

REPÚBLICA DE PANAMÁ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN BIOLOGÍA CON ESPECIALIZACIÓN EN
BIOLOGÍA VEGETAL**

**ASOCIACIÓN Y ESPECIFICIDAD DE CUATRO ESPECIES DE ORCHIDACEAE
A HONGOS MICORRÍCICOS Y ÁRBOLES HOSPEDEROS EN EL DISTRITO DE
BOQUERÓN, CHIRIQUÍ, PANAMÁ**

ELABORADO POR

LORAINÉ GISSETH PÉREZ JUSTAVINO

4-735-526

ASESORES

Ph. D. MEIKE PIEPENBRING

Ph. D. TINA HOFMANN

M Sc. PEDRO CABALLERO

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR
POR EL TÍTULO DE MAESTRÍA EN
BIOLOGÍA CON ESPECIALIZACIÓN EN
BIOLOGÍA VEGETAL**

2012

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado a:

A Dios por concederme dicha física e intelectual, por ser mi guía, permitiendo la conclusión de esta meta.

A mis padres Ismael y Aracelly por su ejemplo de lucha, quienes con su humildad sacrificio y amor me brindaron una preparación personal y profesional de calidad llena de valores.

A mis hermanos, amigos y compañeros por ser un punto de apoyo, sentimental y de comprensión, en el transcurso y culminación de esta meta.

Loraine Gisseth Pérez Justavino

RJST-895

AGRADECIMIENTO

Expreso mi sincera gratitud a:

A la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI) y a la Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT) por permitirme formar parte en calidad de estudiante becaria de la Maestría en Biología con especialización en Biología Vegetal y así seguir avanzando en mi formación profesional, adquiriendo habilidades y experiencias que serán fortalezas en el campo laboral.

A todos los Docentes Universitarios y a Investigadores por enseñarnos sus conocimientos y permitirnos aprender de sus experiencias, dándonos puntos de partida para forjar nuestro propio camino en el mundo del saber.

A la Ph. D. Meike Piepenbring por asesorarme en todo el proceso de esta investigación.

Al Ph. D. Orlando Cáceres por siempre brindarme su apoyo y recomendaciones en mis estudios de maestría.

A la Ph. D. Tina Hofmann por la orientación brindada durante la elaboración de esta investigación.

A M Sc. Pedro Caballero por su apoyo, consejos y motivación tanto en mi trabajo de tesis como durante mis estudios de maestría.

A Jascha Weisenborn y Darío Cruz por ayudarme y orientarme en la biología molecular aplicada en este trabajo.

A mis amigos y compañeros de la maestría Diana Gómez, Eyvar Rodríguez, Alcides González, Rosa Villarreal, Ruby Rodríguez, Enrique Caballero y Ana Gómez, por su invaluable compañía y apoyo durante el inicio, transcurso y culminación tanto de este trabajo como de la maestría.

Loraine Gisseth Pérez Justavino.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
ÍNDICE.....	iv
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	
2.1. Los forofitos de las orquídeas.....	5
2.1.1. El epífitismo.....	5
2.1.2. Distribución de las epífitas en los forofitos...	6
2.1.3. Especificidad de forofitos en orquídeas.....	10
2.2. Hongos micorrícicos de las orquídeas.....	13
2.2.1. Hongos micorrícicos.....	13
2.2.2. Tipos de asociación micorrícica.....	14
2.2.3. Asociación micorrizica en la familia Orchidaceae...	16
2.2.4. Hongos de las micorrizas orquideoides.....	17
2.3. Especies de la Familia Orchidaceae seleccionadas.....	19

3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1. Descripción del área de estudio.....	20
3.2. Los forofitos de las orquídeas.....	21
3.2.1. Identificación del forofito	23
3.2.2. Preparación de las muestras.....	24
3.2.3. Análisis estadístico.....	24
3.3. Los hongos micorrícicos de las orquídeas.....	25
3.3.1. Recolección de orquídeas.....	25
3.3.2. Elaboración y diseño de dibujos a escala.....	26
3.3.3. Transferencia de los dibujos a la computadora.....	26
3.3.4. Análisis estadístico.....	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
4.1. Descripción de las especies de orquídeas en estudio.....	28
4.2. Los forofitos de las orquídeas.....	30
4.2.1. Especificidad de forofitos en orquídeas	30
4.2.1. Distribución de las epífitas en los forofitos.....	31
4.3. Hongos micorrícicos de las orquídeas.....	33
4.3.1. Hongos micorrícicos de las orquídeas.....	33

5. DISCUSIÓN.....	36
5.1. Los forofitos de las orquídeas.....	36
5.2.1. Especificidad de forofitos en orquídeas.....	36
4.3. Hongos micorrícicos de las orquídeas.....	36
4.3.1. Nivel de micorrización de las orquídeas.....	37
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	38
7. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	40

RESUMEN

La familia Orchidaceae con una amplia diversificación y especiación, es una de las familias más numerosas con más de 20,000 especies. En Panamá encontramos aproximadamente 1,150 especies de orquídeas, entre las más conocidas esta *Peristeria alata* (Flor del Espíritu Santo). Pero se conoce muy poco acerca del grado de especificidad con los forofitos que las hospedan y las fluctuaciones en los niveles de la asociación con hongos micorrizicos. Por lo que el presente trabajo tiene como objetivos identificar los niveles de hongos micorrizas que se encuentran asociadas a las orquídeas *Epidendrum difforme*, *Scaphyglotis bidentata*, *Encyclia stellata*, *Lockhartia oerstedii* y *Oeceoclades maculata*. a lo largo del año y determinar el tipo de asociación trófica con los árboles hospederos y las orquídeas en estudio, tomando en cuenta factores como el árbol hospedero (forofito), estructura de la corteza, posición en la que se encontraba la epífita en el árbol; con el fin de conocer si existe una preferencia de las orquídeas en estudio por algún forofito o por un tipo de corteza y área del forofito. Con estos resultados se puede ayudar a procesos de rescate y reubicación de especies o en casos de reintroducción de especies; ya que al tener una idea clara de las preferencias de las especies de orquídeas se puede obtener un mayor éxito en estas actividades favoreciendo la sobrevivencia de las especies.

ABSTRACT

The family Orchidaceae with broad diversification and speciation, is one of the largest families with more than 20,000 species. In Panama we found about 1,150 species of orchids, among the best known is *Peristeria alata* (Flower of the Holy Spirit). But little is known about the degree of specificity with which the host phorophytes and fluctuations in the levels of association with mycorrhizal fungi. As this paper aims to identify levels of mycorrhizal fungi are associated with species of orchids *Epidendrum difforme*, *Scaphyglotis bidentata*, *Encyclia stellata*, and *Oeceoclades maculata* throughout the year and determine the type of association trophic, host trees in orchids, taking into account factors such as host tree (phorophyte), crustal structure, position in which he was the epiphyte on the tree in order to determine whether there is a preference for orchids under study for some phorophyte or a type of bark and phorophyte area. These results can help rescue and relocation processes of species or species reintroduction cases, and that having a clear idea of the preferences of the orchid species can achieve greater success in these activities favoring the survival of species.

1. INTRODUCCIÓN

Panamá se encuentra en una zona tropical de 75,517 km², en donde se conocen 10,444 especies de plantas (Correa et al. 2004). De éstas, 9,520 son vasculares. Del total de especies de flora conocidas en Panamá, 1,176 son endémicas (Correa et al. 2004).

La familia Orchidaceae probablemente se originó durante el Eoceno, hace unos 54 Ma (Arditti 1977). Es la familia de plantas más grandes en la tierra incluyendo más de 20,000 especies (10 % de las angiospermas), esto debido a que presentan una amplia diversificación y especiación (Dressler 1993). De la gran diversidad de la familia Orchidaceae conocemos unas 1,385 especies de orquídeas para Panamá que pertenecen a 184 géneros y que representan el 12 % de las plantas vasculares y el 9 % aproximadamente de las 2,834 monocotiledóneas conocidas para Panamá (Correa et al. 2004). De éstas 120 son especies endémicas entre las más conocidas está *Peristeria alata* Hook. (Flor del Espíritu Santo, flor nacional).

Los miembros de esta diversa familia crecen en un amplio rango de hábitats y poseen un gran número de estrategias de historia de vida que van desde siempre verdes a especies no clorofilicas y desde epífitas hasta terrestres. La familia Orchidaceae contiene el 60 % de todas las especies de epífitas y diez veces más epífitas que cualquier otra familia de plantas vasculares (Kress 1986). A pesar de que las epífitas son un importante componente de la diversidad vegetal en general

se sabe relativamente poco acerca de la especificidad de la asociación entre epífitas y sus anfitriones o sea los árboles hospederos o forofitos (Trapnell 2006).

Una causa de la diversidad de especies dentro de la familia Orchidaceae probablemente es la distintiva relación de las diferentes especies con hongos micorrícicos (Benzing 1981a). Investigaciones recientes han mostrado que las orquídeas epífitas constantemente forman micorrizas lo que sugiere que los hongos micorrícicos son importantes para las plantas epífitas verdes, adultas (Otero et al. 2002, 2004; Pereira et al. 2003; Suárez et al. 2006). Existe amplia información sobre las micorrizas de las orquídeas terrestres de las zonas templadas (Rasmussen 2002). En cambio, la información sobre las micorrizas de las orquídeas epífitas es limitada (Otero et al. 2004, Pereira et al. 2005, Suárez et al. 2006, 2008).

Conociendo la escasa información para las zonas tropicales sobre este tema, a través del presente trabajo se desea aportar información sobre los niveles de colonización por hongos micorrícicos en raíces de orquídeas epífitas y además determinar la especificidad de las orquídeas en estudio con los árboles hospederos.

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. Los forofitos de las orquídeas

2.1.1. El epífitismo

Las epífitas son plantas que crecen sobre otras plantas adheridas a los troncos y ramas de árboles y arbustos (Dressler 1990). El nombre epífita viene del griego *epi* que significa "sobre", y *phyte*, "planta". El hospedero o "forofito" sobre el que crece una epífita es utilizado sólo como soporte sin sufrir más daño que el que pueda provocar la abundancia de plantas epífitas dentro de su ramaje. Por tanto, una epífita difiere de una planta parásita en que esta última obtiene agua y nutrientes del hospedero. Una planta puede ser epífita en una parte su ciclo de vida o en su ciclo completo (Dressler 1990).

Los bosques húmedos neotropicales están caracterizados por una relativamente alta diversidad y abundancia de epífitas vasculares, y por un alto nivel de incidencia de endemismo (Catling et al. 1989). Las epífitas vasculares en general y las orquídeas epífitas de manera particular alcanzan los picos de diversidad de especies en los bosques tropicales, especialmente en el Neotrópico y se manifiestan más fuertemente hacia el noroccidente de Suramérica y el sur de Centroamérica (Gentry & Dodson 1987).

El epífitismo ocurre en 65 diferentes familias de plantas vasculares, incluyendo unos 850 géneros y cerca de 30 000 especies. De acuerdo con Madison

(1977), se ha estimado que el número de orquídeas epífitas es de 500 géneros y unas 20 000 especies, por lo que las orquídeas representan una gran parte de las epífitas vasculares. Las plantas vasculares epífitas comprenden un 10 % de las especies de plantas vasculares (Madison 1977) y el 70 % de las especies de orquídeas (Gentry & Dodson 1987). Las especies de epífitas pueden contribuir con el 25 % del total de especies de plantas vasculares muestreadas en un bosque tropical húmedo y representan hasta la mitad de los individuos muestreados (Wolf 1994).

Otros importantes grupos de plantas epífitas son Araceae, Bromeliaceae, Cactaceae, Gesneriaceae, el género *Peperomia* Ruiz & Pav. (Piperaceae) y muchos grupos de helechos (Dressler sup. cit.). La vasta mayoría de las epífitas incluyendo a las orquídeas son polinizadas por animales y sus semillas por ser muy pequeñas son dispersadas por el viento.

2.1.2. Distribución de las epífitas en los forofitos

La estratificación en bosques tropicales está estrechamente relacionada con las variaciones que se encuentran en el ambiente tropical desde el piso hasta el dosel del bosque (Johansson 1974). Estas variaciones influyen no solo en la distribución de las plantas, sino también de aves, mamíferos e insectos, algunos de los cuales son exclusivos del dosel (Nadkami 1994).

La distribución espacial de las epífitas en un ecosistema varía horizontal- y verticalmente. Su distribución horizontal puede variar entre bosques y entre

especies de árboles hospederos, mientras que su distribución vertical puede variar a diferentes alturas de un mismo árbol (Ter Steege & Cornelissen 1989). Las epífitas tienden a crecer consistentemente dentro de ciertos rangos de altura vertical, relacionados con diferentes variables críticas para su establecimiento y desarrollo (Ter Steege & Cornelissen 1989).

La distribución de las epífitas dentro de los bosques y dentro de un mismo árbol está determinada por condiciones microclimáticas (Callaway et al. 2002), como la temperatura, la humedad (Leimbeck & Balslev 2001) y la intensidad lumínica (Ter Steege & Cornelissen 1989), entre otras, así como por las características de los forofitos (Kernan & Fowler 1995; Freiberg 1996; Heitz 1997), el forofito presenta características tales como el hábito de crecimiento, la edad del árbol, relieve, porosidad y la composición química de la corteza (Johansson 1974; Benzing 1990, Callaway et. al. 2002; Zotz & Vollrath 2003). También los exudados de la corteza y las características del sustrato presente en la corteza formado por el depósito de humus y la capa de epífitas no vasculares (Erwin 1988; Hernández-Rosas 1999) y los síndromes de dispersión de las especies (Gentry & Dodson 1987) son factores importantes en los patrones de distribución de las epífitas (Benzing 1995).

En el caso de la corteza si se compara la corteza rugosa y vieja con la superficie lisa de troncos jóvenes, esta última tiene una capacidad menor de retención de agua y menor capacidad de absorción y adsorción de nutrientes por lo que juega un papel importante en el establecimiento de cianobacterias, algas, líquenes, musgos y hepáticas que a su vez incrementan la capacidad de retención de agua y nutrientes

(Benzing 1981b; Catling 1989). La distribución de las ramas, la composición química (Frei & Dodson 1972) y peso de las epífitas pueden ser decisivos en el establecimiento y desarrollo de algunas especies de epífitas (Benzing 1990; Freiberg 1996). También la forma de la copa del árbol, tamaño de las hojas y la densidad del dosel, afectan el total de la retención y distribución de las lluvias, lo cual también influyen en la distribución de las epífitas (Parker 1995).

Por otro lado muchos árboles son en ocasiones buenos hospederos y regularmente “cargan” con muchas epífitas, mientras que otras especies en la misma área tienen pocas o ninguna epífita. También es posible que ciertas especies de orquídeas que están fuertemente restringidas solo a un forofito en un área pueden “preferir” otro forofito en condiciones climáticas diferentes (Sanford 1974).

En adición a las características ambientales, las interacciones intra- e interespecíficas pueden controlar los patrones de distribución de algunas especies de epífitas (Yeaton & Gladstone 1982; Hietz & Hietz-Seifert 1995).

Se han documentado tres formas de asociación epífita-hospedero. Una especie epífita es específica de una especie de planta hospedera cuando solamente se encuentra en esta especie de planta hospedera (Ter Steege & Cornelissen 1989). Cuando una especie de planta epífita habita en varios hospederos pero está mayoritariamente en una, se interpreta como preferencia de hospedero (Ter Steege & Cornelissen 1989). Cuando una especie de planta epífita no está en una especie de planta hospedera se le llama abstinencia de hospedero (*host avoidance*) y se ha hipotetizado que es el resultado de la expulsión (*anexy*) de esta epífita por el

hospedero (Benzing 1990, 1995). Los tres tipos de asociación epífita-hospedero ocurren dentro de un mismo bosque y le confieren a la comunidad de epífitas oportunidades para aumentar su diversidad, si existen muchas asociaciones específicas y muchos hospederos amigables, o le imponen restricciones si el bosque está compuesto por hospederos hostiles (Martínez-Meléndez 2008).

La estratificación vertical de un bosque es producto de las variaciones microclimáticas desde la parte alta del dosel hasta el interior del bosque (Shaw 2004). Estas variaciones están determinadas por la estructura y altura del dosel que regula la intensidad y dirección de la luz recibida, la captación de humedad del aire y la temperatura del aire que llega a las plantas, y por la disponibilidad de nutrientes, que está asociada a la presencia de materia orgánica muerta e organismos vivos en los hospederos (Nadkarni 1984; Freiberg 1997; Freiberg 2000; Gradstein et al. 2003; Cardelús & Chazdon 2005). Se han utilizado varias aproximaciones para el estudio de la estratificación vertical (Jarman & Kantilas 1995), pero la zonación del dosel de Johansson (1974), es la más utilizada. Se divide el árbol en cinco zonas que representan distintos estratos del dosel. La zona I (que se refiere a la base del tronco) es la que contiene la mayor parte de las especies exclusivas, mientras que la mayor riqueza de especies epífitas se encuentra en las zonas III y IV, las cuales se refieren a la parte interior y central del dosel (Nieder et al. 1999).

2.1.3. Especificidad de forofitos en orquídeas

La especificidad de árboles hospederos en orquídeas ha sido raramente observada (Tremblay 1998). Las orquídeas de manera general aparentan no ser específicas en la selección de un árbol hospedero (Catling et al. 1986; Zimmerman & Olmstead 1992), aunque unas pocas especies de orquídeas son potencialmente estrictas en la selección de forofitos (Sulit 1950, 1953). Según Johansson (1974) y Benzing (1990), puede existir especificidad de una epífita por un forofito, determinado por algunas características del mismo como hábito de crecimiento y edad, y de la corteza del mismo (estructura, relieve, porosidad y composición química). De igual manera los exudados de la corteza y las características del sustrato formado por el depósito de humus y la capa de epífitas no vasculares, parece influir en la distribución de orquídeas.

Otra característica relevante en la distribución de las orquídeas epífitas en un árbol es la disposición de las ramas, en este aspecto las grandes ramas horizontales pueden contener abundantes orquídeas, en pequeños sitios mientras que las partes superiores tienen solo musgos. También señalan que árboles sombríos habitados por murciélagos frecuentemente poseen una alta tasa de epífitas, lo que se puede deber a que los murciélagos proporcionan nutrientes ricos en nitrógeno que funcionan como fertilizantes en las ramas descubiertas (Perry 1978).

En estudios realizados en bosques neotropicales, ciertas especies de orquídeas han mostrado marcadas preferencias por especies de árboles hospederos, es decir, forofitos (Frei 1973), mientras que en otros estudios se ha observado poco o

ninguna especificidad por un forofito (Trapnell & Hamrick 2006; Zimmerman & Olmstead 1992). Unas pocas especies de orquídeas de Malasia están restringidas a un solo forofito (Went 1940), lo mismo ocurre en América y África (Allen 1959; Johanson 1975). En Brasil, algunas especies de *Pseudolaelia* y *Constantia* están restringidas a crecer en los tallos de *Vellozia* sp. (Velloziaceae), otro caso es el de *Cymbidiella pardalina* (Rchb. F.) Garay que está normalmente restringida al helecho *Platynerium madagascariense* Baker en Madagascar (Dressler 1990).

En los trópicos en América pequeñas especies de *Psychmorchis* parecen estar restringidas a *Psidium guajava* L., pero este forofito es difícil de encontrar en el dosel de los bosques.

Las cortezas esponjosas y rugosas de especies de *Acnistus* (güititi), *Crescentia* (calabazo) y *Paragonia* (Bignoniaceae) al retener agua y ayudar con sus grietas el establecimiento de orquídeas son especialmente favorables para el crecimiento de las orquídeas en América Central (Dressler 1990). Otro caso es el de *Elaeocarpus grandiflorus* Sm. (Elaeocarpaceae) que constituye un árbol hospedero de orquídeas muy importante en Tailandia (Dressler 1990).

Los factores químicos aunque son menos obvios también juegan un papel importante dentro de las propiedades físicas. En bosques nubosos mexicanos *Quercus castanea* Née y *Q. vicentensis* Trel. tienen muchas orquídeas, mientras que *Q. scytophylla* Liebm. y *Q. pedunculares* Trel. tienen pocas, y *Q. magnoliifolia* Née no sirve de soporte para orquídeas, bromelias o musgos y sustenta muy pocos líquenes (Frei 1973). La estructura de la corteza de estas especies de roble es

similar pero la corteza de *Q. magnoliifolia* contiene ácido gálico que inhibe la germinación de las semillas de orquídeas. La corteza de *Q. scytophylla* tiene algún efecto inhibitorio en las plántulas de las orquídeas.

Las condiciones que permiten el establecimiento de epífitas pueden variar grandemente en forofitos solitarios, y estudios cuidadosos pueden mostrar siempre una zonación distintiva (Johansson 1945). Se conoce muy poco sobre el impacto de deforestación a la diversidad de epífitas en bosques montanos y mucho menos sobre la ecología de epífitas en los bosques secundarios (p.e. Hietz-Seifert et al. 1996; Barthlott et al. 2001). El escaso conocimiento que se tiene de las epífitas hace difícil estimar su valor ecológico dentro de los bosques y cuantificar el grado de perturbación sobre sus poblaciones naturales. Sin embargo, algunas evidencias sugieren que las epífitas son uno de los grupos vegetales que presentan una mayor tasa de extinción producto de la deforestación (Higuera et al. 2004). Por otra parte, si consideramos las comunidades de epífitas que se desarrollan en el dosel de los bosques, resulta de gran importancia poner en evidencia la vulnerabilidad de éstas al depender e interaccionar con todo el sistema (Hernández 2008). Por lo anterior es importante realizar investigaciones que permitan conocer el número de especies de orquídeas y la relación de estas con otros grupos de plantas, antes que la deforestación acabe con sus poblaciones naturales. De esta manera los estudios que se desarrollen en cuanto a las epífitas pueden contribuir a una mejor comprensión de la dinámica ecológica de estas especies vegetales con el bosque (Santa et al. 2009). Por lo anteriormente expuesto con este estudio se desea analizar la relación de las orquídeas en estudio con los árboles que las hospedan,

si existe preferencia por alguna especie de forofito o por alguna de las zonas del árbol de las establecidas por Johansson (1974).

2.2 Hongos micorrícicos de las orquídeas

Una de las estrategias de las plantas para la adquisición de nutrientes más ampliamente distribuidas es la asociación con hongos micorrícicos. Se estima que un aproximado del 90 % de las especies vegetales existentes forma micorrizas y que unas 6 000 especies de hongos son capaces de colonizar la raíz de la planta para establecer esta simbiosis. Esta asociación es clave en la estructuración de las comunidades vegetales (Urcelay & Díaz 2003).

2.2.1 Hongos micorrícicos

El término micorriza (*mykes*, hongo + *rhiza*, raíz) literalmente significa “hongo-raíz”. Fue utilizado por primera vez por el patólogo alemán Albert B. Frank en 1885 para definir asociaciones simbióticas (dos o más organismos que viven conjuntamente), mutualistas, no patógenas, entre raíces de plantas y micelios de hongos, en las que ambos resultan beneficiados (Frank 1885).

Ahora es generalmente aceptado que la colonización de la tierra se logró gracias a organismos simbióticos, que permitieron que plantas pudieran acceder a los nutrientes (Smith & Read 2008). Nicolson en 1975 señalaba que las primeras plantas terrestres, que no tenían raíces verdaderas, fueron colonizadas por hifas de

hongos que forman vesículas y arbusculos sorprendentemente similares a las micorrizas arbusculares modernas.

En la actualidad el concepto de "micorriza" se considera en un sentido amplio, para dar cabida también a aquellas asociaciones simbióticas hongo-planta que no se establecen en raíces, sino en otros órganos especializados para el intercambio de nutrientes, como ocurre en orquídeas y otras plantas acrofilicas y en plantas "inferiores", carentes de verdaderas raíces (Honrubia 2009).

Los hongos micorrícicos son un grupo especializado dentro de la vasta población de microorganismos que colonizan la rizosfera. Por su carácter heterótrofo dependen de las plantas para obtener su fuente carbonada (carbono orgánico). Los hongos son grandes proveedores de nutrientes minerales y compuestos con P y N obtenidos a partir de compuestos como aminoácidos y sustancias como la celulosa, producidos y encontrados de forma natural (Sharma 2003). Los hongos micorrícicos reciben directamente de las plantas los azúcares que precisan para desarrollarse (Smith & Read 2008). A cambio captan del suelo y ceden a sus hospederos los nutrientes minerales y el agua que éstos necesitan para crecer. Básicamente, en ello consiste la simbiosis micorrícica. Sin embargo, en el caso de las plantas acrofilicas, el flujo de nutrientes, incluidos los azúcares, es unidireccional, desde el hongo a la planta. En este caso no hay un mutualismo trófico en sentido estricto, aunque sí una simbiosis ("vivir conjuntamente dos o más organismos"), en la que, al menos, uno de los partícipes resulta beneficiado (Honrubia 2009).

Las plantas vasculares necesitan minerales que en muchos suelos resultan difíciles de obtener. Por eso se asocian con hongos micorrícicos, que con sus hifas aumentan la superficie de absorción en términos de cientos a miles de veces.

Se reconocen distintos tipos de micorrizas (Honrubia et al. 2002; Barea & Honrubia 2004; Smith & Read 2008), que han sido clasificadas teniendo en cuenta criterios morfológicos, fisiológicos y taxonómicos.

2.2.2. Tipos de asociación micorrícica

Se pueden distinguir tres grupos fundamentales según la estructura de la micorriza formada: ectomicorrizas o formadoras de manto; ectendomicorrizas, que incluyen micorrizas arbutoides y monotropoides; y las endomicorrizas, caracterizadas por la colonización intracelular de células de la planta por el hongo, y que a su vez se subdividen en ericoides, orquidoides y arbusculares (Read 1999). Cada una de estas categorías se caracteriza por la invasión de tejido de la raíz por hifas fúngicas, pero cada una presenta marcadas diferencias en la naturaleza del desarrollo inter- e intracelular de las hifas.

2.2.3. Asociación micorrícica en la familia Orchidaceae

Reissek (1847) fue el primero en observar grupos de pelotones de hifas de hongos dentro de las células de orquídeas al estudiar las raíces de *Neottia nidus-avis* (L.) Rich. Reissek también informó de pelotones en raíces de otras especies de orquídeas europeas como *Gymnadenia*, *Ophrys* y *Orchis*, y también en muchas orquídeas tropicales.

Desde finales del siglo XIX se conoce de la existencia de hongos en las raíces de orquídeas pero la importancia de esta observación se llegó a comprender cuando se entendió su papel en la nutrición y germinación de las semillas. La relación entre las orquídeas y la simbiosis micorrícica solo está empezando a ser revelada (Otero et al. 2002, 2004; Taylor et al. 2003).

Las semillas de las orquídeas son las más pequeñas en el reino vegetal, según Rasmussen (2002), la reducción en el tamaño de las semillas fue un proceso gradual en el que las reservas nutritivas necesarias para la germinación se fueron reduciendo. Para suplir esta carencia de nutrientes se generó una dependencia con hongos que alimentan a los embriones de las semillas. Con el tiempo, las semillas y las plántulas jóvenes se convirtieron en micótrofos obligados. La producción de un gran número de semillas sugiere que la mortalidad de las mismas es bastante alta y que las exigencias de las semillas son amplias. El sustrato adecuado y la existencia del hongo micorrícico son algunas de estas necesidades.

Las micorrizas orquideoides se diferencian de otros tipos de micorrizas en que las asociaciones con hongos son esenciales tanto para la germinación de las semillas

como para el establecimiento de las plántulas en la naturaleza (Rasmussen 1995; Peterson et al. 1998). La característica morfológica principal que define a las micorrizas orquideoides es la formación de complejos de hifas dentro de las células de plantas huésped llamados pelotones (Peterson 2004). Las micorrizas orquideoides se consideran, por tanto, dentro de la categoría de endomicorrizas.

2.2.4. Hongos de las micorrizas orquideoides

Todas las orquídeas son micoheterotróficas en alguna fase de su ciclo biológico, formando un tipo particular de simbiosis “micorriza orquideoide” sobre todo con especies de Basidiomycota, como de *Ceratobasidium* (forma asexual: *Rhizoctonia*), *Russula*, *Sebacina* y *Tulasnella*. El intercambio nutricional de las orquídeas en su medio natural es muy poco conocido. Ciertas evidencias indican que el intercambio de nutrientes entre hongo-orquídea es unidireccional, solo del hongo hacia la planta (Smith & Read 1997). En la actualidad, sin embargo, resultados experimentales también demuestran una transferencia recíproca de carbono entre el hongo y la orquídea, por lo cual se considera una simbiosis mutualista (Camerón et al. 2006). Además la simbiosis entre hongos y orquídeas también permite a la planta obtener recursos como el agua para evitar la desecación (Yoder et al. 2000). La actividad fotosintética permite que se genere mayor intercambio nutricional y mineral de las orquídeas hacia los hongos, convirtiéndose en un flujo bidireccional constante entre ambos (Camerón et al. 2006)

En bosques tropicales, subtropicales y neotropicales se han encontrado como hongos micorrícicos más frecuentes en orquídeas epífitas, hongos basidiomicetes pertenecientes a Ceratobasidiales, Sebaciniales y Tulasnellales epífitas (Otero et al. 2002, 2004; Suárez et al. 2006, 2008), posiblemente distintos a los encontrados en las orquídeas terrestres (Suárez et al. 2008).

A pesar de que la mayoría de los miembros de la familia Orchidaceae son epífitas tropicales y subtropicales, la presencia de micorrizas en estas ha sido poco investigada. El grupo mejor estudiado es el de las orquídeas terrestres, particularmente las especies nativas de Norteamérica (Currah et al. 1987), Europa (Marchisio et al. 1985), parte de Asia (Hadley & Williamson 1972; Hadley 1985; Tsutsui & Tomita 1986; Uetake et al. 1992,) y Australia (Warcup & Talbot 1967, 1971, 1980; Warcup 1981, 1985; Ramsay et al. 1986).

Los pocos estudios realizados en orquídeas tropicales han mostrado grados variables de asociación micorrícica. Algunos autores han encontrado que la presencia de micorrizas es esporádica en la mayoría de los casos o menos común que en las orquídeas terrestres de zonas templadas. Otros autores (Otero et al. 2002, 2004; Suárez et al. 2006, 2008), señalan que las orquídeas tropicales pueden ser infectadas por hongos micorrícicos tan fuertemente como las orquídeas de zonas templadas (Cameron et al. 2006).

En Centroamérica son muy pocos los estudios hechos sobre las relaciones micorrícicas en esta familia. En Costa Rica se han realizado solo tres estudios

(Lesica & Antibus 1990, Richardson et al. 1993 y Rivas et al. 1998) mientras que en Panamá no se encontró ningún trabajo que documente esta relación.

El presente estudio tiene como objetivos identificar los niveles de hongos micorrícicos que se encuentran asociadas a las orquídeas a lo largo del año y además determinar el tipo de asociación trófica con los árboles hospederos y las orquídeas en estudio.

2.3. Especies de la familia Orchidaceae seleccionadas

Para este trabajo se seleccionaron cuatro especies de orquídeas, tres epífitas, *Epidendrum difforme* Jacq., *Maxillaria pseudoneglecta* J.T. Atwood, *Scaphyglottis bidentata* (Lindl.) Dressler, y una terrestre, *Oeceoclades maculata* (Lindl.) Lindl.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Descripción del área de estudio

El área seleccionada para el estudio fue el distrito de Boquerón en la Provincia de Chiriquí, República de Panamá. La Provincia de Chiriquí tiene una superficie de 6,550 km² y la altitud oscila entre los 0-3,500 m.s.n.m con una temperatura media de 21-32 °C (Instituto Geográfico Nacional Tommy Guardia 2007). El sitio específico del estudio fue el Distrito Boquerón que posee una superficie total de 28 160 hectáreas dividido en ocho corregimientos y una cobertura boscosa de 1420 hectáreas (Serrano 2000). El Distrito está ubicado en la zona de tierras bajas y tierras de altura media, entre los 400 y 800 m.s.n.m., con una topografía ondulada, con colinas y mesetas de poca altura. El clima de esta zona es mayormente tropical húmedo, según la clasificación de Holdridge (1971). Las precipitaciones fluctúan entre 2000 y 4500 mm anuales. El Distrito de Boquerón cuenta con una estación seca (entre diciembre y abril) y una estación lluviosa (entre mayo y noviembre) en la que se concentran entre el 85 y el 95 % de las lluvias (Instituto Geográfico Nacional Tommy Guardia 2007).

Se establecieron cuatro áreas de muestreo, dos en el corregimiento de Paraíso y dos en el corregimiento de Guayabal (Fig.1). El tiempo de colecta inició en junio de 2009 y finalizó en julio de 2010.



Fig.1. Mapa de la Provincia de Chiriquí. La flecha indica el área de estudio, en el Distrito de Boquerón.

3.2. Los forofitos de las orquídeas

Se establecieron dos parcelas de 0.1 ha cada una, donde se llevó a cabo la evaluación de la distribución vertical de orquídeas, mediante un censo de las orquídeas presentes en 209 forofitos con DAP, diámetro a la altura del pecho, >15 cm, los cuales fueron divididos en cinco zonas de estratificación (Fig.2), según las zonas establecidas por Johansson (1979). El tronco es dividido en dos secciones, la primera corresponde a una pequeña porción cercana al suelo (zona A) y la

segunda porción más grande, incluye el resto del tronco hacia la primera ramificación (zona B); las ramas son divididas en tres estratos: las primeras y segundas ramificaciones (zona C y D, respectivamente) y la copa del portador o forofito (zona E), siguiendo la metodología de Johansson (1974).

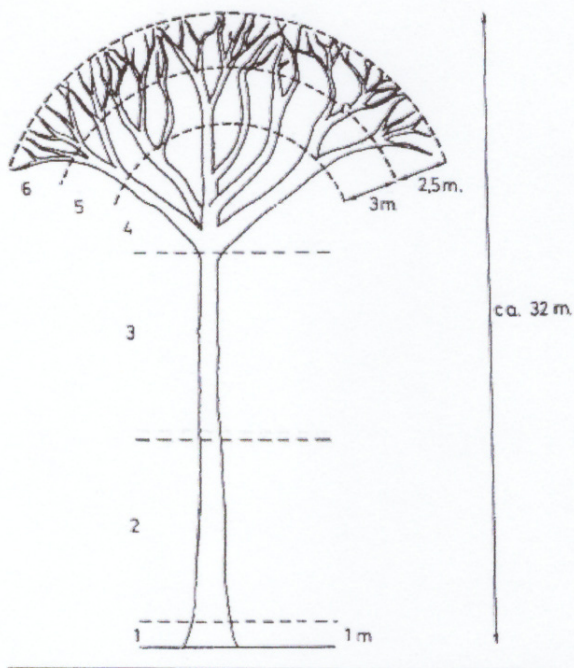


Fig.2. Esquema de las zonas de un árbol Johansson (1974), Zona A (1)= base del árbol, parte más cercana al suelo, Zona B (2 y 3)= tronco del árbol,

Zona C (4)= primeras ramificaciones, Zona D (5)= Segundas ramificaciones y Zona E (6)= copa del árbol.

Para el análisis de las características de los forofitos de las orquídeas se tomaron datos del forofito sobre el que se encontraba la orquídea, ubicación ya fuera en el

tronco o en determinada rama del árbol hospedero, características de la corteza del forofito, diámetro de la rama o tronco, altura del árbol y diámetro a la altura del pecho (DAP)

Se contabilizaron todos los individuos de *Epidendrum difforme*, *Maxillaria pseudoneglecta* y *Scaphyglottis bidentata* presentes en los sustratos ocupados.

3.2.1. Identificación del forofito

Se colectaron muestras del árbol hospedero para realizar su identificación con la ayuda de claves taxonómicas. La identificación de las muestras de plantas se realizó utilizando claves taxonómicas de la Flora de Panamá entre otras (Gentry 1993; Raes & Ek 2002; Zuchowski & Forsyth 2007; Carrasquilla 2008; Garguillo et al. 2008 y Rincón et al. 2009). Para la revisión y confirmación de la nomenclatura se consultó el Catálogo de plantas vasculares de Panamá de Correa et al. (2004).

Se confirmaron las identificaciones por comparación con las muestras de los Herbarios de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad Autónoma de Chiriquí (U.CH.) y de la Universidad de Panamá (PMA).

3.2.2. Preparación de las muestras

Luego de identificar el forofito, las muestras de estas plantas fueron prensadas y secadas en horno. Posteriormente se colocaron en papel periódico, se utilizó una hoja blanca para etiquetarlas y depositarlas en los Herbarios de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad Autónoma de Chiriquí (U.CH.) y de la Universidad de Panamá (PMA).

3.2.3. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante una prueba X^2 para establecer si existen diferencias significativas en la relación orquídea-forofito.

Las orquídeas y las densidades entre los forofitos en estudio se compararon mediante una prueba de Kruskal-Wallis de variables distribuidas (árboles por cuadrante). La variable de ramas por transecto y si su distribución era normal, por lo que se analizó mediante una prueba T de Student, para analizar las diferencias entre los diferentes sitios. Se utilizó también el coeficiente de log-verosimilitud para un número de pruebas de asociación. Primero se preguntó si la probabilidad de que las orquídeas estuvieran presentes en un árbol era independiente de la especie de forofito. También se preguntó si las frecuencias de las orquídeas en los árboles eran independientes de la rugosidad de la corteza.

3.3. Los hongos micorrícicos de las orquídeas

3.3.1. Recolección de orquídeas

Para este trabajo se seleccionaron cuatro especies de orquídeas y mediante la utilización del método de búsqueda generalizada se colectaron muestras de *Epidendrum difforme*, *Maxillaria pseudoneglecta*, *O. maculata* y *Scaphyglottis bidentata*.

Se realizaron colectas cada dos meses, en los puntos de estudio ubicados en corregimiento de Paraíso y en el corregimiento de Guayabal, en bosque de galería y márgenes de potrero. En los dos primeros muestreos se colectaron plantas completas, mientras que en los siguientes muestreos solo se tomaron muestras de raíces y se colocaron en envases eppendorf. Se colectó una muestra de cada especie de orquídea, se trasladaron en bolsas plásticas de cierre hermético al laboratorio del herbario de la Universidad Autónoma de Chiriquí.

En cada colecta se anotó el número de muestra, fecha de colecta, localidad, coordenadas, características del hábitat, características vegetativas y reproductivas como color de tallos y raíces, longitud de la planta, fenología (presencia de flores o frutos) y otras características.

Las muestras colectadas reposan en el herbario de la Universidad Autónoma de Chiriquí (U.CH.) y de la Universidad de Panamá (PMA).

Se realizaron descripciones de las orquídeas en estudio y de los niveles de infección de hongos en las raíces de éstas.

Con ayuda de un estereomicroscopio Olympus SZ51 y un microscopio de luz Olympus CX31 se realizaron cortes de las raíces con ayuda de una navaja a cada una de las especies orquídeas para documentar la presencia de hongos micorrícicos.

La documentación de la colonización de los hongos en las orquídeas se realizó mediante dibujos para cuantificar la presencia o ausencia de pelotones de hongos en las raíces de las orquídeas.

3.3.2. Elaboración y diseño de dibujos a escala

Para realizar los dibujos a escala se calibró un microscopio (Olympus modelo CX FSI 100) con unidad de micrómetros para cada objetivo.

La calibración fue equivalente a

10x 1 UL = 10 μm

40x 1 UL = 2.5 μm

100x 1 UL = 1 μm

UL = unidad de longitud

(escala en el ocular)

μm = micrómetros

Después se utilizó una hoja en blanco con cuadros de 1.5 cm y encima se le colocó una hoja en blanco en la cual se dibujó con un lápiz el corte transversal y los pelotones del hongo presentes en la raíz de la orquídea.

3.3.3. Transferencia de los dibujos a la computadora

El dibujo a escala se copió con un bolígrafo protring 2000 de tinta negra, con un cabezal de 0.7 mm a una hoja de papel plano para copiar el dibujo. Luego se

escaneó el dibujo y se procesó en Corel Photo Paint. En él se corrigió, se afinaron los detalles del dibujo y se colocó la escala.

El archivo se guardó como imagen JPG y se transfirió al programa Word.

4. RESULTADOS

4.1. Descripción de las especies de orquídeas en estudio

Epidendrum difforme Jacq., Enum. Syst. Pl. 29. 1760.

Planta epífita cespitosa, mayor de 30 cm. Hojas de 7-20 cm de largo y de 1-3 cm de ancho, variables de linear-oblonga a elíptico-ovada, obtusas. Inflorescencia corta, de pocas a muchas flores, racimo subumbelado.

Flores amarillas o verde pálido, con pedicelos largos, sépalos dorsales linear-elípticos, agudos, sépalos laterales de elípticos a agudos, oblicuos, pétalos de filiforme a linear oblanceolado, agudos, labio unguiculado, prominentemente trilobado, con el lóbulo medio usualmente bifido y más largo que los otros lóbulos. Florece durante todo el año. Fruto una cápsula (Dressler 1993).

Material examinado: a orillas del Río Brazo Prieto, Santa Rita, Paraíso, Boquerón, Prov. de Chiriquí, Panamá, 860 m.s.n.m., 23 junio 2009, Loraine Pérez 117. Epífita sobre *Bursera simaruba*, *Spondias mombin*, *Tabebuia rosea*. Depositado en los herbarios de la Universidad de Panamá (PMA) y de la Universidad Autónoma de Chiriquí (U.CH.).

Maxillaria pseudoneglecta. J.T. Atwood, Lindeyana 8(1): 30-31. 1993.

Epífita caulescente, de 50.5 cm, pseudobulbos con una separación en promedio de 8.5 cm, con una hoja terminal de 2-4 x 2.5-5 cm, cilíndricos elipsoides. Hojas con un

pecíolo corto, lámina de 14-16 x 2-4 cm., lanceolada. Inflorescencia en la base de los pseudobulbos. Flores rojo-naranjas, labio naranja en el ápice y blanco-naranja en la base, con espolón, sépalos 0.8-1.4 cm, pétalos 0.4-0.8 cm, trilobados, con un callo transverso. Florece en enero y de junio a octubre. Fruto una cápsula.

Material examinado: Santa Rita, Boquerón, Chiriquí, Panamá, 800 m.s.n.m., 23 junio 2009, Loraine Pérez, 120. Depositado en los herbarios de la Universidad de Panamá (PMA) y de la Universidad Autónoma de Chiriquí (U.CH.).

Oeceoclades maculata (Lindl.) Lindl., Gen. sp. orchid. pi. 237. 1833. *Angraecum maculatum* Lindl., Coll. bot. t. 15. 1821.

Terrestre con raíces carnosas, pseudobulbos 1.5-4 x 1-2.5 cm, ovoides, unifoliadas. Hoja conduplicada, 8-25 x 1.5-5 cm, oblongas o elípticas, carnosas, subpecioladas, verde oscuro con verde pálido. Inflorescencia lateral, erecta, racemosa, a veces forma ramas laterales secundarias, 10-28 cm. Flores 5-15 en cada inflorescencia, resupinadas, los sépalos y los pétalos verde pálido, el labelo crema con manchas y rayas lila, sépalos y pétalos 8-14 x 2-3.5 mm, elípticos u oblanceolado, labelo ca. 8 x 8 mm., panduriforme, con un espolón basal ca. 4 mm., el ápice engrosado; columna 3-4 mm. Florece todo el año. Fruto una cápsula.

Material examinado: Santa Rita, Boquerón, Chiriquí, Panamá, 800 m. s. n. m., 23 junio 2009, Loraine Pérez, 120. Depositado en los herbarios de la Universidad de Panamá (PMA) y de la Universidad Autónoma de Chiriquí (U.CH.).

Scaphyglottis bidentata (Lindl.) Dressler, Lankesteriana 3:28. 2002.

Hierba epífita cespitosa, tallo segmentado sobrepuesto, pseudobulbos jóvenes que se originan a partir de pseudobulbos viejos, elipsoides, usualmente con dos hojas apicales. Flores brillantes rojo-naranjas, en la parte terminal del pseudobulbo, luego surge un nuevo tallo con hojas en el ápice, simples o en ramas, con segmentos subcilíndricos o fusiformes. Hojas de 2.5-1.6 x 0.3-1 cm, lineares a linear-liguladas, coriáceas, originándose del ápice de un segmento del tallo. Inflorescencia corta, en un racimo con pocas flores, sépalos de 10-14 x 2.5-4 mm, obtusos, usualmente con un callo engrosado. Florece de enero a marzo y agosto. Fruto una cápsula.

Material examinado: orillas del río Brazo Prieto, Santa Rita, Boquerón, Chiriquí, Panamá. 840 m.s.n.m. 23 junio 2009, Loraine Pérez, 118. Depositado en los herbarios de la Universidad de Panamá (PMA) y de la Universidad Autónoma de Chiriquí (U.CH.)

4.2. Los forofitos de las orquídeas

4.2.1. Especificidad de forofitos en orquídeas

En los dos transectos establecidos a lo largo del bosque de galería del río Brazo Prieto en el distrito de Boquerón se contabilizaron un total de 159 individuos pertenecientes a 23 especies de forofitos ocupados por *Epidendrum difforme*, *Maxillaria pseudoneglecta* y *Scaphyglottis bidentata*. Las especies con mayor grado de ocupación resultaron ser: *Bursera simaruba* con 23 individuos, *Byrsonima crassifolia* con 19 individuos, *Spondias mombin* con 17 individuos, *Syzygium jambos* con 15 individuos al igual que *Tabebuia rosea*, *Gliricidia sepium* con 14 individuos,

Diphysa americana con 11 individuos, *Ficus* sp. con 10 individuos y *Luehea seemannii* con nueve individuos. En estas seis especies se concentra el 64,7 % del total de individuos ocupados. Las demás especies de árboles presentes en el área mostraron bajos niveles de ocupación aun cuando son localmente abundantes.

Se encontró una preferencia entre el forofito *B. simaruba* y la orquídea *E. difforme* con un $X^2c= 0.4050$; $p=0.005$. En el caso de las orquídeas *M. pseudoneglecta* con un $X^2=4.215$ $p=0.005$ y *S. bidentata* con un $X^2=4.7853$ $p=0.005$ no se encontró ninguna relación con los forofitos en los que se encontraba. *S. bidentata* se observó en el mayor número de especies de forofitos.

4.2.1. Distribución de las epífitas en los forofitos

El área del forofito de *B. simaruba*, *S. mombin* por la que se encontró una preferencia por el área de bifurcación de las ramas ((mal redactado)). Con un $X^2c=51.7$; g.l.=3, $p=0.005$, en el área del fuste se encontró un $X^2c=3.9$; g.l.=3, $p=0.005$ ((mal redactado)), y para las ramas $X^2c=4.5$; g.l.=3, $p=0.005$, mientras que para los otros árboles observados como forofitos se encontró una distribución uniforme en el árbol. Por otro lado, tanto *M. pseudoneglecta* como *S. bidentata* se observaron principalmente en árboles de corteza rugosa o muy fisurada como *S. mombin* y de corteza fisurada como *B. crassifolia*.

Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Merwin et al. (2003), que señala que la mayor abundancia de epífitas se da en las ramas gruesas y en las bifurcaciones de las ramas ya que estas tienen mayor superficie de contacto.

Al utilizar el sistema de zonificación de árboles propuesto por Johansson (1974), se observa que la mayor abundancia de especies epífitas se encuentra en las zonas

intermedias y altas (Yeaton & Gladstone 1982; Mondragón et al. 2004), tal como se observa en los resultados obtenidos en este estudio con *E. difforme*, *M. pseudoneglecta* y *S. bidentata*. Esta abundancia de orquídeas epífitas en estas zonas se relaciona con una mayor disponibilidad de ramas colonizables y una mayor diversidad de microclimas y tipos de sustratos (Johansson 1974; Benzing 1995).

4.3 Hongos micorrícicos de las orquídeas

4.3.1 Nivel de micorrización en las orquídeas

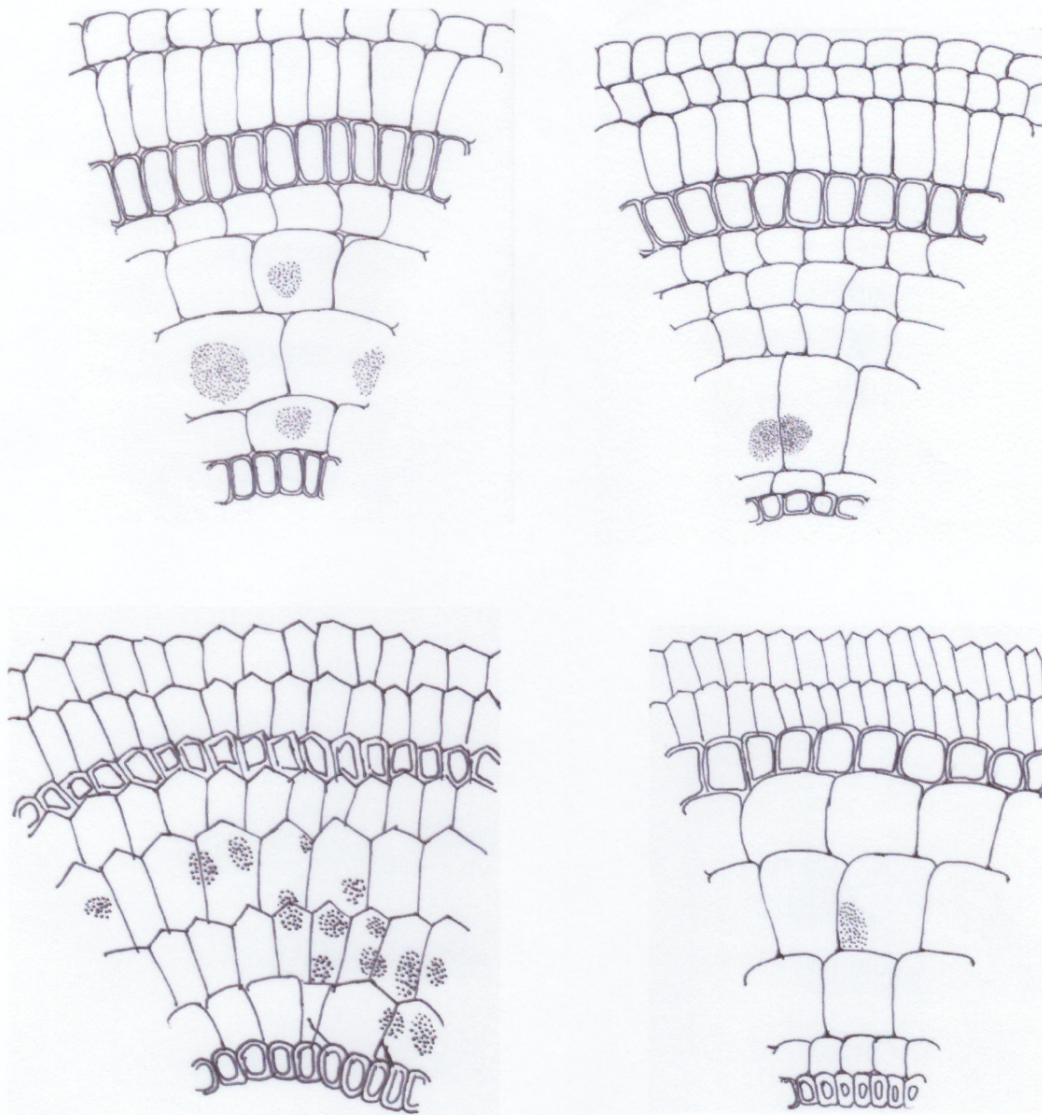


Fig. 4 Nivel de micorrización en las cuatro especies de orquídea en estudio a. *Epidendrum difforme*, b. *Maxillaria pseudoneglecta*. c. *Scaphyglottis bidentata*, d. *Oeceoclades maculata*

En todas las especies estudiadas se detectaron micorrizas en las células corticales de las raíces. Las hifas estaban organizadas en pelotones. En la orquídea terrestre y en las epífitas, las micorrizas no se encontraron en todos los individuos examinados.

En la especie epífita *E. difforme* no se encontraron micorrizas en las raíces aéreas, únicamente en las que estaban en contacto con el sustrato. En *M. pseudoneglecta* y *S. bidentata* si se observó micorrización en las raíces aéreas.

En las raíces de algunas especies la cantidad de células infectadas con hongos fue alta (Fig. 4). Se observaron hifas arregladas en pelotones en dos estados: uno en el que las hifas formaron pelotones y se podían distinguir las conexiones con las células adyacentes y otro con una masa amorfa de hifas en proceso de digestión.

El grado de infección micorrícica de las orquídeas epífitas o terrestres fue mayor del 20 % en todas las especies, sin embargo los mayores porcentajes de micorrización se observaron en las especies epífitas siendo *M. pseudoneglecta* la que presentó mayores porcentajes de micorrización con un máximo de 70 %.

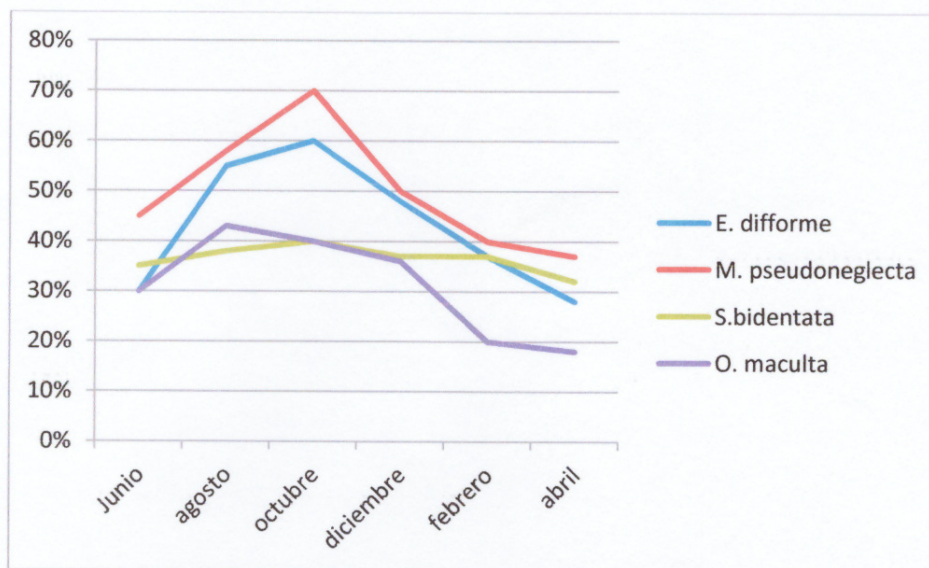


Fig. 3 Porcentaje de micorrización a lo largo del año en las especies de orquídeas *Epidendrum difforme*, *Maxillaria pseudoneglecta*, *Oeceoclades maculata* y *Scaphyglottis bidentata*

Al evaluar el nivel de micorrización en estación seca y estación lluviosa se pudo observar que el número de pelotones en todas las especies estudiadas fue mayor durante la estación lluviosa, los porcentajes de micorrización más elevados se observaron durante la estación lluviosa en promedio las especies presentaron porcentajes de 50 %.

5. DISCUSIÓN

5.1. Los forofitos de las orquídeas

5.2.1. Especificidad de forofitos en orquídeas

Los estudios sobre la especificidad de la relación de las epífitas con sus forofitos son pocos, y no concluyentes siendo aún un tema abierto (Trapnell & Hamrick, 2006). Algunos estudios encuentran una baja especificidad entre las epífitas y los forofitos donde habitan (Johansson 1974; Stanford 1974; Todzia 1986; Ackerman et al. 1989; Zimmerman & Olmsted 1992; Ackerman et al. 1996), mientras otros muestran una fuerte asociación (Went 1940; Frei 1973; ter Steege & Cornelissen 1989; Merwin et al. 2003). La fuerte asociación que muestran las especies de orquídeas con determinadas especies de forofitos pudiera indicar una especificidad orquídea forofito. Trapnell & Hamrick (2006) en sus estudios en Costa Rica con *Laelia rubescens* encontraron una asociación entre esta especie y *Samanea saman*. Sin embargo, mientras unos hospederos presentaban altos índices de colonización por esta orquídea, otros cercanos, de igual porte y supuestamente igual edad, se encontraban totalmente vacíos.

En este estudio hemos encontrado que la especie de orquídea epífita, *E. difforme*, muestra una estrategia generalista en la selección del forofito pues se ha encontrado en 17 especies de forofitos diferentes. Sin embargo, dentro de esta estrategia generalista, muestra una clara tendencia por determinados forofitos como *B. simaruba*.

4.3 Hongos micorrícicos de las orquídeas

4.3.1 Nivel de micorrización en las orquídeas

Esta observación contrasta con resultados obtenidos en estudios realizados en diversas áreas tropicales (Hadley y Williamson 1972, Hadley 1986, Lesica y Antibus 1990), incluyendo estudios realizados en los bosques lluviosos de Monteverde y la Selva en Costa Rica por Lesica y Antibus (1990) y por Richardson y colaboradores (1993) quienes encontraron incidencias de infección inferiores al 50 %. Por el contrario, nuestros resultados apoyan las investigaciones que sostienen que la incidencia de infección en las orquídeas terrestres y epífitas tropicales puede ser tan alta como la observada en orquídeas terrestres de climas templados (Benzing y Friedman 1981, Benzing 1982, Alexander 1987, Bermudes y Benzing 1989, Goh et al. 1992).

La ausencia de micorrizas en las raíces aéreas de *E. difforme* así como la también observada en otras especies (Hadley y Williamson 1972, Benzing 1982, Goh et al. 1992) refuerza la importancia del papel del substrato para el establecimiento de la infección micorrícica. En las orquídeas terrestres la infección en las nuevas raíces ocurre rápidamente mediante propágulos existentes en el suelo o por raíces infectadas o muertas el año anterior (Bridge 1979). En la mayoría de las epífitas la infección es necesaria para la germinación de las semillas; después de la diferenciación de los tejidos el hongo se restringe a la zona cortical e inicia el contacto con el substrato mediante hifas que salen de las raíces y absorben nutrimentos (Bridge 1979, Harley y Smith 1983).

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Se observó que aun cuando no existen preferencias de *Epidendrum difforme*, *Maxillaria pseudoneglecta* y *Scaphyglottis bidentata* por un forofito en particular se pueden señalar tendencias hacia un forofito con respecto a otro.

Las orquídeas epífitas pueden colonizar cualquier parte del forofito. Sin embargo en nuestro estudio se observó una preferencia por las zonas C y D por las orquídeas epífitas *Epidendrum difforme*, *Maxillaria pseudoneglecta* y *Scaphyglottis bidentata*.

Otro factor importante de la presencia de las orquídeas epífitas aunque no determinante es el tipo de corteza, ya que las orquídeas se observaron en mayor proporción en árboles de corteza rugosa o fisurada.

Se observaron niveles de micorrización variables a lo largo del año en las cuatro especies de orquídeas. Sin embargo la orquídea terrestre *O. maculata* presentó niveles más bajos de micorrización.

Se observó que en época lluviosa los niveles de micorrización son mayores que en época seca.

Recomendaciones

A partir de las aportaciones que se presentan con este estudio de las orquídeas epífitas *Epidendrum difforme*, *Maxillaria pseudoneglecta* y *Scaphyglottis bidentata*, es necesario diseñar y promover programas de manejo de los bosques de galería y zonas circundantes que permitan conservar y proteger tanto a estas especies como a otras especies de orquídeas epífitas.

Se deben diseñar programas que muestren la importancia ecológica de las orquídeas epífitas, la función que cumplen en el ecosistema y como pueden ser conservadas y protegidas.

A demás es necesario ahondar en la dinámica de poblaciones de estas especies, puesto que la información al respecto es muy escasa.

Realizar estudios de los hongos presentes en las orquídeas epífitas y en los árboles hospederos para analizar si existe algún tipo de relación entre éstos organismos, si los mismos hongos están presentes en las dos plantas o si los hongos presentes en los árboles hospederos también establecen vínculos con las orquídeas.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Allen, P.H. 1952. The sawn orchids: a revision of genus *Cycnorches*. *Orchid Journal* 1: 173-303.
- Arditti, J. 1977. *Orchid biology: reviews and perspectives I*. Cornell University Press, London. Pp 25-46.
- Barea, J.M. & M. Honrubia. 2004. La micorrización dirigida de la planta forestal. In: Vallejo, R. & al. (eds.), *Avances en el estudio de la gestión del monte mediterráneo*. CEAM. 84-921259-3-4. Pp: 215-260.
- Barthlott, W.; Schmit-Neuerburg, V.; Nieder, J. & S. Engwald. 2001. Diversity and abundance of vascular epiphytes: a comparison of secondary vegetation and primary montane rain forest in the Venezuelan Andes. *Plant Ecology* 152: 145-156.
- Benzing, D.H. 1981a. Why is Orchidaceae so large, its seeds so small, and its seedlings mycotrophic? *Selbyana* 5: 241-242.
- Benzing, D.H. 1981b. Bark surfaces and the origin and maintenance of diversity among angiosperm epiphytes: A hypothesis. *Selbyana* 5: 248-255.
- Benzing, D.H. 1990. *Vascular epiphytes*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Benzing, D.H. 1995. The physical mosaic and plant variety in forest canopies. *Selbyana* 16: 159-168.
- Bergstrom, B. J. & C. Richard. 2008. Host-tree selection by epiphytic orchid, *Epidendrum magnolia* Muhl. (green flay orchid), in an Inland hardwood Hammock in Georgia. *Southeastern naturalist* 7(4): 571-580.

- Callaway, R.; Reinhart, K.; Moore, G.; Moore, D. & S. Pennings. 2002. Epiphyte host preferences and host traits: Mechanisms for species-specific interactions. *Oecología* 132: 221–230.
- Camérón, D. D.; Leake R. J. & J. D. Read. 2006. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *New Phytologist* 171: 405–416.
- Cardelús, C. L. & R. L. Chazdon. 2005. Inner-crown microenvironments of two emergent tree species in a lowland wet forest. *Biotropica* 37: 238–244.
- Catling, P.M. & L.O. Lefkovitch. 1989. Associations of vascular epiphytes in a Guatemalan cloud forest. *Biotropica* 21: 35–40.
- Correa, M.; Galdames, C. & M. De Stapf. 2004. Catálogo de plantas vasculares de Panamá. Editorial Novo Art, S.A. Panamá. 599 pp.
- Cribb, P.J.; Kell, S.P.; Dixon, K.W. & R.L. Barrett. 2003 Orchid conservation – a global perspective. In K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barrett, P.J. Cribb (eds.) Orchid conservation. Natural History Publication, Kota Kinabalu, Malaysia. pp. 1–24.
- Currah, R.S.; Singl L. & S. Hambleton. 1987. New records and taxa of fungi from the mycorrhizae of terrestrial orchids of Alberta. *Canad. J. Bot.* 65: 2473–2482.
- Dressler, R. 1990. The orchids natural history and classification. Cambridge, Mass. Harvard University Press. 332 pag.
- Dressler, R. 1993. Field guide to the orchids of Costa Rica and Panamá. Segunda edición. Cornell University Press. Estados Unidos. pp.374.

- Erwin, T.L. 1988. The tropical forest canopy. The heart of biotic diversity. En: Wilson, E.O. (ed). Biodiversity. National academic press. Washington, D.C. pp.123-129.
- Frank, A.B. 1885. Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze. Berichte der Deutsch Botanische Gesellschaft 3: 128-145
- Frei, J.K. 1973. Orchid ecology in a cloud forest in the mountains of Oaxaca, Mexico. Bulletin of the American Orchid Society 42:307–314.
- Frei, J.K. & C.H. Dodson. 1972. The chemical effect of certain bark substrates on the germination and early growth of epiphytic orchids. Bulletin of the Torrey Botanical Club 99:301–307.
- Freiberg, M. & E. Freiberg. 2000. Epiphyte diversity and biomass in the canopy of lowland montane forest in Ecuador. Journal of Tropical Ecology 16:673-688.
- Freiberg, M. 1997. The influence of epiphyte cover on branch temperature in tropical tree. Plant Ecology 153: 241-250.
- Freiberg, M. 1996. Spatial distribution of vascular epiphytes on three emergent canopy trees in French Guyana. Biotrópica 28:345-355.
- Gentry, A.H. & C.H. Dodson. 1987. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. Annals of the Missouri Botanical Garden 74: 205-233.
- Gradstein, S.R.; Nadkarni, N.M.; Krömer, T.; Holtz, I. & N. Nöske. 2003. A protocol for rapid and representative sampling of vascular and non-vascular epiphyte diversity of tropical rain forest. Selbyana 24: 105-111.

- Hadley, G. & B. Williamson. 1972. Features of mycorrhizal infection in some Malayan orchids. *New Phytologist*. 71: 1111-1118.
- Hadley, G. 1985. Mycorrhiza in tropical orchids, p. 154- 159 In A. N. Rao (ed). *Proceedings of the 5th Asian Orchid Congress Seminar*, Singapur. Parks and Recreation Department, Ministry of National Development. Singapur
- Hietz, P. 1997. Population dynamics of epiphytes in Mexican humid montane forest. *Journal of Tropical Ecology* 85: 767-775.
- Hietz-Seifert, U.; Hietz, P. & S. Guevara. 1996. Epiphyte vegetation and diversity on remnant trees after forest clearance in southern Veracruz, Mexico *Biological Conservation* 75: 103-111.
- Hietz P. & U. Hietz-Siefert. 1995. Intra and interspecific relations within an epiphyte community in a Mexican humid montane forest. *Selbyabna* 16: 135-140.
- Higuera D., Bernal R. & M.P. Balcazar. 2004. Diversidad y distribución vertical de epífitas vasculares en árboles de dosel de la isla Mocagua (Amazonas-Colombia). Universidad Nacional de Colombia.
- Honrubia, M. 2009. Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 66S1: 133-144.
- Honrubia, M.; Morte, A. & G. Díaz. 2002. Dinamismo del componente fúngico micorrícico y su incidencia en la regeneración del bosque mediterráneo. En: Charco, J. (coord.), *La regeneración natural del bosque mediterráneo en la península Ibérica: evaluación de problemas y propuesta de soluciones*. ARBA-MMA (eds.), ISBN 84-922095-5-0. Pp: 87-113.

- Jarman, S. & G. Kantillas. 1995. Epiphytes on an old Huon Pine tree
Lagarostrobos in Tasmania rainforest. New Zealand. Journal of Botany. 33:
65-78.
- Johansson D.R. 1974. Ecology of vascular epiphytes in West African rain forest.
Acta Phytogeographica Suecica 59: 1-136.
- Johansson D.R. 1975. Ecology of epiphytic orchids in Western African rain forest.
American Orchid society Bulletin 44:125-136.
- Kernan, C. & N. Fowler. 1995. Differential substrate use by the epiphytes in
Corcovado National Park, Costa Rica: a source of guild structure. Journal of
Ecology 83: 65-73.
- Kress, W.J. 1986. The systematic distribution of vascular epiphytes: an update.
Selbyana 9: 2-22.
- Leimbeck, R.M. & H. Balslev. 2001. Species richness and abundance of epiphytic
Araceae on adjacent floodplain and upland forest in Amazonian Ecuador.
Biodiversity and Conservation 10: 1579-1593.
- Lesica, P. & R. Antibus. 1990. The occurrence of mycorrhizae in vascular epiphytes
of two Costa Rican Rain Forest. Biotropica 22: 250-258.
- Madison, M. 1977. Vascular epiphytes: Their systematic occurrence and salient
features. Selbyana 2:1-13.
- Marchisio V.F.; Berta, G.; Fontana, A, & F. M. Mannina. 1985. Endophytes of
wild orchids native to Italy: their morphology, caryology, ultrastructure, and
cytochemical characterization New Phytologist. 100:623-641

- Nadkarni, N.M. 1994. Diversity of species and interactions in upper tree canopy of forest ecosystems. *American Zoologist* 34: 70-78.
- Nicolson T.H. 1975. Evolution of vesicular-arbuscular mycorrhizas. En: *Endomycorrhizas*. Eds FE Sanders, B Mosse, PB Tinker pp. 25–34. Academic Press, London, UK.
- Nieder J., Engwald, S. & W. Barthlott. 1999. Patterns of neotropical epiphyte diversity. *Selbyana* 20: 55-75.
- Otero J. T., J.D. Ackerman & P. Bayman. 2004. Differences in mycorrhizal preferences between two tropical orchids. *Molecular Ecology*. 113:2393-2404.
- Otero J. T., J.D. Ackerman & P. Bayman. 2002. Diversity and host specificity of endophytic Rhizoctonia-like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany* 89: 1852-1858.
- Parker G.G. 1995. Structure and microclimate of forest canopies p. 73-106. In M.Dm. Lowman & N.M. Nadkarni (eds.) *Forest canopies*. Academic press, San Diego.
- Pereira, O.L.; Rollemberg, C.L.; Borges, A.C.; Matsuoka, K. & M.C.M., Kasuya. 2003. *Epulorhiza epiphytica* sp. nov. isolated from mycorrhizal roots of epiphytic orchids in Brazil. *Mycoscience* 44: 153–155.
- Perry, D.R. 1978. A method of access into the crowns of emergent and canopy trees. *Biotrópica* 10: 155-157.
- Peterson, R.L.; Massicotte, H.B. & L.H. Melville. 2004. *Mycorrhizas: anatomy and cell biology*. NRC Research Press. Pp. 182.

- Peterson, R.L.; Uetake, Y. & C. Zelmer. 1998. Fungal symbioses with orchid protocorms. *Symbiosis*, 25: 29–55.
- Ramsay, R.R.; K. Sivasithamparam & K.W. Dixon. 1987. Anastomosis groups among Rhizoctonia like endophytic fungi in southwestern Australian *Pterostilis* species (Orchidaceae). *Lindleyana* 2: 161-166.
- Rasmusen, N. H. 2002 Recent developments in the study of orchid mycorrhiza; *Plant and soil* 244: 149–163.
- Rasmussen, H.N. 1995. Terrestrial orchids from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, Cambridge.
- Reissek, S. 1847. Über endophyten der pflanzenzelle. *Naturwissenschaften*, 1:31-46.
- Richardson, K. A.; R.S. Currah & S. Hambleton. 1993. Basidiomycetous endophytes from the roots of Neotropical epiphytic Orchidaceae. *Lindleyana* 8: 127-137.
- Rivas, M.; J., Warner & M. Bermúdez. 1998. Presencia de micorrizas en orquídeas de un jardín botánico neotropical. *Revista Biología Tropical*. 46(2): 1-3.
- Sanford, W. W. 1974. The ecology of orchids. In the orchids: scientific studies, ed. C.L. Withner. New York: John Wiley & Sons.
- Sharma J.; Zetizer W. L.; & V.J.W. Sambeek. 2003. A Survey of Mycobionts of Federally Threatened *Platanthera praeclara* (Orchidaceae), *Symbiosis* 34: 145-155

- Shaw, D. C. 2004. Vertical organization of canopy biota, p 73-101. In M.D. Lowman & H.B. Rinker (eds.). Forest canopies (second edition). Elsevier Academic, San Diego, California, EEUU.
- Smith, S. & D. Read. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. 3er Ed. Academic Press. ISBN 9780123705266. pp. 800.
- Smith, S.E. & D.J. Read. 1997. Mycorrhizal Symbiosis, 2nd edn. Academic Press, San Diego, California. pp 600.
- Suárez J. P. 2006. Diverse tulasnelloid fungi form mycorrhizas with epiphytic orchids in an Andean cloud forest. Elsevier. 1257-1270.
- Suárez J. P.; Weiß, M; Abele, A.; Oberwinkler, F. & I. Kottke. 2008. Members of Sebacinales subgroup B form mycorrhizae with epiphytic orchids in a neotropical mountain rain forest; Mycological progress. 2: 75-85
- Sulit, M.D. 1950. Field observation on tree hosts of orchids in the Philippines. Philippines Orchid Review. 5,16.
- Sulit, M. D. 1953. Field observations on tree hosts of orchids in Palawan. Philippines Orchid Review. 3: 3-8.
- Talbot, N. 2001. Molecular and Cellular Biology of Filamentous Fungi, Oxford Univ. Press, Oxford. pp. 33-46.
- Taylor, D. L., Bruns, T.M. Szaro & S.A. Hodges. 2003. Divergence in mycorrhizal specialization within *Hexalectris spicata* (Orchidaceae), a nonphotosynthetic desert orchid. American Journal of Botany 90:1168-1179.

- Ter Steege, H. & J.H.C. Cornelissen. 1989. Distribution and ecology of vascular epiphytes in lowland rain forest of Guyana. *Biotropica* 21(4): 331–339.
- Tsutsui, K. & M. Tomita. 1986. Symbiotic germination of *Spiranthes sinensis* Ames associated with some orchid endophytes. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.* 62: 440-452.
- Uetake, Y.; K. Kobayashi & A. Ogoshi. 1992. Ultrastructural changes during the symbiotic development of *Spiranthes sinensis* (Orchidaceae) protocorms associated with binucleate *Rhizoctonia anastomosis* group C. *Mycol. Res.* 96: 199-209.
- Trapnell, D.W., and J.L. Hamrick. 2006. Variety of phorophyte species colonized by the Neotropical epiphyte, *Laelia rubescens* (Orchidaceae). *Selbyana* 27:60-64.
- Tremblay, R. L.; Zimmerman J.K.; Lebrón, L.; Bayman, P.; Sastre, I.; Axelrod, F. & Alers-García, J. 2003. Host specificity and low reproductive success in the rare endemic Puerto Rican orchid *Lepanthes caritensis*. *Biological conservation* 85:297-304.
- Ulloa M. & T. R. Hanlim. 2002. *Illustrated Dictionary of Mycology*. Edit. The American Phytopathological Society; Tercera Impresión.
- Urcelay, C & S Díaz. 2003. The mycorrhizal dependence of subordinates determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant diversity. *Ecology Letters* 6:388-391.
- Warcup, J.H. & A. Talbot. 1967. Perfect states of *Rhizoctonias* associated with orchids. *New Phytologist*. 66: 631.

- Warcup, J.H. & A. Talbot. 1971. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids II. *New Phytologist*. 70: 35-40.
- Warcup, J.H. & A. Talbot. 1980. Perfect estates of Rhizoctonias associated with orchids.III. *New Phytologist*. 86: 267-272.
- Warcup, J.H. 1981. The mycorrhizal relationships of Australian orchids. *New Phytologist*. 87: 371-381.
- Warcup, J.H. 1985. *Rhizanthella gardneri* (Orchidaceae), its endophyte and close asociation with *Melalenca uncinata* (Myrtaceae) in Western Australia. *New Phytologist*. 70: 99-273-280
- Wolf, J.H.D. 1994. Factors controlling the distribution of vascular and non-vascular epiphytes in the northern Andes. *Vegetation* 112: 15-28.
- Yeaton, R. & D. Gladstone. 1982. The pattern of colonization of epiphytes on calabash trees (*Crecentia alata* H.B.K.) in Guanacaste Province, Costa Rica, *Biotrópica* 14 (2): 137-140.
- Yoder A. J. 2000. Water requirements of terrestrial and epiphytic orchid seeds and seedlings, and evidence for water uptake by means of mycotrophy. *Elsevier* 156: 145-150
- Zimmerman J.K. & I.C.Olmstead. 1992. Host tree utilization by vascular epiphytes in a seasonally inundated forest (Tintal) in Mexico. *Biotrópica* 24(3): 402-407.
- Zotz, G. & B. Vollrath. 2003. The epiphyte vegetation of the palm *Socrateaexorrhiza* – correlation with tree size, tree age and bryophyte cover. *Journal of Tropical Ecology* 19:81-90.