, J: fruto dehiscente. La división mínima del fondo de las imágenes A, B, C e I es de un milímetro……...52

**Figura 6.4:** Duración de los estados de desarrollo de la flor de *O. ornithorhynchum*……53

**Figura 6.5:** Presencia de lípidos en el labelo. A: Flor con elaiófofos teñidos de rojo. B: Imagen al estereoscopio electrónico de un elaióforo teñido señalando (flecha) pequeñas gotas de lípido. C: Imagen al microscopio de luz señalando (flecha) una gota de lípido sobre la epidermis de un elaióforo. D: Imagen al microscopio de luz señalando (flecha) lípido intracelular. Tinción con SUDAN III ……54

**Figura 6.6:** Presencia de almidones en el labelo. A: Flor con elaiófofos teñidos de negro. B: Imagen al estereoscopio electrónico de un elaióforo teñido. C y D: Imágenes al microscopio de luz de un corte longitudinal del elaióforo con tinción de almidón intracelular. Tinción con Lugol.……..55

**Figura 6.7:** Receptividad estigmática en cada edad de la flor……56

**Figura 6.8:** Comparación de la longevidad de las flores intactas y de las flores con eventos reproductivos……...……...57

**Figura 6.9:** Frecuencia del número de flores por inflorescencia en días……..……...58

**Figura 6.10:** Frecuencia de la longevidad de las inflorescencias en días……...…….59

**Figura 6.11:** Relación entre el número de flores por inflorescencia y la longevidad de la inflorescencia……..59

**Figura 6.12:** Índice de sincronía dentro de la inflorescencia.…….……60

**Figura 6.13:** Relación entre el número de flores por inflorescencia y el índice de sincronía en la inflorescencia……61

**Figura 6.14:** Relación entre el inicio de la antesis y el número de flores por inflorescencia.....61

**Figura 6.15:** Comparación de las categorías del inicio de la antesis en relación con la longevidad de la inflorescencia (días)……62

**Figura 6.16:** Relación de la precipitación mensual con la intensidad de cada fase fenológica en cada una de las fechas de muestreo…….63

**Figura 6.17:** Frecuencia del inicio de la antesis en la población…..…….…64

**Figura 6.18:** Frecuencia del índice de sincronía en la apertura de las flores.…….65

**Figura 6.19:** Relación entre la longevidad de las inflorescencias y el índice de sincronía en el periodo floral ……..……66

**Figura 6.20:** Frecuencia del número de frutos por planta…….……..……67

**Figura 6.21:** Comparación del número de frutos en las categorías de tamaño de la inflorescencia……..68

**Figura 6.22:** Relación entre el número de flores por inflorescencia *vs.* el número de abortos y el número de frutos *vs.* el número de abortos …..…….68

**Figura 6.23:** Visitantes florales de *O. ornithorhynchum*, *B. atratus* (A: Vista lateral, B: Vista ventral) y *T. aethiops* (C: Vista lateral, D: vista dorsal)……..71

**Figura 6.24:** Frecuencia del horario de visita y de la duración de la visita en la inflorescencia de *B. atratus* y de *T. aethiopsi*…….72

**Figura 6.25:** Frecuencia del número de flores visitada en cada inflorescencia por parte de *B. atratus* y de *T. aethiops* ……...73

# Lista de tablas

**Pág.**

**Tabla 5.1**: Parámetros para describir la fenología de la floración a nivel de inflorescencia y a nivel de población ……42

**Tabla 5.2**: Tratamientos de polinización para la identificación del sistema reproductivo (Cuervo, 2012) y diseño experimental……44

**Tabla 6.1:** Porcentaje de frutos obtenidos a partir de flores manipuladas en los diferentes tratamientos……69

# 1. Introducción

De los rasgos de historia de vida de una especie, los caracteres reproductivos que determinan los patrones de emparejamiento son los que más influyen en la forma como se da la evolución. Este papel fundamental surge porque el sistema de apareamiento dirige la transmisión genética entre generaciones y por tanto el comportamiento de todos los genes en la población. Las respuestas evolutivas a las condiciones ecológicas son evidentes en todos los aspectos reproductivos de las angiospermas, desde la inversión de recursos a la reproducción *vs* a la función vegetativa, la estructura y el arreglo de las flores y su papel en la polinización, hasta los patrones de emparejamiento dentro de las poblaciones (Barrett *et ál*. 1996).

El éxito en la reproducción sexual de las plantas con flores se refleja en la cantidad y la calidad de la descendencia producida e implica complejas interacciones ecológicas entre las especies y el medio. Los rasgos y el funcionamiento de las flores e inflorescencias, aunque están principalmente determinados por el componente genético, se ven afectados por factores externos como: la región geográfica y la disponibilidad de nutrientes, de agua, de potenciales parejas, de polinizadores y de dispersores (Angel-Coca *et ál.* 2011). Dado que las estructuras florales tienen un significado funcional en la polinización y en los sistemas de apareamiento, un estudio simultáneo conlleva a un mejor entendimiento de los procesos que conducen la diversificación de los rasgos florales (Barrett *et ál.* 1996), de allí la importancia de entender en detalle la biología reproductiva de una planta para aportar información a la ecología evolutiva.

La fenología floral es un aspecto relevante en la biología reproductiva de una especie de planta porque determina el éxito de la reproducción, por lo que algunos autores la ha tratado de explicar en términos adaptativos (Mahoro 2002); se ve afectada naturalmente por varios factores ambientales, entre los cuales la temperatura y el fotoperiodo en las zonas templadas del planeta y la precipitación en la zona tropical son señales confiables de los cambios de temporada. La detección precisa de esas señales ambientales y la respuesta de las plantas permite que la floración ocurra cuando las condiciones climáticas son las más adecuadas para la reproducción (Elzinga *et ál*. 2007). Esta dinámica es

sensible en ciertas circunstancias y podría afectar no solo la producción de flores, si no la calidad del polen, la producción de frutos, la ocurrencia de abortos e incluso los eventos reproductivos futuros.

De los rasgos biológicos la polinización, por ejemplo puede ser particularmente sensible a los cambios en el paisaje. Las prácticas agrícolas incluyen el uso de pesticidas y químicos industriales que afectan la salud de los insectos que visitan los cultivos (Martínez-Virgen *et ál.* 2010; Jarvis *et ál.* 2011; Hladik *et ál.* 2016), lo cual podría conducir no solamente a una disminución en el servicio de polinización para los cultivos, si no que puede afectar las interacciones con otras especies de plantas silvestres y por lo tanto su reproducción.

Los estudios en biología reproductiva de especies del género *Oncidium* han revelado que las visitas de los polinizadores suelen ser escasas (Ackerman y Montero 1985), que el disturbio ganadero y agrícola puede disminuir la producción de frutos (Parra-Tabla *et ál.* 2000), que la estrategia de algunas especies involucra el engaño (Pemberton 2008, Chase *et ál*. 2009), mientras que muchas otras ofrecen aceites como recompensa (Pacek y Stpiczyńska 2007, Stpiczyńska y Davis 2008, Davis y Stpiczyńska 2009, Stpiczyńska *et ál.* 2013) y son visitadas por abejas colectoras de aceites de los géneros *Centris* y *Tetrapedia* (Torretta *et ál*. 2011, Pacek *et ál*. 2012).

Debido a la riqueza biológica que albergan los ecosistemas altoandinos de Colombia, por su gran cantidad de endemismos y por los servicios ecosistémicos que nos prestan, son consideradas áreas prioritarias para la conservación (Etter y van Wyngaarden 2000), especialmente por la constante amenaza de las actividades antrópicas y por las consecuencias del cambio climático global (Foster 2001).

En el municipio de La Calera existen canteras de arena y una fábrica de cemento, además de las prácticas agropecuarias que por tradición han existido en las zonas rurales del municipio. Las actividades agrícolas y pecuarias reducen no solo la cantidad de hábitat natural, si no la calidad de los fragmentos de vegetación que aún quedan, mediante la pérdida de la continuidad de la cobertura forestal, el incremento de la radiación solar y del viento en los bordes de los bosques (Murcia 1995; Lande 1998) y la reducida persistencia de especies sensibles que requieren condiciones específicas para sobrevivir (Lamond *et ál*. 1993).

A pesar de lo anterior, unas pocas especies logran permanecer en el tiempo en este tipo de ecosistemas intervenidos. Tal es el caso de *Oncidium ornithorhynchum*, una orquídea epífita que se encontró bien representada (aproximadamente 130 individuos reproductivos y entre 70 y 90 individuos vegetativos en 2013) en una finca de la vereda Jerusalén, en el municipio de la Calera.

No se encontraron registros en Colombia sobre la situación de amenaza de esta especie de orquídea y no se encuentra en ninguna de las categorías de amenaza de la UICN. Tampoco se halló información ecológica o sobre la reproducción sexual de esta especie, aun cuando ha logrado mantenerse por décadas en un ambiente altamente intervenido, como lo es la zona rural de La Calera (comunicación personal de habitantes de la vereda).

A partir de este contexto surgieron las siguientes preguntas:

1. ¿Cuáles rasgos morfológicos están involucrados en la polinización de *Oncidium ornithorhynchum*?
2. ¿Cómo es la fenología floral de *O. ornithorhynchum*?
3. ¿Cuál es el sistema reproductivo de *O. ornithorhynchum*?
4. ¿Qué organismos están involucrados en la reproducción sexual de *O. ornithorhynchum*?

Para dar respuesta a estas preguntas, aportar al conocimiento biológico y ecológico de *O. ornithorhynchum* y con el fin de contribuir al entendimiento de la función de especies de orquídeas en ecosistemas altoandinos alterados, se tomó información biológica de esta especie en una finca de la vereda Jerusalén, La Calera, se realizaron ensayos de polinización manual, se recolectaron muestras biológicas para las pruebas de laboratorio para determinar la presencia de recompensas florales y se hicieron observaciones focales para determinar las especies de insectos que son posibles polinizadores.

Con esta investigación se logró determinar la estrategia de reproducción sexual de *O. ornithorhynchum*, que entre otras cosas incluye reproducciones anuales, con un pico de floración, cierto grado de sincronía en la inflorescencia y reproducción sexual que requiere la participación de polinizadores y de polen foráneo para la formación de frutos con semilla, ofreciendo a su vez una posible recompensa a sus visitantes.

# 2. Objetivos

## 2.1 Objetivo general

Establecer la estrategia de reproducción sexual de *Oncidium ornithorhynchum* en un fragmento de bosque en el municipio de La Calera, Cundinamarca.

## 2.2 Objetivos específicos

- Determinar los rasgos morfológicos de la flor involucrados en la polinización de *Oncidium ornithorhynchum*
- Identificar el patrón fenológico de *Oncidium ornithorhynchum*
- Establecer el sistema reproductivo de *Oncidium ornithorhynchum*
- Diferenciar los visitantes y los polinizadores de *Oncidium ornithorhynchum*

# 3. Marco teórico

En biología y ecología los rasgos de historia de vida son una herramienta para dar explicaciones a eventos y patrones relacionados con los seres vivos y su permanencia en el tiempo. La historia de vida de un organismo está constituida por todos aquellos aspectos de su ciclo de vida que afectan su supervivencia y su reproducción. Algunos componentes de la historia de vida de un organismo son la edad y el tamaño corporal cuando se alcanza la maduración reproductiva, el número de reproducciones a lo largo de su vida, la distribución de energía entre reproducción, supervivencia y mantenimiento corporal y como distribuye recursos entre su progenie (Roff 2002). De esta manera, el estudio de la historia de vida de una especie es clave para comprender dinámicas en las poblaciones, en las comunidades y en los ecosistemas.

De los rasgos de historia de vida, los que están relacionados con la reproducción son de gran importancia, porque determinarán directamente la perpetuación en el tiempo del individuo, de sus características competitivas y de la especie.

Las orquídeas son plantas de hábito epífito y/o terrestre que han generado gran interés por sus diversas adaptaciones para alcanzar la reproducción sexual, además de contar con estrategias de reproducción asexual y por las interacciones que establecen con diferentes especies de insectos y aves (Singer y Sazima 2001; Tremblay *et* ál. 2005; Stpiczyńska y Davies 2008; Pang *et ál*. 2012).

De las aproximaciones ecológicas que se han hecho a este tipo de plantas y que involucran rasgos reproductivos, se resalta un modelo predictivo que usa información de rasgos de historias de vida de varias especies de orquídeas (matriz demográfica de transición) el cual enfatiza la importancia de la compensación entre la ganancia de fecundidad (incremento en la producción de frutos) obtenida en un periodo reproductivo donde la limitación en la polinización fue menor, y sus efectos posteriores en el crecimiento (Calvo y Horvitz 1990). Por su parte, para la orquídea *Comparettia falcata* y a partir de datos experimentales se pudo calcular un índice de adecuación relativa para comparar plantas con aumento en el polen depositado y plantas polinizadas naturalmente y se encontró que la adecuación a lo largo de la vida de este tipo de plantas puede estar limitada por los recursos (Meléndez-Ackerman *et ál*. 2000). Sin embargo, hay evidencia que indica que a pesar de la limitación en los recursos que puede imponer un límite a la producción de frutos en orquídeas,

muchas especies podrían soportar niveles significativamente altos de polinización a lo largo de sus vidas (Tremblay *et ál.* 2005).

Por otro lado, las flores que no logran convertirse en fruto no siempre representan una pérdida energética, ya que pueden aumentar la adecuación de la planta mediante la donación del polen (Willson y Rathcke 1974). Por ejemplo, en algunas especies de Asclepias la producción de frutos esta pobremente correlacionada con el número de flores de una inflorescencia, pero la cantidad de polen removido por los polinizadores, asumido como un índice de la adecuación masculina, está fuertemente correlacionada con el tamaño de la inflorescencia (Willson y Price 1977). Sin embargo, esto requiere un análisis con mayor información experimental para determinar cómo contribuye la adecuación masculina a la adecuación general de la planta.

En la actualidad, los temas que tienen que ver con las interacciones en la polinización incluyen: la genética ecológica de los rasgos asociados a cambios en el polinizador, el impacto de la herbivoría en el despliegue floral, el grado en el cual las interacciones con el polinizador son generalizadas *vs.* especializadas y la estructura de las redes alimenticias planta-polinizador. Sin embargo es evidente que muchas veces han omitido la importancia de los aromas florales en la evolución de las interacciones planta-polinizador (Raguso 2008).

Los aromas de las flores son un rasgo más difícil de medir que otros rasgos morfológicos y también es más difícil de analizar, sin embargo se ha planteado que los aromas florales pueden estar bajo una selección más fuerte que los otros rasgos florales morfológicos tradicionalmente medibles (como el tamaño o el color) por parte de los polinizadores. Además, el aroma es un rasgo más sensible a la variación (en composición) entre poblaciones diferentes e incluso entre individuos de una misma población (Adler e Irwin 2012), por lo tanto su papel en la adecuación de la planta también es de gran importancia entenderlo.

En este contexto y para entender la estrategia de reproducción sexual de una especie de planta es importante tener en cuenta diferentes aspectos como la biología de la flor, el despliegue floral, la fenología floral, la sincronía de la floración, el sistema reproductivo empleado por la especie, la cantidad de semillas que resultan del proceso y las adaptaciones morfológicas y químicas que son clave para la atracción de los polinizadores y/o dispersores y así poder alcanzar con éxito la reproducción sexual. Una vez se tiene

esta información y es integrada con los datos de las interacciones con otras especies se puede establecer la importancia ecológica y evolutiva de la especie en cuestión.

## 3.1 Sistema reproductivo

El sistema reproductivo de una especie de planta determina la forma por la cual se producirán las semillas y el grado de dependencia que experimentan las plantas de sus polinizadores para la producción de los frutos (Richards 1997).

En primer lugar, el sistema reproductivo depende del grado de autoincompatibilidad. Una especie de planta con flores hermafroditas (flores con los dos sexos) no necesariamente se puede autofecundar, ya que existen mecanismos genéticos que evitan el desarrollo de los frutos y las semillas cuando el polen proviene de la misma planta. Adicionalmente, las plantas pueden contar con una separación espacial y/o temporal de las fases femenina y masculina para evitar la autopolinización (Lloyd y Schoen 1992).

Se ha considerado que la polinización cruzada es el sistema de reproducción más efectivo en orquídeas (Barrett 2002). Sin embargo, se cree que la autopolinización puede ejercer presiones selectivas en la evolución de sistemas de reproducción en plantas. Aun cuando la autocompatibilidad es frecuente en orquídeas, se ha establecido que numerosas especies de la subtribu Oncidiinae son autoincompatibles (Parra-Tabla *et ál*. 2000), e incluso para el género *Oncidium* se ha reportado la ocurrencia de autoincompatibilidad en algunas especies (Tremblay *et ál*. 2005)

Un rasgo muy relacionado con los sistemas reproductivos son los sistemas de polinización, y en el caso de las orquídeas se considera que han evolucionado ampliamente en respuesta a la competencia por los polinizadores, cuando los polinizadores suelen ser escasos (Benzing y Atwood 1984).

Las especies de orquídeas no autógamas exhiben una gran variedad de sistemas de polinización que incluyen la participación de especies de aves, polillas, moscas, mariposas, abejas y avispas (Tremblay *et ál*. 2005).

## 3.2 Fenología floral

El estudio de la ocurrencia periódica de un fenómeno en plantas en relación con el clima y los cambios de estación es comúnmente conocido como fenología. Los estudios fenológicos reflejan ocurrencias diarias de plantas y animales en respuesta al ambiente. Para el caso de las plantas, esto incluye aspectos reproductivos como la formación de botones, la floración, la fructificación y la germinación de semillas, y aspectos vegetativos como el coloreado y la muda de las hojas (Lokho y Kumar 2012).

Aunque el estudio de la fenología no solamente involucra las fases vegetativa y reproductiva correspondientes al clima o a los cambios estacionales de un área particular, si no que contribuye a determinar el grado de sincronía reproductiva con otras especies de plantas (Rathcke 1988). Los estudios fenológicos han sido muy importantes porque brindan herramientas para el manejo de plantas y la lucha contra la deforestación, para los análisis de miel, para entender la biología floral, para hacer estimaciones de la reproductividad y la regeneración, para cualquier especie de interés, entre otros.

El estudio del microclima referente a la investigación fenológica adquiere gran importancia porque representa las condiciones actuales que influyen en la respuesta de las plantas (Lokho y Kumar 2012). Se han identificado tres factores ambientales que provocan el progreso fenológico de la planta: fotoperiodo, temperatura y humedad (Rathcke y Lacey 1985). Estos tres factores pueden considerarse como los responsables de romper con la latencia de los brotes e iniciar la actividad del desarrollo (Lokho y Kumar 2012). Para el caso de la zona tropical el factor ambiental que provoca respuestas fenológicas en las plantas es la precipitación. La importancia de los estudios fenológicos en ecología radica en entender las estrategias adaptativas de las especies en un tipo particular de ecosistema.

El tiempo de floración puede afectar la calidad de las semillas, mediante su efecto sobre cuales plantas están disponibles para la polinización. Así, por la influencia potencial del tiempo de floración sobre la calidad y la cantidad del rendimiento reproductivo, es importante considerar las causas de la variación dentro de una población en las variables fenológicas y las consecuencias que resultan en la adecuación de la planta (Marquis 1988).

La fenología floral difiere de una especie a otra de acuerdo a los ecosistemas a los que están asociados, lo cual sugiere que los patrones específicos de fenología floral pueden ser una característica de tipos de ecosistemas específicos (Lokho y Kumar, 2012). El

calendario (o programa) de floración por lo general varía entre los individuos de una población (Primack 1980; Marquis 1988).

La fenología de la floración es considerada como una característica clave en la biología reproductiva de las plantas por que influye en muchas de las interacciones mutualistas y antagonistas y así impacta sobre el éxito reproductivo de la planta (Rathcke y Lacey 1985).

Con los grandes avances que se han logrado recientemente para entender los controles genéticos para el tiempo de floración (Nguyen *et ál.* 2015; Duplat-Bermudez *et ál*. 2016; Li, Wang y Yu 2016; Kapolas *et ál*. 2016), los ecólogos evolucionistas lograrán integrar información desde el nivel molecular hasta el nivel de comunidad para entender la evolución adaptativa de la fenología y determinar el papel de los agentes bióticos de la selección será una parte importante en este esfuerzo. Dichos esfuerzos adquieren una gran importancia a medida que los disturbios a gran escala de las interacciones bióticas sean más comunes (Elzinga *et ál*. 2007).

Otro aspecto de la biología reproductiva de una planta y que está determinado por la fenología es el grado de sincronía en la floración y también en la fructificación, el cual es considerado como relevante ecológica y evolutivamente a diferentes escalas, desde la secuencia de apertura floral individual hasta los patrones interespecíficos amplios de comunidades o a nivel de paisaje (Freitas y Bolmgren 2008). Por ejemplo, la maduración asincrónica de frutos entre ciertas especies dentro de una comunidad se ha interpretado como el reflejo de adaptaciones para reducir la competencia por dispersores de semillas y consecuentemente para maximizar la reproducción de la planta (Wheelwright 1985). A otra escala, la sincronía de floración de individuos dentro de cierta población puede afectar tanto la cantidad como la calidad genética de la descendencia, porque esto influye en el número de parejas potenciales de cada individuo y además afecta la eficiencia del forrajeo de los polinizadores (Schemske 1977).

Debido a las variaciones ambientales y genotípicas, las plantas de una población rara vez florecen en perfecta sincronía. Una consecuencia importante de la variación fenológica es que afecta las interacciones intraespecificas de manera que puede influir en la estructura genética de la población (Elzinga *et ál*. 2007).

## 3.3 Despliegue floral

El número de flores y su arreglo en el espacio y en el tiempo influyen fuertemente sobre los niveles de polinización y la producción de frutos en plantas de poblaciones naturales (Srimuang *et ál*. 2010). Las plantas que no ofrecen algún tipo de recompensa, usualmente presentan un mayor despliegue floral (Melendez-Ackerman *et ál.* 2000).

Cuando una planta no produce néctar para la atracción de sus polinizadores, la estrategia adoptada para asegurar el éxito reproductivo en plantas limitadas por el polinizador (generalmente orquídeas) es incrementar el despliegue floral, situación que se puede traducir en un aumento en la frecuencia de visitas de los polinizadores y una mayor producción de frutos (Tremblay *et ál*. 2005). Aunque el incremento en el despliegue floral a nivel de individuo, no siempre se resulta en un incremento en la producción de frutos, y cuando esto ocurre se puede inferir que los polinizadores no actúan como agentes selectivos de este rasgo para un periodo reproductivo determinado. El valor adaptativo del despliegue floral se podría aclarar si este rasgo contribuye a un incremento en el éxito reproductivo en otras temporadas reproductivas (Valdivia *et ál*. 2010).

La selección natural de los rasgos florales puede estar mediada por las preferencias del polinizador y la frecuencia de visita, respondiendo a la cantidad y a la disponibilidad de recompensas florales (Friedman y Shmida 1995). De esta manera se esperaría que las recompensas florales influyan directamente sobre el comportamiento de los polinizadores y en consecuencia afecten el éxito reproductivo de la planta, bien sea incrementando la frecuencia de visita de los polinizadores o la calidad de la polinización (Pang *et ál.* 2012). Una planta con inflorescencias que ofrecen alguna recompensa experimentará más visitas de un individuo y de esta manera se favorecerán las autopolinizaciones en mayor proporción que en aquellas especies que no ofrecen recompensa. Por el contrario, la falta de recompensas puede favorecer las polinizaciones cruzadas, debido a las pocas visitas dentro de una misma inflorescencia (Sanguinetti y Singer 2014).

## 3.4 Producción de frutos

La producción de frutos como medida del éxito reproductivo de las plantas, es el resultado del comportamiento de la fenología floral, de la sincronía con otros individuos, del despliegue floral, del sistema reproductivo y de la oferta o no de recompensas florales que determinan el comportamiento de los polinizadores.

Las orquídeas que no producen néctar como oferta a sus visitantes, tienen una producción de frutos mucho menor que aquellas que si lo hacen y las orquídeas nectaríferas de las regiones tropicales tienen un éxito reproductivo menor que sus contrapartes en regiones templadas (Neiland y Wilcock 1998, Tremblay *et ál*. 2005).

El éxito reproductivo de orquídeas que proveen alguna recompensa y de orquídeas que son polinizadas por engaño está a menudo limitado por los polinizadores y las que no cuentan con recompensas son conocidas por tener baja tasa de éxito en la polinización (O'Connell y Johnston 1998, Tremblay *et ál*. 2005). En orquídeas que son polinizadas por engaño, se espera que la selección favorezca la asincronía en eventos de floración (O'Connell y Johnston 1998), mientras que las especies que proveen de recompensa a sus polinizadores suelen sincronizar la floración y competir por polinizadores. Esto tiene implicaciones en el número de frutos que se formarán en cada individuo. Por ejemplo, algunas especies de orquídeas polinizadas por engaño experimentan un éxito reproductivo alto en los individuos que inician la floración tempranamente (O'Connell y Johnston 1998), pero esto se cumple para aquellas especies de zonas templadas, donde a inicios de la primavera empiezan a abundar muchos de los polinizadores que son inexpertos, situación que facilita la alta frecuencia de visitas a plantas con estrategia de engaño (Intercola *et ál*. 2008).

Sin embargo, si hablamos de especies que crecen en ecosistemas tropicales, se puede esperar que las plantas que florezcan muy temprano o muy tarde en la época reproductiva de una población, tengan una capacidad de reproducción reducida (Primack 1980) debido a la poca atracción generada por la baja sincronía y a que no necesariamente los polinizadores inexpertos coinciden con el inicio de la temporada reproductiva de las plantas.

Las orquídeas nectaríferas tropicales tienen niveles de producción de frutos relativamente altos (Berry y calvo 1991) comparado con los niveles en especies engañosas, cuyos niveles de producción de frutos alcanzan un 9% (Calvo y Horvitz 1990). Por lo general, el fracaso en la reproducción sexual de las plantas se da por las limitaciones en la polinización o por las limitaciones en los recursos (Pang *et ál.* 2012) o por la interacción de las dos.

Por otro lado, la producción de frutos en orquídeas que no dependen del polinizador para alcanzar la polinización suele ser alta y cuentan con sistemas de reproducción que incluyen la autogamia y la agamospermia, situación que ha sido muy poco reportada en la familia, mientras que para orquídeas autoincompatibles se ha registrado en varios casos una tasa de fructificación muy baja (generalmente <10%) (Janzen *et ál*. 1980; Ackerman 1989; Zimmerman y Aide 1989; Calvo 1990a; Neiland y Wilcock 1998).

El grado de dependencia entre las plantas y los polinizadores para el transporte de polen necesario para los entrecruzamientos es un tema clave en la ecología reproductiva de las plantas porque puede dirigir las trayectorias evolutivas de las plantas y sus polinizadores (Valdivia *et ál*. 2010).

# 4. Estado del arte del género *Oncidium*

Oncidiinae (Cymbidieae) es una de las subtribus más diversas de la familia Orchidaceae y uno de los mayores componentes de la flora neotropical, exhibe una diversidad enorme cuyas recompensas van desde néctar, aceites y fragancias y algunas recurren al engaño como estrategia de atracción (Neubig *et ál*. 2012). Históricamente ha habido dificultades en la definición de los géneros de Oncidiinae, como resultado de las homoplasias y de los eventos de mimetismo. Las clasificaciones tradicionales tienen en cuenta los rasgos florales y los rasgos relacionados con los sistemas de polinización, situación que no aclara las discrepancias entre los taxónomos. La clasificación basada en secuencias de ADN para la subtribu Oncidiinae, propuesta por Neubig *et ál*. (2012), permite la identificación de grupos monofiléticos que aclaran en cierta medida la evolución de los rasgos morfológicos y bioquímicos. Así, muchas de las especies del género *Oncidium* han sido reubicadas en otros géneros, como es caso de las especies de Brasil.

*Oncidium* Sw. es un género de orquídeas con más 520 especies aproximadamente (Neubig *et ál*. 2012), considerado por muchos especialistas como un grupo polifilético y cuya delimitación con otros géneros es muy controvertida (Chase *et ál*. 2009). La mayoría de las especies están presentes en sur América, aunque también hay algunas especies en centro América y el Caribe (Machado *et ál*. 2012). El género *Oncidium* Sw. está constituido por plantas de porte pequeño a mediano o grande, principalmente epífitas, en algunos casos rupícolas o terrestres, nativas de regiones tropicales y subtropicales de América (Valebella y Miguel, 2011).

En la propuesta taxonómica de Neubig *et ál*. (2012), algunos de los géneros monofiléticos se encuentran embebidos en grandes clados de especies del género *Oncidium* con diversidad morfológica y diversidad en los sistemas de polinización, por lo que dicha segregación del género se resolvería con la creación de nuevos géneros monofiléticos que serían difíciles de diagnosticar usando rasgos florales o vegetativos.

A nivel de ecología las pocas investigaciones realizadas a especies del género se enfocan en aspectos de reproducción sexual o clonal, pero se desconoce del estado de las poblaciones de las especies y su papel en los ecosistemas suramericanos.

**Publicaciones que se limitan al reporte de especies del género**

Kaufman (1901) reporta a *Oncidium altissimum* en New York, USA, Sauleda y Adams (1984) reportan la especie *Oncidium bahamense* en el archipiélago de las Bahamas,

Catling y Lefkovitch (1989) documentaron la presencia plantas epífitas vasculares y la asociación de algunas de estas especies en un bosque de Guatemala y reportaron una sola especie del género: *Oncidium oblongatum*.

Valebella y Sager (2010) reportaron 16 especies presentes en Argentina.

**Biología reproductiva e Histología de algunos órganos florales del género**

A pesar de que *Oncidium* es un género muy diverso y controversial, los estudios que se han realizado para explicar la biología reproductiva de las especies son pocos.

Ackerman y Montero (1985) analizaron la polinización y la producción de frutos de *Oncidium variegatum* en las montañas centrales de Puerto Rico y no encontraron suficiente evidencia que soportara la hipótesis de la limitación de los recursos en la producción de frutos, las visitas de los polinizadores fueron escasas, la producción de frutos de las flores polinizadas manualmente fue del 68% al 78%, mientras que las polinizaciones naturales solo alcanzaron el 4%.

Stern *et ál.* (1986) determinaron la presencia de osmóforos en tejidos de flores de varias especies de orquídeas y encontraron resultados positivos para *Oncidium aurisasinorum* y *Oncidium nudum* en Florida, Estados Unidos. El artículo se centra en la interpretación de los resultados según el reactivo, más que en algún aspecto reproductivo de las especies.

Yong y Hew (1995) determinaron que el tamaño de la inflorescencia de *Oncidium goldiana* que crece del brote más reciente depende positivamente del número de brotes antiguos conectados. El tamaño de la inflorescencia aumenta progresivamente con la presencia de uno o dos brotes antiguos conectados. Realizaron experimentos de defoliación para demostrar que las hojas del brote más reciente son la fuente principal de fotoasimilados para la inflorescencia de ese mismo brote, y que las hojas de los brotes más antiguos son una fuente secundaria.

Parra-Tabla *et ál*. (2000) estudiaron el éxito en la polinización de *Oncidium ascendens* en un parche de bosque seco tropical de una reserva en Yucatán, México y en un terreno dedicado a la agricultura y al pastoreo, durante tres años consecutivos, registrando la remoción de polinios y la producción de frutos. Encontraron que la remoción de polinios fue tres veces mayor en el hábitat mejor preservado que en el hábitat con disturbio. La tasa de remoción de polinios aumentó a lo largo de los tres años en el parche de bosque seco, mientras que en el área de disturbio disminuyó. La producción de frutos se mantuvo constante entre los años dentro del bosque seco, pero disminuyó en el área de prácticas agrícola-ganaderas. Adicionalmente, la producción de frutos fue el doble en el hábitat más conservado.

Pemberton (2008) estudió la polinización de la orquídea ornamental *Oncidium sphacelatum* quien fues polinizada mediante el engaño, gracias a que mimetiza especies de Malpighiaceae; la abeja *Centris nitida*, una abeja naturalizada en el sur de Florida, intenta colectar aceites de *O. sphacelatum*, provocando la polinización. Se determinó que la producción de frutos en florida fue mucho mayor que la reportada en México, en donde esta especie de orquídea es nativa (0.54% a 3% en Florida, 2.5% en México), gracias a la participación de *C. nitida*.

Stpiczyńska y Davis (2008) analizaron las glándulas secretoras de aceites (elaióforos) de *Oncidium trulliferum* y de *Ornithophora radicans* usando microscopía de luz, microscopía electrónica de barrido y microscopía electrónica de transmisión. Encontraron que los elaióforos de las dos especies, asociados al callo del labelo, fueron morfológicamente distintos, aunque *O. trulliferum* los tiene ubicados en los lóbulos laterales del labelo. En ambas especies, los elaióforos epiteliales estaban formados por una capa simple de células epidérmicas en empalisada. Las células secretoras pueden contener numerosos plastidios sin almidón, mitocondrias y retículo endoplasmáticos de contorno suave. La estructura de los elaióforos de estas especies fue similar a la que se ha reportado en otras especies de la subtribu Oncidiinae.

Carmona-Díaz y García-Franco (2009) evaluaron la facilitación por parte de *Malpighia glabra* a la polinización de la orquídea polinizada por engaño *Oncidium cosymbephorum* en condiciones naturales y en aglomeraciones artificiales de la orquídea, cerca y lejos de *M. glabra* en Veracruz, México. Se realizaron dos experimentos para evaluar el efecto de la presencia y ausencia de *M. glabra* en el éxito reproductivo de *O. cosymbephorum*.

Encontraron que el éxito reproductivo de la orquídea se mejoró notablemente con la presencia de *M. glabra*, aun cuando no ofrece ninguna recompensa a las abejas del género *Centris*. Este estudio aporta evidencia del efecto de especies magnéticas, como *M. glabra*, que favorecen con su presencia la polinización y la reproducción de otras especies no necesariamente similares morfológicamente.

Davies y Stpiczyńska (2009) hicieron una comparación histológica de los elaióforos de *Rudolfiella picta* y de *Oncidium ornithorhynchum* (aunque por las fotos, se puede determinar que realmente se trata de la especie con distribución mexicana *Oncidium sotoanum* y no de *O. ornithorynchym*). La especie objeto del estudio de Davies y Stpiczyńska tiene elaióforos epiteliales ubicados en los lóbulos laterales del labelo, junto al callo, formados por una capa simple de células secretoras en empalisada y tejido subsecretor de tipo parenquimatoso.

Stpiczyńska *et ál*. (2013) estudiaron la anatomía de los elaióforos de cuatro especies de orquídeas, dos de ellas del género *Oncidium*, *O. amazonicum* y *O. oxyceras.* A pesar de que la morfología, la ubicación, la anatomía y la ultraesructura de los elaióforos de estas cuatro especies como representantes de los géneros, son muy similares, concluyen que los elaióforos son considerados una homoplasia y de valor limitado al investigar la filogenia en la subtribu Oncidiinae.

Davies *et ál*. (2014) realizaron una descripción anatómica detallada de los elaióforos de cuatro especies formalmente asignadas al género *Oncidium* Sw. a patir de análisis moleculares: *Vitekorchis excavata*, *Cyrtochilum meirax*, *Oncidium heteranthum* y *Gomesa longipes*. Encontraron que la similitud de los tejidos secretores es considerable e indica homoplasia.

Algunas especies del género son polinizadas por abejas colectoras de aceites de los géneros *Tetrapedia* y *Centris* (Pacek *et ál*. 2012)

## *4.1 Oncidium ornithorhynchum* Kunt

Inicialmente, fue descrita por José Celestino Mutis antes de 1808 y posteriormente fue temporalmente nombrada como *Oncidium pyramidale* (con descripciones basadas en un espécimen colectado en Pasto, Colombia). Aproximadamente por la misma época, Alexander von Humboldt y Aimé Bonpland durante su expedición a Sur América la

colectaron y oficialmente la describieron como *Oncidium ornithorhynchum*, aunque en el herbario de Paris la localidad quedó mal registrada (México). Este error, generó algunas confusiones y malinterpretaciones con una especie de orquídea de distribución centroamericana, entre los años 1815 y 1996 (Mazo *et ál*. 2014). Sin embargo, gracias a Jiménez y Hagsater (2010), se pudo aclarar el nombre de la especie que se distribuye en las zonas montañosas de Colombia, Ecuador y Perú, y al mismo tiempo se propuso un nombre para la especie centroamericana (*Oncidium sotoanum*).

*Oncidium ornithorhynchum* Kunth (1815) es una especie de la familia Orchidaceae, tribu Cymbidieae y subtribu Oncidiinae (Sinonimia: *Oncidium pyramidale* Lindl – 1845). Esta subtribu incluye aproximadamente 1000 especies identificadas (Tsai *et ál.* 2002). Es muy común que se generen cruces entre algunos de los diferentes géneros de la subtribu, incluido el género *Oncidium* (Tsai *et ál.* 2002), por lo tanto, es probable que se puedan confundir algunas de las especies que tienen similitudes morfológicas, como es el caso de *O. ornithorhynchum* y *Oncidiuim sotoanum* que han sido confundidas; se diferencian a simple vista en el color de la flor fresca, la arquitectura de la inflorescencia y el número de éstas últimas por pseudobulbo (Jiménez-Machorro y Hágsater 2010).

*O. ornithorhynchum* fue descrita morfológicamente en el siglo XX por el Padre Pedro Ortiz Valdivieso, S.J. (1926-2012): “es una planta epífita de tamaño mediano, con pseudobulbos agregados ovoides, 2,5-7cm de alto, cubiertos en la base por dos o tres pares de vainas conduplicadas, escamosas, con ápice agudo, bi-trifoliadas; tiene hojas elípticas-oblongas hasta oblanceoladas, agudas o corto-acuminadas, de 14-20cm de largo y 3-3,8cm de ancho. Se caracteriza por presentar una inflorescencia que nace de la axila de una vaina basal y es paniculada, multiflora, suberecta, de formal generalmente piramidal, de hasta 70 cm de largo incluyendo el escapo, flores pequeñas, amarillas con manchas pardas y fragantes” (traducido del latín por Pedro Ortiz Valdivieso, S.J. 2000, en Mazo *et ál.* 2014).

### 4.1.1 Distribución en Colombia

*O. ornithorhynchum* ha sido reportada en la localidad de Sumapaz, Vía Bogotá-Choachí y en Bogotá (Colección online del Herbario del JBB). Hay registros de la especie en municipios de Cundinamarca como Guasca, Sibaté, Bojacá, Granada, Subachoque, en Urrao-Antioquia y en Villa de Leiva, Boyacá (Instituto de Ciencias Naturales, 13 registros).

Kolanowska (2014) reportó a *Oncidium pyramidale* en el Valle del Cauca, que probablemente corresponde a *O. ornithorhynchum*.

A la fecha no se encontraron reportes oficiales o de libre acceso sobre la distribución de *O. ornithorhynchum* en otros lugares del país.

### 4.1.2 Situación de amenaza

Para el Salvador se reportó que esta especie se encuentra en la categoría “en Peligro” (Gallo 2005), aunque probablemente se referían a *O. sotoanum*, porque en el 2005 no se había generado la discusión sobre la confusión (Jiménez-Machorro y Hagsater 2010) y por los reportes de su distribución no se espera *O. ornithorhynchum* que se encuentre en el Salvador.

En Colombia aún no se ha determinado si *O. ornithorhynchum* experimenta algún grado de amenaza según los criterios de la UICN y no hay información pública sobre su estado actual.

# 5. Materiales y métodos

Se realizaron 42 salidas de campo durante los periodos reproductivos de la especie así: de junio de 2013 a enero de 2014 (23 salidas de un día, cada semana), de agosto a diciembre de 2014 (13 salidas de un día, cada semana) y de septiembre a noviembre de 2016 (una salida de dos semanas y cinco salidas de dos días), para la toma de datos, las observaciones y realizar los experimentos en campo.

## 5.1 Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en la finca San Isidro ubicada en la vereda Jerusalén del municipio de La Calera, Cundinamarca (4°40’41” Norte, 73°55’23,75” Oeste) a 2730 metros de altitud (Fig. 5.1). La temperatura media anual de la región es de 12°C y el régimen de lluvias es bimodal, con intensas lluvias en abril, mayo, junio, octubre y noviembre (CAR 2013).

En los relictos de bosque de la región hay vegetación característica de bosque altoandino (CAR 1999). En el área de estudio, hay zonas donde aún existen fragmentos de Bosque Andino secundario, que se extiende desde los 2,500m hasta los 3,300-3,500m. Las especies arbóreas principales de estos bosques son: *Quercus humboldii*, *Weinmannia spp*., *Alnus acuminata*, *Tibouchina sp*., *Laplacea sp*., *Ilex sp*., *Fresiera sp*., *Simplocos sp*., *Aniba sp*., *Hieronyma macrocarpa*, *Guarea sp*., *Podocarpus sp*., *Brunellia sp*., *Clusia sp*., *Ternstroemia sp*., *Prunus sp*., *Oreopanax sp*., *Miconia sp*. y otras. Algunas de estas especies pueden llegar a formar asociaciones altamente homogéneas, caracterizadas por la dominancia de algunas de ellas, como es el caso de los robledales (*Quercus*), o por el codominio junto con otras pocas, como es el caso de los alisales (*Alnus*) o de los encenillales (*Weinmannia*). Estos mismos géneros pueden estar representados por especies diferentes. Actualmente, por debajo de 2,700m predominan los pastizales; entre los 2,700 y 3,100m se cultiva papa, hortalizas y también se encuentran potreros de pastoreo (CAR 1999).

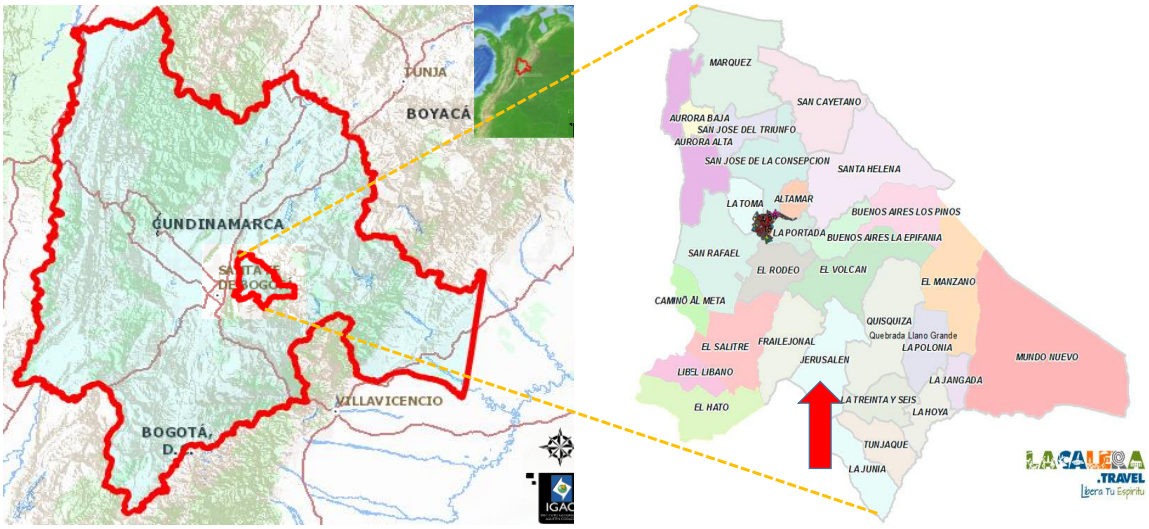


FIGURA 5.1. Mapa del departamento de Cundinamarca (Izquierda) y del municipio de La Calera con sus veredas (derecha). La flecha roja indica la ubicación de la vereda Jerusalén en el municipio (Fuente: IGAC y la página oficial del municipio).

En la vereda Jerusalén existen pequeños parches de bosque secundario, que se han visto reducidos de manera drástica en área debido a las prácticas agrícolas y ganaderas de los campesinos que habitan la zona. Sin embargo, algunos pocos propietarios de las fincas muestran interés por mantener y conservar las pequeñas áreas de bosque que aún quedan.

Los fragmentos de bosque donde se encuentra *O. ornithorhynchum* están caracterizados por tener un estrato arbustivo de 1 a 3 metros de altura y un estrato arbóreo de 4 a 6 metros de altura aproximadamente. En el estrato arbustivo existen zonas de claros donde han surgido grandes invasiones de chusque que limitan el crecimiento de otras especies. Estos parches de bosque están embebidos en matrices de pastos y su conectividad es limitada.

*O. ornithorhynchum* se establece sobre árboles en los potreros donde suele pastar el ganado (Fig. 5.2); los árboles que allí se encuentran son principalmente de *Miconia squamulosa* (Melastomataceae) y *Myrcianthes* sp (Myrtaceae), aunque hay algunos individuos de *Weinmannia* sp. (Cunoniaceae), *Drimys* sp (Winteraceae), *Oreopanax sp*. (Araliaceae) y otras nativas (Asteraceae, Fabaceae, Melastomataceae), aisladas o poco agrupadas en la matriz de pastos. También se pueden encontrar individuos de especies exóticas como *Eucalyptus* spp (Myrtaceae) y *Pinus* spp.

FIGURA 5.2. Finca San Isidro, Vereda Jerusalén, La Calera. Presenta pequeños fragmentos de bosque, con arbustos de 1 a 3 metros y árboles de 4 a 6 metros de altura, inmersos en una matriz de pastos para la ganadería.

Los pequeños fragmentos de bosque tienen bordes abruptos y no se ve una transición entre el fragmento y la matriz de pastos, por lo que están altamente expuestos al efecto de borde, debido principalmente al tamaño de los fragmentos. El fragmento de bosque de donde se obtuvo parte de la información para esta investigación tiene un área aproximada de 500m$^2$ y está altamente afectado por la invasión de chusque y por la presión de los potreros para pastoreo porque está completamente rodeado, aunque se conecta con otros parches más pequeños mediante una o dos filas de árboles. Parches como el descrito y los potreros arbolados representan el hábitat de *O. ornithorhynchum* en esta región y es de gran importancia analizar todos los aspectos biológicos que determinan su permanencia en este tipo de ecosistemas intervenidos.

## 5.2 Especie estudiada

*Oncidium ornithorhynchum* es una orquídea epífita que generalmente crece entre los 2850 y los 3340 m de altitud, en bosques altoandinos de Ecuador, Colombia y Perú (Jiménez-Machorro y Hágsater 2010). Esta orquídea se establece sobre las ramas de árboles y arbustos, que en la zona de estudio corresponden principalmente a *Miconia squamulosa* (Melastomataceae) y a *Myrcianthes* sp. (Myrtaceae) a alturas entre los 2m y 6m aproximadamente y muy pocas a alturas menores (Fig. 5.3). Se pueden encontrar

individuos de esta especie no solamente dentro de los parches de bosque, sino en arbustos en medio de pastizales y sobre los árboles de los bordes de caminos o carreteras destapadas. Es una especie muy frecuente en cada finca del municipio.

Algunos de los árboles más altos y más antiguos pueden tener aproximadamente entre 3 y 10 individuos de *O. ornithorhynchum*. Esta es una especie que florece una sola vez al año y no todos los individuos lo hacen en el mismo año.

FIGURA 5.3. Habito epífito de *O. ornithorhynchum*. Planta con eje en botón (izquierda) y planta con eje floreciendo (derecha).

## 5.3 Biología floral

### 5.3.1 Morfología floral

Se describieron las partes florales, los colores y las texturas. Para determinar los rasgos morfológicos florales que mejor describen el tamaño se midieron las siguientes variables: largo del sépalo lateral derecho (LSD), ancho del sépalo lateral derecho (ASD), largo del sépalo lateral izquierdo (LSI), ancho del sépalo lateral izquierdo (ASI), largo de sépalo central (LSC), ancho del sépalo central (ASC), largo del pétalo lateral derecho (LPD), ancho del pétalo lateral derecho (APD), largo del pétalo lateral izquierdo (LPI), ancho del pétalo lateral izquierdo (API), largo del labelo (LL), ancho de la base del labelo (ABL), ancho del centro del labelo (ACL), ancho del ápice del labelo (AAL), largo del callo (LC), ancho del callo (AC), largo de la columna (LCOL), largo del ala derecha de la columna (LAD), largo del ala izquierda de la columna (LAI), largo del estípite+polinios+viscidio

(LEPV), ancho de los polinios (AP), largo del róstelo (LR), largo de la capucha (LCAP), ancho de la capucha (ACAP).

La medición de las partes florales se realizó con la ayuda de un estereoscopio M205A marca Leica y un calibrador de precisión. Todas las mediciones se hicieron sobre 30 flores frescas de cinco individuos diferentes (seis flores de cada individuo, Fig. 5.4).

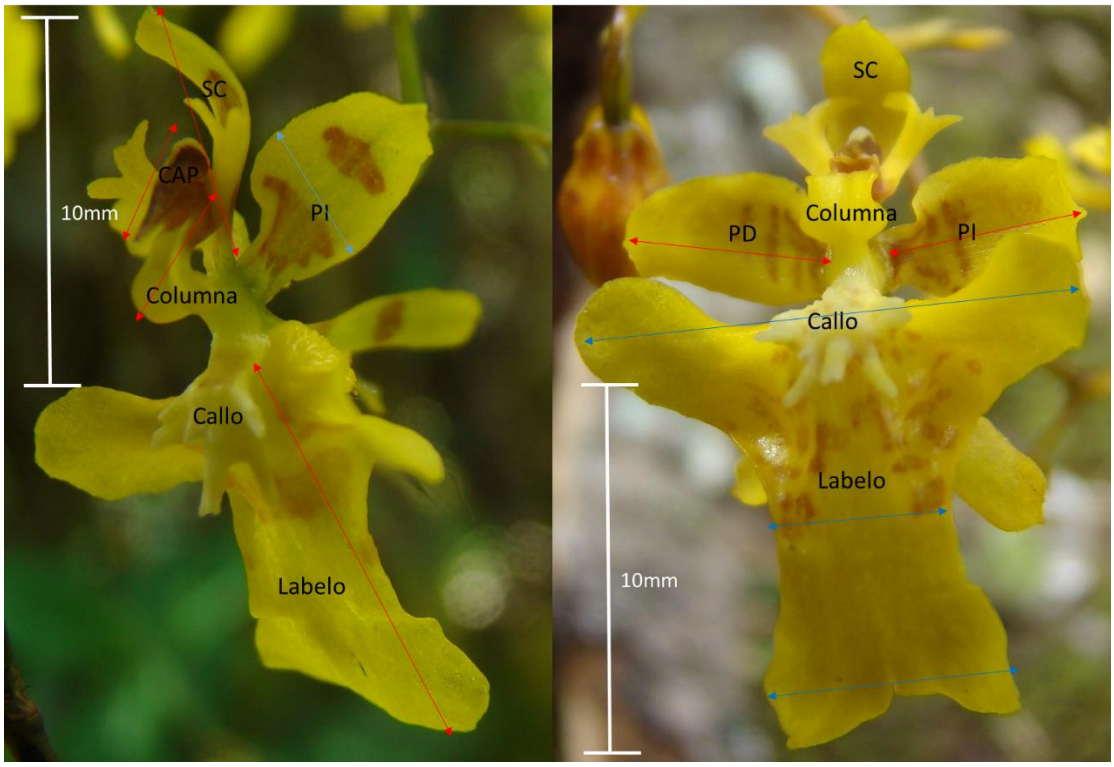


FIGURA 5.4. Morfología de las flores de *O. ornithorhynchum*. PD= pétalo derecho, CAP= Capucha que protege los polinios, SC= sépalo central, PI= pétalo izquierdo. Flechas azules = ancho, flechas rojas= largo.

## 5.3.2 Desarrollo floral

Se describieron y se midieron el largo del sépalo derecho, largo del sépalo izquierdo, largo del sépalo central, largo del pétalo derecho, largo del pétalo izquierdo, largo del labelo, ancho en la base del labelo, ancho en el centro del labelo, ancho en el ápice del labelo, largo de la columna, largo del estipe+polinios+viscidio, largo del róstelo y largo de la capucha en los estados de desarrollo anteriores a la antesis de la flor: yema, botón verde, botón amarillo, botón abriendo y flor abriendo (cuatro yemas, cuatro botones verdes, cuatro

botones amarillos, etc., provenientes de cuatro individuos diferentes, Fig. 5.5). Se compararon las diferencias en el desarrollo de las estructuras reproductivas y se evaluó la ocurrencia de una separación espacial y/o temporal entre las fases femenina y masculina de la flor, para cada estado.

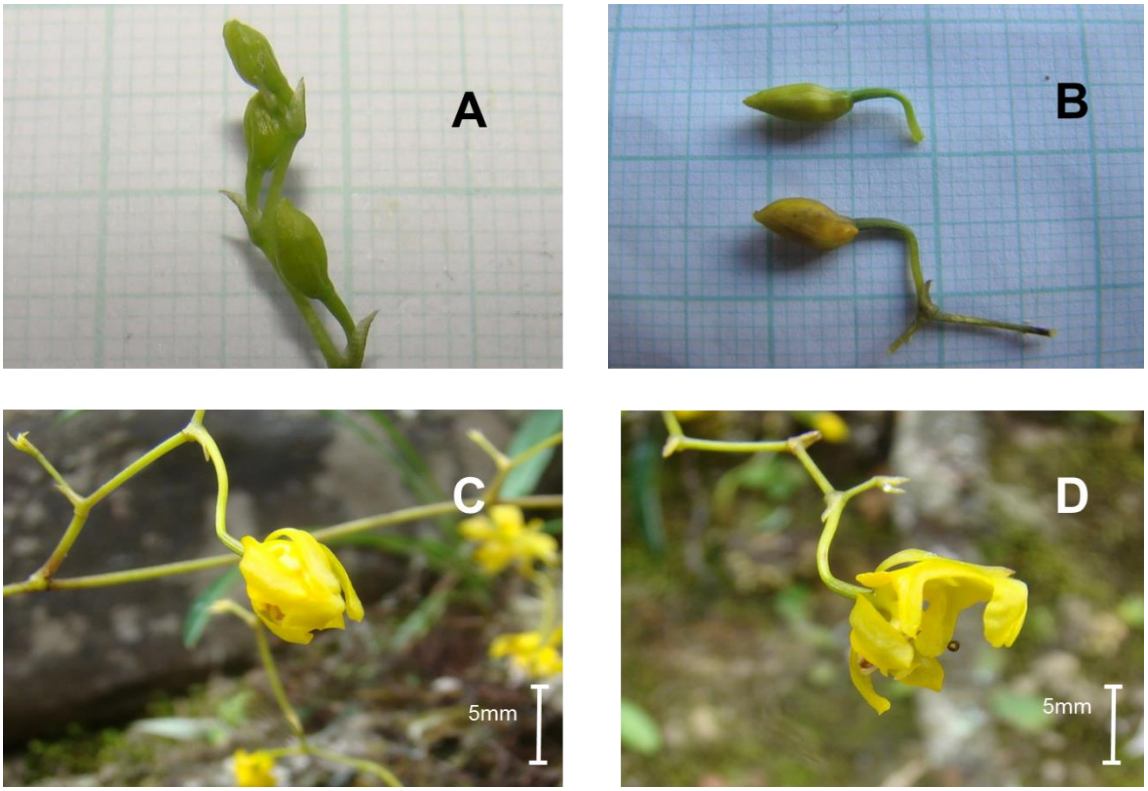


FIGURA 5.5. Estados de desarrollo de la flor previos a la antesis. A: Yema, B: botón verde (arriba) y botón amarillo (abajo), C: botón abriendo, D: flor abriendo. La división mínima de la cuadrícula de las imágenes A y B es de un milímetro.

### 5.3.3 Recompensas florales

Para determinar la presencia de recompensas florales se tiñeron 20 flores frescas completas de una misma planta, 10 flores con una solución de Lugol para la detección de almidones y 10 flores con una solución alcohólica saturada Sudan III para la detección de lípidos (método empleado por Pacek y Stpiczynska 2007). Los reactivos se aplicaron directamente sobre el material biológico con ayuda de un gotero y una caja de Petri y se dejaron actuar por 10 minutos. Posteriormente, las 10 flores tratadas con Lugol se lavaron con agua destilada y las 10 flores tratadas con SUDAN III se lavaron con alcohol etílico al 70%. Las secciones que tiñeron positivo (negro con Lugol y rojo con SUDAN III), fueron

observadas y fotografiadas en el estereoscopio M205A marca Leica, cámara Leica MC 170HD (Lentes 1.0X, 2.0X y 0.63X). Se realizaron cortes manuales de la base del labelo de las flores teñidas para la observación al microscopio de luz KF2, marca Zeiss.

### 5.3.4 Receptividad estigmática y viabilidad de los polinios

La receptividad del estigma se evaluó realizando polinizaciones cruzadas manualmente en flores aisladas desde la fase de botón. Estas polinizaciones se hicieron en flores abriendo, flores en su primer día de antesis, flores con dos días de antesis y así sucesivamente hasta iniciar la senescencia, polinizando cada día entre seis y diez flores diferentes (de cinco plantas diferentes), según la disponibilidad. Los polinios empleados provinieron de flores con una semana de antesis. La receptividad se determinó positiva en los casos en los que se evidenció el desarrollo del fruto en la planta (observaciones directas y no destructivas) durante tres semanas. De esta manera se pudo establecer la fase temporal (días) de la flor en la que el estigma se encontraba receptivo. No fue posible realizar polinizaciones en la fase de botón, porque la entrada al estigma era muy pequeña y cerrada y los polinios no entraron.

Se evaluó la viabilidad de los polinios provenientes de cinco flores abriendo y de cinco flores en proceso de senescencia (de cinco plantas diferentes), polinizando 10 flores de aproximadamente una semana de iniciada la antesis. Se monitorearon las flores polinizadas hasta observar el desarrollo de los frutos durante tres semanas.

Adicionalmente, se determinó la longevidad de las flores donadoras de polinios o con éxito en la reproducción masculina y la duración de las flores después de la polinización o con éxito en la reproducción femenina. Para ello se monitorearon 10 flores aisladas de los polinizadores naturales con bolsas de tela transparente y se les retiraron los polinios desde el primer día de antesis. Simultáneamente se monitorearon otras 10 flores aisladas de la misma manera pero con sus estructuras reproductivas intactas hasta la senescencia y a otras 10 flores polinizadas naturalmente se les hizo el seguimiento con el fin de comparar las longevidades posteriores al evento reproductivo (las 30 flores se encontraban en 10 plantas diferentes).

## 5.4 Fenología de la floración

Para identificar la duración e intensidad de la floración, se monitoreó semanalmente un grupo de 114 individuos que se encontró dentro del fragmento de bosque de 500m$^2$ aproximadamente y en los árboles dentro la matriz de pastos que rodean el parche, con el fin de registrar en cada individuo: el número de botones (Fase de botón: botones bien definidos y diferenciados), el número de flores (Fase de floración: flores completamente abiertas), el número de flores senescentes (Fase senescente: flores abiertas, pero con pétalos y sépalos con necrosis evidente, de color amarillo oscuro o naranja y de apariencia deshidratada) y el número de frutos en formación (Fase de fructificación: la base de la flor senescente con evidente desarrollo del ovario).

Se determinó la longevidad de cada fase fenológica a nivel de individuo y la información se analizó mediante estadística descriptiva. A nivel de grupo de individuos (114 plantas) se determinó la duración de cada fase fenológica como el número total de días desde el primer evento en el primer individuo hasta el último en el último individuo.

Para analizar el comportamiento fenológico, se tuvieron en cuenta las variables mencionadas en la Tabla 5.1.

Para llevar a cabo el monitoreo se utilizaron cintas de tela de colores llamativos para identificar rápidamente los individuos en campo mediante un código numérico.

TABLA 5.1. Parámetros para describir la fenología de la floración a nivel de inflorescencia y a nivel de población (modificado de Zambrano 2009).

| Nivel | Variable | Descripción |
|---|---|---|
| Individuo | Número de flores | Número total de flores ofrecidas durante todo el periodo |
| | Inicio de la antesis | Fecha en la que se registra la primera flor en antesis dentro de una inflorescencia |
| | Longevidad | Número de días que transcurren desde la apertura de la primera flor hasta la senescencia de la última flor |
| | Sincronía | Índice de sincronía dado por $$\boldsymbol{S_i} = \frac{1}{2}\left(2 - \sum_{j=1}^{n} \left\lvert y_{ij} - \overline{y_{ij}} \right\rvert\right)$$ |

| Nivel | Variable | Descripción |
|---|---|---|
| | | Donde n es número total de días de censo, $y_{ij}$ es la proporción de flores que recién abrieron desde el j-1 -ésimo censo (Mahoro 2002) |
| Grupo de individuos | Sincronía en la apertura de flores | Promedio de la sincronía de los individuos, dada por $\boldsymbol{S_i} = \frac{n\left\{n\sum_{t=1}^{k}\left[\left(\frac{x_t}{\sum_{t=1}^{k} x_t}\right)p_t\right]\right\}-1}{n-1}$ donde, $x_t$ es el número de flores que produce una planta en el día *t*, $p_t$ es la proporción de plantas florecidas en el tiempo t, *k* es el número máximo de días de censo, n es el número de plantas en época de floración (Elzinga *et ál*. 2007) |
| | Sincronía en el periodo floral | Promedio de la sincronía de los individuos, dada por $\boldsymbol{S_i} = \left(\frac{1}{n-1}\right)\left(\frac{1}{f_i}\right)\sum_{j=1}^{n} w_j$ Donde $f_i$ es el número de días en los que la planta i florece, $w_j$ es el número de días en los que las plantas i y j florecen simultáneamente, n es el número de individuos en la población. $S_{ip}$ = 1 indica perfecta sincronía, $S_{ip}$ =0 indica sincronía nula (Augspurger 1983) |
| | Estación reproductiva | Número de días que transcurren desde el primer individuo en florecer hasta el último senescente |
| | Modo de floración | Esquema de la curva de floración de la población |

## 5.5 Sistema reproductivo

Para determinar la compatibilidad del sistema, se llevaron a cabo experimentos de agamospermia, polinización cruzada con y sin embolsamiento, autopolinización espontánea, autopolinización inducida con polinios de la misma la flor, autopolinización inducida con polinios de la misma inflorescencia y polinización en condiciones naturales (Tabla 5.2). Cada tratamiento se realizó en individuos diferentes. Después de realizar las manipulaciones, se tuvo en cuenta el número de frutos generados en cada tratamiento, como variable respuesta. El porcentaje de autocompatibilidad se determinó por el porcentaje de frutos obtenidos en los experimentos de autopolinización. La remoción de los polinios y la polinización inducida se realizó manualmente con ayuda de unas pinzas

metálicas y directamente con la mano. Para aislar las flores de los organismos visitantes o polinizadores, se utilizaron bolsitas de tela transparentes que fueron puestas desde la fase de botón.

Se monitorearon los individuos de los diferentes experimentos hasta encontrar marchitez total de cada flor sin signos de fructificación o hasta la formación de los frutos, durante tres semanas.

TABLA 5.2. Tratamientos de polinización para la identificación del sistema reproductivo (Cuervo, 2012) y diseño experimental.

| **TRATAMIENTO** | **OBJETIVO** | **MÉTODO** | **DISEÑO EXPERIMENTAL** | |
|---|---|---|---|---|
| | | | **No. individuos** | **No. flores** |
| **Polinización natural (control)** | Evaluar la tasa de polinización en condiciones naturales (porcentaje de frutos respecto a flores marcadas) | Se monitorean flores en condiciones naturales | 9 | 117 |
| **Agamospermia** | Evaluar la tasa de reproducción no sexual, excluyendo casos en los cuales la polinización promueva la formación de semillas sin fertilización | Se remueven los polinios y se embolsa la flor para evitar la llegada de polen foráneo | 8 | 58 |
| **Polinización cruzada con embolsamiento** | Comparar la fructificación y/o producción de semillas viables en plantas auto-compatibles. En plantas auto-incompatibles es el único tratamiento que produce frutos | Las flores se polinizan con el polinario de otros individuos genéticamente diferentes. Las flores son embolsadas | 8 | 70 |
| **Polinización cruzada sin embolsamiento** | Indicar si el embolsamiento tiene algún efecto en la producción de semillas viables | Las flores se polinizan con el polinario de otros individuos genéticamente diferentes. Las flores no son embolsadas luego de la polinización | 7 | 65 |
| **Autopolinización espontánea** | Medir la necesidad de polinizadores | Las flores intactas son embolsadas | 7 | 71 |

| TRATAMIENTO | OBJETIVO | MÉTODO | DISEÑO EXPERIMENTAL | |
|---|---|---|---|---|
| | | | No. individuos | No. flores |
| | | para verificar si la flor es capaz de autopolinizarse | | |
| **Autopolinización inducida en la flor** | Indicar la auto-compatibilidad o la auto-incompatibilidad del sistema. Indicar si la planta es capaz de producir frutos y semillas viables en caso de autopolinización | Se poliniza cada flor con su propio polinario y se embolsa | 9 | 69 |
| **Geitonogamia** | Indicar si la planta es capaz o no de producir frutos y semillas viables en el caso que la flor sea polinizada con polinarios de su misma inflorescencia | Las flores se polinizan con polinarios procedentes del mismo individuo (la misma inflorescencia) | 5 | 73 |

Inicialmente, el diseño experimental contempló manipular 80 flores repartidas en 10 individuos diferentes para cada uno de los tratamientos, sin embargo, varios de los botones y/o flores embolsados se marchitaron y no todas las plantas disponibles contenían el número de botones suficientes para completar el diseño, por lo que fue imposible tener el mismo número de flores manipuladas en cada tratamiento.

## 5.6 Visitantes y polinizadores

Para conocer los organismos que son visitantes de *O. ornithorhynchum* y los que son polinizadores, se hicieron observaciones en plantas focales, mediante el uso de binoculares, desde las 7:00am de forma continua hasta las 5:00pm durante ocho días así: dos días en septiembre, dos en octubre, dos en noviembre y dos en diciembre de 2014, para un total de 78 horas observadas. En días muy lluviosos no fue posible completar el registro. Se registró la hora, el comportamiento y la duración de la visita de los insectos en la flor y en la inflorescencia y se colectaron dos individuos mediante la técnica de jameo. Los insectos recolectados se preservaron en viales con alcohol al 70% para su posterior identificación en laboratorio.

## 5.7 Análisis estadístico

Las variables morfológicas de las partes florales se analizaron inicialmente mediante estadística descriptiva (promedio, desviación estándar, valores máximo y mínimo). Se determinó la normalidad de las variables mediante la prueba Shapiro-Wilk. Como algunas de las variables no tuvieron un comportamiento normal (Anexo B), se calcularon las correlaciones entre pares de variables mediante el coeficiente de Spearman y se determinó si existían diferencias significativas entre algunas de las variables que tenían dimensiones semejantes. Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) únicamente con las variables correlacionadas para determinar cuáles de las variables morfológicas explican mejor la varianza del tamaño de las flores.

Se categorizaron las siguientes variables fenológicas según el comportamiento de los datos ordenados y graficados: 1.) Inicio de antesis (antesis temprana en agosto y septiembre, media durante octubre y tardía durante noviembre) para comparar las categorías con el número de flores por inflorescencia y con la longevidad de la inflorescencia en cada una, y 2.) Tamaño de la inflorescencia (pequeña de 2 a 30 flores, mediana de 31 a 130 flores y grande de 130 a 273 flores) para comparar las categorías con el número de frutos formado en cada una. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar diferencias significativas de las variables entre las categorías. Esta prueba también se aplicó para evaluar las diferencias en la longevidad de las flores con y sin evento reproductivo, femenino y masculino.

Se aplicó la prueba de correlación de Spearman para las parejas de variables fenológicas así:

- número de flores por inflorescencia y longevidad de la inflorescencia
- número de flores por inflorescencia e índice de sincronía en la inflorescencia
- longevidad de la inflorescencia e índice de sincronía en la apertura de las flores
- longevidad de la inflorescencia e índice de sincronía en el periodo floral
- número de flores por inflorescencia y número de frutos abortados
- número de frutos por inflorescencia y número de abortos

Todas las pruebas estadísticas se corrieron con el paquete estadístico PAST (Hamer, Harper y Ryan 2001).

# 6. Resultados

## 6.1 Biología floral

### 6.1.1 Morfología floral

Cada individuo que se tuvo en cuenta para este estudio tenía una sola inflorescencia, aunque es posible encontrar algunos individuos grandes con dos o incluso tres inflorescencias (un pseudobulbo solo genera una inflorescencia). La inflorescencia de *O. ornithorhynchum* es paniculada y no tiene formal piramidal estricta, como se ha reportado, si no que las ramificaciones centrales son más largas que las basales y se van acortando hacia el ápice y hacia la base. Cada inflorescencia puede tener entre 20cm y 80cm de largo aproximadamente.

Las flores de *O. ornithorhynchum* son perfectas, tienen simetría bilateral, son hermafroditas, midieron 18.5±1.9mm (n=30) de largo total y son de color principalmente amarillo. Los sépalos derecho e izquierdo fueron iguales en tamaño y forma (KW=0.1593; n=30; p=0.689 y KW=0.4042; n=30; p=0.5161; Anexo A), midieron 8.2±1.0mm y 8.2±0.9mm de largo y 2.0±0.2mm y 2.0±0.1mm de ancho respectivamente. Los pétalos derecho e izquierdo fueron significativamente más anchos y menos largos que los sépalos homólogos (KW=19.35; n=30; $p<0.001$; KW=20.8; n=30; $p<0.001$; KW=44.3; n=30; $p<0.0001$) y midieron 7.0±0.7mm de largo (el mismo promedio para ambos pétalos) y 3.6±0.4mm y 3.5±.4mm de ancho respectivamente.

El sépalo central midió 7.0±0.6mm (n=30) de largo y 2.4±0.3mm (n=30) de ancho, el largo no fue significativamente diferente del largo de los pétalos, pero el ancho si lo fue (Anexo A). Los sépalos y los pétalos fueron de color amarillo con dos o tres bandas de color marrón hacia el centro de cada estructura. A simple vista los sépalos laterales (derecho e izquierdo) y los pétalos laterales parecen similares, pero las diferencias entre las medias fueron significativas.

El labelo tiene forma trilobada, con el ápice bilobado, de color amarillo con manchas de color marrón en el centro; midieron de largo 11.2±2.3mm (n=30), de ancho en la base 11.2±1.2mm (n=30), en el centro 3.6±0.6 (n=30) y en el ápice 6.2±1.0mm (n=30); el labelo representa la estructura de mayor tamaño en la flor y junto con el callo, la estructura más vistosa (Fig. 6.1 A y B).

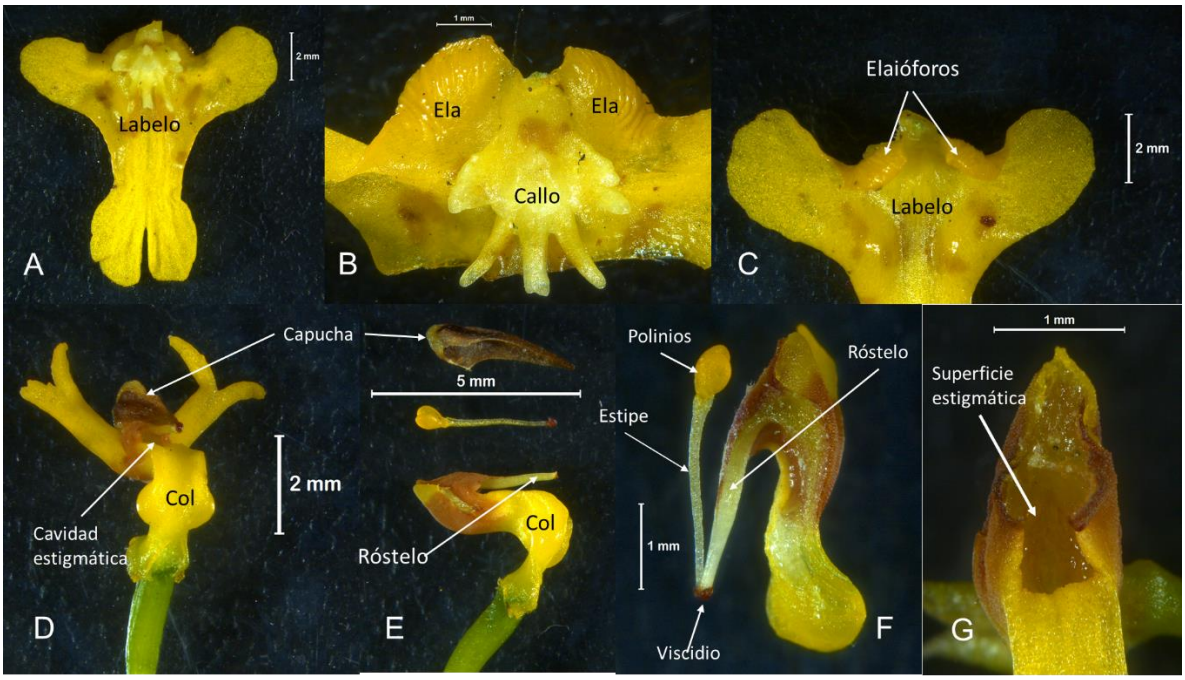


FIGURA. 6.1. Morfología funcional de las flores de *O. ornithorhynchum*. A: Labelo, B: detalle del callo y de los elaióforos, C: cara posterior del labelo detallando los elaióforos, D: vista frontal de la columna, E y F: vista lateral de la columna, G: detalle de la superficie estigmática. Ela= elaióforo, Col= columna. Cámara Leica MC 170HD (Lentes 1.0X, 2.0X y 0.63X).

Los sépalos, los pétalos y el labelo presentaron una textura suave semi-esponjosa, sin pubescencia ni tricomas. El callo fue de color blanco y formado por varias protuberancias de diferente longitud, midió 3.3±0.5mm (n=30) de largo y 3.6±0.8mm (n=30) de ancho y el largo y el ancho no fueron significativamente diferentes (Anexo A).

La columna fue de color amarillo, midió de largo 4.0±0.3mm (n=30) y junto con la cavidad estigmática y el capuchón de los polinios asemejan la forma de un cisne de pico largo (de allí el epíteto específico ornithorhynchum). El capuchón de los polinios fue de color marrón oscuro y midió de largo 3.6±2.0mm (n=30) y 1.0±0.1mm (n=30) de ancho, éste recubre

completamente la estructura masculina que en ocasiones se desprende con la visita de los polinizadores. La estructura masculina está conformada por el estipe, el viscidio (que permite la adherencia) y los polinios, midió 3.4±0.2mm (n=30) de largo y reposa sobre el róstelo, que es una pequeña lámina que separa la cavidad estigmática de la estructura masculina (Fig. 6.1 E y F). El róstelo midió 3.4±0.2mm (n=30) de largo; el largo del róstelo, el largo de la estructura masculina y el largo de la capucha no fueron significativamente diferentes (Anexo A). Los polinios vienen en un par, de color amarillo, de forma ovoide y sus dimensiones fueron de 1mm o menos. En el extremo de la columna junto a la cavidad estigmática se encontró un par de estructuras pequeñas similares a las alas de un insecto: largas (2.7±0.4mm, n=10), cuneadas y bilobadas en el ápice, de color amarillo. El ovario de la flor es ínfero.

Las variables morfológicas con mayor grado de correlación fueron el largo y el ancho del sépalo central (Spearman r=0.849; n=30; p<0.0001), el largo del sépalo central y el largo de los sépalos y de los pétalos (Spearman r=0.784, n=30, p<0.0001; Sp=0.856, n=30, p<0.0001; Sp=0.821, n=30, p<0.0001; Sp=0.833, n=30, p<0.0001), el largo del sépalo central y el largo del labelo (Spearman r=0.788, n=30, p<0.0001), el ancho en el ápice del labelo y el ancho en la base del labelo (Spearman r=0.803, n=30, p<0.0001).

Según el análisis de componentes principales usando las variables morfológicas con correlaciones significativas, los dos primeros componentes agruparon el 85.1% de la varianza explicada (Fig. 6.2). Hubo once variables que tuvieron una correlación de al menos el 80% con el primer componente, pero las variables que estuvieron más fuertemente correlacionadas con el primer componente fueron el largo de: el sépalo central, el sépalo izquierdo, de los pétalos derecho e izquierdo y del labelo (ACP-Loadings-PC1: 0.906, 0.874, 0.872, 0.882, 0.914 respectivamente). El componente 2 estuvo principalmente correlacionado con el ancho en la base y el ancho en el ápice del labelo (ACP-Loadings-PC2: 0.480, 0.420 respectivamente). Lo anterior permitió interpretar que las variables fuertemente correlacionadas con los dos componentes, pueden explicar adecuadamente la variación en el tamaño de la flor.

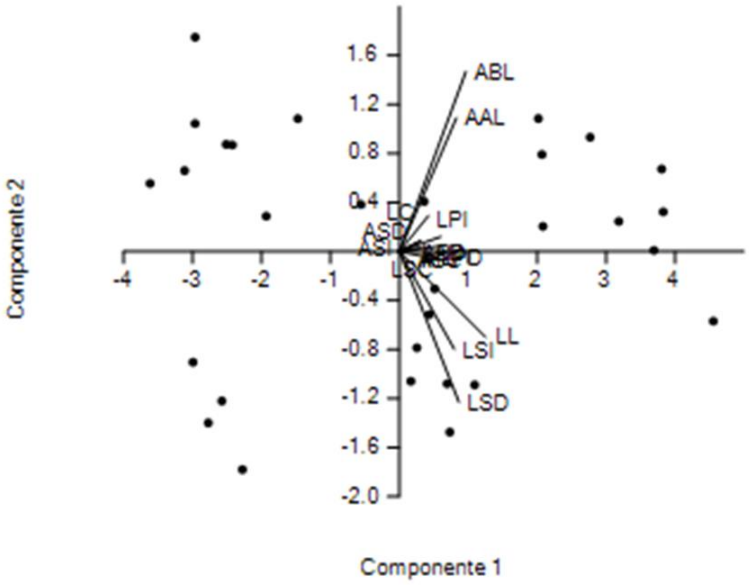


FIGURA 6.2.Análisis de componentes principales de 15 variables morfológicas con correlaciones significativas entre sí.

Por lo tanto se propone que las variables que representan el tamaño de la flor son el largo del sépalo central, el largo del labelo y el ancho en la base del labelo.

## 6.1.2 Desarrollo Floral

Según el estado de maduración de las estructuras florales, se identificaron los siguientes estados de desarrollo fenológico de la flor (Fig. 6.3):

La yema fue el estado del desarrollo que representó la diferenciación completa de los tejidos en las estructuras que van a conformar la flor. Externamente las yemas fueron de color verde vivo, los sépalos, los pétalos y el labelo no estaban fusionados y envolvían perfectamente las estructuras reproductivas (Fig. 5.5 A). El labelo, la columna y la capucha eran de color verde pálido (verde blanquecino), el viscidio era de color rojo y estaba adherido con fuerza al róstelo. Los polinios fueron de color verde claro y no estaban adheridos con fuerza al estipe, por lo que al retirar la capucha, los polinios quedaron dentro de ésta última estructura y se soltaron del estipe. El labelo no estaba muy bien diferenciado. Las estructuras femenina y masculina se encontraron en la misma posición de una flor en antesis, se diferenciaron en el color y en el tamaño (Fig. 6.3 A). La duración promedio de esta fase fue de 15.6±1.0 días (n=10, Fig. 6.4).

En el estado de botón verde la disposición de las estructuras fue similar a la anterior, pero de mayores dimensiones (Fig. 5.5 B arriba). El labelo estaba más desarrollado y aún de color verde claro, al igual que la capucha. La posición de las estructuras masculina y femenina era la misma, los polinios eran de color amarillo y se desprendían con la capucha, el viscidio aún se encontraba fuertemente adherido al róstelo (Fig. 6.3 B). El róstelo mantenía separados el estigma y los polinios. La duración promedio de esta etapa fue de 19±1.6 días (n=10, Fig. 6.4).

En el estado de botón amarillo los sépalos, los pétalos y el labelo adquirieron un color amarillo y algunos con bandas de color café (Fig. 5.5 B abajo). El labelo alcanzó mayor definición de su forma característica y adquirió un color un poco más amarillo, la capucha se tornó amarillo claro y se desprendía junto con los polinios, el viscidio no se desprendió del róstelo (Fig. 6.3 C). El róstelo mantenía separados el estigma y los polinios. Los polinios fueron de color amarillo. La duración promedio de los botones amarillos fue de 13.7±1.5 días (n=10, Fig. 6.4).

En el botón abriendo aún no fue visible la columna y la capucha que cubre a los polinios. Todas las estructuras tuvieron el tamaño y el color de las flores en antesis, excepto el largo del labelo (ver anexo C, Fig. 6.3 D); los sépalos, los pétalos y el labelo fueron de color amarillo con bandas de color café bien definidas, la capucha fue de color café y al soltarse dejó en evidencia a los polinios unidos al estipe y éstos estaban adheridos al róstelo por medio del viscidio, que era de color rojo-café. La duración promedio de esta etapa fue de 1.3±0.48 días (n=10, Fig. 6.4).

En el estado de flor abriendo se pudo apreciar todas las estructuras de la flor sin manipularla, incluyendo la columna, el viscidio y la capucha que protege a los polinios. Los sépalos y pétalos estaban extendidos, pero el labelo no se había terminado de expandir por lo que la flor no estaba totalmente expuesta (Fig. 6.3 E). La duración promedio de esta etapa fue de 1.7±0.48 días (n=10, Fig. 6.4).

La flor abierta tenía los sépalos dispuestos hacia atrás, los pétalos y el labelo bien abiertos, dejando expuestos el callo y las estructuras reproductivas para la interacción con el polinizador (Fig. 6.3 F). En este estado de desarrollo el viscidio se adhería con facilidad a los agentes externos que entraban en contacto y liberando a la flor de los polinios. La duración promedio de esta etapa fue de 18.7±9.9 días (n=166, Fig. 6.4).

En el estado de flor senescente la flor empezó a perder la firmeza y el grosor de los sépalos, pétalos y del labelo. Todas las estructuras tenían una apariencia deshidratada y adquirieron un color amarillo oscuro o naranja, acompañado de necrosis (Fig. 6.3 G). La senescencia de la flor fue una fase que duró en promedio 6.5±1.5 días (n=30, Fig. 6.4).

El fruto inició con el engrosamiento de la columna, posteriormente el engrosamiento del ovario y la necrosis de la flor (Fig. 6.3 H) y continuó con el aumento del tamaño (Fig. 6.3 I). Los frutos eran de color verde oscuro, de forma ovalada y estaban formados por tres valvas, que en la dehiscencia se abrieron desde el ápice hacia la base del fruto, pero se mantuvieron unidas en los extremos apical y basal (Fig. 6.3 J). Los frutos tardaron entre 9 y 11 meses en madurar para liberar las semillas (n=13) y entre dos y tres semanas en el proceso de dehiscencia (n=10).

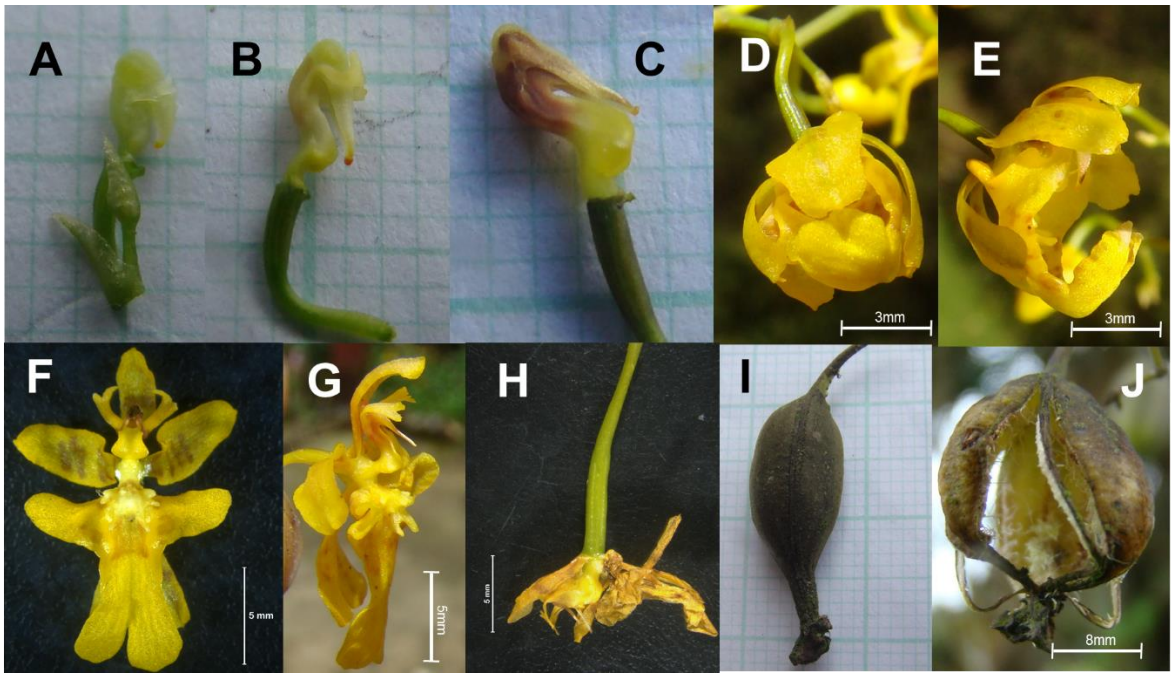


FIGURA 6.3. Estados del desarrollo floral de *O. ornithorhynchum*. A: columna inmadura de yema, B: columna inmadura de botón verde, C: columna de botón amarillo, D: botón abriendo, E: flor abriendo, F: flor abierta, G: flor senescente, H: desarrollo ovárico, I: fruto inmaduro, J: fruto dehiscente. La división mínima de la cuadrícula de las imágenes A, B, C e I es de un milímetro.

Los estados de desarrollo de la flor que más se prolongaron en el tiempo fueron la yema, el botón verde, el botón amarillo y la flor abierta, mientras que los estados más cortos

fueron botón y flor abriendo; es decir que los dos últimos son estados transitorios y los demás son estados estables (a excepción de la flor senescente, Fig. 6.4).

Gracias al róstelo, la separación espacial de las estructuras reproductivas estuvo definida desde el inicio del desarrollo de las yemas y se mantuvo hasta la senescencia de la flor. Por lo tanto *O. ornithorhynchum* presenta hercogamia o separación espacial completa de las estructuras reproductivas.

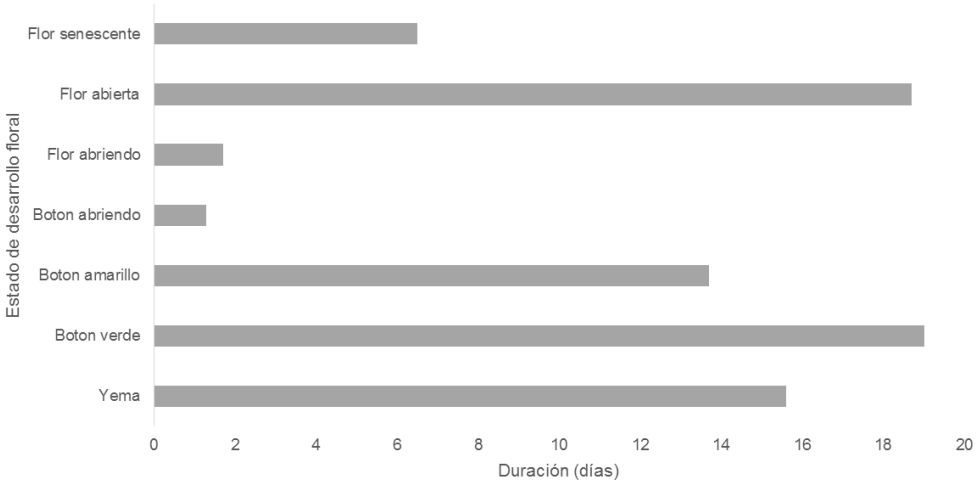


FIGURA 6.4. Duración de los estados de desarrollo de la flor de *O. ornithorhynchum*.

## 6.1.3 Recompensas florales

Se encontró de que *O. ornithorhynchum* secretó lípidos en la base del labelo, en las estructuras denominadas elaióforos, y se determinó por la tinción positiva de 7 flores de 10 tratadas (Fig. 6.5). Se pudieron observar gotas de lípidos sobre la epidermis del elaióforo (Fig. 6.5 B y C) y gotas intracelulares u oleoplastos (Fig. 6.5 D) en la capa subsecretora de la epidermis.

Los resultados también indicaron que las células epiteliales secretoras y las parenquimatosas subsecretoras de los elaióforos tenían almidones intracelularmente (amiloplastos), y se determinó por la tinción positiva de 10/10 flores (Fig. 6.6). Adicionalmente, se encontraron lípidos y almidones en el margen de la región media del labelo (región más angosta).

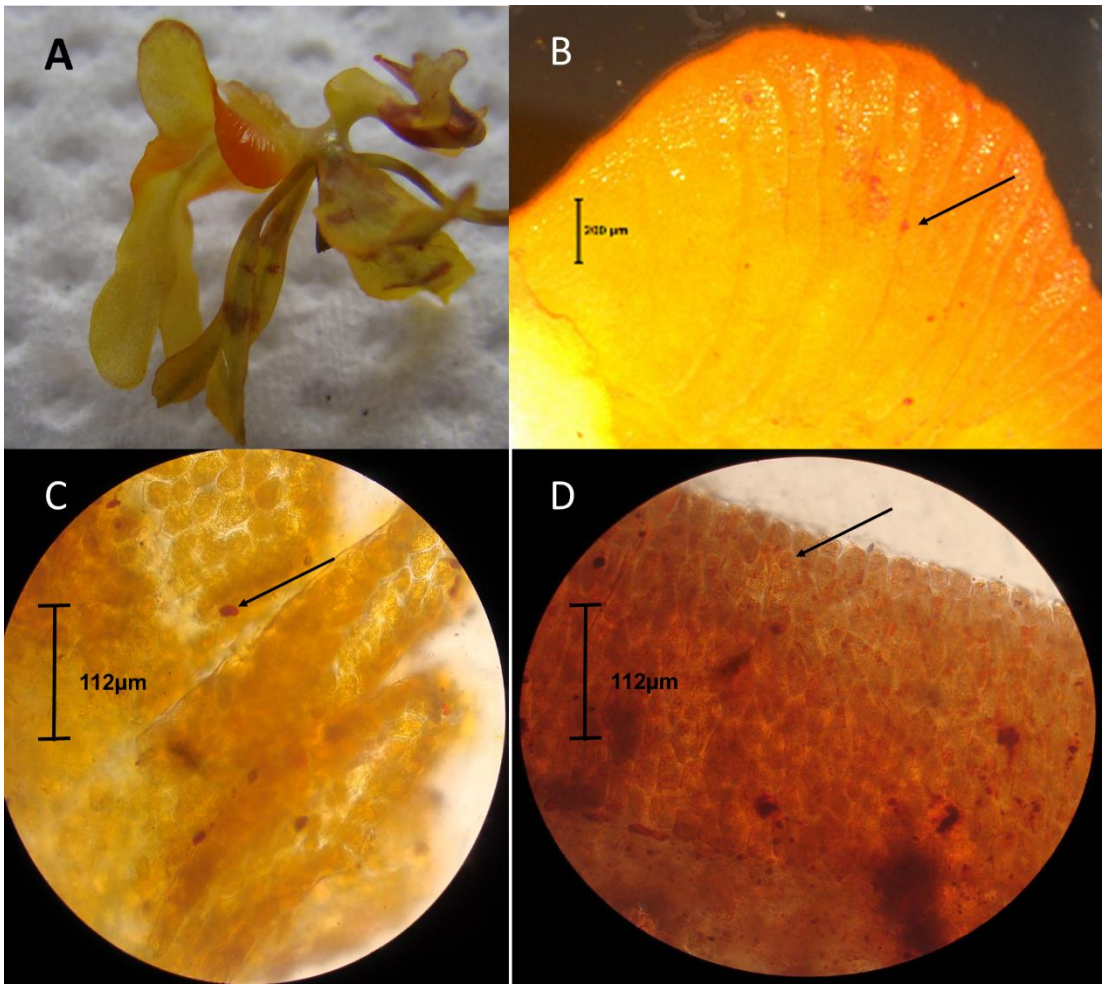


FIGURA 6.5. Presencia de lípidos en el labelo. A: Flor con elaiófofos teñidos de rojo. B: Imagen al estereoscopio de un elaióforo teñido señalando (flecha) pequeñas gotas de lípido (Lente 1.0x). C: Imagen al microscopio de luz señalando (flecha) una gota de lípido sobre la epidermis de un elaióforo (objetivo 40x). D: Imagen al microscopio de luz señalando (flecha) lípido intracelular o amiloplastos (objetivo 40x). Tinción con SUDAN III.

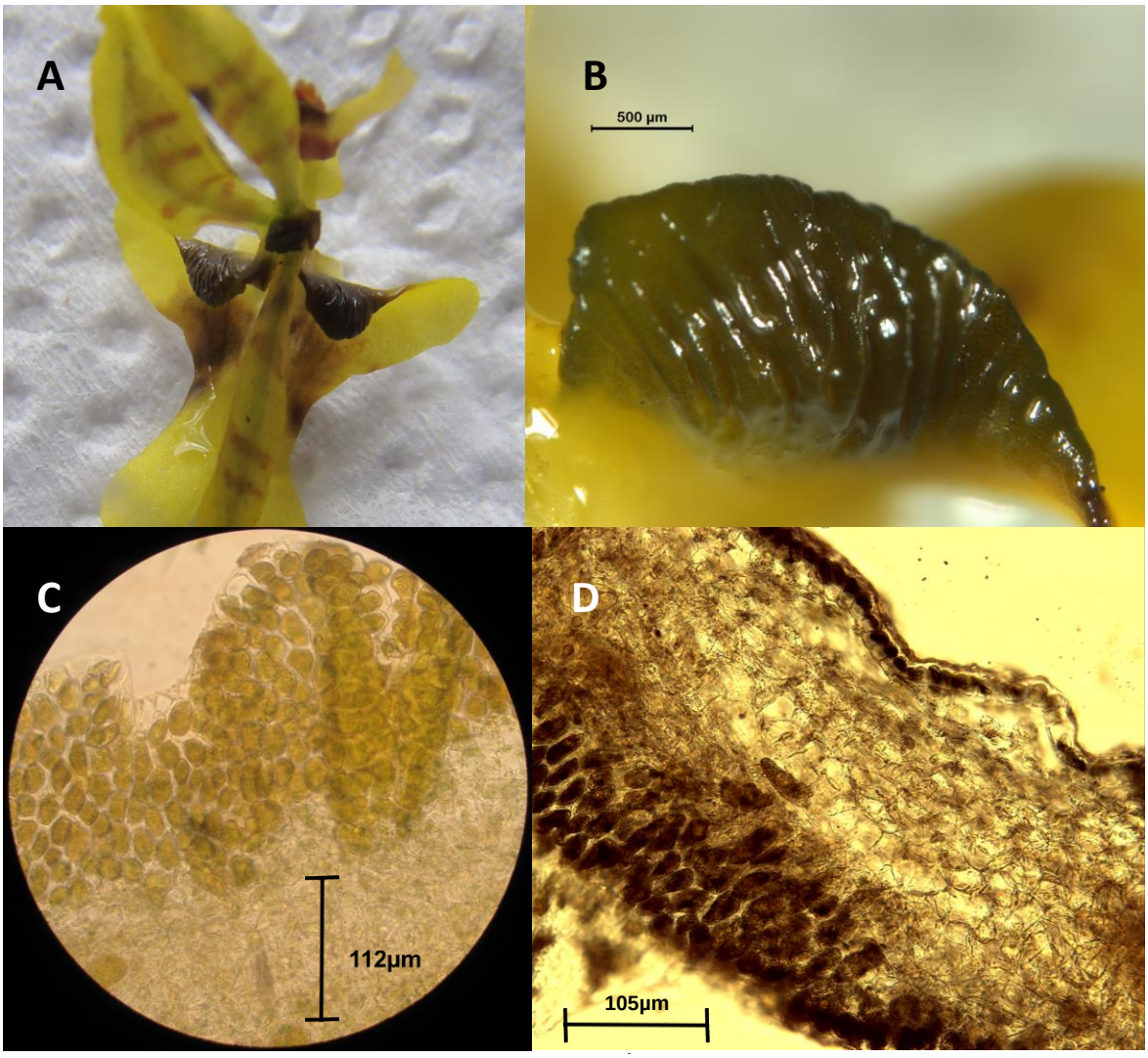


FIGURA 6.6. Presencia de almidones en el labelo. A: Flor con elaiófofos teñidos de negro. B: Imagen al estereoscopio de un elaióforo teñido (Lente 1.0x). C y D: Imágenes al microscopio de luz de un corte longitudinal del elaióforo con tinción de almidón intracelular. Tinción con lugol (objetivo 40x).

## 6.1.4 Receptividad estigmática

La superficie estigmática de las flores de *O. ornithorhynchum* fue receptiva desde antes de que la flor iniciara su antesis y se prolongó hasta antes de iniciar el proceso de senescencia (Fig. 6.7). Aun cuando solo el 17% de las flores en proceso de apertura y el 22% de las flores con un día antesis formaron frutos, se pudo establecer que el estigma y la flor estaban preparados para la polinización desde el momento en que se inicia la apertura de

la misma. Las polinizaciones de flores de dos y tres días de longevidad fueron altamente exitosas (86% y 88% respectivamente), al igual que el décimo día de longevidad (100%). Algunos de los fracasos en la formación de frutos luego del día onceavo se debieron al inicio evidente de la senescencia de la flor (en el 30% de los casos).

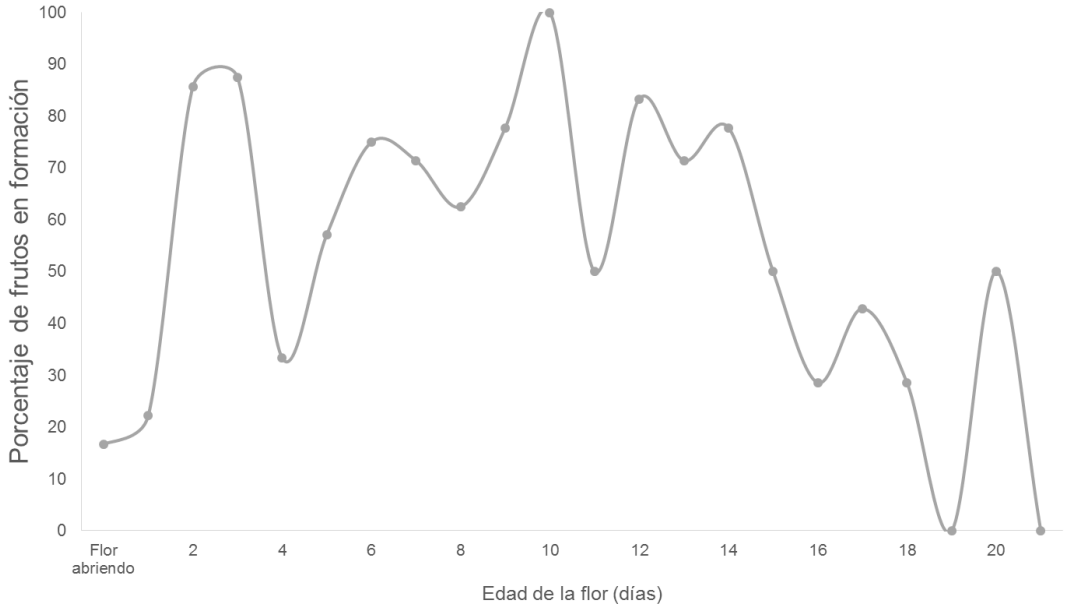


FIGURA 6.7. Receptividad estigmática en cada edad de la flor.

La polinización cruzada en ocasiones fue fácil gracias a la apertura de la entrada al estigma por parte del róstelo. Cuando el róstelo sostenía a los polinios se mantenía recto, mientras que al retirar los polinios, luego de un par de días el róstelo se doblaba y así ampliaba la entrada a la cavidad estigmática.

La longevidad de las flores que fueron donadoras de polinios se vio notablemente reducida luego del evento reproductivo. En promedio a una flor que desde su antesis se le removieron sus polinios duró 6±0.8 días (n=10), mientras que las flores que no tuvieron ningún evento reproductivo experimentaron una longevidad promedio de 17.4±1.8 días (n=10). De la misma manera se pudo observar que las flores que fueron polinizadas, luego de la polinización iniciaron un proceso de necrosis de los sépalos, los pétalos y el labelo y al cabo de 7.7±1.5 días (n=10) ya era evidente la senescencia. La longevidad de las flores intactas, de las flores polinizadas (número de días después de la polinización) y de las flores sin polinios fue significativamente diferente (KW=22.6, p=9.9E-06, Fig. 6.8).

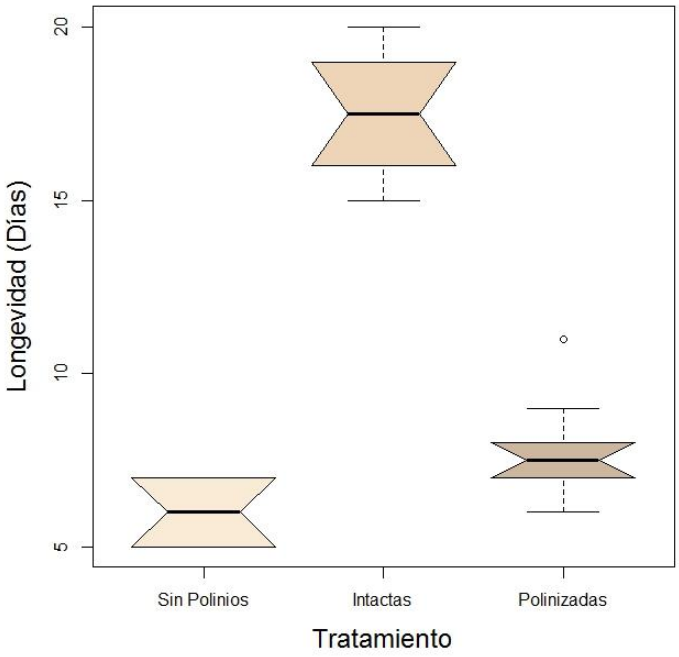


FIGURA 6.8. Comparación de la longevidad de las flores intactas y de las flores con eventos reproductivos.

El 100% de las flores que recibieron polinios de flores abriendo y el 80% de las flores que recibieron polinios de flores senescentes iniciaron la formación frutos, por lo tanto la longevidad de la flor no determinó la viabilidad de los polinios.

Las dos estructuras reproductivas estuvieron disponibles desde el inicio de la antesis y hasta antes de iniciar la senescencia, por lo que hubo solapamiento temporal de las fases femenina y masculina.

## 6.2 Fenología de la floración

Durante el mes de mayo y a principios de junio, las plantas empezaron a formar el eje central y los ejes secundarios, antes de dar paso al desarrollo de los pedicelos y posteriormente de los botones. El desarrollo de los ejes florales coincidió con épocas de mucha precipitación.

### 6.2.1 Fenología de la floración de la inflorescencia/individuo

Una inflorescencia tuvo en promedio 58.7±55.0 flores (n=114, Mínimo=2, Máximo=273). El 40% de las inflorescencias tuvo 30 flores o menos, el 25% desplegó entre 31 y 61 flores, el 26% de las inflorescencias tuvo entre 65 y 125 flores y solo el 9% tuvo más de 126 flores (Fig. 6.9).

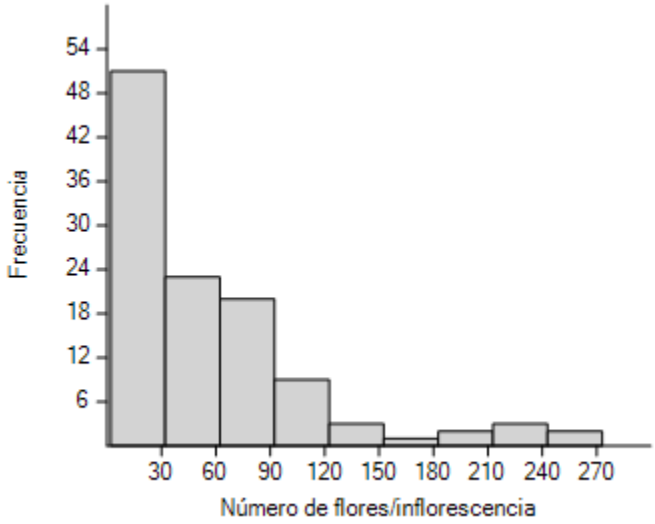


FIGURA 6.9. Frecuencia del número de flores por inflorescencia en días.

La longevidad de la inflorescencia fue de 37.4±12.7 días (n=114) en promedio. Solo el 9% de las inflorescencias experimentó una longevidad menor a 15 días, el 19% duró entre 20 y 30 días, mientras que el 58% evidenció una longevidad entre 31 y 50 días (un mes a mes y medio); el 14% restante tuvo una longevidad entre 51 y 67 días (mes y medio a dos meses, Fig. 6.10).

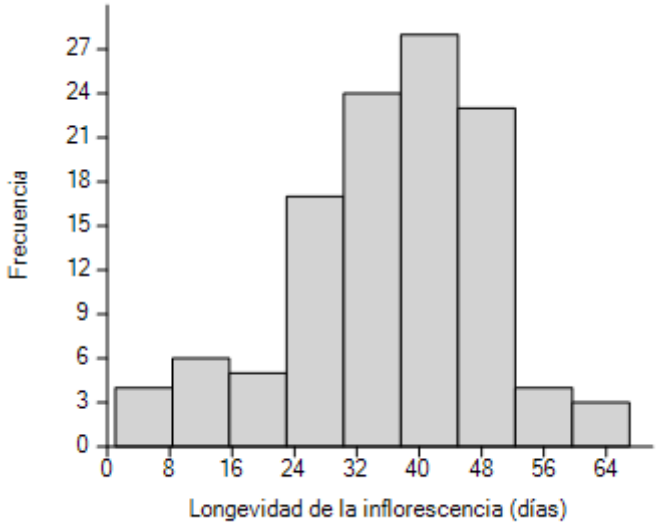


FIGURA 6.10. Frecuencia de la longevidad de las inflorescencias en días.

La relación entre el número de flores por inflorescencia y la longevidad de la inflorescencia fue alta y significativa (Spearman r=0.4373, p<0.001) y no pareció ser de tipo lineal (Fig. 6.11).

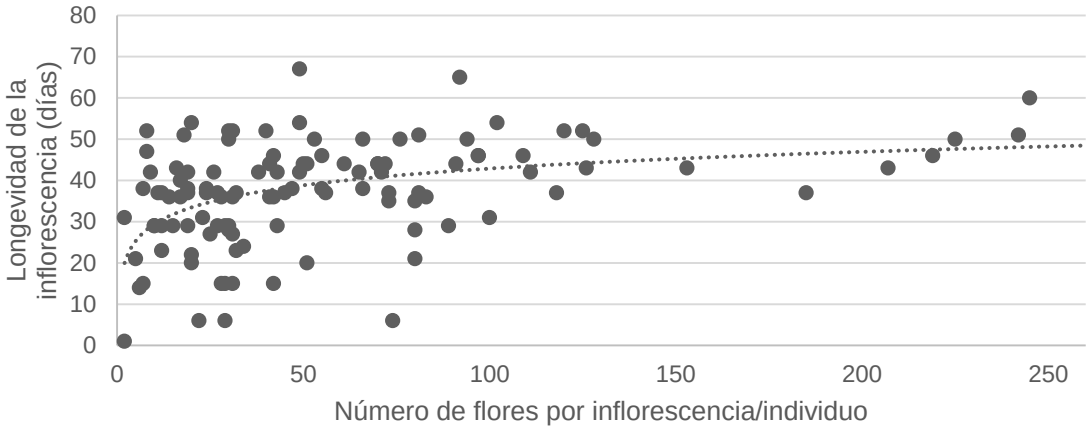


FIGURA 6.11. Relación entre el número de flores por inflorescencia y la longevidad de la inflorescencia.

La apertura de las flores en general no fue totalmente sincrónica dentro de una misma inflorescencia desde el primer día de antesis, las flores se fueron abriendo paulatinamente hasta que todos los botones disponibles habían abierto. En algunas inflorescencias las

flores que primero abrieron fueron las del ápice de los ejes centrales, en otras abrieron primero las de la base de los ejes centrales y apicales, y en algunos otros individuos la apertura de las flores tendió a ser basipétala. La sincronía en la apertura de las flores dentro de cada inflorescencia fue del 69±11% (n=114) en promedio. El 19% de las inflorescencias experimentó una sincronía media-baja (índice: 0.45-0.59), el 62% una sincronía media-alta (índice: 0.60-0.79), mientras que solo el 18% restante experimentó una sincronía alta (índice: 0.80-1.00, Fig. 6.12).

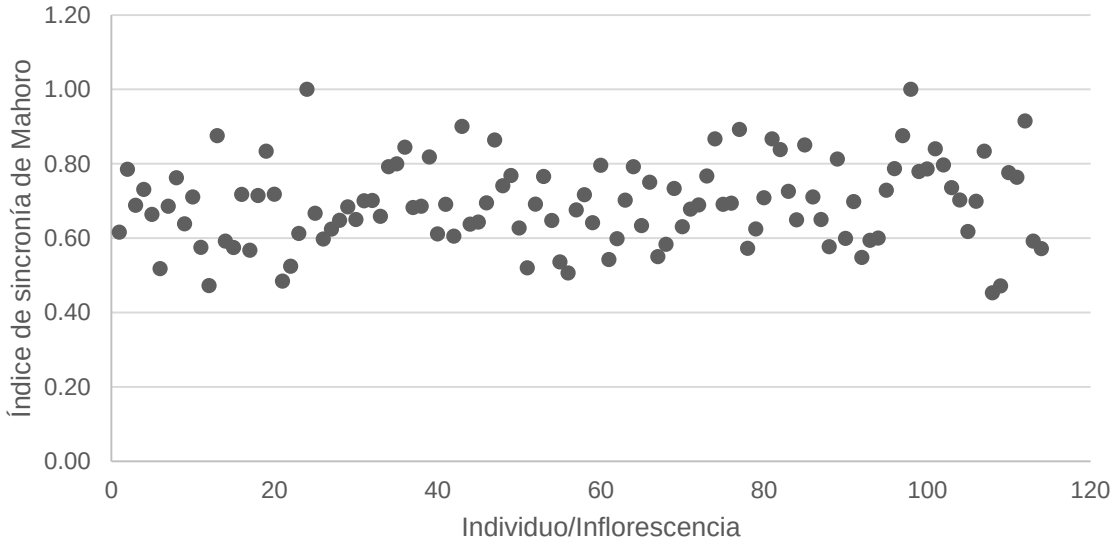


FIGURA 6.12. Índice de sincronía dentro de la inflorescencia.

El número de flores por inflorescencia y el índice de sincronía tuvieron una relación negativa y significativa (Fig. 6.13, Spearman r= -0.4235, n=114, p<0.001), lo que implica que en algunos casos las inflorescencias con mayor número de flores experimentaron una sincronía baja, en comparación con inflorescencias de pocas flores que tuvieron la tendencia a ser sincrónicas.

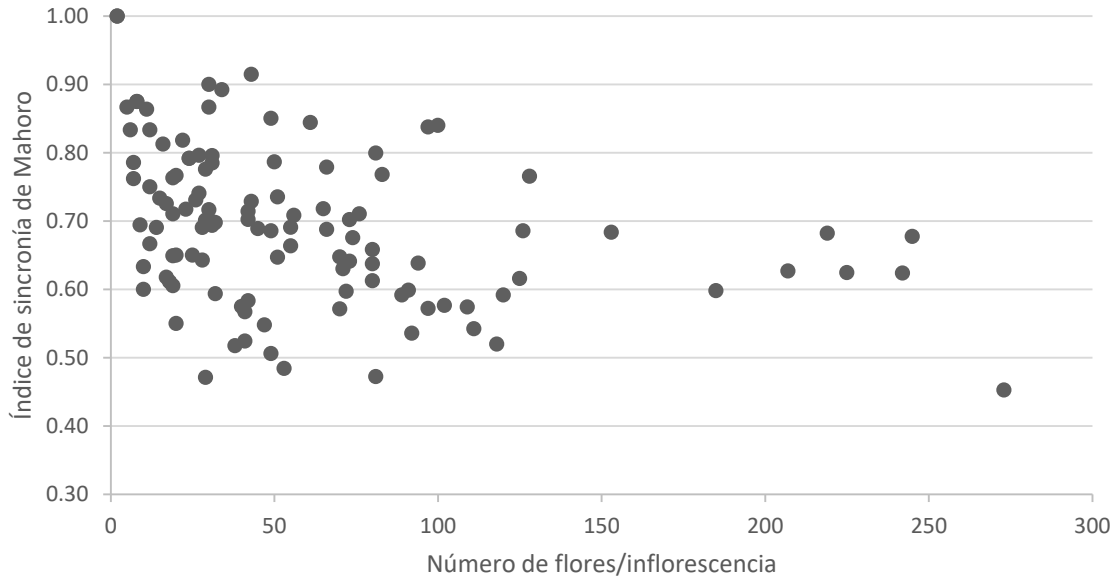


FIGURA 6.13. Relación entre el número de flores por inflorescencia y el índice de sincronía en la inflorescencia.

El inicio de la antesis de las flores fue temprana (entre agosto y setiembre) para el 18% de las inflorescencias, fue media (en octubre) para el 47% y tardía (en noviembre y diciembre) para el 35%. Hubo inflorescencias pequeñas o con pocas flores iniciando su antesis durante todo el periodo de floración, mientras que las inflorescencias con un mayor número de flores iniciaron su antesis en la mitad de la época de floración (antesis media) y unas pocas al final de la época (Fig. 6.14). El número de flores por inflorescencia en cada categoría de inicio de antesis fue significativamente diferente (KW=10.4, p=0.0055).

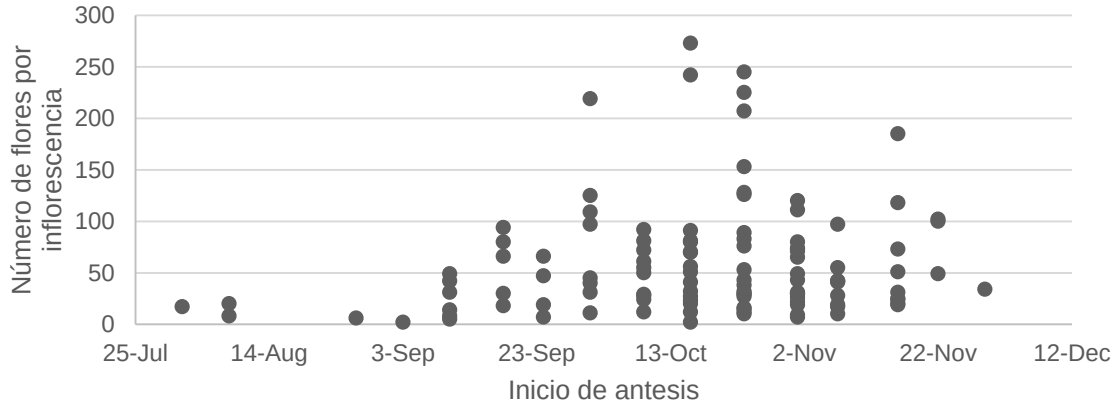


FIGURA 6.14. Relación entre el inicio de la antesis y el número de flores por inflorescencia.

La longevidad de la inflorescencia no fue significativamente diferente en las tres categorías de antesis (KW=5.49, p=0.0637, Fig. 6.15), por lo que la longevidad no estuvo determinada por la época de inicio de la antesis.

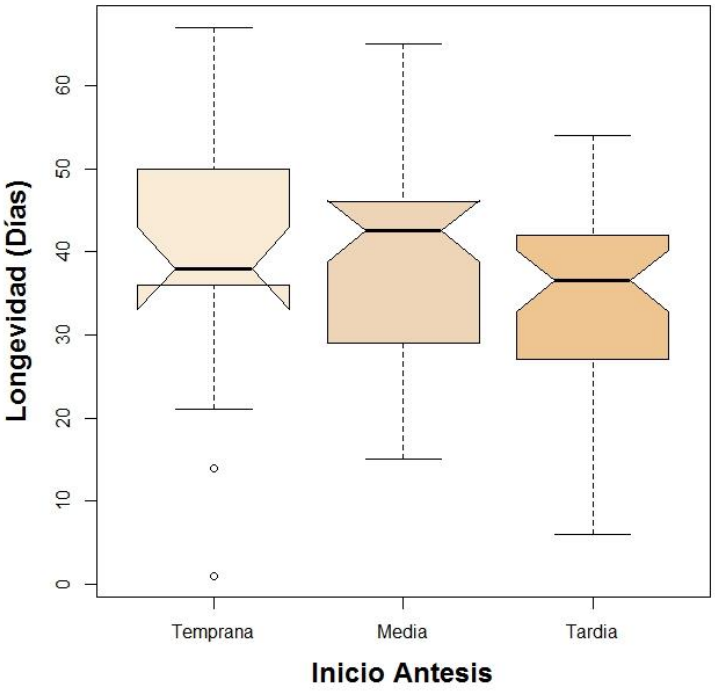


FIGURA 6.15.Comparación de las categorías del inicio de la antesis en relación con la longevidad de la inflorescencia (días).

## 6.2.2 Fenología de la floración del grupo de plantas

La fase de botón inició a mediados de julio y se prolongó hasta el mes de diciembre, con una duración de 5 meses. La fase de floración inició aproximadamente el primero de agosto y terminó el 15 de enero. La fase senescente arrancó el 3 de septiembre y terminó el 22 de enero (Fig. 6.16). La Fase de fructificación empezó el 24 de octubre y fue a la fase más larga del proceso reproductivo, ya que los frutos duraron aproximadamente un año desarrollándose antes de la liberación de semillas.

La estación reproductiva de *O. ornithorhynchum* en el año 2013 fue de175 días (un poco más de cinco meses).

El desarrollo de los botones se vio favorecido por la disminución en las precipitaciones y el inicio de la floración ocurrió cuando las lluvias fueron escasas. Sin embargo, el pico de floración coincidió con el inicio de la segunda temporada de lluvias del año. Además, las precipitaciones continuas, coincidieron con la senescencia de las flores que contribuyeron al pico de floración (Fig. 6.16).

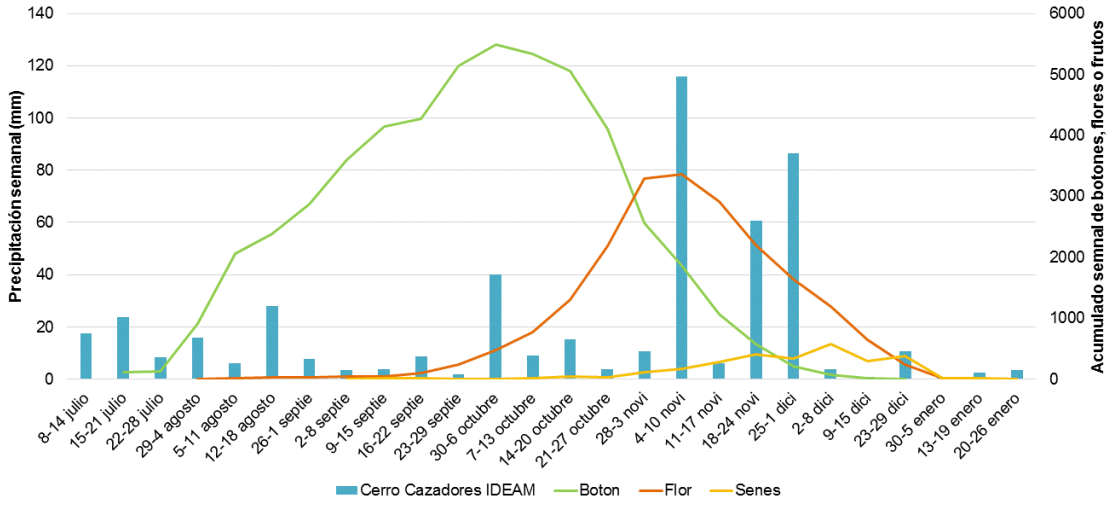


FIGURA 6.16. Relación de la precipitación semanal total (mm) con la intensidad (acumulado semanal) de cada fase fenológica en cada una de las fechas de muestreo.

A nivel de grupo de plantas, hubo una oferta máxima de 19,977 botones en el mes de octubre, de los cuales solo el 58.9% se convirtieron en flor y de las 11,766 flores abiertas en el pico de floración en noviembre (Fig. 6.16) solo el 12.1% dieron paso a frutos en desarrollo.

El inicio de la antesis para el grupo de plantas se dio con un solo individuo y con el paso de las semanas, el número de individuos iniciando su antesis fue aumentando progresivamente. El inicio de la antesis del 47.4% de los individuos fue media y se dio entre el 16 de octubre y el 1 de noviembre (Fig. 6.17). El 24 de octubre se dio el pico en el inicio de la antesis de la floración, es decir que el pico del inicio de la antesis ocurre entre una y dos semanas antes que el pico de la floración, que se dio a inicios de noviembre.

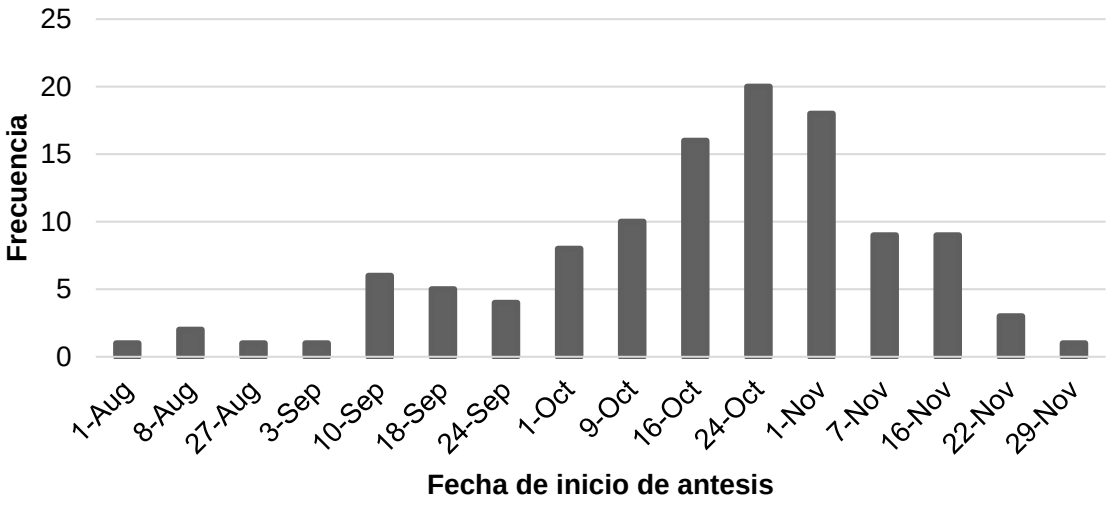


FIGURA 6.17. Frecuencia del inicio de la antesis en la población.

La sincronía en la apertura de las flores fue de 29±13% en promedio para el grupo de plantas. El 43% de las plantas experimentó una sincronía baja (0.02-0.29 – Índice según Elzinga *et ál*. 2007), el restante 57% tuvo una sincronía media-baja (0.30-0.47). Solo el 22% de las plantas tuvo un 45% de sincronía entre ellas y sin embargo sigue siendo una sincronía media-baja (barra más larga de la Fig. 6.18).

No hubo una correlación significativa entre la longevidad de las inflorescencias y el índice de sincronía en la apertura de las flores (Spearman r=-0.1156, n=114, p=0.221).

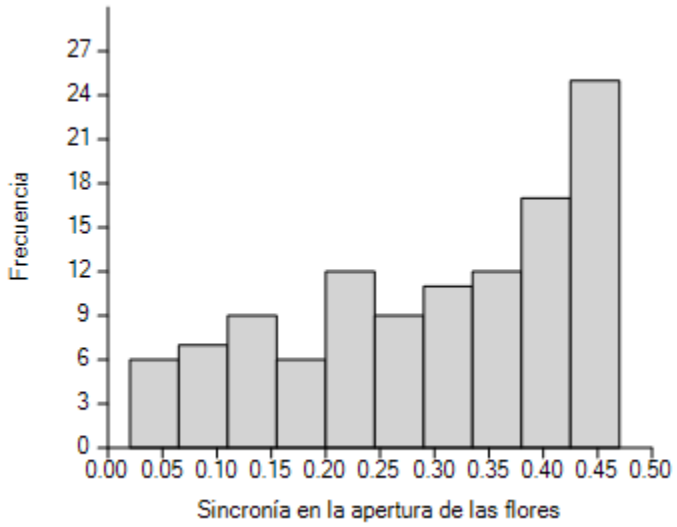


FIGURA 6.18. Frecuencia del índice de sincronía en la apertura de las flores de la población.

La sincronía en el periodo floral en promedio para el grupo de plantas fue del 46±16%. El 15% de las plantas experimentó una sincronía baja (0.02-0.3), el 26% una sincronía media-baja (0.31-0.47), el 42% una sincronía media (0.50-0.59) y el 17% restante una sincronía media-alta en el periodo floral (0.61-0.69 según Augspurger 1983).

Se encontró una correlación negativa y significativa entre la longevidad de la inflorescencia y el índice de sincronía en el periodo floral (Spearman r=-0.356, p=0.0001, Fig. 6.19), es decir que las plantas con inflorescencias más longevas tuvieron la tendencia a sincronizar poco el periodo floral entre ellas.

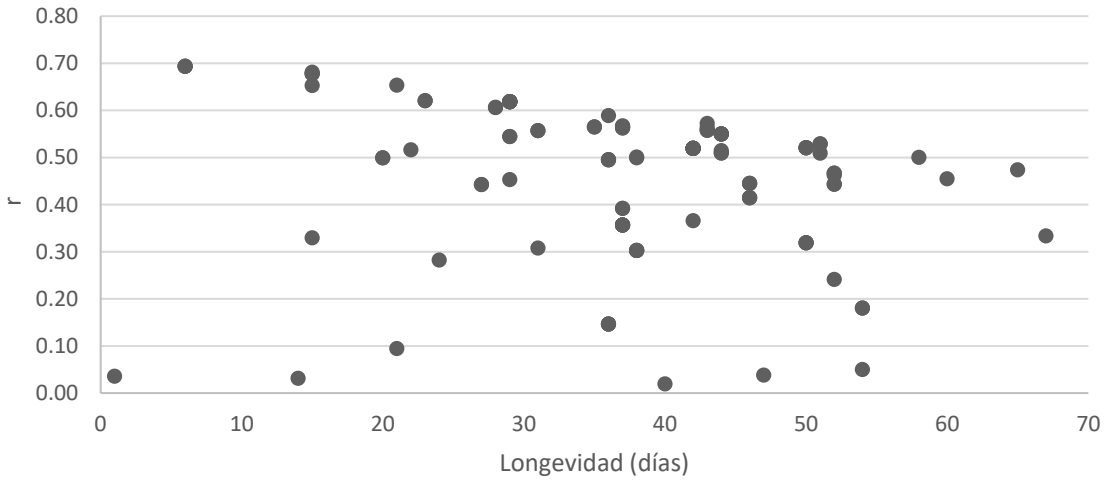


FIGURA 6.19. Relación entre la longevidad de las inflorescencias y el índice de sincronía en el periodo floral.

## 6.2.3 Producción de frutos

Los frutos en promedio midieron 23.0±2.4 mm de largo y 8.0±0.9 mm de diámetro en la parte central del fruto (n=23).

De los 114 individuos que fueron objeto de seguimiento en el registro fenológico el 75.4% desarrolló por lo menos un fruto, mientras que el 40.4% abortó por lo menos un fruto. En promedio, únicamente el 8.3±5.7% (Min=1, Máx=30, n=86) de las flores de cada individuo que tuvo éxito en la reproducción, formaron frutos. El 51.2% de los individuos formó tres frutos o menos, el 40.7% desarrolló entre 4 y 13 frutos y el 8.1% entre 14 y 31 frutos (Fig. 6.20). El promedio de frutos por planta o por inflorescencia fue de 5.3±5.6 (Min=1, Máx=31, Me=3, Mo=1, n=86).

Las plantas que experimentaron abortos, perdieron en promedio el 46.7±24.6% (n=46) de los frutos luego de una o dos semanas de haberse iniciado el proceso de desarrollo ovárico y en promedio cada una de estas plantas perdió 4.3±4.6 (Min=1, Máx=23, Me=3, Mo=1, n=46) frutos. Es importante aclarar que el porcentaje de frutos abortados no está incluido en el porcentaje de frutos formados, ya que éste último se calculó con los datos obtenidos después de terminado el proceso de abortos.

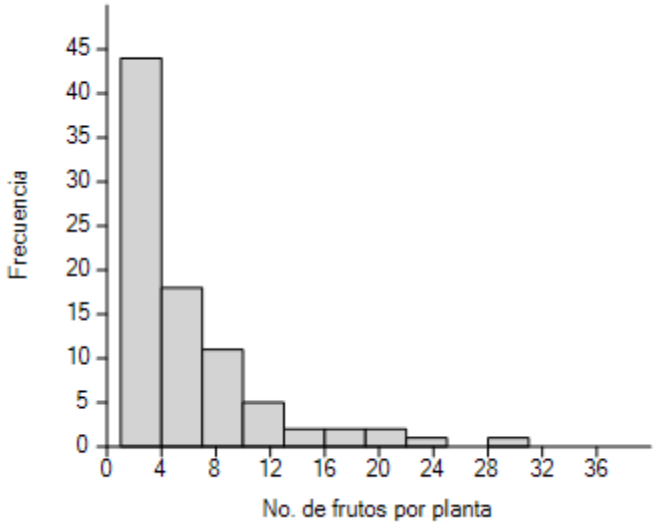


FIGURA 6.20. Frecuencia del número de frutos por planta.

Se encontró que el tamaño de la inflorescencia (entendido como el número de flores por inflorescencia) afectó la producción de los frutos (KW=41.7, p<0.0001, Fig. 6.21) y que hubo una correlación positiva y significativa entre el número de flores ofertadas y el número de frutos abortados (Fig. 6.22).

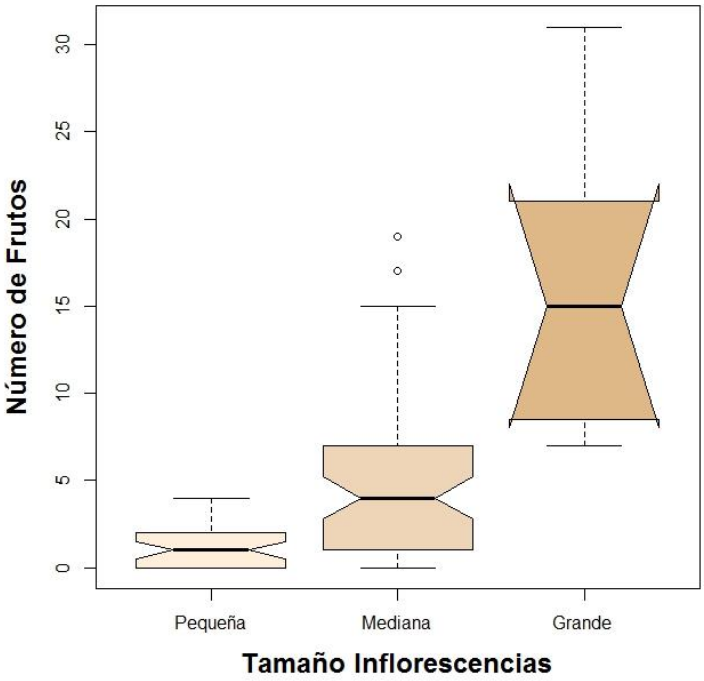


FIGURA 6.21. Comparación del número de frutos en las categorías de tamaño de la inflorescencia.

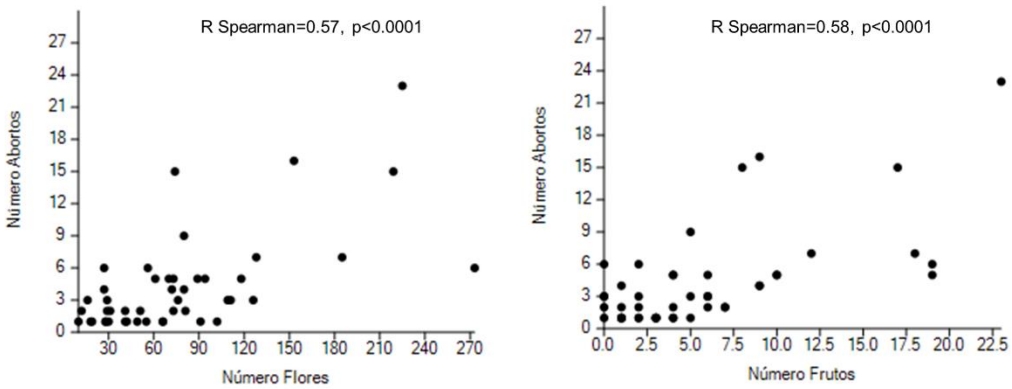


FIGURA 6.22. Relación entre el número de flores por inflorescencia *vs.* el número de abortos y el número de frutos *vs.* el número de abortos.

## 6.3 Sistema reproductivo

El porcentaje de frutos obtenidos en los ensayos de polinización cruzada con embolsamiento fue de 38.6% (n=70), de polinización cruzada sin embolsamiento fue de 49.2% (n=65) (diferencia no significativa KW=0.95, p=0.91, n=8), mientras que de las polinizaciones naturales (ensayo control) solo se obtuvo un 6% (n=117) de frutos (tabla 6.1); En los tratamientos de autopolinización no se obtuvo ningún fruto. Por lo tanto, *O. ornithorhynchum* tiene un sistema reproductivo estrictamente autoincompatible, no fue capaz de producir frutos sin polinios foráneos y requirió la participación de polinizadores. Aunque la flor inicialmente pudo aceptar los polinios de la misma planta, durante los primeros 6 días presentó engrosamiento de la columna y el aparente fruto en formación fue abortado en todos los casos luego de una o dos semanas después de la polinización.

Adicionalmente se estableció que la polinización estuvo limitada por los polinizadores.

TABLA 6.1. Porcentaje de frutos obtenidos a partir de flores manipuladas en los diferentes tratamientos.

| Tratamiento | Flores manipuladas | Frutos desarrollados | % frutos |
|---|---|---|---|
| Control | 117 | 7 | 6.0 |
| Agamospermia | 58 | 0 | 0.0 |
| Autopolinizacion inducida en inflorescencia | 73 | 0 | 0.0 |
| Autopolinizacion inducida en flor | 69 | 0 | 0.0 |
| Polinizacion cruzada con embolsamiento | 70 | 27 | 38.6 |
| Polinizacion cruzada sin embolsamiento | 65 | 32 | 49.2 |
| Polinizacion espontánea | 71 | 0 | 0.0 |

## 6.4 Visitantes

Las observaciones focales permitieron determinar que hubo dos especies de visitantes de *O. ornithorhynchum*: *Bombus atratus* y *Thygater aethiops* (Fig. 6.23). Los individuos que fueron recolectados mientras visitaban las inflorescencias correspondieron a hembras.

Respecto a otras interacciones, se observó que las larvas de insectos se alimentaron del eje floral en desarrollo o de los botones, que algunos coleópteros pequeños (no fue posible recolectarlos) se alimentaban de las partes florales vistosas, como los sépalos y los pétalos; algunas especies de arañas de la familia Araneidae representadas por individuos juveniles aprovecharon la estructura de la inflorescencia para tejer sus redes orbiculares.

*B. atratus* y *T. aethiops* llegaron a la inflorescencia y realizaron un vuelo alrededor de ella, buscando flores que llamaran su atención. En ocasiones, esta búsqueda les tomó algunos segundos (por lo general entre 3 y 4 segundos) hasta encontrar la primera flor que fuera objeto de visita, en otros casos el insecto tardó un solo segundo antes de posarse en la primera flor. El insecto se posó sobre una flor, con la cabeza alineada con la columna y el abdomen reposando sobre el labelo. El insecto abrazó la flor con las patas, de tal forma que el primer par de patas anteriores abrazaron la base del labelo y quedaron en contacto con los elaióforos. El segundo par de patas quedó abrazando en labelo por la parte más angosta (ancho en el centro del labelo ACL). Una vez sujetado, la cabeza de insecto quedó alineada con la columna, y fue la región clipeal la que quedó en contacto con la entrada al estigma y el viscidio de los polinios. Aunque el método de observación empleado y el tamaño y la disposición de las flores no permitieron una observación más precisa, se plantea la hipótesis de que esta aproximación de los visitantes puede permitir la remoción de los polinios de una flor y mediante una aproximación similar ser introducidos en la cavidad estigmática de otra flor. Los insectos permanecieron en la flor entre uno y dos segundos únicamente. En seguida, cada individuo buscó la siguiente flor que visitaría en la misma inflorescencia.

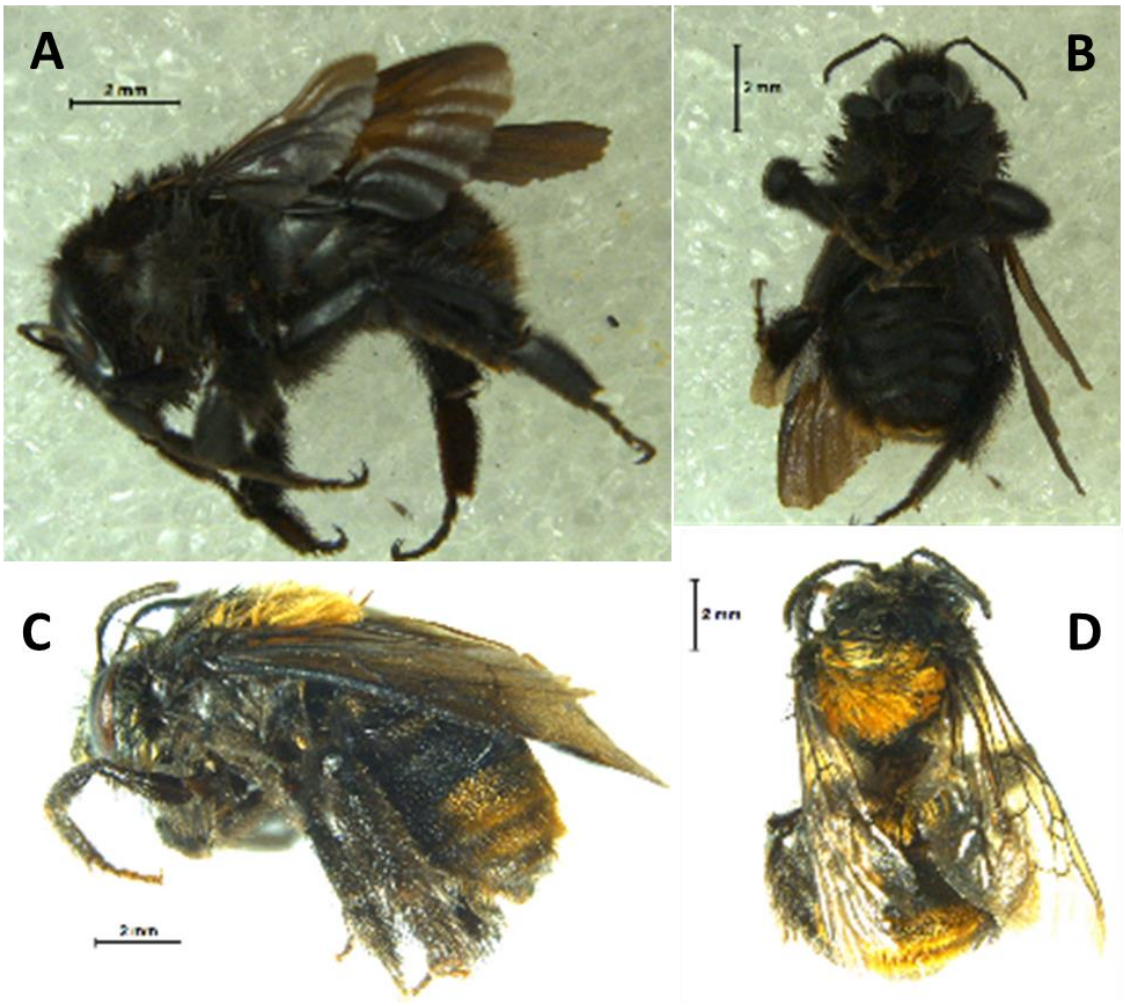


FIGURA 6.23. Visitantes florales de *O. ornithrhynchum*, Hembra reina de *B. atratus* (A: Vista lateral, B: Vista ventral) y hembra de *T. aethiops* (C: Vista lateral, D: vista dorsal). Cámara Leica MC 170HD (Lente 0.63X).

*B. atratus* realizó el 60% de las visitas registradas y *T. aethiops* el 40% restante, ambas especies visitaron a *O. ornithorhynchum* de manera legítima.

*B. atratus* por lo regular solía frecuentar de 4 a 7 flores por cada inflorescencia, con una duración de 6 a 9 segundos por cada visita y lo hacía preferiblemente entre las 7 y las 9am y el medio día, de 11am a 1pm (Figs. 6.24 y 6.25).

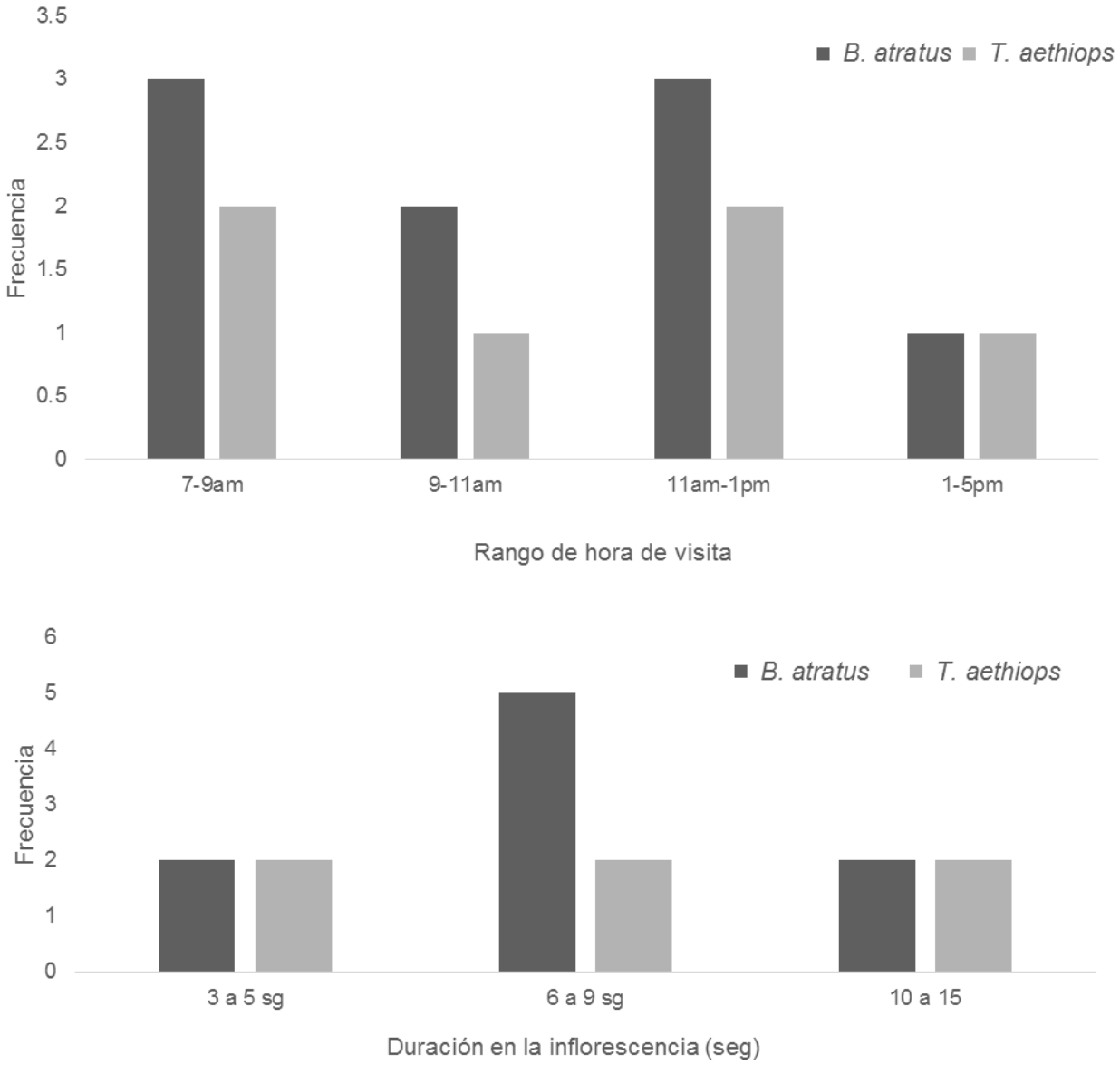


FIGURA 6.24. Frecuencias del horario de visita y de la duración de la visita en la inflorescencia de *B. atratus* y de *T. aethiops*.

Por su parte, *T. aethiops* visitó pocas (de 3 a 5) o muchas (de 10 a 15) flores por cada inflorescencia con la misma frecuencia. Al igual que *B. atratus*, *T. aethiops* tardó entre 1 y 2 segundos por cada flor visitada y las visitas ocurrieron principalmente temprano en la mañana y hacia el mediodía (Figs. 6.25 y 6.26).

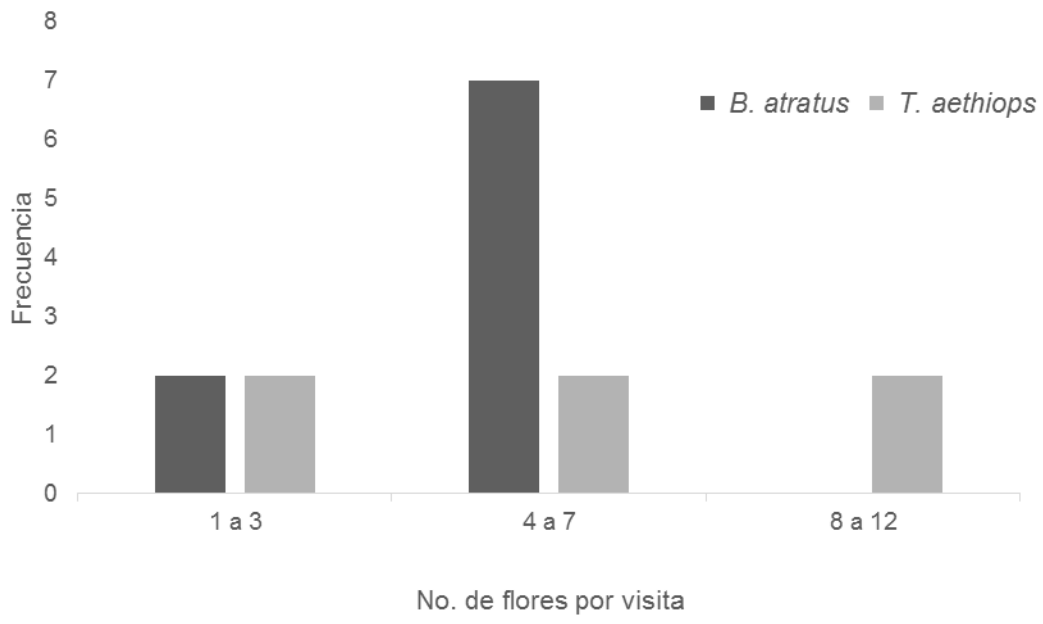


FIGURA 6.25. Frecuencias del número de flores visitada en cada inflorescencia por parte de *B. atratus* y de *T. aethiops*.

# 7. Discusión

## 7.1 Biología floral

La morfología de la flor y el arreglo de sus estructuras en el espacio hacen parte del conjunto de claves (visuales, químicas y táctiles) que conducen al polinizador para decidir que flores visita. El labelo es una estructura de gran importancia, no solo por ser la estructura más grande y vistosa, sino porque soportó el peso del polinizador, su forma trilobada facilitó el agarre y contenía a los elaióforos que producen la posible recompensa.

El tamaño de la flor pudo ser tan relevante para los visitantes como su apariencia y su aroma, aspectos que determinan el comportamiento del polinizador y si se posa en la flor o no. Aunque la morfología floral debe estar relacionada con el acople adecuado a los visitantes y polinizadores para que ocurra algún evento reproductivo, el primer reto es llamar la atención del polinizador y esto se logra en primer lugar con el despliegue floral (Fig. 6.22). El comportamiento de rastreo de los visitantes en la inflorescencia antes de posarse en alguna flor, sugiere que el insecto buscó las características de las flores que más llamaron su atención sin tener contacto físico con ellas, por lo tanto las claves fueron visuales o químicas, o ambas. *O. ornithorhynchum* produjo un suave aroma dulce y aunque no se evaluó su papel en la atracción de los visitantes, es muy probable que lo tenga, así como ocurre en varias especies de orquídeas (Schiestl y Ayasse 2001; Stökl *et ál*. 2008, Delle-Vedove *et ál*. 2011; Cuervo 2012).

El aspecto más importante que surgió del desarrollo floral es la marcada separación espacial del estigma y los polinios, situación que dificulta la ocurrencia de autopolinizaciones sin la ayuda de un insecto o un animal. Así, la hercogamia resulta más importante porque a pesar de que *O. ornithorhynchum* es una especie autoincompatible, la disponibilidad simultánea de la función masculina y femenina durante todo el periodo

floral podría favorecer las autopolinizaciones mediadas por insectos, y de este modo, disminuir las probabilidades de ocurrencia de eventos reproductivos exitosos que culminen en la formación de frutos (un flor autopolinizada que no forma fruto representa la pérdida de dos oportunidades de reproducción sexual).

Los aceites florales, que suelen ser colectados por abejas hembras, los mezclan con polen para el alimento y protección de las larvas, para impermeabilizar los nidos o como alimento para los individuos adultos (Buchmann 1987; Pacek y Stpiczyńska 2007). Davis y Stpizyńska (2009) aseguran que los productos de los tejidos secretores del labelo de algunas especies de la subtribu Oncidiinae, contienen diferentes tipos de lípidos o aminoácidos aromáticos, que pueden servir como nutrientes para las abejas. Los aceites producidos por las especies de *Oncidium* que han sido objeto de estudio, por lo general están compuestos por diferentes tipos de gliceroles y ácidos grasos (Dumri 2008) y tienen un valor energético mayor que 1l néctar y el polen (Wcislo y Cane 1996). *O. ornithorhynchum* ofrece aceites en los elaióforos e inicialmente podría pensarse que las visitas de *B. atratus* y *T. aethiops* se deben a la presencia de estos aceites, teniendo en cuenta que lo observado en esta investigación coincide con que las abejas colectoras de aceites suelen durar entre uno y cinco segundos en cada flor de otras especies de Oncidiinae (Pansarin y Pansarin 2010, Torreta *et ál.* 2011, Pansarin *et ál*. 2017) y la poca duración puede deberse a una baja cantidad de aceite (Torreta *et ál.* 2011). Por otro lado se plantea que el aceite puede adherirse por capilaridad a los pelos de las patas, lo cual no requiere mayor esfuerzo del insecto. Sin embargo, no se ha reportado a ninguna especie del género *Bombus* colectando aceites. Por lo tanto no hay suficiente evidencia que indique que los aceites son la recompensa que buscan los visitantes de *O. ornithorhynchum* en la región de estudio.

Pacek y Stpiczyńska (2007) encontraron granos de almidón (amiloplastos) en la orquídea *Ornithocephalus kruegeri*, puntualmente en los plastidios del citoplasma de las células secretoras de los elaióforos y en el parénquima subepidérmico. La presencia de almidón es característica de muchas células de osmóforos o nectarios, generalmente en una etapa previa a la secretora y puede ocurrir como una fuente de energía para procesos metabólicos intensos o, indirectamente, como componentes azucarados del néctar. En *Ornithocephalus gladiatus, Zygostates grandiflora* y *Z. lunata* también se encontró producción de gotas de lípidos en los elaióforos y amiloplastos en las células

subepidermales, pero éstos amiloplastos fueron abundantes en la etapa de botón y desaparecieron con la madurez de la flor (Pacek *et ál.* 2012). A partir de lo anterior se plantea que en *O. ornithorhynchum* estos almidones están relacionados con la producción de los lípidos por encontrarse en el mismo tejido y sirven de reserva energética para la síntesis de los lípidos y/o de aromas.

Los elaióforos de *O. ornithorhynchum* tuvieron una apariencia epitelial (el tejido no tiene tricomas). Se ha planteado que para especies de la familia Orchidaceae, el tipo de elaióforo puede estar relacionado con el tamaño del polinizador. Plantas con elaióforos epiteliales son polinizadas por insectos relativamente grandes que pueden sujetarse a la tabula infraestigmatica con sus mandíbulas, y con sus primer y segundo pares de patas, raspan los elaióforos que se disponen en pares lateralmente sobre el labelo; mientras que las especies con elaióforos tricomáticos que se encuentran centralmente localizados son visitadas pos abejas pequeñas que raspan las flores de manera más delicada (Pacek *et ál*. 2012). Los elaióforos epiteliales de *O. ornithorhynchum* podrían corresponder con la visita de abejas grandes como *B. atratus* y *T. aethiops* según lo propuesto por Pacek *et ál*. (2012), pero como se mencionó anteriormente, estas dos especies de abejas no son conocidas por colectar aceites.

Se pudo determinar que las flores de *O. ornithorhynchum* iniciaron su proceso de senescencia una vez había ocurrido un evento reproductivo: donación de polinios o polinización cruzada. Se ha logrado establecer que hay plantas que aceleran la senescencia de las flores que han sido polinizadas, esto debido a un incremento en la producción de etileno inducido por la polinización (Singh, Evensen y Kao 1992; Luangsuwalai, Ketsa y van Dorn 2011; Pacifici *et ál*. 2015;); los granos de polen ubicados en el estigma pueden emitir una señal que incrementa la expresión de los genes involucrados en la síntesis de etileno (Pacifici *et ál*. 2015).

Por otro lado, estudios con inhibidores de la síntesis del etileno han revelado que la producción del ácido 1-aminociclopropano-1-carboxilico y del etileno es una parte importante de la respuesta a la emasculación de las flores de orquídeas (Woltering y Harren 1989). Por lo tanto, cualquier evento reproductivo genera una respuesta fisiológica que incluye la producción de etileno para la aceleración de la senescencia de los sépalos y pétalos. Probablemente la razón de esta respuesta en *O. ornithorhynchum* tuvo que ver

con el re-direccionamiento de los recursos para mantener flores que aún no hayan cumplido con su papel reproductivo o para la formación de frutos.

## 7.2 Fenología de la floración

A nivel de inflorescencia algunos individuos de *O. ornithorhynchum* lograron un despliegue floral mucho mayor que otros y a la vez prolongar la oferta de flores en el tiempo gracias a que su longevidad fue mayor. Estas inflorescencias con un gran número de flores disminuyeron la sincronía dentro de la misma inflorescencia para poder prolongar su duración y así aumentar la probabilidad de visitas y posibles polinizaciones.

Las inflorescencias más longevas tendían a tener un solapamiento menor con otros individuos, en comparación con las plantas que ofrecían con pocas flores. Por lo tanto, la estrategia de algunos individuos fue el gran despliegue floral, con longevidades más grandes, y disminuyendo la sincronía en la inflorescencia y entre los individuos (aunque la baja sincronía en la inflorescencia puede ser una consecuencia de la larga duración de las mismas), garantizando una tasa más elevada de visitas que culminaron en frutos (Fig. 6.11, Fig. 6.13, Fig. 6.22).

La disminución en la sincronía dentro de las inflorescencias grandes, además de prolongar la oferta en el tiempo, garantizó la disminución de las autopolinizaciones, gracias al comportamiento de los visitantes (visitan como máximo 12 flores por inflorescencia, Fig.6.26), pero al mismo tiempo suficientes visitas de diferentes individuos para generar un importante número de frutos, así los despliegues grandes resultan más provechosos en términos reproductivos.

Las plantas con pocas flores, que tenían una sincronía alta entre ellas y dentro de la misma inflorescencia, se vieron obligadas a exponer la totalidad (o gran parte) de sus flores para garantizar la efectiva atracción de los visitantes. Como estas plantas tuvieron una mayor sincronía con otros individuos, tenían que apostarle al despliegue para poder competir por los polinizadores.

Por lo tanto, la estrategia de individuos pequeños estuvo en aumentar la sincronía de la inflorescencia y la sincronía con otros individuos de la sub-población. Aunque al igual que

en la mayoría de eventos naturales, en el patrón hay excepciones y algunas plantas con pocas flores lograron una longevidad comparable con la de plantas de mayor despliegue floral (aunque esta longevidad de estos individuos pudo estar determinada por la no ocurrencia de eventos reproductivos, Fig. 6.8) y alcanzaron al mismo tiempo una sincronía baja dentro de la inflorescencia.

Un aspecto que no se tuvo en cuenta en esta investigación, fue evaluar la producción de aceites según el tamaño de la inflorescencia, observando por ejemplo la proporción de flores que ofrecen la recompensa. Lo único que se sabe es que el 70% (n=10) de las flores valoradas contenían aceites en los elaióforos. Lo que puede significar que no todas las flores ofrezcan recompensa. Sería muy útil saber si existe una compensación en la disposición de recursos para formar muchas flores y para la producción de recompensas.

El inicio de la antesis debe estar determinado por algún o algunos factores (probablemente los cambios en la precipitación) que hicieron que el 47% de los individuos iniciaran la floración a mitad de la época y provocando un posterior pico de floración. La segunda temporada de lluvias marcó el punto de declive en la curva de la floración (Fig. 6.16). Esto significa que *O. ornithorhynchum* respondió al cambio en el patrón de las lluvias y su estrategia fue exponer la mayor cantidad de flores antes de que inicie la segunda temporada de lluvias.

Según Sabad y Ackerman (1996), es coherente que para una especie de orquídea que provee alguna recompensa, durante el pico de floración se genere el mayor número de polinizaciones que culminen en la mayor cantidad de frutos de la temporada, situación que concuerda con lo que se encontró para *O. ornithorhynchum* (Fig. 6.21).

Los primeros frutos empezaron a formarse a mediados de octubre, un par de semanas antes del pico de floración y días antes de la segunda temporada de lluvias, lo que permite intuir que la densidad de individuos florecidos pudo afectar positivamente las visitas y la polinización en sí. Primack (1980) plantea que las plantas de ecosistemas tropicales que florecen muy temprano o muy tarde en la temporada tienen una capacidad de reproducción reducida por la poca atracción que generan pocas plantas floreciendo asincrónicamente.

Teniendo en cuenta que el pico de floración se dio a finales de octubre y principios de noviembre (Fig. 6.16), y según el seguimiento de los datos en la matriz, se pudo establecer que las plantas que iniciaron su antesis en octubre y que probablemente contribuyeron al

pico de floración obtuvieron un mayor número de frutos que aquellas plantas que iniciaron su antesis temprana o tardíamente.

No se encontró relación o diferencias significativas entre la longevidad de las inflorescencias y la etapa de inicio de su antesis, por tanto, la longevidad pudo no estar determinada por la variación en el tiempo meteorológico ni por la cantidad de lluvias. La longevidad de las inflorescencias grandes pudo estar determinada por la cantidad de flores y la sincronía entre ellas, y todo depende probablemente de factores genéticos y filogenéticos.

A nivel de grupo de plantas solo el 59% de los botones registrados se convirtieron en flores disponibles y de ésas flores solo el 12% desarrollaron fruto, por lo cual, la especie invirtió una cantidad de recursos en la producción de botones e incluso en la producción de flores, para obtener relativamente pocos frutos. Sin embargo, el costo-beneficio se refleja en una subpoblación con reproducción sexual suficiente para contar con un número importante de individuos (aproximadamente 130 individuos reproductivos y entre 70 y 90 individuos vegetativos en 2013) y de los individuos reproductivos el 75.4% logró formar al menos un fruto que liberarían varios cientos de semillas.

Calvo (1990b) planteó que las plantas con inflorescencias más grandes tienen mayores probabilidades de establecer al menos un fruto. A pesar de la gran oferta de flores y de la baja sincronía en el inicio de la antesis entre individuos de la población, la producción de frutos reflejó la baja tasa de visitas de los polinizadores (situación que es común para las orquídeas).

Por otro lado el gran despliegue floral y la sincronía media en la duración del período floral reflejaron la competencia intraespecífica por los polinizadores. Sin embargo, que el 12% de las flores hayan generado frutos no fue considerado un valor muy bajo, teniendo en cuenta que se ha dicho que las especies no autógamas suelen formar un 10% de frutos, o menos, del total de las flores ofertadas (Janzen *et ál*. 1980; Ackerman 1989; Zimmerman y Aide 1989; Calvo 1990a). Esto significa que la estrategia de reproducción sexual de *O. ornithorhynchum* funciona adecuadamente en la medida en que se ajusta al porcentaje de frutos esperado para especies de orquídeas neotropicales que compiten por los polinizadores, sin olvidar que esta especie se encuentra en un ambiente altamente fragmentado.

Por otro lado, en los ensayos para determinar el sistema reproductivo se encontró que el 39.6% y el 49.2% de las flores formaron frutos en los tratamientos de polinización cruzada (Tabla 6.1). Esto corrobora que los polinizadores son un recurso que limita la formación de frutos y de paso la reproducción sexual, además de otras limitantes (la herbivoría, la calidad del polen, los mecanismos de incompatibilidad y la limitación en recursos nutricionales disponibles para la formación de frutos). Se ha demostrado que existen limitaciones del polen o de los polinizadores en un importante número de casos y esta fuente de baja producción de semillas o frutos puede ser común en orquídeas (Bierzychudek 1981; Zimmerman y Aide 1989).

Según lo encontrado por Melendez-Ackerman *et ál.* (2000), es posible que la reproducción sexual esté limitada por el polinizador dentro de una temporada reproductiva y limitada por recursos a lo largo del tiempo de vida de los individuos, por lo cual sería necesario evaluar el resultado de la reproducción sexual (número de frutos por planta) en dos, tres o más temporadas reproductivas consecutivas y confirmar lo planteado por Melendez-Ackerman *et ál*.

Hay que aclarar que la polinización manual de esta especie no es fácil, por lo tanto también pudo existir un porcentaje de frutos que no se formaron por una inadecuada ubicación de los polinios en la cavidad estigmática. Por otro lado, los ensayos de polinización manual para evaluar el sistema reproductivo y la receptividad estigmática no cuentan con el mismo número de muestras en cada tratamiento o en cada edad de desarrollo porque la asincronía de la floración entre individuos no permitió contar con polinios disponibles en el mismo momento, sumado a que el tamaño de las estructuras de la flor, especialmente el tamaño de los polinios y del estipe hacen difícil su manipulación en campo.

Respecto al aborto de los frutos, al igual que lo encontrado en la orquídea *Comparettia falcata* estudiada por Melendez-Ackerman *et ál.* (2000), el número de frutos abortados de *O. ornithorhynchum* fue mucho mayor cuando el número de flores ofertadas era grande (Fig. 6.23) y que los individuos con un despliegue floral más grande tuvieron un éxito reproductivo mayor (Fig. 6.22). Por otro lado, se ha establecido que las especies de orquídeas tropicales que ofrecen alguna recompensa suelen abortar en promedio cerca del 44% de sus frutos, mientras que las especies que son polinizadas por engaño abortan en promedio el 64% (Tremblay *et ál*. 2005). Los abortos de *O. ornithorhynchum* alcanzaron

un 47±25% en promedio, porcentaje que se ajusta al reportado para orquídeas tropicales que ofrecen recompensa.

Ackerman (1989) propone que las plantas que son auto-incompatibles pueden experimentar abortos de los frutos por varias razones: 1.) porque las flores fueron polinizadas con polen de su misma inflorescencia o con polen de clones, y 2.) cuando ha ocurrido polinización cruzada y se abortan los frutos en desarrollo es posible que esté involucrada la viabilidad del polen, ataques no evidentes de patógenos, mecanismos de incompatibilidad o limitaciones en los recursos. El aborto de frutos para un individuo puede determinar un ajuste de recursos y la redirección de los mismos a la formación exitosa de un poco menos de frutos para garantizar la calidad de sus semillas.

Las barreras genéticas, como la autoincompatibilidad, han sido asociadas a especies polinizadas por insectos que suelen prolongar su visita en las flores y en las inflorescencias por mucho tiempo, lo cual promueve la geitonogamia (Borba *et ál*. 2001). Sin embargo, los visitantes registrados en esta investigación no se ajustan este tipo de comportamiento, posiblemente porque durante su visita no encontraron el recurso que estaban buscando, por lo tanto, es probable que la historia evolutiva de *O. ornithorhynchum* incluya polinizadores que si promovían la geitonogamia, y no incluya abejas cuyo comportamiento no favorece las autopolinizaciones.

En términos generales podría decirse que *O. ornithorhynchum* está adaptada para formar un número limitado de frutos y sin embargo su estrategia de reproducción sexual sigue siendo exitosa, esto gracias a la cantidad de semillas que genera un solo fruto (miles) y al mecanismo de dispersión de las semillas (semillas anemófilas).

Los resultados de la evaluación del sistema reproductivo de *O. ornithorhynchum* permitieron observar que luego de seis y diez días de la autopolinización manual el desarrollo del fruto se detiene y la estructura es abortada. Sin embargo, hay que aclarar que en cada planta de estos ensayos se realizaron uno, dos o tres de los tratamientos, por lo que una sola planta recibió polinizaciones cruzadas y autopolinizaciones. A partir de este panorama se planteó que la planta invierte sus recursos al desarrollo de frutos generados por una polinización cruzada y no a las fecundaciones por autopolinización, pero ¿Qué pasa si unas pocas flores de una planta son autopolinizadas y ninguna flor recibe polen foráneo? ¿Se permitiría el desarrollo de sus únicos frutos, aun cuando son el producto de una autopolinización?.

La expresión de la autoincompatibilidad puede variar por distintas razones: a) por la acción de los alelos específicos S (dependiendo si se trata de alelos débiles o fuertes); b) por la expresión de genes modificadores; c) por la composición de la carga del polen (polen netamente propio *vs* mezclas de polen propio o autógeno); d) por condiciones ambientales externas como la temperatura y e) por condiciones internas tales como la edad de la flor o la presencia de frutos en desarrollo (Lloyd y Schoen 1992; Stephenson, Good y Vogler 2000 y algunas citas incluídas). La autoincompatibilidad, al igual que la depresión endogámica, puede corresponder a la estrategia evolutiva para garantizar la variabilidad genética de las poblaciones de orquídeas (Borba *et ál*. 2001).

Un aspecto que relaciona la producción de frutos y la senescencia de las flores, fue encontrado por Ackerman (1989) en *Encyclia krugii*, donde la producción de flores disminuyó o se detuvo cuando en la inflorescencia se encontraron frutos en desarrollo. Esto se pudo apreciar en *O. ornithorhynchum*, aunque no se pudo medir debido a la no disponibilidad de individuos para este ensayo.

## 7.3 Visitantes

*Bombus atratus* es una especie de abejorro, que en Colombia ha sido objeto de interés por su potencial servicio en la polinización de cultivos de importancia económica (Almanza 2007). Gracias al tamaño de su cuerpo y lengua, alcanzan el néctar de diferentes tipos de flores y su papel en la polinización tiene gran relevancia, en comparación con el papel de otros *Bombus* que roban néctar y no aportan a la polinización (Riveros, Hernandez y Nates-Parra 2006)

Las reinas de *B. atratus* por lo general establecen el nido en el suelo de áreas de pastos, donde el nido queda cubierto por una capa de vegetación seca. Por esta razón, *B. atratus* no se ve desplazada por la agricultura y las prácticas ganaderas, que si afectan a otras especies de abejorros (Almanza, 2007). Además, este abejorro tiene un comportamiento de forrajeo generalista y suele contribuir a la polinización de diferentes especies de plantas que ofrecen néctar y polen (Freitas y Sazima 2006).

*Thygater aethiops* es una especie de abeja solitaria ampliamente distribuida en la región neotropical y en Colombia habita entre los 1400 y 3500m. Con frecuencia establece sus nidos en los pastizales, en los parques de las ciudades, en los jardines y en los caminos de los pueblos (Gonzalez, Ospina y Bennett 2005). Esta es una especie que parece haber desarrollado estrategias que le permiten sobrevivir en áreas con frecuente intervención antrópica (Rodriguez, Mora y Nates-Parra 2002).

De la misma manera que *O. ornithorhynchum* fue visitada exclusivamente por *B. atratus* y *T. aethiops*, *Pseudolaelia corcovadensis*, es una especie de orquídea con principal distribución en Brasil, que tiene como único polinizador a *B. atratus*, y las visitas de éste abejorro son muy escasas (7 visitas en 100 horas observadas, Borba & Braga 2003). De hecho se ha encontrado que cerca del 67% de las especies de orquídeas son polinizadas por un único polinizador (Tremblay 1992). Esto es comúnmente interpretado como el resultado de la coevolución de dos especies que interactúan constantemente, aunque no existan herramientas suficientes para afirmarlo.

La mayoría de las visitas de *B. atratus* y de *T. aethiops* ocurrieron en horas de la mañana, situación que coincide con lo reportado por Gonzalez y Ospina (2008) quienes lograron observar que *T. aethiops* parece ser una especie con mayor actividad forrajera entre las 8am y las 11am. La actividad de forrajeo (principalmente polen y nectar) de *T. aethiops* se detiene hacia las 2pm y es probable que las hembras realicen labores de construcción y mantenimiento del nido en las tardes (Pinilla, Nieto y Nates-Parra 2016), lo cual explicaría la baja tasa de visitas en las tardes durante esta investigación.

Los altos niveles de polinización cruzada se pueden explicar gracias a los insectos que visitan pocas flores de cada planta, favoreciendo así la eficiencia en la exportación de polen (Jersakóva y Johnson 2006). Como *B. atratus* y *T. aethiops*, en general visitaron pocas flores se podría plantear que favorecen la polinización cruzada, sin embargo, ninguna de las dos especies de abeja fue encontrada removiendo o depositando polinios.

Por otro lado, Fenster *et ál.* (2004) a partir de diversos estudios de varios investigadores, logran establecer que los visitantes más comunes suelen ser malos polinizadores, mientras que los visitantes menos comunes son considerados los mejores polinizadores. Sin embargo, es necesario realizar varios estudios que incluyan la remoción de polen por parte de ambas especies de abejas y la relación de sus visitas con polinizaciones efectivas, para poder determinar con certeza cuál de los dos es un polinizador eficaz para *O.*

*ornithorhynchum*. Se debe aclarar que para Cundinamarca y a la altitud que se encuentra esta especie de orquídea no se han reportado otras especies de abejas grandes que sean colectoras de aceites.

Aunque no se contó con datos morfológicos o morfométricos de ninguna de las dos especies de abejas, por observación directa se puede decir que las reinas de *B. atratus* son de mayor tamaño que las hembras de *T. aethiops,* y ésta última parece ajustarse mejor al tamaño de la flor de *O. ornithorhynchum*.

Todo lo anterior, no excluye el hecho probable de que *B. atratus* y *T. aethiops* hagan parte del mismo grupo funcional que está a cargo de la preproducción sexual de *O. ornithorhynchum* y que responden adecuadamente a los atractivos visuales.

Se ha observado que tanto las hembras de *B. atratus* como las de *T. aethiops* polinizan las flores de los cultivos de papa (Rasmussen 2004, Barrientos 2012) y en el municipio de la Calera se cultiva papa, entre otras especies comerciales. Es posible que las dos especies obtengan beneficios del disturbio ocasionado por la agricultura y la ganadería, y al mismo tiempo, *O. ornithorhynchum* se vea impactada positivamente por la ocurrencia de las dos especies de abejas en los potreros y zonas abiertas.

Se ha dicho que la presencia de aceites y aromas como recompensa en la misma flor de una orquídea puede incrementar significativamente el rango de especies de insectos que la visitan, ya que para algunos polinizadores potenciales, el aceite es la recompensa, para otros, lo es la fragancia, sin embargo, ambos grupos utilizan señales olfativas para ubicar la flor (Pacek *et al*. 2012). Para el caso de *O. ornithorhynchum* según los resultados obtenidos en esta investigación, no se cree que haga parte de ese fenómeno, porque la oferta de aceites no reflejó un número importante de insectos que promuevan la polinización. Sin embargo, la ocurrencia de estas dos especies de abejas que no se ven afectadas por el disturbio para establecer su vivienda y llevar a cabo el forrajeo, si llegaran a ser polinizadores efectivos de *O. ornithorhynchum* serían parte importante de su éxito reproductivo.

*O. ornithorhynchum* no se ve muy afectada por el disturbio porque logra la reproducción sexual necesaria para mantenerse en el tiempo, sin interactuar con un gran número de insectos que le garanticen la polinización cruzada.

Al igual que *O. ornithorhynchum*, *Gomesa bifolia* es una orquídea de sistema reproductivo auto-incompatible, que requiere de polinizador para la formación de sus frutos y según Torretta *et ál*. (2011) ofrece aceites como recompensa a su único polinizador *Centris trigonoides*, quien también visita pocas flores por cada inflorescencia, en pocos segundos y con un solo evento de remoción de polinios en el tiempo de observación realizado. Ellos afirman que esta abeja raspa con sus patas delanteras y su segundo par de patas los aceites contenidos en el labelo de la flor, que por capilaridad se adhieren fácilmente a la pilosidad de las patas, y en el acto remueven los polinios que se adhieren a la región clipeal del insecto.

Esto es coincide con las visitas rápidas y cortas de *B. atratus* y *T. aethiops*, en las que las patas delanteras y medias abrazan el labelo y quedan en contacto directo con los elaióforos. Torretta *et ál*. (2011) proponen que una explicación a la corta duración de la visita de estos polinizadores, esté relacionada con una escasa producción de aceites. Por otro lado, se ha planteado que la insuficiente producción de aceite sea el reflejo de una estrategia de atracción mas no un recurso para ser colectado y podría tratarse de otra forma de engaño a los polinizadores (Chase et ál. 2009)

# 8. Conclusiones y recomendaciones

## 8.1 Conclusiones

*O. ornithorhynchum* es una especie cuya estrategia de reproducción sexual le resulta exitosa, porque logra mantenerse en ambientes de bosque altamente fragmentado. Esta estrategia incluye: enfocar los esfuerzos reproductivos en una sola época del año que favorezca la visita de los posibles polinizadores (época seca), invertir recursos en inflorescencias muy vistosas, con aproximadamente 30 flores por inflorescencia (aunque algunos individuos logren exponer cien o doscientas flores por inflorescencia), flores con un sutil aroma dulce, secreción de aceites como posible recompensa y tendencia a sincronizar la mayoría de las flores de la inflorescencia, pero sincronizar poco su floración con todos los demás individuos de la subpoblación.

El desarrollo floral permite entender que esta especie, que es autoincompatible, separa espacialmente la función femenina y masculina desde el desarrollo de las yemas que darán paso a los botones. Esto probablemente porque no existe dicogamia en la flor y podría presentarse una autopolinización mediada por insectos que le represente pérdidas en términos reproductivos.

Florecer en la época seca del año le facilita un número más alto de visitas, debido al comportamiento de las abejas involucradas. Ofrecer un gran número de flores le garantiza que al menos una de las flores pueda ser polinizada y probablemente muchas logren exportar sus polinios. Atraer a los insectos con claves visuales, recompensas y con aromas, puede aumentar la probabilidad de las visitas.

La estrategia reproductiva de esta orquídea atrae a *B. atratus* y a *T. aethiops*, dos abejas generalistas que habitan zonas de pastos y regiones cercanas a la agricultura, y que además no se ven afectadas de manera importante por el disturbio.

## 8.2 Recomendaciones

Es importante evaluar la fenología de la floración de *O. ornithorhynchum* en varios periodos de reproducción sexual, para determinar si hay variación en el patrón, analizar y discutir cuáles son las causas de la variación y si ésta variación tiene efectos positivos o negativos para la supervivencia de esta especie.

Estudiar con mayor detalle el mecanismo de obtención de las recompensas por parte de los polinizadores, así como confirmar el papel polinizador de *B. atratus y T. aethiops*, corroborando que sean estas especies las que retiren y depositen los polinios de forma adecuada.

Evaluar la fecundidad de esta especie de orquídea y analizar el contenido de los frutos que son abortados, para aportar al entendimiento de la distribución de recursos a la producción de frutos y a la supervivencia de los individuos.

Analizar la respuesta de la planta ante algunos eventos de autopolinización, sin ningún evento de polinización cruzada, para dar respuesta a las preguntas planteadas en la discusión.

Determinar la composición química de los posibles aromas y de los aceites producidos por *O. ornithorhynchum*, para comprender el papel y la importancia de estas sustancias en la supervivencia de las especies de insectos que se benefician de ellas.

Establecer el efecto de la herbivoría en la reproducción y en la supervivencia de los individuos de *O. ornithorhynchum*.

# A. Anexo: Prueba Kruskal-Wallis para las variables morfológicas de la flor de *O. ornithorhynchum*.

Esta prueba se realizó para determinar diferencias significativas entre pares de variables.

| | H (chi2) | Hc (corregida) | p-valor |
|---|---|---|---|
| Largo de sépalos derecho e izquierdo | 0.1593 | 0.1601 | 0.689 |
| Largo de sépalo central y sépalos der. E izq. | 25.82 | 25.92 | 2.35E-06 |
| Ancho de sépalos derecho e izquierdo | 0.4042 | 0.4217 | 0.5161 |
| Ancho de sépalo central y sépalos der. E izq. | 37.64 | 38.38 | 4.64E-09 |
| Largo de pétalos derecho e izquierdo | 0.05251 | 0.05301 | 0.8179 |
| Largo de sépalo central y pétalos der. E izq. | 0.2699 | 0.2722 | 0.8728 |
| Largo de pétalo derecho y sépalo derecho | 19.35 | 19.43 | 1.04E-05 |
| Largo de pétalo izquierdo y sépalo izquierdo | 20.8 | 20.94 | 4.75E-06 |
| Ancho de pétalos derecho e izquierdo | 1.165 | 1.178 | 0.2778 |
| Ancho de sépalo central y pétalo izquierdo | 43.58 | 43.75 | 3.73E-11 |
| Ancho de sépalo central y pétalo derecho | 44.07 | 44.24 | 2.91E-11 |
| Ancho de pétalo derecho y sépalo derecho | 44.26 | 44.51 | 2.53E-11 |
| Ancho de pétalo izquierdo y sépalo izquierdo | 44.26 | 44.67 | 2.33E-11 |
| Largo del labelo y ancho en la base del labelo | 0.5797 | 0.5808 | 0.446 |
| Largo de las alas der. E izq. De la columna | 0.09639 | 0.09843 | 0.7537 |
| Largo y ancho del callo | 1.81 | 1.822 | 0.177 |
| Largo de la capucha y de E+P+V | 3.609 | 3.674 | 0.05526 |
| Ancho de la capucha y ancho de los polinios | 41.36 | 42.69 | 6.42E-11 |
| Largo del róstelo y largo de E+P+V | 0.07891 | 0.08172 | 0.775 |

# B. Anexo: Prueba Shapiro-Wilk en variables morfológicas de la flor de *O. ornithorhynchum*.

Las variables morfológicas con p-valor menor a 0.05 no tuvieron un comportamiento normal.

| | Shapiro-Wilk | | |
|---|---|---|---|
| | N | W | p(normal) |
| LSC | 30 | 0.9317 | 0.05463 |
| ASC | 30 | 0.9356 | 0.06926 |
| LSD | 30 | 0.9595 | 0.3012 |
| ASD | 30 | 0.8834 | 0.003373 |
| LSI | 30 | 0.9257 | 0.03782 |
| ASI | 30 | 0.9417 | 0.1011 |
| LPD | 30 | 0.9681 | 0.4887 |
| APD | 30 | 0.9455 | 0.1281 |
| LPI | 30 | 0.9439 | 0.1159 |
| API | 30 | 0.9237 | 0.03351 |
| LL | 30 | 0.9538 | 0.2139 |
| ABL | 30 | 0.9412 | 0.09815 |
| ACL | 30 | 0.92 | 0.02685 |
| AAL | 30 | 0.9546 | 0.2238 |
| LC | 30 | 0.9285 | 0.04473 |
| AC | 30 | 0.9339 | 0.06257 |
| LAD | 30 | 0.9537 | 0.2127 |
| LAI | 30 | 0.9306 | 0.05087 |
| LCOL | 30 | 0.872 | 0.001855 |
| LCAP | 30 | 0.9719 | 0.5937 |
| ACAP | 30 | 0.867 | 0.00144 |
| LEPV | 30 | 0.9502 | 0.1711 |
| AP | 30 | 0.8697 | 0.001648 |
| LTSE | 30 | 0.9274 | 0.04184 |

# C. Anexo: Prueba Kruskal-Wallis para las variables morfológicas de flores en proceso de apertura en comparación con las de flores abiertas

Las flores que inician el proceso de apertura ya han completado el desarrollo de todas sus estructuras y no hay diferencia significativa entre las dimensiones de las flores abriendo y las flores completamente abiertas, a excepción del largo del labelo, que al extenderse aumenta significativamente.

| | H (chi2): | Hc (tie corrected): | p (same): |
|---|---|---|---|
| LSC | 0.1875 | 0.1921 | 0.6612 |
| LSD | 2.083 | 2.188 | 0.1391 |
| LSI | 1.333 | 1.366 | 0.2425 |
| LPD | 0.3333 | 0.3333 | 0.5637 |
| LPI | 0.75 | 0.7683 | 0.3807 |
| LL | 5.333 | 6.137 | 0.01324 |
| ABL | 2.083 | 2.108 | 0.1465 |
| ACL | 3 | 3.036 | 0.08143 |
| AAL | 2.521 | 2.551 | 0.1102 |
| Lcol | 0.08333 | 0.09589 | 0.7568 |
| Lcap | 2.083 | 2.16 | 0.1416 |
| LEPV | 1.021 | 1.033 | 0.3094 |
| AP | 2.521 | 2.715 | 0.09942 |
| Lrostelo | 0.3333 | 0.359 | 0.5491 |

# 9. Bibliografía

Ackerman J. D & J. C. Montero. 1985. Reproductive biology of *Oncidium variegatum*: Moon phases, pollination and fruit set. American Orchid Society Bulletin, Vol. 54 (3): 326-329

Ackerman J. D. 1989. Limitations to sexual reproduction in *Encyclia krugii* (Orchidaceae). American Society of Plant Taxonomists, Vol. 14 (1): 101-109

Adler L. S. & R. E. Irwin. 2012. What you smell is more important than what you see? Natural selection on floral scent. The New Phytologist, Vol. 195 (3): 510-511.

Almanza M. T. 2007. Management of *Bombus atratus* bumblebees to pollinate lulo (*Solanum quitoense* L) a native fruit from de the Andes of Colombia. Ecology and Development series No. 50. Cuvillier Verlag Göttingen, Alemania

Angel-Coca C., Nates-Parra G., Ospina-Torres R., Melo C. D. & M. Amaya-Márquez. 2011. Biología floral y reproductiva de la gulupa *Passiflora edulis* Sims F. *edulis*. Caldasia, Vol. 33 (2): 433-451.

Augspurger, C. K. 1983. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six neotropical shrubs. Biotropica, Vol. 15 (4): 257-267.

Barret S. C. H., Harder L. D. & A. C. Worley. 1996. The comparative biology of pollination and mating in flowering plants. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, B. Biological Sciences, Vol. 351: 1271-1280

Barrett S. C. H. 2002. The evolutions of plant sexual diversity. Nature Reviews, Genetics, Vol. 3: 274-284

Barrientos E. M. 2012. Abejas visitantes de papa (*Solanum tuberosum* L.) en tres agroecosistemas de los departamentos de Cundinamarca y Boyacá, Colombia. Tesis de Maestría en Ciencias-Entomología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín.

Benzing, D.H. & J.T. Atwood Jr. 1984. Orchidaceae: Ancestral habitats and current status in forest canopies. Systematic Botany, 9 (2): 155-165

Berry P. E. & R. N. Calvo. 1991. Pollinator limitation and position dependent fruit set in the high Andean orchid Myrosmodes cochleare (Orchidaceae). Plant Systematics and Evolution, Vol. 174 (1): 93-101

Bierzychudek P. 1981. Pollinator limitation of plant reproductive effort. The American Naturalist, Vol. 117 (5): 838-840

Borba, E. L., Semir, J. & G. J. Shepherd. 2001. Self-incompatibility, inbreeding depression and crossing potential in five Brazilian *Pleurothallis* (Orchidaceae) species. Annals of Botany, Vol. 88: 89-99

Borba, E. L. & P. I. S. Braga. 2003. Biologia reprodutiva de *Pseudolaelia corcovadensis* (Orchidaceae): melitofilia e autocompatibilidade em uma Laeliinae basal. Revista Brasileira de Botânica, Vol 26 (4): 541-549

Buchmann S. L. 1987. The ecology of oils flowers and their bees. Annual Reviews of Ecology and Systematics, Vol. 18: 343-369

Calvo R. N. 1990a. Four-year growth and reproduction of Cyclopogon cranichoides (Orchidaceae) in south Florida. American Journal of Botany, Vol. 77: 736-741

Calvo R. N. 1990b. Inflorescence size and fruit distribution among individuals in three orchid species. American Journal of Botany, Vol. 77 (10): 1378-1381

Calvo R. N & C. C. Horvitz. 1990. Pollinator limitation, cost of reproduction and fitness in plants: a transition-matrix demographic approach. The American Naturalist, Vol 136 (4): 499-516

CAR: Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, 1999. Plan de ordenamiento territorial municipio de La Calera. Oficina de Planeación, La Calera

CAR: Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca, 2013. Información hidrometeorológica mensual obtenida de la página oficial de la CAR https://www.car.gov.co/?idcategoria=10545

Carmona-Díaz G. & J. G. García-Franco. 2009. Reproductive success in the Mexican rewardless Oncidium cosymbephorum (Orchidaceae) facilitated by the oil-rewarding *Malpighia glabra* (Malpighiaceae). Plant Ecology, Vol. 203 (2): 253-261.

Catling, P. M. & L P. Lefkovitch. 1989. Associations of vascular epiphytes in a Guatemalan cloud forest. Biotropica, Vol. 21 (1): 35-40

Chase, M. W., Williams, N. H., de Faria, A. D., Neubig K. M., Amaral, M. C. E. & W. M. Whitten. 2009. Floral convergence in Oncidiinae (Cymbidieae; Orchidaceae): an expanded concept of Gomesa and a new genus Nohawilliamsia. Annals of Botany, Vol. 104: 387-402

Cuervo, M.A. 2012. Biología reproductiva de *Masdevallia coccínea* y *Masdevallia ígnea* en condiciones de semicultivo en Guasca Cundinamarca. Tesis de grado de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. Bogotá D.C.

Davies, K. L. & M. Stpiczyńska. 2009. Comparative histology of floral elaiophores in the orchids *Rudolfiella picta* (Schtr.) Hoehne (Maxillariinae *sensu lato*) and *Oncidium ornithorhynchum* H.B.K. (Oncidiinae *sensu lato*). Annals of Botany, Vol. 104: 221-234

Davies, K. L., Stpiczyńska, M. & M. Rawski. 2014. Comparative anatomy of floral elaiophores in *Vitekorchis* Romowicz & Szlach., *Cyrtochilum* Kunth and a florally dimorphic species of *Oncidium* Sw. (Orchidaceae: Oncidiinae). Annals of Botany, Vol. 113: 1155-1173

Delle-Vedove R., Juillet N., Bessiere J.M., Grison C., Barthes N., Pailler T., Dormont . & B. Schatz. 2011. Colour-scent association in a tropical orchid: Three colour but two odours. Phytochemistry, Vol., 72: 735-742.

Dumri, Kanchana. 2008. Chemical analyses of non-volatile flower oils and related bee nest cell linings. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Martin Luther University Halle. Wittenberg, Alemania.

Duplat-Bermudez L., Ruiz.Medrano R., Landsman D., Mariño-Ramirez L. & B. Xoconostle-Cázares. 2016. Transcriptomic analysis of *Arabidopsis* overexpressing flowering locus T driven by a meristem-specific promoter that induces early flowering. Gene, Vol. 587: 120-131

Elzinga, J.A., Atlan, A., Biere, A. Gigord, L., Weis, A.E. & G. Bernasconi. 2007. Time after time: flowering phenology and biotic interactions. Trends in Ecology and Evolution, Vol 22 (8): 432-439

Etter A. & W. van Wyngaarden. 2000. Patterns of landscape transformation in Colombia, with emphasis with the Andean region. Ambio, Vol. 29 (7): 432-439.

Fenster, C.B., Armbruster, W.S., Wilson, P., Dudash, M.R. & J.D. Thomson. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. Annual Reviews of Ecology, Evolution and Sistematics, Vol. 35: 375-403

Foster P. 2001. The potential negative impacts of global climate change on tropical montane cloud forests. Earth Science Reviews, Vol. 55: 73-106.

Freitas L. & M. Sazima. 2006. Pollination biology in a tropical high-altitude grassland in Brazil: interactions at the community level. Annals of the Missouri Botanical Garden, Vol. 93 (3): 465-516

Freitas, L. & K. Bolmgren. 2008. Synchrony is more than overlap: measuring phenological synchronization considering time length and intensity. Revista Brasil. Bot. 31 (4): 721-724

Friedman, J.W. & A. Shmida. 1995. Pollination, gathering nectar and the distribution of flower species. J. Theor. Boil. 175:127-138

Gallo, Melibea. 2005. Estado del conocimiento de la biodiversidad en El Salvador. Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Gonzalez V. H., Ospina M. & D. J. Bennett. 2005. Abejas altoandinas de Colombia: Guía de campo. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. 80p

Gonzalez A. H. & M. Ospina. 2008. Nest structure, seasonality and host plants of Thygater aethiops (Hymenoptera: Apidae, Eucerini) in the Andes. Journal of Hymenoptera research, Vol. 17 (1): 110-115

Hamer Ø., Harper D.A.T. & P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 9pp

Hladik M. L, Vandever M. & K L. Smalling. 2016. Exposure of native bees foraging in an agricultural landscape to current-use pesticides.Science of the Total Environment, Vol. 547: 469-477

Internicola, A. I., Bernasconi, G. & L.D.B. Gigord. 2008. Should food-deceptive species flower before or after rewarding species? An experimental test of pollinator visitation behavior under contrasting phenologies. Journal of Evolutionary Biology, Vol 21: 1358-1365

Janzen D. H., DeVries P., Gladstone D.E., Higgins M. L. & T. M. Lewinsohn. 1980. Self- and cross-pollination of *Encyclia cordigera* (Orchidaceae) in Santa Rosa National Park, Costa Rica. Biotropica, Vol. 12 (1): 72-74

Jarvis D. I., Padoch C. & H. D. Cooper (Eds). 2011. Manejo de la biodiversidad en los ecosistemas agrícolas. Libro Publicado por Biodiversity International. Roma. Traducido por Alexandra Walter

Jersakóva J. & S. D. Johnson. 2006. Lack of floral nectar reduces self-pollination in a fly-pollinated orchid. Oecologia, Vol. 147: 60-68

Jimenez-Machorro, R. & E. Hagsater. 2010. *Oncidium ornithorhynchum*, una especie mal interpretada y un nombre para una vieja especie: *Oncidium sotoanum* (Orchidaceae). Lankesteriana, 9 (3): 411-422

Kapolas G., Beris D., Katsareli E., Livanos P., Zografidis A., Roussis A., Milioni D & K. Haralampidis. 2016. APRF1 promotes flowering under long days in *Arabidopsis thaliana*. Plant Science, Vol. 253: 141-153

Kaufman, P. 1901. Orchids in Central Park. Continued. The Plant World, Vol. 4 (8): 146-149

Kolanowska, Marta. 2014. The orchid flora of the Colombian Department of Valle del Cauca. Revista Mexicana de Biodiversidad 85: 445-462

Lamond B. B., Klinkhamer P. G. L. & E. T. F. Witkowski. 1993. Population fragmentation may reduce fertility to zero in Banksia goodie: a demonstration of the Allee effect. Oecologia, Vol 94 (3): 446-450.

Lande R. 1998. Anthropogenic, ecological and genetic factors in extinction and conservation. Researches on Population Ecology, Vol. 40 (3): 259-269.

Li W., Wang H. & D. Yu. 2016. *Arabidopsis* WRKY transcription factors WRKY12 and WRKY13 oppositely regulate flowering under short-day conditions. Molecular Plant, Vol 9:1492-1503

Lloyd D. G. & D. J. Schoen. 1992. Self- and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. International Journal of Plant Sciences, Vol. 153 (3): 358-369

Lokho, A. & Y. Kumar. 2012. Reproductive phenology and morphological analysis of Indian *Dendrobium* Sw. (Orchidaceae) from the northeast region. International Journal of Scientific and Research Publications, 2 (9): 1-14

Luangsuwalai K., Ketsa S. & W. G. van Dorn. 2011. Ethylene-regulated hastening of perianth senescence after pollination in Dendrobium flowers is not due to an increase in perianth ethylene production. Postharvest Biology and Technology, Vol. 62: 338-341.

Machado, C. F., Mattiuz, B., Deleo, T. J., de Pietro, J., Nogueira, R. & S. F. Grossi. 2012. Longevity of Oncidiumvaricosum (Orchidaceae) inflorescences treated with 1-methylciclopropene. Ciência Rural, Santa Maria, Vol. 42 (6): 987-992

Mahoro, S. 2002. Individual flowering schedule, fruit set, and flower and seed predation in *Vaccinium hirtum* Thumb. (Ericaceae). Canadian Journal of Botany, Vol. 80: 82-92

Marquis, R. J. 1988. Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arieianum*: Causes and consequences. Ecology, Vol. 69 (5): 1552-1565

Martínez-Virgen M., Herrera A., Bayarri S., Conchello P. & R. R. Ulloa. 2010. Determinar contaminantes químicos presentes en la miel producida en la comunidad autónoma de Aragón. Memorias del 17° Congreso Internacional de Actialización Apicola. Universidad Autónoma de Tabasco. México.

Mazo, L.C., A. Gomez-Gutierrez, S.R. Quintanilla, J.E. Bernal & P. Ortiz-Valdivieso. 2014. Consideraciones sobre la historia de la prioridad taxonomica de *Oncidium ornithorhynchum*. Lankesteriana 13 (3): 337-351

Melendez-Ackerman, E. J., Ackerman J. D. & J. A. Rodriguez-Robles.2000. Reproduction in an orchid can be resource-limited over its lifetime. Biotropica, Vol. 32 (2): 282-290

Murcia C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implication for conservation. Trends in Ecology and Evolution, Vol. 10 (2): 58-62.

Neiland, M. R. M. & C. C. Wilcock. 1998. Fruit set, nectar reward and rarity in the Orchidaceae. American Journal of Botany, Vol. 85 (12): 1657-1671

Neubig, K. M., Whitten, W., M., Williams, N. H., Blanco, M. A., Endara, L., Burleigh., J. G., Silvera, K., Cushman, J. C. & M. W. Chase. 2012. Generic recircumscriptions of Oncidiinae (Orchidaceae: Cymbidieae) based on maximum likelihood analysis of combined DNA datasets. Botanical Journal of the Linnean Society, Vol. 168: 117-146

Nguyen K.T., Park J., Park E., Lee I. & G. Choi. 2015. The *Arabidopsis* RING domain protein BOI inhibits flowering via CO-dependet and CO-independet mechanisms. Molecular Plant, Vol. 8: 1725-1736

O'Connell, L.M. & M.O. Johnston. 1998. Male and female pollination success in a deceptive orchid, a selection study. Ecology, 79 (4):1246-1260

Pacek A. & M. Stpiczyńska. 2007. The structure of elaiohpores in *Oncidium cheirophorum* RCHB.F. and *Ornithocephalus kruegeri* RCHB.F. (Orchidaceae). Acta Agrobotanica, Vol. 60 (2): 9-14

Pacek, A., Stpiczyńska, M., Davies, K.L. & G. Szymezak. 2012. Floral elaoiphore structure in four representatives of the *Ornithocephalus* clade (Orchidaceae: Oncidiinae). Annals of Botany, Vol. 110: 809-820

Pacifici S., Prisa D., Burchi G & W. G. van Dorn. 2015. Pollination increases ethylene production in Lilium hybrida cv. Brindisi flowers but does not affect the time to tepal senescence or tepal abscission. Journal of Plant Phisioloogy, Vol. 173: 116-119.

Pang, S., Pan, K., Wang, Y., Li, W., Zhang, L. & Q. Chen. 2012. Floral morphology and reproductive biology of *Dendrobium jiajiangense* (Orchidaceae) in Mt. Fotang, southwestern China. Flora, Vol. 207: 469-474

Pansarin, E. R. & L. M. Pansarin. 2010. Reproductive biology of *Trichocentrum pumilum*: an orchid pollinated by oil-collecting bees. Plant Biology, Vol. 13: 576-581

Pansarin, E. R., Alves-dos-Santos, I. & L. M. Pansarin. 2017. Comparative reproductive biology and pollinator specificity among sympatric *Gomesa* (Orchidaceae: Oncidiinae). Plant Biology, Vol. 19: 147-155

Parra-Tabla, V., Vargas, C. F., Magaña-Rueda, S. & J. Navarro. 2000. Female and male pollination success of *Oncidium ascendens* Lindey (Orchidaceae) in two contrasting habitat patches: forest vs agricultural field. Biological conservation, Vol. 94: 335-340

Pemberton R. W. 2008. Pollination of the ornamental orchid *Oncidium sphacelatum* by the naturalized oil-collecting bee (*Centris nitida*) in Florida. Selbyana Vol. 29 (1): 87-91.

Pinilla-Gallego M. S., Nieto V. & G. Nates-Parra. 2016. Recurso polínico y ciclo estacional de Thygater aethiops (Hymenoptera: Apidae) en un ambiente urbano (Bogotá-Colombia). Revista de Biología Tropical, Vol. 64 (3): 1247-1257.

Primack, R. B. 1980. Variation in the phenology of natural populations of montane shrubs in New Zealand. Journal of Ecology, Vol. 68: 849-862.

Raguso R. A. 2008. Wake up and smell the roses: The ecology and evolution of floral scent. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics, Vol. 39: 549-569.

Rasmussen C. 2004. Bees from southern Ecuador. Lyonia a Journal of Ecology and Application, Vol 7 (2): 29-35

Rathcke, B. & E.P. Lacey. 1985. Phenological patterns of terrestrial plants. Annual Review of Ecology and Systematics, 16: 179-214

Rathcke, B. 1988. Flowering phenologies in a shrub community competition and constraints. Journal of Ecology, 76: 975-944

Richards A. J.1997. Plant Breeding Systems. Chapman & Hall, London

Riveros A. J., Hernandez E. J. & G. Nates-Parra. 2006. Morphological constraints and nectar robbing in three Andean bumblebee species (Hymenoptera, Apidae, Bombini). Caldasia, Vol. 28 (1): 111-114

Rodríguez A. T., Mora J. A. & G. Nates-Parra. 2002. Abejas urbanas de Bogotá: Estudio preliminar. 1° Encuentro Colombiano sobre abejas silvestres. Libro de resúmenes. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia.

Roff D. 2002. Life history evolution. Sinauer Associates, Inn. Massachusetts, USA.

Sabad, A. M. & J. D. Ackerman. 1996. Fruit set in a deceptive orchid: the effect of flowering phenology, display size, and local floral abundance. American Journal of Botany, Vol. 83 (9): 1181-1186

Sauleda, R. P. & R. M. Adams. 1984. The orchidaceae of the Bahama Archipielago-Additions and range extensions. Brittonia Vol. 36 (3): 257-261.

Sanguinetti A. & R. B. Singer. 2014. Invasive bees promote high reproductive success in Andean orchids. Biological Conservation, Vol. 175: 10-20

Schiestl F. P. & M. Ayasse. 2001. Post-pollination emission of a repellent compound in a sexually deceptive orchid: a new mechanism for maximizing reproductive success?. Oecología, Vol. 126: 531-534.

Singer R. & M. Sazima. 2001. Flower morphology and pollination mechanism in three sympatric Goodyerinae orchids form southeastern Brazil. Annals of Botany, Vol. 88: 989-997.

Singh A., Evensen K. B. & T. Kao. 1992. Ethylene synthesis and floral senescence following compatible and incompatible pollinations in *Petunia inflate*. Plant Phisiolgy, Vol. 99 (1): 38-45.

Schemske D. W. 1977. Flowering phenology and seed set in *Claytonia virginica* (Portulaceae). Bulletin of the Torrey Botanical Club, Vol 104 (3): 254-263

Srimuang, K., S. Watthana, H. Pedersen, N. Rangsayatorn & P.D. Eungwanichayapant. 2010. Flowering phenology, floral display and reproductive success in the genus *Sirindhornia* (Orchidaceae): a comparative study of three pollinator-rewarding species. Ann. Bot. Fennici 47: 439-448

Stephenson A.G., Good S.V & D.W. Vogler. 2000. Interrelationships among inbreeding depression, plasticity in the self-incompatibility system, and the breeding system of *Campanula rapunculoides* L. (Campanulaceae). Annals of Botany, Vol 85, supplement A: Pollen-stigma interactions: 211-219

Stern, W. L., Curry, K. J. & W. M. Whitten. 1986. Staining fragrance glands in orchid flowers. Bulletin of the Torrey Botanical Club, Vol. 113 (3): 228-297

Stökl J., Twele R., Erdmann D.H., Francke W. & M. Ayasse. 2008. Comparison of the flower scent of the sexually deceptive orchid *Ophrys iricolor* and the female sex pheromone of its pollinator *Andrena morio*. Chemoecology, Vol. 17: 231-233.

Stpiczyńska, M. & K. L. Davies. 2008. Elaiophore structure and oil secretion in flowers of *Oncidium trulliferum* Lindl. And *Ornithophora radicans* (Rchb.f.) Garay y Pabst (Oncidiinae: Ochidaceae). Annals of Botany, Vol. 101: 375-384

Stpiczyńska, M., Davies, K. L., Pacek, A. & M. Kamińska. 2013. Comparative anatomy of the floral elaiophore in representatives of the newly re-circumscribed *Gomesa* and *Oncidium* clades (Orchidaceae: Oncidiinae). Annals of Botany, Vol. 112: 839-854

Torretta J. P., Gomiz N. E., Aliscioni S. S. & M. E. Bello. 2011. Biología reproductiva de Gomesa bifolia (Orchidaceae, Cymbidieae, Oncidiinae. Darwiniana, Vol. 49 (1): 16-24

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

Tremblay R. L., Ackerman J.D., Zimmerman J.K. & R.N. Calvo. 2005. Variation in sexual reproductions in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. Biological Journal of the Linneal Society, Vol. 84: 1-54

Temblay R. L., Pomales-Hernandez G. & M. L. Mendez.Cintrón. 2006. FLower phenology and sexual maturation: partial protandrus behavior in three species of orchids. Caribbean Journal of Science, Vol. 42 (1): 75-80

Tsai, C.C., S.C. Huang, P.L. Huang, Y.S. Chen & C.H. Chou. 2002. Phenetic relationship and identification of subtribe Oncidiinae genotypes by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Scientia Horticulturae, 96: 303-312

Valdivia C. E., Cisternas M. A. & G. S. Verdugo. 2010. Reproductive biology aspects of two species of the genus *Gavilea* (Orchidaceae, Chloraeinae) in populations from central Chile. Gayana Bot., Vol. 67 (1): 44-51

Valebella M. & M. Sager. 2010. *Oncidium hians* (orchidaceae), nueva especie para la flora Argentina. Bomplandia Vol. 19 (1): 65-69

Valebella, M. & I. C. Miguel. 2011. *Oncidium fuchsii* (Orchidaceae), nueva cita para la flora de Argentina. Bonplandia, Vol. 20 (1): 41-45

Wcislo W. T. & J. H. Cane. 1996. Floral resource utilization by solitary bees (Hymenoptera: Apoidea) and exploitation of their store foods by natural enemies. Annual Review of Entomology, Vol. 41: 257-286

Willson M. F. & B. J. Rathcke. 1974. Adaptive Design of the Floral Display in Asclepias syriaca L. The American Midland Naturalist, Vol. 92 (1): 47-57.

Willson M. F. & P. W. Price. 1977. The Evolution of Inflorescence Size in Asclepias (Asclepiadaceae). Evolution, Vol 31 (3): 495-511.

Wheelwright N. T. 1985. Competitions for dispersers and timing of flowering and fruiting in a guild of tropical trees. Oikos, Vol. 44 (3): 465-477

Woltering E. J. & F. Harren. 1989. Role of rostellum desiccation in emasculation-induced phenomena in orchid flowers. Journal of Experimental Botany, Vol. 40 (217): 907-912

Yong, J. W. H. & C. S. Hew. 1995. The importance of photoassimilate contribution from the current shoot and connected back shoots to inflorescence size in the thin-leaved sympodial orchid *Oncidium* goldiana. International Journal of Plant Sciences, Vol. 156 (4): 450-459

Zambrano-Cortés, D. G. 2009. Biología floral, sistema reproductivo y fenología de la floración de *Espeletia killipii* en el Parque Nacional Natural Chingaza. Tesis de grado de pregrado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. Bogotá D.C.

Zimmerman J. K. & T. M. Aide. 1989. Patterns of fruit production in a neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. American Jorunal of Botany, Vol. 76 (1): 67-73