

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS

**ANATOMÍA, MORFO-FISIOLOGÍA Y ESTRUCTURA FOLIAR EN ESPECIES DE
ORQUÍDEAS EPÍFITAS Y TERRESTRES**

RAFAEL ARÉVALO BURBANO

Trabajo de grado presentado para optar al título de Magíster en Ciencias Biológicas

Director

SANTIAGO MADRIÑAN

Profesor Asociado

Laboratorio de Botánica & Sistemática

Universidad de los Andes

Co-director

PABLO STEVENSON

Profesor Asociado

CIEM

Universidad de los Andes

BOGOTÁ D.C.
DICIEMBRE 2006

“Too much too much Hypocrisy
can drive to Academy”

Manu Chau

TABLA DE CONTENIDO

Tabla de contenido	iii
Agradecimientos	v
Resumen	vi
Abstract	vii
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	ix
1. Introducción	1
2. Marco Teórico	2
2.1. Las Orquídeas como epífitas	2
2.2. Anatomía de las hojas	3
2.2.1. Epidermis	3
2.2.2. Mesofilo	4
2.2.3. Sistema vascular	5
2.3. Morfo-fisiología de las hojas	5
2.3.1. Suculencia	5
2.3.2. Esclerofilia	6
2.3.3. Transpiración	7
2.3.4. Conductancia epidérmica	7
2.3.5. CAM	8
2.4. Características estructurales de las hojas	9
2.4.1. Área específica de la hoja	9
2.4.2. Contenido de materia seca de la hoja	11
2.5. Las hojas en las orquídeas	12
2.5.1. Adaptaciones de las hojas	13
3. Objetivos	16
3.1. Objetivo general	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. Materiales y métodos	17
4.1. Área de estudio	17
4.2. Muestreo	18
4.2.1. Anatomía, morfo-fisiología y estructura	18
4.3. Procesamiento de la información	20
4.3.1. Colecciones botánicas	20
4.3.2. Análisis estadístico	20
5. Resultados	22
5.1. Anatomía general de las hojas	22
5.1.1. <i>Elleanthus aureus</i> (Figuras 1–6)	22
5.1.2. <i>Elleanthus oliganthus</i> (Figuras 7–12)	26
5.1.3. <i>Elleanthus purpureus</i> (Figuras 13–18)	26
5.1.4. <i>Pleurothallis cordifolia</i> (Figuras 19–24)	26
5.1.5. <i>Pleurothallis</i> sp. (Figuras 25–30)	28

5.2.	Caracteres anatómicos	29
5.3.	Caracteres morfo-fisiológicos	32
5.3.1.	Suculencia de la hoja	32
5.3.2.	Esclerofilia	33
5.3.3.	Contenido relativo de agua (24 horas).....	34
5.4.	Caracteres estructurales	34
5.4.1.	Área específica de la hoja (SLA).....	35
5.4.2.	Contenido de materia seca de la hoja (LDMC).....	36
5.5.	Análisis multivariado.....	36
6.	Discusión	42
7.	Conclusiones	45
8.	Literatura citada	47

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Fondo de Investigaciones de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes (Convocatoria 2006-1 para la Financiación de Proyectos de Investigación), y a la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República, por la financiación del proyecto del cual este trabajo de grado hace parte.

A la Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Nacionales Naturales por aprobar la realización de esta investigación en el Parque Nacional Natural Tatamá (Permiso de investigación No. DTNO – Tt- 001).

Al Profesor Santiago Madriñán, director del Laboratorio de Botánica y Sistemática, por su apoyo y confianza. Al Profesor Pablo Stevenson, por su acompañamiento a todo lo largo de este trabajo. Al Jefe de Programa Parque Nacional Natural Tatamá, Hugo Fernando Ballester Botero, por promover el desarrollo de este proyecto en el Parque Nacional Natural Tatamá.

A la Universidad de los Andes, por respaldar el proyecto ante la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología.

Un agradecimiento muy especial a la familia Tapasco de la vereda Monte Bello, por ofrecerme su hogar como alojamiento y por haberme acogido de manera tan cordial. A la familia Ledesma del Centro de Visitantes del Parque Municipal Natural Planes de San Rafael. A Rosa Inés Restrepo por su hospitalidad santuareña y por su amistad. A mi compañero de campo Alirio Tapasco, con quien compartí los mejores momentos de este trabajo: buscando orquídeas. Gracias también a todos aquellos que hicieron de la fase de campo una temporada tan agradable, especialmente a Leopoldina Tapasco, Hausman Tapasco, Gleison Tapasco, los abuelos Tapasco, Ovidio Ledesma, Oscar Laverde y Juliana Agudelo.

Igualmente deseo agradecer a todos los botánicos y especialistas que me colaboraron o asesoraron en la concepción o durante el desarrollo de este proyecto: Julio Betancur, Gerhard Zotz, Arend Job de Wilde, Oscar Ramos y Sylvie Cournier. Gracias también a los compañeros del Laboratorio de Botánica y Sistemática de la Universidad de los Andes.

Finalmente quiero agradecer a mi familia por su apoyo incondicional, especialmente a Elsa y a Esteban; y como siempre, a mi abuela Abigail.

RESUMEN

Existen varias modificaciones estructurales y adaptaciones fisiológicas que están relacionados con la expresión y surgimiento del epifitismo dentro de las Orchidaceae. Con la escasez de agua como la limitante abiótica más relevante para el crecimiento y funcionamiento de las epífitas vasculares, sus hojas, cuyo funcionamiento involucra una pérdida de agua inevitable, generalmente poseen modificaciones especiales en su anatomía, fisiología y morfología, particularmente en la orquídeas. Para contribuir al entendimiento de las capacidades adaptativas de las orquídeas, se analizó la variación de algunas características foliares—como grosor de la lámina y de las cutículas, esclerofilia, succulencia, retención de agua después de 24 horas, área específica y contenido de materia seca—en especies de orquídeas capaces de desarrollarse como plantas terrestres y como epífitas en un bosque húmedo de montaña. El estudio, que se llevó a cabo en selvas subandinas (1750–2500 m de alt.) del sector norte Parque Nacional Natural Tatamá, incluyó cinco especies de orquídeas: *Elleanthus aureus* (P. & E.) Rchb. f., *Elleanthus oliganthus* (P. & E.) Rchb. f., *Elleanthus purpureus* (Rchb. f.) Rchb. f., *Pleurothallis cordifolia* Rchb. f. & Wagener y *Pleurothallis* sp.. Los resultados mostraron una tendencia inesperada, en la que los individuos terrestres presentaron características propias de ambientes con baja disponibilidad de agua y poco productivos, mientras las epífitas mostraron un crecimiento asociado a ambientes productivos. Utilizando un análisis de componentes principales, dos especies—*Pleurothallis cordifolia* y *Pleurothallis* sp.—presentaron diferencias significativas entre sus individuos terrestres y epífitos, mostrando tener la capacidad de variar su estrategia de crecimiento de acuerdo al medio en el que se desarrollan. Al exhibir esta flexibilidad para desarrollarse de una forma u otra dependiendo de las circunstancias en que se encuentran, plantas como estas, están exhibiendo un comportamiento adaptativo. Sin embargo, este comportamiento no resulta ser necesario ya que las otras especies puedan desarrollarse como epífitas o terrestres sin presentar variaciones a nivel foliar.

Palabras clave: Orchidaceae, epifitas, anatomía, fisiología, estructura foliar, plasticidad

ABSTRACT

Various structural modifications and physiological adaptations are related with the expression and emergence of epiphytism in the Orchidaceae. Their leaves, whose main function involves an obligatory loss of water, usually possess special modifications in their anatomy, physiology and morphology to reduce the loss of water. To contribute toward the understanding of the adaptive capacities of orchids, we analyzed the variation of foliar characteristics—as leaf and cuticles thickness, sclerophylly, succulence, water retention after 24 hours, specific leaf area and leaf dry matter content—in orchid species capable of developing as terrestrial plants and as epiphytes in a humid montane forest. The study was developed in the subandean forests (1750–2500 m of alt) of the Municipio of Pueblo Rico, Risaralda, and included five species of orchids: *Elleanthus aureus* (P. & E.) Rchb. f., *Elleanthus oliganthus* (P. & E.) Rchb. f., *Elleanthus purpureus* (Rchb. f.) Rchb. f., *Pleurothallis cordifolia* Rchb. f. & Wagener and *Pleurothallis* sp. Three of these species (*Elleanthus oliganthus*, *E. purpureus* y *Pleurothallis* sp.), presented significant differences in their foliar characteristics between its terrestrial and epiphyte individuals, demonstrating a capacity to change their growth strategy. When plants exhibit this flexibility to develop in one way versus another, depending on the circumstances they encounter, they are behaving adaptively. However, this plasticity isn't necessary, since the other species can develop as epiphytes or terrestrial plants without varying their foliar characteristics and growth strategies.

Key words: Orchidaceae, epiphytism, leaf anatomy, leaf physiology, leaf structure, leaf plasticity

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Especies de orquídeas que se encontraron creciendo como epífitas y terrestres en una selva subandina del sector norte del Parque Nacional Natural Tatamá.	22
Tabla 2. Caracteres anatómicos de las hojas de individuos epífitos y terrestres de cinco especies de orquídeas del sector norte del Parque Nacional Natural Tatamá.	31
Tabla 3. Resultados del análisis de componentes principales (PCA) realizado con ocho características foliares de individuos terrestres y epífitos de cinco especies de orquídeas del sector norte del Parque Nacional Natural Tatamá.	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras 1–6. <i>Elleanthus aureus</i> (P. & E.) Rchb. f.	23
Figuras 7–12. <i>Elleanthus oliganthus</i> (P. & E.) Rchb. f.	24
Figuras 13–18. <i>Elleanthus purpureus</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	25
Figuras 19–24. <i>Pleurothallis cordifolia</i> Rchb. f. & Wagener.	27
Figuras 25–30. <i>Pleurothallis</i> sp.	29
Figura 31. Suculencia de las hojas en individuos terrestres y epífitos, de cinco especies de orquídeas en una selva subandina del PNN Tatamá.	32
Figura 32. Índice de esclerofilia de las hojas en individuos terrestres y epífitos de seis especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá.	33
Figura 33. Contenido relativo de agua en las hojas, después de 24 horas bajo condiciones ambiente, en individuos terrestres y epífitos, de cinco especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá.	34
Figura 34. Área específica de las hojas de individuos terrestres (barras negras) y epífitos (barras blancas), en cinco especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá.	35
Figura 35. Contenido de materia seca en las hojas de individuos terrestres (barras negras) y epífitos (barras blancas), en seis especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá.	36
Figura 36. Análisis de componentes principales de cinco especies de orquídeas con individuos terrestres y epífitos, ordenados de acuerdo a ocho características foliares (grosor de la hoja, grosor de la cutícula adaxial, grosor de la cutícula abaxial, suculencia, esclerofilia, contenido relativo de agua después de 24 h, área específica de la hoja y contenido de materia seca).	37
Figura 37. Diagrama de cajas para los valores del primer componente de un análisis de componentes principales en individuos terrestres y epífitos de cinco especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá.	39
Figura 38. Diagrama de cajas para los valores del segundo componente principal de un análisis de componentes principales en individuos terrestres y epífitos de cinco especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá.	40

1. INTRODUCCIÓN

Las epífitas se definen como plantas que crecen sobre otras plantas, y pueden llegar a ser localmente abundantes y altamente diversas (Benzing 1990). Ocurren desde la base de los árboles hasta la periferia del dosel, en un biótopo epífita generalmente heterogéneo e irregular (Benzing et al. 1983, Bennet 1986, Laube & Zotz 2006). Esta variación en los sitios de crecimiento de las plantas epífitas, además de los numerosos y diferentes tipos de vegetación que no son habitados por las epífitas, hacen difícil definir de manera simple el 'hábito epífita', y las limitantes ambientales impuestas sobre la flora que habita el dosel (Zotz & Hietz 2001).

Se estima que aproximadamente el 10% de todas las especies de plantas vasculares existentes son epífitas (Gentry & Dodson 1987a, Kress 1989), y que de las familias de plantas vasculares con representación epífita, las Orchidaceae son el grupo más diverso (Kress 1986). Teniendo en cuenta que dos tercios de todas las epífitas vasculares pertenecen a esta familia y que cerca del 75% de sus especies exhiben esta forma de vida (Atwood 1986, Benzing 1986), resulta importante conocer y estudiar las adaptaciones y los procesos evolutivos que les han permitido diversificarse de manera tan extraordinaria. Al analizar algunas características anatómicas, fisiológicas y estructurales en orquídeas epífitas y terrestres se puede aportar información sobre las posibles relaciones de estos caracteres, su importancia en la expresión del epifitismo y como están utilizando las plantas los recursos que les brinda el medio ambiente.

En este trabajo se examinan algunos caracteres anatómicos, fisiológicos y estructurales de las hojas en especies de orquídeas capaces de desarrollarse como epífitas y como plantas terrestres en bosque húmedo de montaña. Además de contribuir al conocimiento sobre la anatomía, fisiología y estructura de las hojas en estas especies de orquídeas, también se explora la variabilidad de estos caracteres, sus posibles relaciones y su valor adaptativo.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Las Orquídeas como epífitas

La familia Orchidaceae es una de las familias de plantas con flor más diversa y ampliamente distribuida. Con cerca de 25,000 especies agrupadas en cinco subfamilias (Dressler 1993, Govaerts et al. 2003), las orquídeas ocurren casi a todo largo y ancho del planeta, desde Suecia y Alaska, hasta Tierra del Fuego y las islas Macquarie (Dressler 1981). Al igual que otros grupos de plantas, las orquídeas son mucho más diversas en el cinturón tropical que en las zonas templadas, aunque en los trópicos su distribución varía ampliamente entre continentes y entre regiones. Los bosques tropicales húmedos de montaña en Meso- y Sur América, y partes de Australasia, albergan la mayor cantidad de orquídeas (Benzing 1986), particularmente en los Andes de Colombia y Ecuador. Considerados los lugares más ricos del planeta en especies de orquídeas, estos bosques hospedan aproximadamente $\frac{1}{4}$ de todas las especies conocidas (Cribb et al. 2003). En ellos se presenta una gran diversidad y abundancia de epífitas, en donde las orquídeas son generalmente el grupo más rico (Bøgh 1992, Catchpole 2004, Gentry & Dodson 1987b, Küper *et al.* 2004).

Existen varias modificaciones estructurales y adaptaciones fisiológicas que están relacionadas con la expresión y surgimiento del epifitismo dentro de las Orchidaceae. Estas incluyen el patrón de crecimiento, la ocurrencia de pseudobulbos o engrosamientos en el tallo, la disposición de las hojas, su morfología y anatomía, la anatomía particular de sus raíces (exodermis y velamen), y la forma de fotosíntesis conocida como metabolismo ácido crasuláceo —CAM, por sus siglas en inglés— (Benzing & Ott 1981, Benzing *et al.* 1983, Benzing & Atwood 1984, Benzing 1989, Dressler 1981, Benzing 1990, Sinclair 1990). La interacción de estos caracteres y mecanismos, junto con las características reproductivas únicas que presentan las orquídeas, como la gran cantidad de semillas diminutas adaptadas a la dispersión por viento (microspermia), la relación simbiótica con micorrizas para la germinación (micotrofia), y la estructura floral

modificada (con labelo, columna, polinios y resupinación) para polinizadores específicos, les han permitido a las orquídeas acceder a los diferentes estratos del dosel y distribuirse a todo lo largo del gradiente vertical de los bosques (Benzing & Atwood 1984, Benzing 1986, Goh & Kluge 1989).

Se ha argumentado que la limitante abiótica más relevante para el crecimiento y funcionamiento vegetativo de la epífitas vasculares es la escasez de agua (Zotz & Hietz 2001), por lo que otros factores, como la disponibilidad de nutrientes o la irradiación, son considerados de menor importancia. Las hojas, el lugar principal en donde ocurre la fotosíntesis, deben tener un intercambio gaseoso adecuado con el aire circundante, lo que implica una pérdida de agua inevitable. Es de esperarse que cualquier planta sujeta a escasez de agua, posea modificaciones en la morfología, anatomía y fisiología de sus hojas, y que la estructura de estas refleje la respuesta de la planta a los recursos capturados.

2.2. Anatomía de las hojas

En las orquídeas, al igual que en otras plantas, las hojas están compuestas de tres tipos de tejidos: epidermis, mesofilo, y tejidos vasculares.

2.2.1. Epidermis

En las orquídeas, la epidermis es compacta, puede exhibir distintos tipos de engrosamiento en sus paredes (total, radial, o tangencial), y esta cubierta por una cutícula que reduce la pérdida de agua. El grosor de esta cutícula parece estar fuertemente influenciado por la exposición al sol, así, especies de orquídeas que crecen más expuestas al sol tienden a exhibir una cutícula más gruesa en ambas caras de sus hojas que especies que crecen en lugares sombreados (Oliveira & Sajo 1999). La epidermis superior de la hoja suele tener células más grandes que las células de la epidermis inferior (Stern & Judd 2002). Adicionalmente, en algunos grupos de orquídeas se pueden encontrar diferentes tipos de tricomas (Pridgeon 1981), relieves glandulares (Pridgeon 1982) u ornamentaciones cuticulares (Zanenga-Godoy & Gonçalves 2003).

Aunque los estomas pueden ocurrir en ambas caras de una hoja, en las orquídeas están generalmente confinados a la superficie inferior (Rasmussen 1987). Los estomas y sus células guardia pueden estar acompañados por dos o más células subsidiarias, y la presencia o ausencia de estas, así como su desarrollo en relación con las células guardia, han sido caracteres utilizados en la clasificación de las orquídeas (Dressler 1981).

2.2.2. Mesofilo

El mesofilo está normalmente diferenciado en parénquima de empalizada y parénquima esponjoso (Fahn 1990), pero algunas veces puede estar indiferenciado. Las células del tejido de empalizada son columnares y están dispuestas con su eje más largo orientado en ángulo recto con la epidermis (anticlinales). El parénquima esponjoso está compuesto por células irregulares, con grandes espacios intercelulares y generalmente se encuentra en el lado inferior u abaxial de la hoja. El parénquima de empalizada está localizado usualmente en el lado superior de las hojas, pero también suele ocurrir en ambos lados de la hoja. Los cloroplastos son más numerosos en las células del parénquima de empalizada, por lo que la mayoría de la fotosíntesis que se lleva a cabo en la hoja, aparentemente se lleva a cabo dentro de este parénquima. Algunas especies de orquídeas poseen células grandes, sin citoplasma y con paredes engrosadas esparcidas por el mesofilo que se conocen como idioblastos (Pridgeon 1986, Oliveira & Sajo 1999). Estas células pueden presentar engrosamientos anulares o helicoidales (idioblastos traqueidales), engrosamientos fibrosos gruesos (idioblastos fibrosos), estar llenas de mucílago (idioblastos mucilaginosos) o contener rafidios de oxalato de calcio.

A veces se presenta una capa celular entre la epidermis adaxial y el tejido de empalizada denominada hipodermis, frecuente en hojas crasas y esclerofilas. Esta capa celular consiste de células vivas del parénquima, de paredes delgadas o engrosadas, con una capa delgada de citoplasma y una vacuola muy grande que usualmente está llena de agua, pero ocasionalmente de mucílago (Pridgeon 1982). En las orquídeas también puede presentarse una hipodermis abaxial uniseriada, mientras la adaxial puede variar de una o dos células de grosor, hasta muchas veces el grosor del tejido fotosintético (Stern & Judd 2002, Yukawa & Stern 2002, Stern & Carlswald 2006).

2.2.3. Sistema vascular

La mayoría de haces vasculares corren paralelos al eje longitudinal de la hoja, con venas grandes alternándose con las pequeñas y en algunas especies se presenta una vena media prominente (Oliveira & Sajo 1999). Las venas tienen una estructura que consiste de xilema, floema, vainas vasculares y extensiones esclerenquimatosas de las vainas vasculares, importantes para el soporte y la presión de turgencia (Mauseth 1988).

En las orquídeas epífitas, las hojas presentan un refuerzo que puede darse de dos formas (Mauseth 1988): mediante la ocurrencia de haces fibrosos hacia las partes externas de la hoja, donde proveen mayor cantidad de soporte y defensa; o mediante la ocurrencia de haces fibrovasculares y esclerenquimatosos alrededor de los haces vasculares y que pueden constar de varias capas. En las orquídeas también se presentan células que cubren la superficie de los haces vasculares denominadas estégmatos, notables por tener corpúsculos silíceos (Carlsward 2006).

2.3. Morfo-fisiología de las hojas

2.3.1. Suculencia

Puesto que el biotopo epífito está caracterizado por periodos frecuentes de escasez de agua y nutrientes, la presencia de órganos carnosos en raíces, tallos u hojas le confiere a las epífitas mayor habilidad para sobrevivir y crecer en estos ambientes hostiles. El carácter más común entre las orquídeas epífitas es la presencia de tejidos de almacenamiento de agua, lo que las hace más o menos suculentas. En las orquídeas, la suculencia concierne primordialmente al tallo y la hoja.

En muchos casos, la suculencia de las hojas se debe al tejido de almacenamiento de agua de las células fotosintéticamente activas del mesofilo (Goh & Kluge 1989). Esta suculencia sirve como reserva de agua para la obtención de CO₂ durante la acumulación nocturna de ácidos (Fu & Hew 1982, Lüttge 2004), por lo que la suculencia y la expresión de CAM están normalmente correlacionadas. Sin embargo, algunas orquídeas epífitas son la excepción, sus hojas pueden tener una hipodermis adaxial grande que puede ocupar hasta el 80% del volumen de la hoja, lo que no es muy buen indicador de CAM (Benzing 1990).

De otro lado, se ha encontrado que el contenido de agua de la hoja está correlacionado positivamente al volumen de protoplasma en la hoja y negativamente correlacionado a la proporción de paredes celulares (Garnier y Laurent 1994). Esto implica que la productividad y la tasa de crecimiento pueden estar correlacionadas positivamente con la cantidad de agua en una hoja.

2.3.2. Esclerofilia

La textura de las hojas puede variar considerablemente entre especies, y puede caracterizar a diferentes tipos o estratos de vegetación. Esclerofilia quiere decir ‘hojadura’ y se han utilizado términos como ‘fuertes’, ‘duras’, ‘resistentes’ y ‘coriáceas’ para describir este tipo de hojas (Font Quer 1985).

La anatomía típica de las esclerofilas se caracteriza por poseer una cutícula gruesa, paredes epidérmicas externas gruesas, y lignificación abundante en los haces vasculares y márgenes de las hojas (Choong et al. 1992, Turner 1994). Las esclerofilas suelen ser pequeñas y gruesas, poseer bajas concentraciones de elementos nutricionales importantes como nitrógeno, fósforo y calcio, y exhibir, generalmente, una vida prolongada (Turner 1994).

La esclerofilia es considerada como un complejo de características mecánicas asociadas, con propiedades que pueden influenciar tanto en la resistencia a déficits de agua y la tolerancia a suelos pobres en nutrientes, como en promover la longevidad de la hoja por medio de la protección (Choong et al. 1992, Read & Sanson 2003). En las orquídeas la esclerofilia está correlacionada con el grosor de la lámina, pero este aumento en el grosor puede estar relacionado con un aumento en el grosor del mesófilo esponjoso, o con la presencia de hipodermis. Sin embargo, el engrosamiento y la alta concentración de materiales estructurales hacen que las esclerofilas tengan una área específica de la hoja (SLA, una medida del área proyectada de la hojas por unidad de masa seca) baja, y se ha encontrado que el peso específico de la hoja (el inverso de SLA) está correlacionado positivamente con su longevidad (Choong et al. 1992, Turner 1994, Reich et al. 1991).

2.3.3. Transpiración

La transpiración en las plantas puede ser externa o interna. La transpiración externa ocurre vía la epidermis cutinizada (transpiración cuticular) y las superficies suberinizadas (transpiración peridérmica), y en la interna, el agua se evapora de la superficie de las células que bordean los espacios intercelulares para después escapar por los estomas (transpiración estomatal). La transpiración de las hojas se puede ver afectada por varios factores externos, como la humedad atmosférica, la temperatura del ambiente, la irradiación y hasta el viento (Larcher 2003).

Las orquídeas epífitas usualmente transpiran despacio, posiblemente mucho más despacio que los árboles sobre los que crecen (Sinclair 1990). Aquellas que crecen en sitios fríos y húmedos pueden transpirar rápidamente cuando hay agua disponible y responder a las temporadas de sequías mediante la pérdida de hojas; otras restringen rápidamente la pérdida de agua apenas la disponibilidad comienza a disminuir, y pueden persistir por periodos largos perdiendo agua muy despacio, y otras parecen tener bajas tasas de transpiración diaria todo el tiempo (Sinclair 1990).

2.3.4. Conductancia epidérmica

La habilidad de una planta para restringir la pérdida de agua a través de la superficie de las hojas incrementa la conservación de agua y por ende, puede contribuir a la supervivencia de la planta cuando hay baja disponibilidad de agua (Holbrook & Sinclair 1992). Una vez los estomas se encuentran cerrados o en su mínima apertura, la pérdida de agua es regulada por la conductancia epidérmica, que depende de la ‘transpiración periestomatal’ o pérdida de agua a través de las células guardianas de los estomas (Muchow & Sinclair 1989). Esta pérdida de agua ocurre a través de orificios en las paredes celulares externas de las células guardianas y subsidiarias, por lo que la conductancia epidérmica puede estar relacionada con la densidad de estomas y la cantidad y estructura de la cera epicuticular (Muchow & Sinclair 1989, Araus et al. 1991).

Una baja conductancia epidérmica aumenta la capacidad de una planta para resistir ambientes secos y podría ser muy útil en ambientes donde la capacidad de conservar agua es importante para sobrevivir, como lo es el hábito epífito.

2.3.5. CAM

La gran mayoría de orquídeas epífitas comparte junto con las Cactaceae, Crassulaceae y otras suculentas, el método de fijación de carbono conocido como Metabolismo Ácido Crasulaceo (CAM, por sus siglas en inglés), altamente efectivo en la conservación de agua. En estas plantas, el CO₂ se difunde hacia la hoja y es fijado en ácidos orgánicos durante la noche, cuando las temperaturas son bajas y la humedad atmosférica es más alta, minimizando así la pérdida de agua por transpiración. Durante el día los estomas permanecen cerrados la mayor parte del tiempo, restringiendo la pérdida de agua. La fotosíntesis se lleva a cabo por la vía normal utilizando el CO₂ liberado internamente por el rompimiento de los ácidos orgánicos almacenados durante la noche (Salisbury & Ross 1991). Adicionalmente, las epífitas se benefician al fijar el dióxido de carbono en la noche, puesto que el dosel del bosque lo está produciendo (Benzing 1989).

Aquellas orquídeas que presentan CAM tienen hojas gruesas, suculentas, células fotosintéticas con grandes vacuolas (en donde se almacena la savia celular ácida), una tasa ¹³C:¹²C similar a la de las plantas C₄ (en lugar de C₃), y un ritmo estomático invertido, donde los estomas se abren de noche y se cierran durante el día (Goh & Kluge 1989). Es esta inversión del ritmo estomático normal lo que permite a las plantas CAM ser tolerantes a la sequía (Sinclair 1990).

El significado ecológico del tipo de fotosíntesis CAM es amplio, ha evolucionado en especies que se han adaptado a hábitats secos, y también constituye una adaptación para el biotopo epífito. El metabolismo CAM está ampliamente distribuido entre las orquídeas (Winter & Smith 1996), y ambas vías fotosintéticas, C₃ y CAM, pueden encontrarse en diferentes especies dentro del mismo género (Sinclair 1990).

En general, las orquídeas de hojas gruesas exhiben CAM, mientras que las de hojas delgadas no (Goh & Kluge 1989). Sin embargo, CAM se presenta sólo en aquellas orquídeas de hojas suculentas donde la succulencia se debe a un mesofilo fotosintético acumulador de agua más o menos homogéneo, mientras que en aquellas orquídeas en donde el mesofilo fotosintético no almacena agua y la succulencia se debe a tejidos externos o internos, no-fotosintéticos y acumuladores de agua, es probable que no se lleve a cabo fotosíntesis CAM (Kluge & Ting 1978).

2.4. Características estructurales de las hojas

2.4.1. Área específica de la hoja

El área específica de la hoja (SLA, por sus siglas en inglés), es el área proyectada de una hoja fresca dividida por su peso seco (Cornelissen et al. 2003). SLA esta relacionada con características morfológicas, químicas y metabólicas de la hoja, que conjuntamente afectan a la ecología de la planta (Reich 1993, Garnier et al. 1999, Reich et al. 1999). Es considerada una variable importante en ecología comparada de plantas puesto que está involucrada en varios aspectos funcionales como el intercambio gaseoso, la tasa de crecimiento relativo y la supervivencia (Shipley 1995, Reich et al. 1992, Reich et al. 1997).

La ganancia potencial de carbono (fotosíntesis) y la pérdida de carbono (respiración) en una hoja, aumentan de manera proporcional al aumento en el área superficial de la hoja (Reich et al. 1997), al aumento de la concentración de nitrógeno en la hoja (Garnier et al. 1999), y a la disminución en el tiempo de vida de la hoja (Reich et al. 1992). Existe una interdependencia funcional entre fotosíntesis, estructura, contenido de nitrógeno y tiempo de vida de la hoja que es independiente del ecosistema o tipo de bioma (Reich 1993, Reich et al. 1999). Se ha podido establecer que variaciones en la estructura de la hoja, usualmente cuantificada usando SLA, están relacionadas con patrones de variación en las relaciones fotosíntesis–nitrógeno; especies con alta SLA generalmente tienen mayor cantidad de nitrógeno en masa y mayor capacidad fotosintética neta (Reich et al. 1992, Reich et al. 1997). Sin importar el bioma, la capacidad fotosintética neta (basada en masa) y la cantidad de nitrógeno en la hojas tienden a estar correlacionadas positivamente entre si, y ambas, están correlacionadas positivamente con SLA; pero estas tres características disminuyen con un aumento en el tiempo de vida de la hoja. Estas relaciones son universales en el sentido amplio, desde la escala continental a la global (Reich et al. 1992, Reich 1993, Reich et al. 1997, Reich et al. 1998, Reich et al. 1999).

Por definición, las variaciones en SLA se deben a la variación natural en el grosor y en la densidad (Garnier & Laurent 1994), por lo que las hojas tendrán una SLA pequeña si son más densas (mayor masa por volumen) o gruesas. La capacidad fotosintética neta

cambia en relación con SLA puesto que una disminución en SLA (mayor masa por volumen), conlleva a una asignación de biomasa a componentes estructurales de la hoja en vez de componentes metabólicos (Reich et al. 1998). Este patrón conlleva a que la respuesta de la capacidad fotosintética neta a la variación en el contenido de nitrógeno en la hoja sea modulada por la estructura de la hoja. Hojas más gruesas y/o densas tendrán menor capacidad fotosintética neta por unidad de nitrógeno y cambios más pequeños en la capacidad fotosintética neta por unidad de nitrógeno (Reich & Walters 1994). Por su parte, las especies con una alta SLA tendrán una capacidad fotosintética neta alta por unidad de nitrógeno en la hoja, y la variación de la capacidad fotosintética neta por unidad de nitrógeno será mayor que en aquellas con SLA más bajos.

En síntesis, para maximizar la capacidad fotosintética neta se requiere hojas delgadas (alta SLA) con concentraciones altas de nitrógeno, mientras que para maximizar la persistencia se requiere hojas más gruesas/densas y tejido físicamente robusto que sea resistente a factores externos, como el clima, la caída de debris y los herbívoros, entre otros. Por ende, estos dos atributos, capacidad fotosintética neta y tiempo de vida, pueden llegar a ser mutuamente excluyentes.

Shipley (1995) encontró que el factor más directamente relacionado con el área específica de la hoja era el contenido de agua de la hoja, un mayor contenido de agua implica una mayor área específica. Cualquier atributo que disminuya el peso seco de la hoja independientemente del área superficial de la hoja, aumentará el área específica de la hoja. La variable más importante que afecta el peso seco de la hoja es la cantidad de agua en los tejidos de la hoja. Por lo tanto, plantas con mayor cantidad de agua en sus hojas pueden mantener una mayor área superficial por hoja y una mayor cantidad de luz interceptada por hoja con una menor inversión en biomasa. Esto le permite a las plantas asignar más carbón a otras partes de la planta, pero sus hojas, que tienen una presión de turgencia más alta, pueden requerir concentraciones nutricionales más altas (Shipley 1995). Por lo tanto, una SLA alta implica que las hojas son más baratas en cuanto a biomasa, con pocas células grandes cuyo volumen se mantiene más por turgencia que por paredes duras.

La variación de las características de la hoja entre especies esta relacionada fuertemente con propiedades de la planta y del ecosistema. Reich et al. (1997) plantea

que estas relaciones, muy probablemente son una consecuencia de las estrategias de crecimiento de la planta (crecimiento rápido vs. crecimiento lento). SLA resulta importante en el crecimiento porque conlleva a una mayor área expuesta de la hoja por unidad de masa invertida (eficiencia en la captura de luz) y una alta capacidad fotosintética. En consecuencia, la productividad instantánea de una hoja y la tasa de crecimiento potencial de toda una planta son directamente proporcionales a SLA.

SLA, junto con otras características de la hojas, es un factor importante que contribuye a la regulación en la planta de la fotosíntesis, crecimiento y productividad a niveles que van desde la hoja hasta el ecosistema. Las variaciones que se encuentran a nivel de SLA, también están relacionadas a los microambientes de un lugar y las diferencias grandes en SLA ocurren entre lugares para cualquier tiempo de vida dado (Reich et al. 1999). Por ende, SLA es una de las características que nos permite conocer acerca de la productividad, distribución y dinámica de la vegetación a distintos niveles, y poder clasificar a las especies según sus funciones (Lavorel et al. 1997, Wilson et al. 1999, Westoby et al. 2002).

2.4.2. Contenido de materia seca de la hoja

Como se vio anteriormente, SLA es uno de los indicadores que puede reflejar la respuesta de la planta a los recursos capturados: hojas con una alta SLA son más productivas, de vida corta y más vulnerables a herbívoros, por lo que es de esperar que funcionen mejor en ambientes ricos en recursos; mientras hojas con baja SLA funcionan mejor en ambientes pobres en recursos, donde la retención de los recursos capturados es una prioridad más alta. La particularidad de SLA, además de no poder ser medida con exactitud en todos los tipos de hojas, es que puede variar debido a diferencias tanto en la composición del tejido, como en el grosor de la hoja. La variación en SLA también puede ser causada por la variabilidad ambiental, ya sea temporal y/o espacial (Wilson et al. 1999).

Otra característica que sirve como buen indicador del uso de recursos de la planta y que no requiere ninguna medida de área además de ser independiente del grosor de la hoja, es el contenido de materia seca de la hoja (LDMC por sus siglas en inglés). Se asume que LDMC (masa seca de la hoja por unidad de masa fresca de la hoja), es un

buen estimativo de la concentración de materia seca de la hoja, puesto que está relacionada con la densidad promedio de los tejidos de la hoja (Shipley & Vu 2001, Cornelissen et al. 2003).

LDMC supone que la variación en la composición de la hoja es una derivación importante de la captura y uso de recursos (Wilson et al. 1999). Se ha demostrado que el contenido de materia seca se correlaciona positivamente con el tiempo de vida de la hoja y negativamente con la tasa de crecimiento potencial (Ryser 1996). Las hojas con un alto LDMC tienden a ser relativamente fuertes y por lo tanto, se asume que son más resistentes a daños físicos (*i.e.* herbivoría, viento, heladas, granizo). Aquellas especies con bajo LDMC tienden a estar asociadas con productividad, y generalmente a ambientes altamente perturbados (Cornelissen et al. 2003).

En conclusión, SLA y LDMC son características de la planta que expresan significativamente las diferencias en el comportamiento ecológico entre especies de plantas. Reflejan el balance (*trade-off*) en el funcionamiento de la planta (Garnier et al. 2001a); entre una producción rápida de biomasa (especies con alta SLA, baja LDMC), y una utilización y conservación eficiente de los nutrientes, que se ve reflejada en un crecimiento lento y en una mayor longevidad de las hojas (especies con baja SLA, alta LDMC).

2.5. Las hojas en las orquídeas

Según Withner et al. (en Sinclair 1990), las hojas de las orquídeas se han diferenciado en dos categorías: las plicadas o acostilladas, y las coriáceas; que a su vez se subdividen en tres tipos, suaves, duras y carnosas. Las hojas plicadas son delgadas, membranosas y a veces deciduas, tienen poca capacidad de almacenamiento de agua y rara vez tienen tricomas; en este tipo de hojas el grosor de la cutícula puede variar según el hábitat y la exposición al sol. Por su parte, las hojas coriáceas son más rígidas, gruesas, no presentan venas prominentes y la cutícula es más gruesa y cerosa.

Las orquídeas con hojas coriáceas son un grupo más diverso. Las hojas coriáceas suaves son endurecidas por la cutícula y las paredes engrosadas de las células epidérmicas, no hay una lignificación interna extensiva y las cutículas son usualmente

más gruesas en la superficie adaxial. Las células del mesofilo usualmente contienen menos cloroplastos que las de las hojas plicadas delgadas y en algunas especies pueden estar agrandadas para el almacenamiento de agua.

En las hojas coriáceas duras, la cutícula es usualmente gruesa y pesada y las células epidérmicas pueden tener paredes celulares externas más gruesas. También se puede encontrar haces de fibras lignificadas que atraviesan el tejido del mesofilo o forman capas de cera cerca de la superficie de la hoja, lo que fortalece enormemente a la hoja y al parecer también forma barreras de protección entre el tejido del mesofilo y el medio ambiente externo. Estas hojas son generalmente alargadas y con una forma conduplicada pronunciada (en forma de “v”). La mayoría de especies con este tipo de hojas, son epífitas y aunque en este tipo de hojas se puede encontrar mesofilo de almacenamiento de agua, este está más extensamente desarrollado en las hojas carnosas.

Las hojas coriáceas carnosas, tienen cutículas gruesas, así como células epidérmicas con paredes gruesas, pero hay menos lignificación en el mesofilo, parte del cual está modificado en tejido de almacenamiento de agua. Aunque las hojas coriáceas suaves y carnosas pueden almacenar cantidades significativas de agua, usualmente no se encuentran en los sitios más secos (Sinclair 1990). El tipo de hoja coriácea dura es el más resistente, la cutícula bastante gruesa y la epidermis de paredes gruesas junto con la lignificación extensiva, ofrecen una excelente protección contra la desecación y soporte para las hojas durante los periodos de sequía.

La diferenciación entre hojas delgadas y gruesas también tiene un significado fisiológico, ya que en la mayoría de los casos, las hojas gruesas presentan metabolismo ácido crasuláceo (CAM) y muchas orquídeas de hojas delgadas muestran fotosíntesis C_3 (Sinclair 1990).

2.5.1. Adaptaciones de las hojas

En las orquídeas, las adaptaciones de las hojas para tolerar sequías incluyen: (1) reducción de la transpiración, (2) almacenamiento de agua, (3) retención de agua lluvia o condensada, y (4) absorción de agua como líquido o vapor (Sinclair 1990).

Dentro de los caracteres de las hojas que pueden reducir la pérdida de agua se incluyen: tamaño, forma, grosor de la cutícula, densidad y distribución de estomas,

presencia y estructura de pelos superficiales y el hecho de ser deciduas. Generalmente, el grosor de la cutícula puede aumentar en respuesta a un aumento en la exposición, aunque también está parcialmente determinado genéticamente (Pridgeon 1982). Al parecer, el engrosamiento de las paredes epidérmicas también puede contribuir a la resistencia de las hojas a la pérdida de agua.

Los estomas son las estructuras que proporcionan el control primario sobre la pérdida de agua en las hojas. En las orquídeas, los estomas pueden estar sumergidos debajo de la superficie epidérmica, a nivel de la superficie epidérmica o hasta sobresalir sobre esta (Rasmussen 1987). Los estomas sumergidos, que reducen así la transpiración, y las carinas cuticulares, al parecer predominan en hábitats secos (Sinclair 1990). El número de estomas por unidad de área es muy variable entre plantas y en una misma planta, pero el índice estomatal (número de estomas en relación con el número de células epidérmicas), es relativamente constante dentro de las especies, aunque puede estar influenciado por la humedad atmosférica bajo la cual las plantas crecen (Sinclair 1990). Cuando los estomas están cerrados completamente, lo realmente importante es la resistencia de la superficie de la hoja a la difusión del vapor de agua. Esa resistencia es principalmente una propiedad de la cutícula, y cuando están abiertos, la resistencia depende no sólo del número de estomas si no también de sus dimensiones y apertura (Rasmussen 1987).

El segundo tipo de adaptación de las hojas para tolerar la sequía es el almacenamiento de agua. El tejido de almacenamiento de agua se encuentra en muchas hojas de orquídeas y es característico de las hojas coriáceas gruesas. Una forma de tejido de almacenamiento de agua es la hipodermis. Las hojas de algunos géneros de orquídeas poseen una hipodermis adaxial que puede llegar a ocupar hasta el 80% del volumen de la hoja (Pridgeon 1986). En otros casos, todas las células del mesofilo se agrandan y asumen una función de almacenamiento mientras retienen algunos cloroplastos. Dentro del tejido hipodérmico también se pueden encontrar idioblastos acumuladoras de agua. Estas células, además de almacenar agua también proporcionan soporte mecánico a los tejidos circundantes (Olatunji & Nengim 1980, Pridgeon 1982). Como en la mayoría de los casos el tejido hipodérmico de almacenamiento de agua se desarrolla en el lado adaxial de la hoja, la luz tiene que penetrar esta capa para llegar al mesofilo fotosintético inferior. Estando llenas de agua y siendo relativamente impermeables, no se reduce la penetración

de luz (Sinclair 1990). Mientras las células de almacenamiento de agua están debajo de la capa impermeable superior, los espacios intercelulares se mantienen hacia el lado de la hoja en donde ocurren los estomas y se lleva a cabo el intercambio gaseoso.

La tercera modificación posible para mejorar las relaciones hídricas en una planta es el arreglo o disposición de las hojas de tal manera que el agua lluvia sea canalizada hacia la base de la planta, y sea para aumentar el abastecimiento de agua, o para que sea almacenada en los espacios entre las hojas. Contenedores para el almacenamiento de agua formados por las bases anchas de hojas en rosetas son altamente desarrollados en las Bromeliaceae, y también se presenta en algunos géneros de epífitas neotropicales de Araceae, Commelinaceae, Agavaceae y Gesneriaceae (Madison 1977). En las orquídeas es muy raro encontrar hojas colectoras de agua o humus, sin embargo, algunas orquídeas (*e.g. Grammatophyllum, Coryanthes, Catasetum, Graphorchis, Polycynis*) sí colectan debris entre sus tallos y raíces, formando “canastas” que pueden acumular agua (Sinclair 1990).

La absorción directa de agua por la hoja es otra posible adaptación de las hojas para tolerar las sequías. Aunque es importante y está bien documentada en Bromeliaceae (Benzing 1990), para Orchidaceae rara vez ha sido documentado y si verdaderamente ocurre definitivamente no es común (Pridgeon 1981, Sinclair 1990). Era de esperarse que la absorción de agua por las hojas ocurra en orquídeas epífitas, y que la presencia de tricomas que faciliten este tipo de absorción esté fuertemente correlacionado con el desarrollo del tejido de almacenamiento de agua, ya sea en la hoja o en el pseudobulbo (Sinclair 1990). Pridgeon (1981) creía que en las Pleurothallidinae, los tricomas de las hojas, anatómicamente similares a los tricomas tilandsioideos de las Bromeliaceae, también eran absorbentes. Sin embargo, Benzing y Pridgeon (1983) comprobaron que aunque algo de absorción podía ocurrir, la función primaria de estos tricomas no era esta y que estas orquídeas no dependían de estas estructuras para la obtención de agua y minerales.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Analizar las variaciones anatómicas, morfo-fisiológicas y estructurales que pueden presentarse en las hojas de cinco especies de orquídeas capaces de desarrollarse como epífitas y como terrestres en un bosque húmedo tropical de montaña

3.2. Objetivos específicos

- Medir la variación de algunos caracteres anatómicos de las hojas—como grosor de la lámina, de la cutícula y de la hipodermis—en individuos terrestres y epífitos de las cinco especies de orquídeas
- Medir la variación de algunos caracteres morfo-fisiológicos y estructurales de las hojas—como succulencia, esclerofilia, conductancia epidérmica, área específica y contenido de materia seca—en individuos terrestres y epífitos de las cinco especies de orquídeas
- Analizar las relaciones que se puedan presentar entre los diferentes parámetros anatómicos, morfo-fisiológicos y estructurales, así como su variabilidad inter- e intraespecífica y posible valor adaptativo.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio

El estudio se llevo a cabo en la vereda Monte Bello (0° 04' 16" N, 73° 26' 48" W), municipio de Pueblo Rico, departamento de Risaralda, región norte del Parque Nacional Natural (PNN) Tatamá. El PNN Tatamá está localizado sobre la Cordillera Occidental de los Andes colombianos, entre los departamentos de Risaralda, Chocó y Valle del Cauca, y cuenta con una extensión de 51,900 ha (Castaño & Cano 1998). Abarca un rango altitudinal que va desde los 2000 hasta los 4100 m de altitud, y se caracteriza por una topografía de pendientes muy fuertes, valles profundos y filos pronunciados (de Wilde 2000).

El macizo de Tatamá está climáticamente influenciado hacia la vertiente occidental por las masas de aire húmedo que se levantan desde el Pacífico, y hacia la vertiente oriental por el valle del río Cauca, que es seco. Esta configuración climática crea una diferencia en los climas de las dos vertientes, mucho más notoria hacia las zona bajas de ambos lados. En la vertiente occidental los valores de precipitación (estimada en más de 4000 mm por año) y humedad relativa son mayores que los de la vertiente Oriental, donde la evaporación, brillo solar y temperatura son más altas (Florez 2005, Rangel et al. 2005). En ambas vertientes predominan los regimenes de precipitación bimodal-tetraestacional, con los periodos de mayor precipitación en los meses de abril a mayo, y septiembre a noviembre, y los de menor precipitación en los meses de enero a febrero, y junio a agosto (de Wilde 2000, Rangel et al. 2005).

En el PNN Tatamá y su zona de influencia se pueden encontrar ecosistemas de bosques montanos bajos o selvas subandinas, bosques andinos, bosques altoandinos muy húmedos y un páramo zonal muy húmedo (Rangel et al. 2005b). Estos ecosistemas presentan un alto grado de conservación y albergan una altísima diversidad de epífitas, particularmente de orquídeas. Para el área del PNN Tatamá y su zona de amortiguación

se han registrado más de 500 morfo–especies de orquídeas (de Wilde 2000) y su estado de conservación parece estar en condiciones óptimas.

4.2. Muestreo

El muestreo se realizó entre enero y abril del año 2006. Se hizo una inspección inicial de las áreas boscosas accesibles, selvas subandinas (según Rangel et al. 2005b) entre 1750 y 2500 msnm, con el fin de registrar las especies e individuos que se podrían incluir dentro del estudio. Para tal efecto se buscaron especies de orquídeas en estado reproductivo fértil que presentaran tanto individuos epífitos creciendo sobre árboles hospederos (forofitos) dentro del bosque, como individuos terrestres enraizados en los taludes a la orilla del camino.

4.2.1. Anatomía, morfo-fisiología y estructura

Se midieron diferentes características anatómicas y morfo-fisiológicas de las hojas en individuos epífitos y terrestres de cada una de las cinco especies de orquídeas encontradas. Los individuos muestreados fueron plantas adultas que no presentaban síntomas de ataques por parte de patógenos o herbívoros.

Los parámetros anatómicos considerados fueron: grosor de la hoja, grosor de la cutícula, presencia y grosor de la hipodermis, y presencia de elementos lignificados—por su influencia en la esclerofilia (Turner 1994). Hojas maduras y libres de parásitos de diferentes individuos para cada forma de vida, epífita y terrestre fueron colectadas (1 hoja por planta, 5 hojas por condición, 10 hojas por especie), y almacenadas en solución fijadora de formol-ácido acético-alcohol (FAA) para ser llevadas al laboratorio donde se realizaron las medidas anatómicas. A cada hoja se le hicieron cortes transversales a mano y se tomaron cinco medidas de cada parámetro (25 por forma de vida), grosor de la hoja, grosor de la cutícula y el grosor de la hipodermis en caso de que se presentara. El grosor de estas características anatómicas se cuantificó usando un microscopio Nikon® Eclipse 4000 equipado con un micrómetro ocular. La presencia de elementos lignificados se detectó mediante el uso de azul de toluidina 0 (Herr 1993).

Los parámetros morfo-fisiológicos considerados fueron: succulencia de la hojas, esclerofilia, conductancia epidérmica, área específica de la hoja y contenido de materia seca de la hoja.

Succulencia y esclerofilia fueron cuantificadas para siete individuos por forma de vida (2 hojas por planta; 14 hojas por condición; 28 hojas por especie). La succulencia de la hoja (LS) se cuantificó usando la siguiente fórmula propuesta por Mantovani (1999):

$$LS = \frac{MFW - DW}{A}$$

Donde MFW es el peso fresco máximo, DW es el peso seco, y A es el área de la hoja. La esclerofilia se midió utilizando el peso seco específico de la hoja como un índice, mediante la fórmula propuesta por Mantovani (1999):

$$S = \frac{DW}{A}$$

La cuantificación de la conductancia epidérmica se basó en la metodología expuesta por Araus et al. (1991), pero con algunas modificaciones. Las hojas frescas de plantas hidratadas (1 hoja por planta; 7 hojas por forma de vida; 14 hojas por especie), fueron cortadas y pesadas inmediatamente para obtener su peso fresco máximo (MFW). Luego fueron puestas horizontalmente en cajas de petri a la sombra y a temperatura y humedad ambiente por 24 horas. El contenido de agua de la hoja después de este periodo fue medido como contenido relativo de agua después de 24 horas (RWC 24 h) empleando la fórmula expuesta por Mantovani (1999):

$$RWC (24 h) = \frac{FW - DW}{MFW - DW}$$

Donde FW es el peso fresco después de 24 h, DW es el peso seco y MFW es el peso fresco máximo al comienzo del procedimiento.

Para medir el área de las hojas, las láminas fueron fotografiadas con una cámara digital sobre una hoja de papel blanco en la que estaban impresas dos siluetas de figuras geométricas regulares de área conocida; luego en el laboratorio se utilizó el software de procesamiento de imágenes IMAGEJ (Rasband 2002), para calcular el área proyectada de la hoja a partir de estas fotografías. A cada hoja se le midió el peso fresco máximo inmediatamente, el peso fresco después de 24 h y el peso seco, después de haberlas

colocado en un horno a 60° C hasta que adquirieran un peso seco constante con una balanza compacta electrónica KERN® 440.

Tanto el área específica de la hoja (SLA), como el contenido de materia seca de la hoja (LDMC) se calcularon siguiendo protocolos ya establecidos (Garnier et al. 2001b, Cornelissen et al. 2003) y mediante las siguientes fórmulas:

$$SLA = \frac{A}{DW}$$

$$LDMC = \frac{DW}{MFW}$$

Para cada especie se colectaron siete individuos o vástagos diferentes de cada forma de vida, y de cada individuo se seleccionaron hojas maduras y completamente expandidas (2 hojas por planta; 14 hojas por forma de vida; 28 hojas por especie). El material fue colectado 2–3 h después del amanecer.

4.3. Procesamiento de la información

4.3.1. Colecciones botánicas

Se colectaron especímenes botánicos de las cinco especies de orquídeas estudiadas para su determinación. Una serie de especímenes fue depositada en el herbario Federico Medem Bogotá (FMB), del Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, y otra serie de duplicados en el herbario de la Universidad de los Andes (ANDES). Los especímenes colectados fueron determinados con la ayuda de especialistas.

4.3.2. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS 14.0 para Windows. Se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas en las que los valores de $P < 0.05$ fueron aceptados como significativos. Se empleó la prueba U de Mann Whitney para determinar si existían diferencias significativas en los parámetros anatómicos y morfo-fisiológicos entre las dos formas de crecimiento para cada especie. También se recurrió a la prueba de Kruskal-Wallis para buscar diferencias en los parámetros anatómicos y morfo-fisiológicos entre las plantas epífitas y las terrestres de las cinco especies. Cuando

las diferencias eran significativas se hicieron pruebas de comparación múltiple (Zar 1999).

Se realizó un análisis multivariado en el que las ocho características foliares fueron examinadas mediante un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés). Posteriormente se empleó la prueba de Kruskal-Wallis para saber si existían diferencias entre las plantas epífitas y las terrestres de las cinco especies para los valores propios de los dos componentes principales. Cuando las diferencias eran significativas se hicieron pruebas de comparación entre los individuos epífitos y terrestres de cada especie.

5. RESULTADOS

Se encontraron cinco especies de orquídeas con representación epífita y terrestre (Tabla 1). Las plantas terrestres se encontraron creciendo enraizadas en los taludes de un camino, mientras las plantas epífitas se encontraron creciendo sobre árboles entre 2 a 5 m del suelo. La incidencia lumínica de los hábitats en los que se encontraron los individuos epífitos era diferente a la de los individuos terrestres; mientras las plantas epífitas se encontraban dentro del bosque, las plantas terrestres estaban expuestas sobre los taludes del camino.

Tabla 1. Especies de orquídeas que se encontraron creciendo como epífitas y terrestres en una selva subandina del sector norte del Parque Nacional Natural Tatamá.

Especie	No. de colección
<i>Elleanthus aureus</i> (P. & E.) Rchb. f.	RA 459
<i>Elleanthus oliganthus</i> (P. & E.) Rchb. f.	RA 456, 485
<i>Elleanthus purpureus</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	RA 679
<i>Pleurothallis cordifolia</i> Rchb.f. & Wagener	RA 482
<i>Pleurothallis</i> sp.	RA 504

5.1. Anatomía general de las hojas

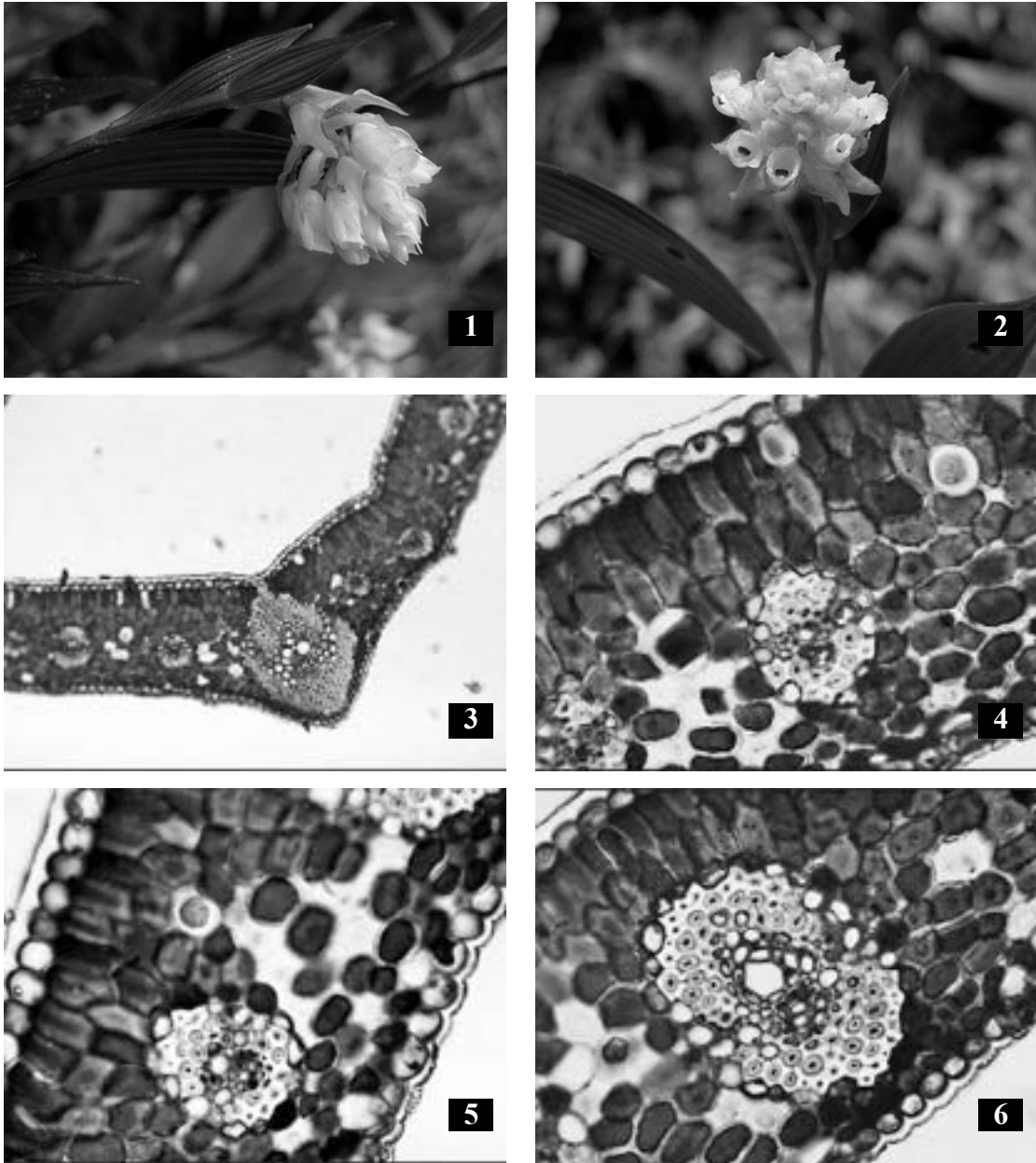
A continuación se hace una breve descripción anatómica general de las hojas de las cinco especies de orquídeas estudiadas.

5.1.1. *Elleanthus aureus* (Figuras 1–6))

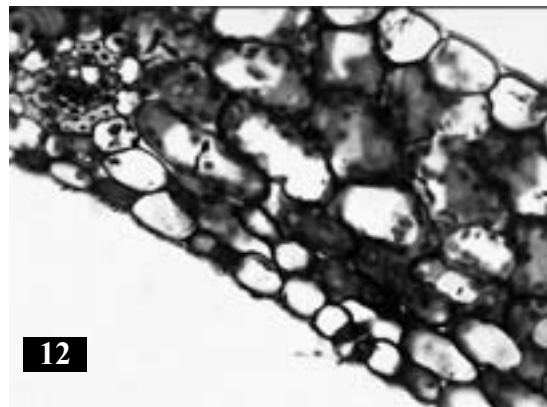
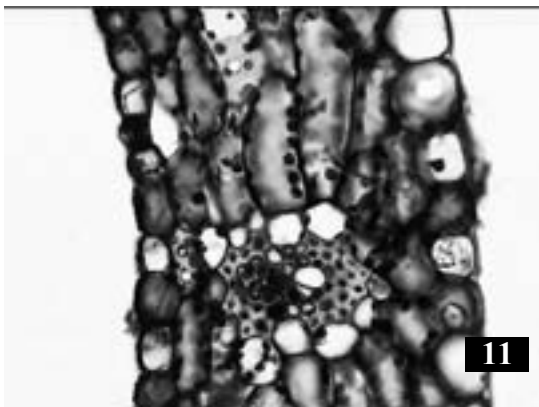
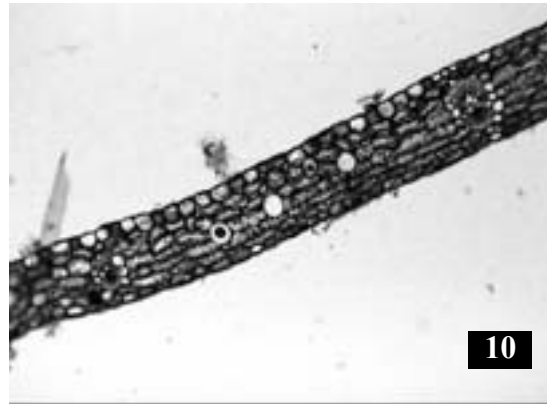
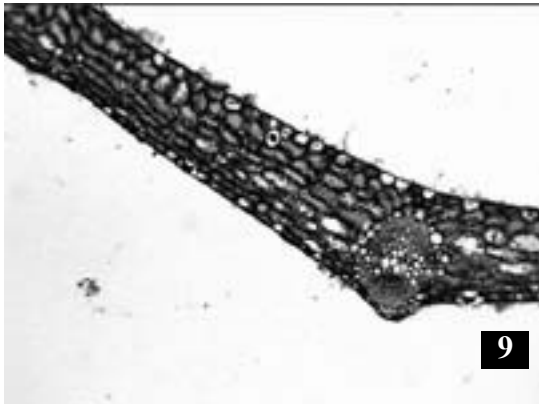
Hojas plicadas y ovadas. Superficie abaxial de la cutícula finamente abollada y rugosa a lo largo del contorno de las células epidérmicas (Figura 5); superficie adaxial lisa, con áreas epidérmicas hundidas que pueden corresponder a la base de pelos glandulares, los cuales son poco frecuentes. Células epidérmicas oblongas a isodiamétricas. Hipodermis y haces fibrosos ausentes. Mesofilo 10–11 células de

grosor, heterogéneo, con células adaxiales columnares anticlinales y abaxiales isodiamétricas a ovoides, con presencia de idioblastos que contienen rafidios esparcidos (Figura 4). Haces vasculares colaterales en una sola fila, alternándose con haces pequeños, medianos y grandes (Figura 3); esclerénquima asociado con floema y xilema en forma de vainas vasculares conspicuas (Figura 6).

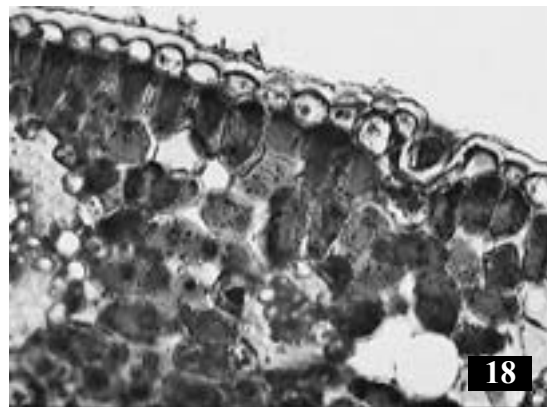
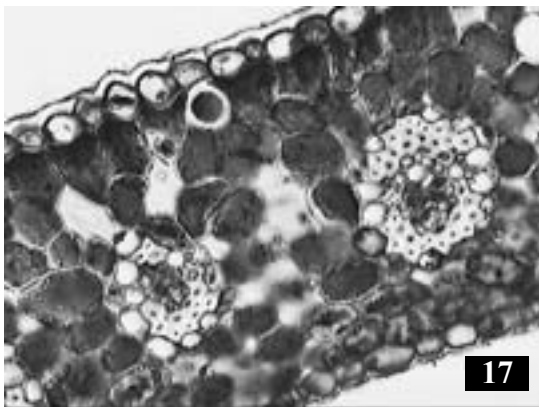
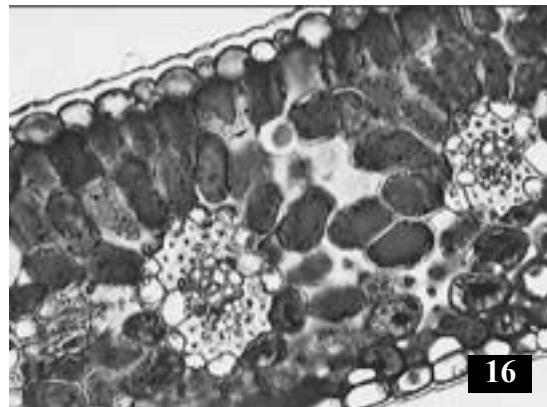
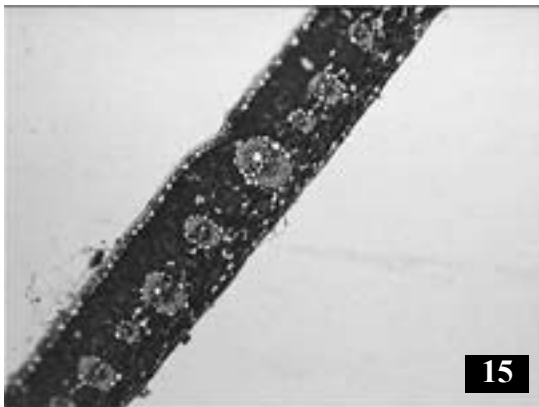
Figuras 1–6. *Elleanthus aureus* (P. & E.) Rchb. f. Fig 1–2. Inflorescencia. Fig 3–6. Cortes transversales de la lámina (Fig 1, 20X; Fig 4–6, 40X).



Figuras 7–12. *Elleanthus oliganthus* (P. & E.) Rchb. f. Fig. 7 y 8. Inflorescencia. Fig. 9–12. Cortes transversales de la lámina (Fig. 9 y 10, 20X; Fig. 11 y 12, 40X).



Figuras 13–18. *Elleanthus purpureus* (Rchb. f.) Rchb. f. Fig. 13 y 14. Inflorescencia. Fig. 15–18. Cortes transversales de la lámina (Fig. 15, 20X; Fig. 16–18, 40X).



5.1.2. *Elleanthus oliganthus* (Figuras 7–12)

Hojas plicadas y ovadas. Cutícula adaxial lisa a levemente rugosa a lo largo del contorno de las células epidérmicas, la abaxial finamente abollada y rugosa a lo largo de contorno de las células epidérmicas (Figura 11 y 12). Células epidérmicas oblongas a isodiamétricas, las adaxiales más grandes e isodiamétricas, las abaxiales oblongas y periclinalmente dispuestas. Hipodermis y haces fibrosos ausentes. Mesofilo 5–7 células de grosor, más o menos homogéneo, con células oblongas periclinales; idioblastos con rafidios esparcidos por el mesofilo (Figura 10). Haces vasculares colaterales en una fila, haces grandes se alternan con dos tipos de haces más pequeños (Figura 9 y 10); esclerénquima ocurre en forma de vainas vasculares, más conspicuo hacia ambos polos del floema y el xilema en los haces vasculares.

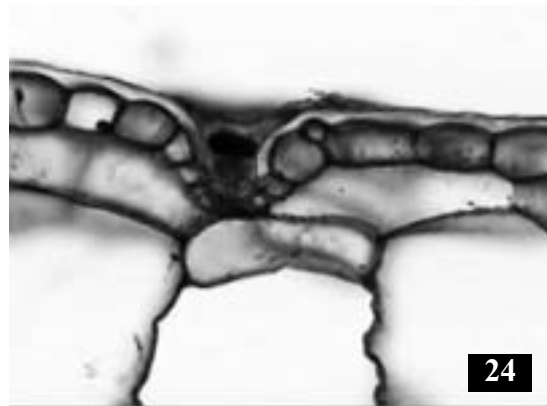
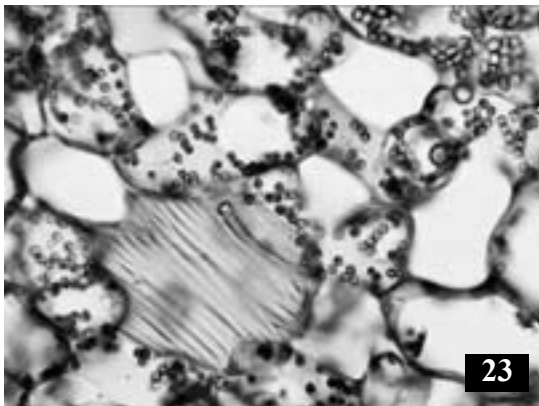
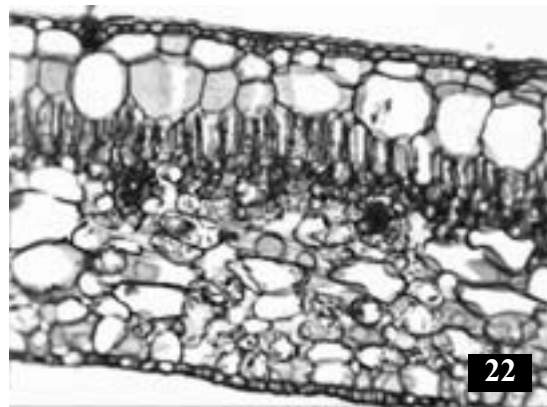
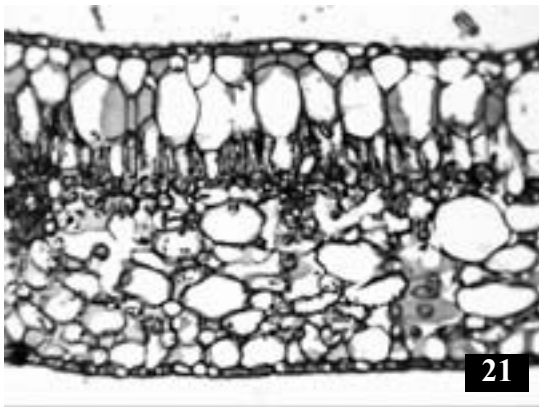
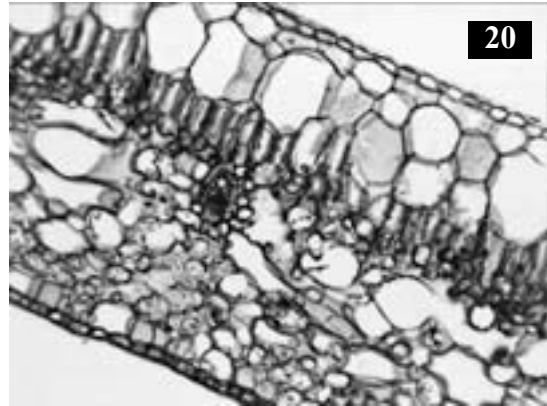
5.1.3. *Elleanthus purpureus* (Figuras 13–18)

Hojas plicadas y ovadas. Cutícula adaxial lisa a muy levemente rugosa a lo largo del contorno de las células epidérmicas, la abaxial finamente abollada y rugosa a lo largo del contorno de las células epidérmicas (Figura 16). Tricomas glandulares situados en depresiones epidérmicas, presentes en ambas superficies (Figura 18). Células epidérmicas isodiamétricas a oblongas periclinales. Hipodermis y haces fibrosos ausentes. Mesofilo 7–10 células de grosor, heterogéneo, dividido en dos tipos; las células abaxiales oblongas a isodiamétricas y periclinales, con espacios intercelulares conspicuos (parénquima esponjoso), y dos capas adaxiales de células columnares y anticlinales (parénquima de empalizada); idioblastos con y sin rafidios (de mucílago?) esparcidos por el mesofilo (figura 17). Haces vasculares colaterales en fila, haces grandes se alternan con dos tipos de haces más pequeños (Figura 15); esclerénquima ocurre en forma de vainas vasculares, pero es más conspicuas hacia ambos polos de los haces vasculares.

5.1.4. *Pleurothallis cordifolia* (Figuras 19–24)

Hojas coriáceas, algo carnosas y fuertemente cordadas (Figura 19). Cutículas abaxial y adaxial lisas y gruesas (Figura 20). Tricomas glandulares situados en depresiones

Figuras 19–24. *Pleurothallis cordifolia* Rchb. f. & Wagener. Fig. 19. Hoja e inflorescencia. Fig. 20 y 24. Cortes transversales de la lámina (Fig. 20–22, 20X; Fig. 23 y 24, 40X).

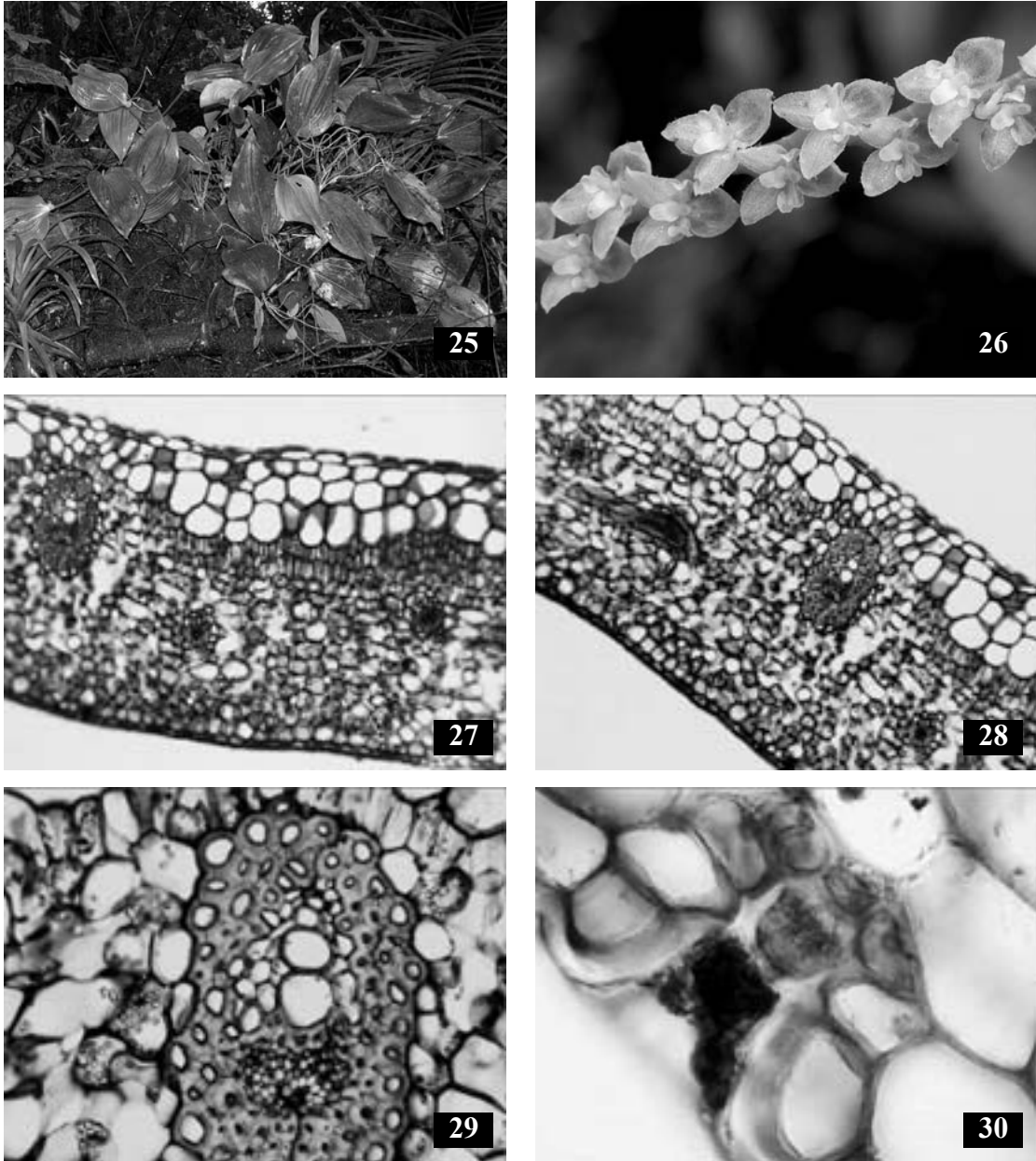


epidérmicas presentes en ambas superficies (Figura 21, 22 y 24). Células epidérmicas oblongas a rectangulares y periclinales. Hipodermis adaxial y abaxial: la adaxial compuesta de dos filas de células (las más adaxial de células más pequeñas), y la abaxial uniseriada (células algo irregulares); células hipodérmicas con engrosamientos helicoidales (Figura 23). Mesofilo 8–10 células de grosor, heterogéneo, de dos tipos; el mesofilo esponjoso compuesto por células abaxiales oblongas a isodiamétricas, idioblastos irregulares grandes y con engrosamientos helicoidales (idioblastos traqueidales), e idioblastos irregulares con rafidios; el mesofilo de empalissada adaxial compuesto por una fila de células columnares y anticlinales, y otra serie de células abaxiales oblongas a isodiamétricas (Figura 20–22).; se observan pequeñas gotas esféricas amarillas de aceite en algunas células del mesofilo (Figura 23). Haces vasculares colaterales en una fila, de varias clases de tamaño, ubicados entre el mesofilo de empalissada y el esponjoso: esclerénquima ocurre en vainas vasculares conspicuas.

5.1.5. *Pleurothallis* sp. (Figuras 25–30)

Hojas coriáceas, carnosas y ovadas. Cutículas abaxial y adaxial lisas (Figura 27 y 28). Tricomas glandulares en depresiones epidérmicas presentes en ambas caras, al parecer más abundantes en la abaxial (Figura 30). Células epidérmicas oblongas a rectangulares y periclinales, las adaxiales más grandes. Hipodermis adaxial 2–4 células de grosor, algo isodiamétricas. Mesofilo 12 – 15 células de grosor, heterogéneo, de dos tipos; el mesofilo esponjoso más grueso, compuesto por células oblongas a isodiamétricas y periclinales, espacios intercelulares conspicuos; el mesofilo de empalissada compuesto por 1 – 2 series de células adaxiales columnares y anticlinales, y otra serie de células abaxiales oblongas a isodiamétricas y periclinales (Figuras 27 y 28). Haces vasculares colaterales en una fila, de varias clases de tamaño, los más grandes ubicados entre los dos tipos de mesofilo y los otros más abaxiales (Figuras 27 y 28).; esclerénquima ocurre hacia ambos polos de los haces; vainas vasculares conspicuas y completas (Figura 29).

Figuras 25–30. *Pleurothallis* sp. Fig. 25. Hábito. Fig. 26. Flores. Fig. 27–28. Cortes transversales de la lámina (Fig. 27 y 28, 20X. Fig. 29 y 30, 100X).



5.2. Caracteres anatómicos

Los caracteres anatómicos de la hoja que se midieron tanto en los individuos epífitos como en los terrestres, sólo variaron de manera significativa en dos de las cinco especies estudiadas (Tabla 2). En *E. purpureus* se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el grosor de la hoja, siendo más gruesas las hojas terrestres que las

epífitas (prueba de Mann-Whitney, $N=10$, $Z=-2.611$, $p<0.01$). El grosor de la cutícula adaxial y abaxial también presentaron esta tendencia, pero las diferencias no fueron significativas. En *Pleurothallis* sp. el grosor de la hoja, el de la cutícula y el de la hipodermis adaxial presentaron diferencias estadísticamente significativas (pruebas de Mann-Whitney, $N=10$, $Z=-2.193$, $p<0.05$, para el grosor de la hoja; $N=10$, $Z=-2.627$, $p<0.01$, para el grosor de la cutícula adaxial; $N=10$, $Z=-2.402$, $p<0.05$ para el grosor de la hipodermis adaxial), siendo más gruesas en los individuos terrestres.

Los caracteres anatómicos medidos en las cinco especies de orquídeas, grosor de la hoja y grosor de la cutícula (adaxial y abaxial), presentaron diferencias significativas entre las cinco especies, tanto para los individuos terrestres (pruebas de Kruskal-Wallis, $N=25$, $\chi^2=20.2$, $p<0.001$, para el grosor de la hoja; $N=25$, $\chi^2=17.2$, $p<0.01$ para el grosor de la cutícula adaxial; $N=25$, $\chi^2=12.8$, $p<0.05$ para el grosor de la cutícula abaxial), cómo para los epífitos (pruebas de Kruskal-Wallis, $N=25$, $\chi^2=22.1$, $p<0.001$, para el grosor de la hoja; $N=25$, $\chi^2=17.2$, $p<0.01$ para el grosor de la cutícula adaxial; $N=25$, $\chi^2=13.0$, $p<0.05$ para el grosor de la cutícula abaxial). Las hojas plicadas de las especies de *Elleanthus* fueron mucho más delgadas que las hojas coriáceas carnosas de las *Pleurothallis*, sin embargo, los individuos de *E. aureus* mostraron hojas y cutículas más gruesas que cualquiera de las otras especies (Tabla 2). De otro lado, el grosor de la hipodermis adaxial no varió significativamente entre las dos especies de *Pleurothallis*.

Tabla 2. Caracteres anatómicos de las hojas de individuos epífitos y terrestres de cinco especies de orquídeas del sector norte del Parque Nacional Natural Tatamá. Símbolos: E = Epífita; T = Terrestre; no = no se observó; * = diferencias significativas entre las dos condiciones para cada especie.

Especie	Hábito	Grosor de caracteres anatómicos (μm)				
		Hoja	Cutícula adaxial	Cutícula abaxial	Hipodermis adaxial	Hipodermis abaxial
<i>Elleanthus aureus</i>						
	E	341.53 \pm 61.50	12.19 \pm 1.75	6.31 \pm 0.62	no	no
	T	311.47 \pm 48.68	12.73 \pm 2.00	7.34 \pm 1.38	no	no
<i>Elleanthus oliganthus</i>						
	E	217.00 \pm 15.82	4.57 \pm 0.40	2.25 \pm 0.40	no	no
	T	228.83 \pm 20.19	4.22 \pm 0.95	2.42 \pm 0.17	no	no
<i>Elleanthus purpureus</i>						
	E	175.40 \pm 9.40*	4.52 \pm 0.41	1.88 \pm 0.33	no	no
	T	255.30 \pm 14.55*	6.00 \pm 1.70	3.24 \pm 1.05	no	no
<i>Pleurothallis cordifolia</i>						
	E	838.75 \pm 75.66	7.88 \pm 0.80	2.15 \pm 0.28	195.83 \pm 45.59	75.63 \pm 14.93
	T	942.08 \pm 82.34	7.92 \pm 1.60	2.63 \pm 0.50	252.71 \pm 69.48	75.42 \pm 9.56
<i>Pleurothallis sp.</i>						
	E	661.33 \pm 60.57*	4.57 \pm 0.40*	2.03 \pm 0.07	139.57 \pm 17.14*	no
	T	814.00 \pm 121.69*	7.22 \pm 2.09*	2.80 \pm 0.88	204.50 \pm 52.10*	no

5.3. Caracteres morfo-fisiológicos

5.3.1. Suculencia de la hoja

Los individuos terrestres de *Elleanthus purpureus* y *Pleurithallis* sp. presentaron hojas más suculentas que las plantas epífitas (Pruebas de Mann-Whitney, N=14, Z= -3.78, p<0.001, para *E. purpureus*; N=14, Z=-3.973, p<0.001, para *Pleurithallis* sp.), mientras que en *E. aureus*, *E. oliganthus* y *Pleurothallis cordifolia* no hubo diferencias estadísticamente significativas (Figura 31).

La suculencia de las hojas fue significativamente diferente entre las especies, tanto para las plantas terrestres como para las epífitas (prueba de Kruskal-Wallis, N=35, $\chi^2=41.596$, p<0.001). Las hojas en las especies de *Elleanthus* fueron mucho menos suculentas que las hojas de las *Pleurothallis*, y entre estas, *P. cordifolia* presentó las hojas más suculentas (Figura 31).

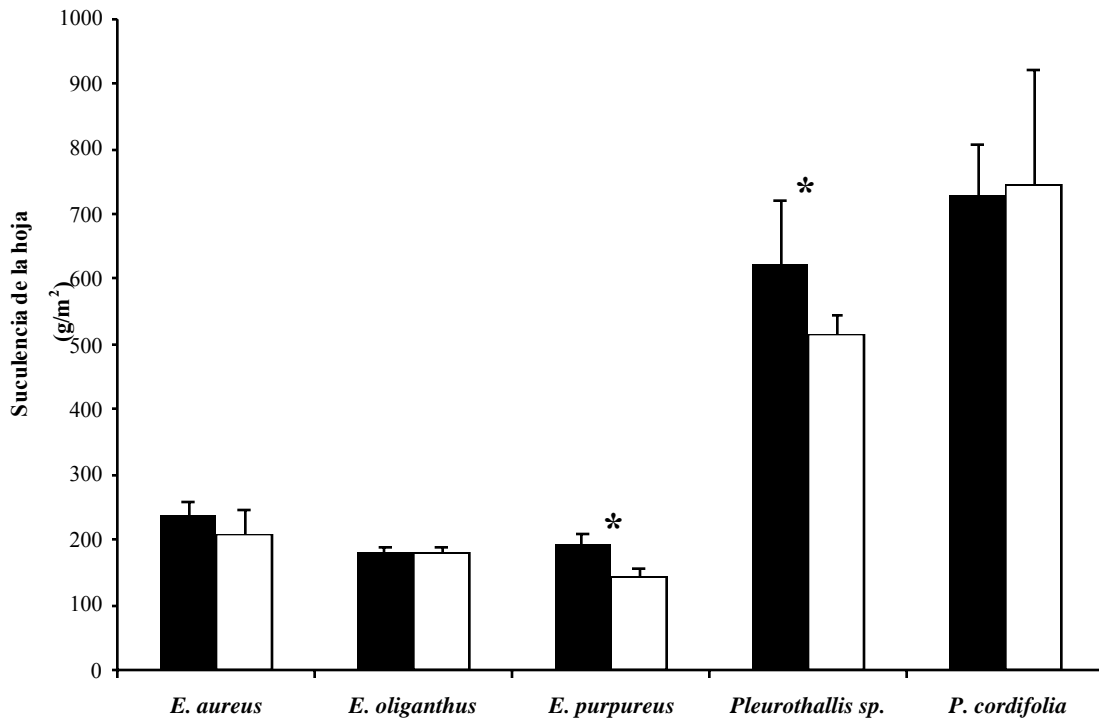


Figura 31. Suculencia de las hojas en individuos terrestres (barras negras) y epífitos (barras blancas), de cinco especies de orquídeas en una selva subandina del PNN Tatamá. Las barras indican las desviaciones estándar; los * indican diferencias significativas entre las dos formas de crecimiento (terrestre/epífita).

5.3.2. Esclerofilia

En las cinco especies de orquídeas estudiadas los individuos terrestres tendieron a presentar hojas más esclerofilas que los individuos epífitos (Figura 32). Sin embargo, sólo en *Elleanthus oliganthus*, *E. purpureus* y *Pleurothallis* sp. esta diferencia fue estadísticamente significativa (Pruebas de Mann-Whitney, N=14, Z=-2.699, p<0.01, para *E. oliganthus*; N=14, Z=-3.78, p<0.001, para *E. purpureus*; N=14, Z=-3.973, p<0.001 *Pleurothallis* sp.)

El índice de esclerofilia de las hojas fue estadísticamente diferente en todas las especies, tanto para las plantas terrestres como para las epífitas (prueba de Kruskal-Wallis, N=35, $\chi^2=36.65$, p<0.001). *Elleanthus aureus* mostró los índices de esclerofilia más altos, mientras *E. oliganthus* los más pequeños (Figura 32). Por su parte, *Pleurothallis* sp. presentó un mayor índice de esclerofilia que *P. cordifolia* (Figura 32).

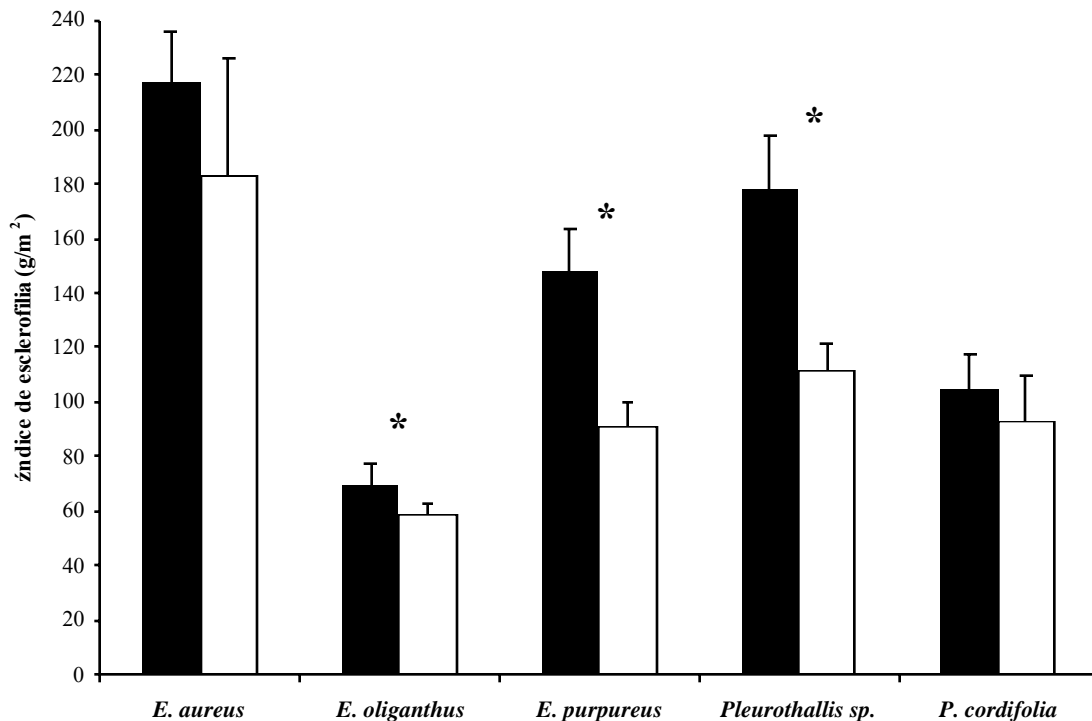


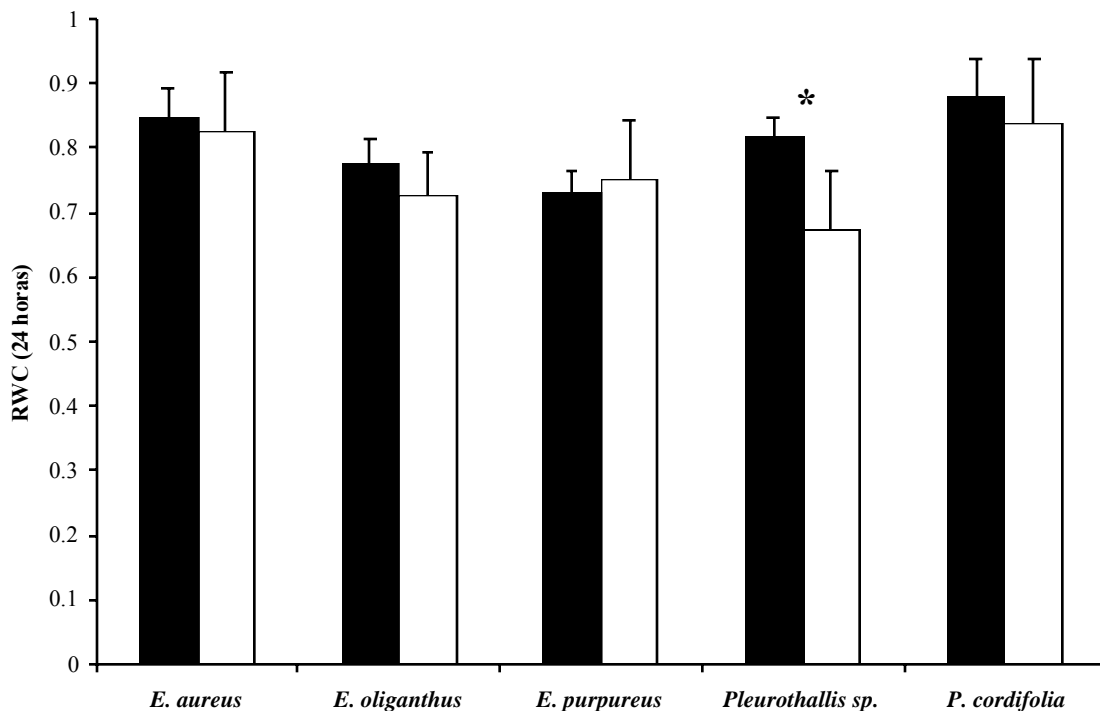
Figura 32. Índice de esclerofilia de las hojas en individuos terrestres (barras negras) y epífitos (barras blancas) de seis especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá. Las barras indican las desviaciones estándar; los * indican diferencias significativas entre las formas de crecimiento (terrestre/epífita).

5.3.3. Contenido relativo de agua (24 horas)

Sólo en una especie, *Pleurothallis* sp., el contenido relativo de agua en las hojas luego de 24 horas bajo condiciones ambiente, fue significativamente mayor en los individuos terrestres que en las plantas epífitas (Prueba de Mann-Whitney, $N=14$, $Z=-3.841$, $p<0.001$). Las otras especies no mostraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido relativo de agua después de 24 horas bajo condiciones ambiente (Figura 33).

Aunque hubo diferencias significativas en el contenido relativo de agua en las hojas después de 24 horas entre las distintas especies (prueba de Kruskal-Wallis, $N=35$, $\chi^2=19.482$, $p<0.01$), ninguna especie se diferenció exclusivamente de otras (Figura 33).

Figura 33. Contenido relativo de agua en las hojas, después de 24 horas bajo condiciones



ambiente, en individuos terrestres (barras negras) y epífitas (barras blancas), de cinco especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá. Las barras indican las desviaciones estándar; el * indica diferencias significativas entre las formas de crecimiento (terrestre/epífita).

5.4. Caracteres estructurales

5.4.1. Área específica de la hoja (SLA)

Para las cinco especies de orquídeas estudiadas, SLA mostró una tendencia a ser mayor en los individuos epífitos que en los terrestres. Sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ni en *Elleanthus aureus*, ni en *Pleurothallis cordifolia* (Pruebas de Mann-Whitney, N=14, Z=-2.805, p<0.01, para *E. oliganthus*; N=14, Z=-3.78, p<0.001, para *E. purpureus*; N=14, Z=-3.973, p<0.001 *Pleurothallis* sp.).

SLA fue estadísticamente diferente en las cinco especies estudiadas, tanto en las plantas terrestres como en las epífitas (prueba de Kruskal-Wallis, N=35, $\chi^2=36.65$, p<0.001). *Elleanthus aureus* presentó la menor SLA de todas las especies, mientras *E. oliganthus* la mayor. Entre las especies de *Pleurothallis*, *P. cordifolia* mostró la mayor SLA (Figura 34).

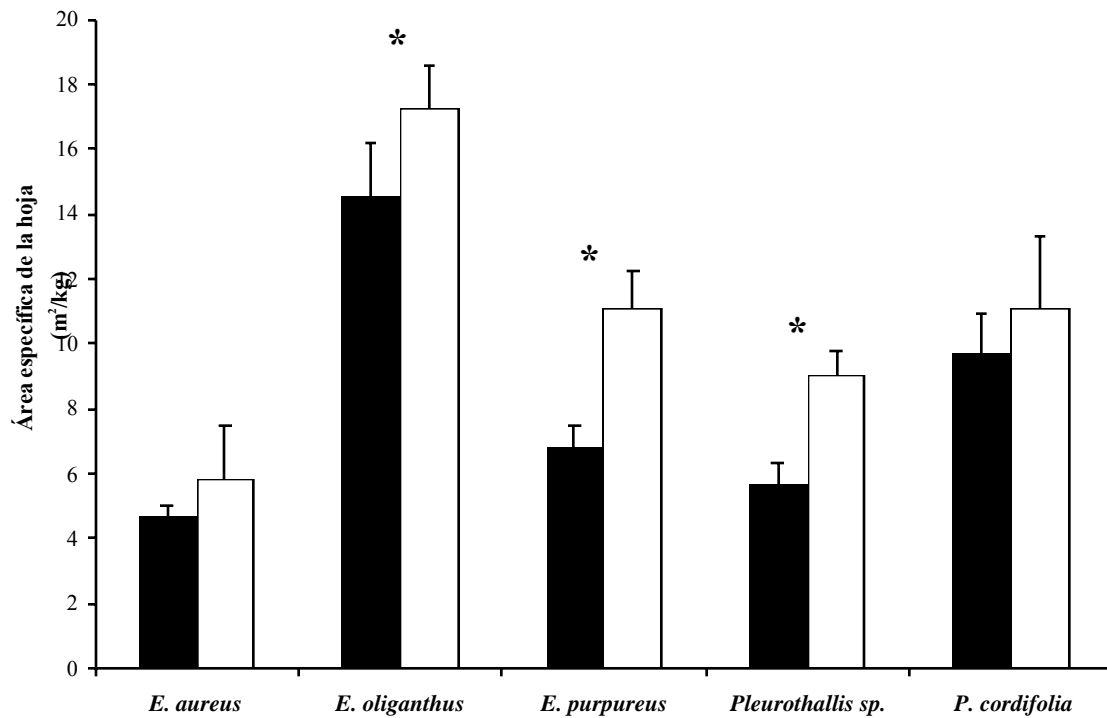


Figura 34. Área específica de las hojas de individuos terrestres (barras negras) y epífitos (barras blancas), en cinco especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá. Las barras indican las desviación estándar; los * indican diferencias significativas entre forma de crecimiento (terrestre/epífita).

5.4.2. Contenido de materia seca de la hoja (LDMC)

A diferencia de SLA, LDMC tendió a ser menor en los individuos epífitos que en los terrestres para las cinco especies, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa para *Elleanthus aureus* y *Pleurothallis cordifolia* (Pruebas de Mann-Whitney, N=14, Z=-3.123, p<0.01, para *E. oliganthus*; N=14, Z=-3.326, p<0.001, para *E. purpureus*; N=20, Z=-3.973, p<0.001 *Pleurothallis* sp.).

El contenido de materia seca de la hoja fue estadísticamente diferente entre las cinco especies (prueba de Kruskal-Wallis, N=35, $\chi^2=42.447$, p<0.001), con *E. aureus* presentando el mayor LDMC de las cinco especies y *P. cordifolia* el menor (Figura 35).

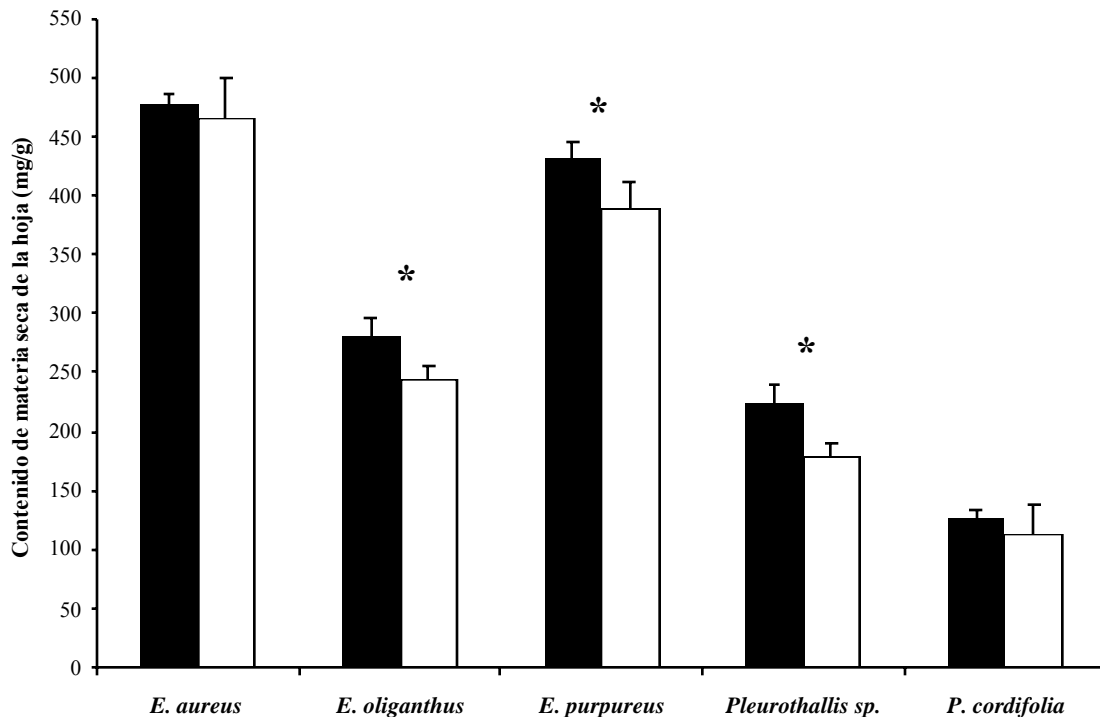


Figura 35. Contenido de materia seca en las hojas de individuos terrestres (barras negras) y epífitos (barras blancas), en seis especies de orquídeas de una selva subandina del PNN Tatamá. Las barras indican las desviación estándar; los * indican diferencias significativas entre forma de crecimiento (terrestre/epífita).

5.5. Análisis multivariado

En el análisis de componentes principales (Figura 36), los dos primeros componentes incluyeron el 83% de la variación en los datos (Tabla 3a).

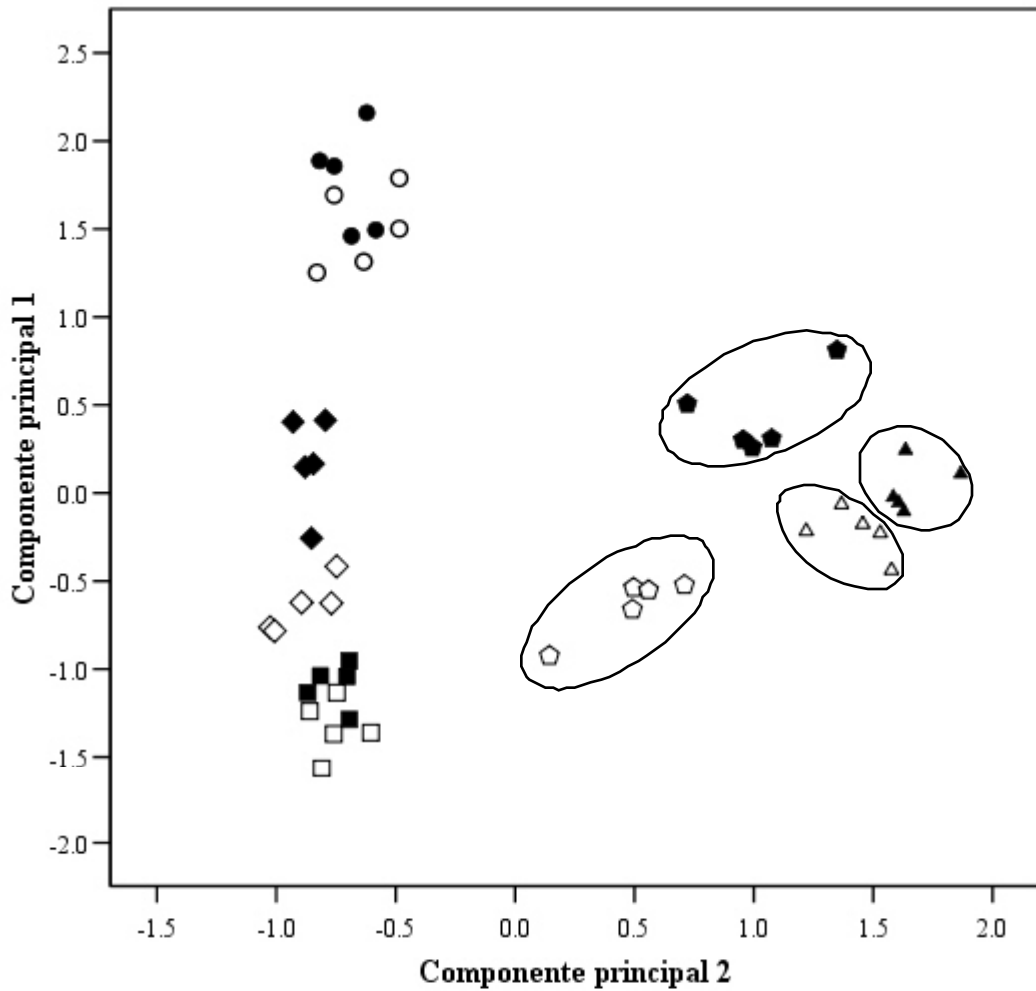


Figura 36. Análisis de componentes principales de cinco especies de orquídeas con individuos terrestres (símbolos negros) y epífitos (símbolos blancos), ordenados de acuerdo a ocho características foliares (grosor de la hoja, grosor de la cutícula adaxial, grosor de la cutícula abaxial, succulencia, esclerofilia, contenido relativo de agua después de 24 h, área específica de la hoja y contenido de materia seca). Los grupos de puntos dentro de los círculos representan grupos de plantas terrestres y epífitas que se diferencian estadísticamente para ambos componentes. Símbolos: ○=*Elleanthus aureus*, □=*E. oliganthus*, ◇=*E. purpureus*, △=*Pleurothallis cordifolia*, ▽=*Pleurothallis sp.*

Las variables que contribuyeron positivamente con los valores más altos al primer componente fueron la esclerofilia de la hoja y el grosor de la cutícula adaxial y abaxial, mientras el área específica de la hoja contribuyó negativamente. Las variables que contribuyeron positivamente con los valores más altos al segundo componente fueron la succulencia de la hoja y el grosor de la hoja, mientras el contenido de materia seca de la

hoja contribuyó negativamente. El contenido relativo de agua después de 24 h no contribuyó con valores altos en ninguno de los dos componentes (Tabla 3b).

Tabla 3. Resultados del análisis de componentes principales (PCA) realizado con ocho características foliares de individuos terrestres y epífitos de cinco especies de orquídeas (grosor de la hoja, grosor de la cutícula adaxial, grosor de la cutícula abaxial, succulencia, esclerofilia, contenido relativo de agua después de 24 h, área específica de la hoja y contenido de materia seca). **a.** Varianza total explicada por los dos componentes principales. **b.** Matriz de componentes rotados (método de rotación: normalización varimax con Kaiser).

a.

Componente	1	2
Autovalores	3.855	2.788
% de varianza acumulado	48.188	83.035

b.

Variables	Componentes	
	1	2
Esclerofilia	0.929	-0.063
Grosor cutícula adaxial	0.910	0.055
Grosor cutícula abaxial	0.876	-0.312
Área superficial de la hoja	-0.867	-0.125
Contenido relativo de agua (24 h)	0.498	0.438
Suculencia de la hoja	0.270	0.978
Grosor de la hoja	0.094	0.974
Contenido de materia seca de la hoja	0.552	-0.809

El valor del primer componente fue estadísticamente diferente en los individuos terrestres y epífitos de las cinco especies (prueba de Kruskal-Wallis, $N=50$, $\chi^2=46.937$, $p<0.001$). Los individuos de *Elleanthus aureus* se ubicaron en el nivel más superior del eje y los de *E. oliganthus* en el nivel más inferior, mientras las otras especies—*E. purpureus*, *Pleurothallis cordifolia* y *Pleurothallis* sp.—ocuparon posiciones hacia la parte media del eje (Figura 37). En estas últimas, incluyendo a *E. oliganthus*, hubo diferencias significativas en los valores del primer componente entre los individuos epífitos y terrestre (pruebas de Mann-Whitney, $N=10$, $Z=-2.193$, $p<0.05$, para *E. oliganthus*; $N=10$, $Z=-2.611$, $p<0.01$, para *E. purpureus*; $N=10$, $Z=-2.402$, $p<0.05$ para *Pleurothallis cordifolia*; $N=10$, $Z=-2.611$, $p<0.01$ para *Pleurothallis* sp.).

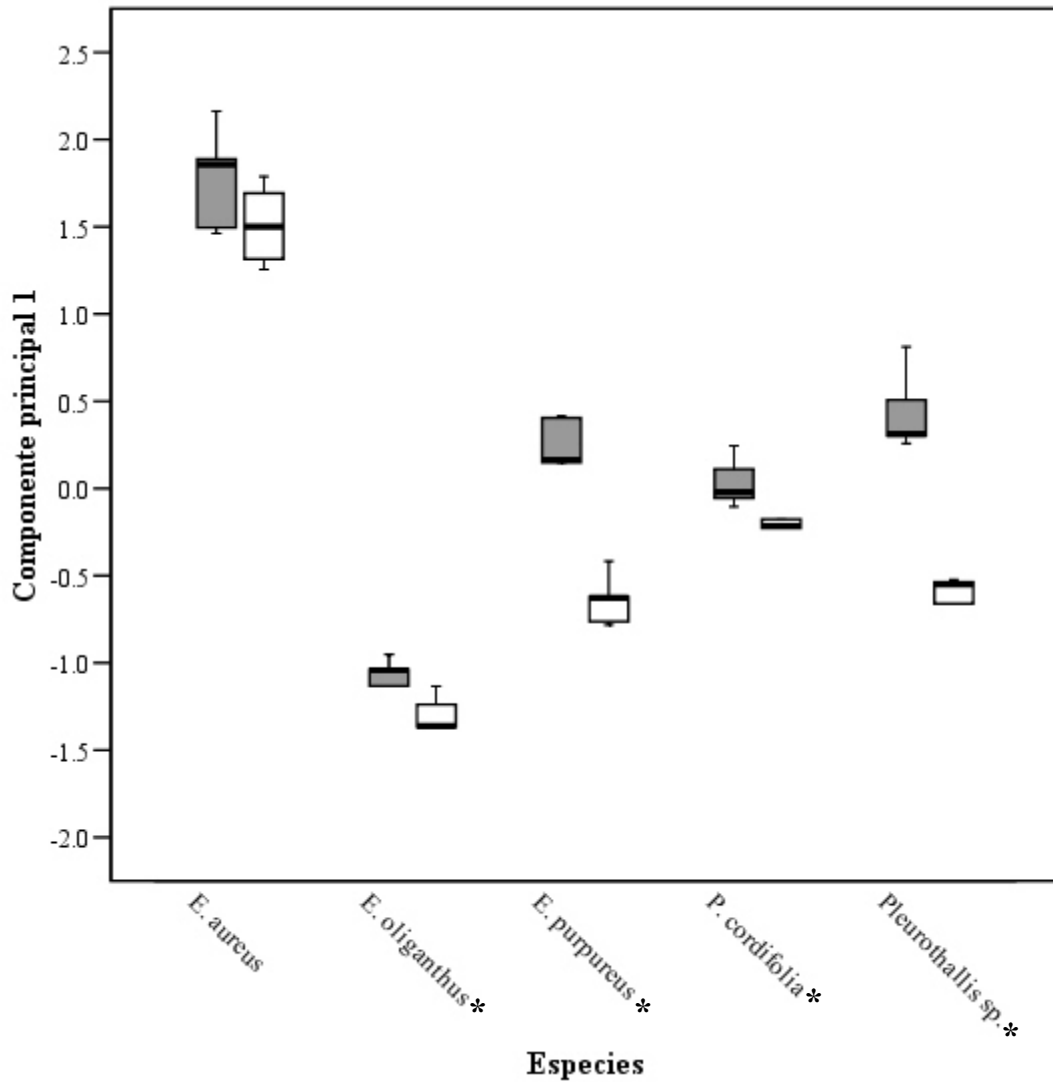


Figura 37. Diagrama de cajas para los valores del primer componente de un análisis de componentes principales (PCA) en individuos terrestres (cajas grises) y epífitos (cajas blancas) de cinco especies de orquídeas. Los * indican que se presentaron diferencias significativas entre las formas de crecimiento terrestre y epífita.

En el segundo componente principal también se presentaron diferencias significativas entre los valores propios de los individuos terrestres y epífitos de las especies (prueba de Kruskal-Wallis, $N=50$, $\chi^2=42.783$, $p<0.001$). Los individuos de *Elleanthus aureus*, *E. oliganthus* y *E. purpureus* se ubicaron en el nivel inferior del eje, mientras los individuos de *Pleurothallis cordifolia* y *Pleurothallis sp.* se posicionaron en el nivel superior del eje (Figura 38). Solamente en estas dos últimas especies se presentaron diferencias significativas entre los individuos terrestres y epífitos para los valores propios del

componente (N=10, Z=-2.611, p<0.01 para *Pleurothallis cordifolia*; N=10, Z=-2.611, p<0.01 para *Pleurothallis sp.*).

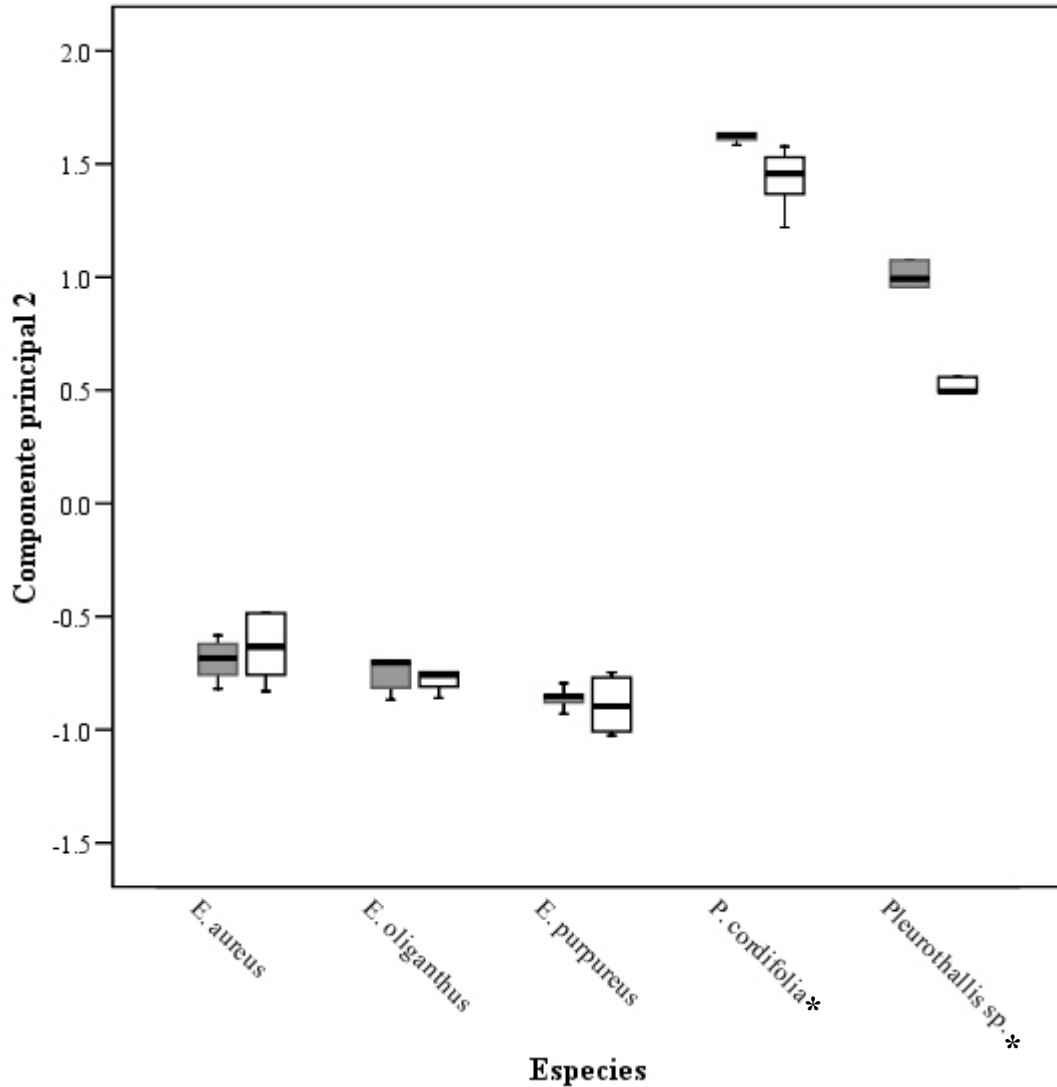


Figura 38. Diagrama de cajas para los valores del segundo componente principal de un análisis de componentes principales (PCA) en individuos terrestres (cajas grises) y epífitos (cajas blancas) de cinco especies de orquídeas. Los * indican que se presentaron diferencias significativas entre las formas de crecimiento terrestre y epífita.

Al tener en cuenta los dos componentes principales y las diferencias que se presentaron entre los individuos terrestres y epífitos para los valores propios de ambos componentes, sólo se diferenciaron en ambos componentes los individuos de *Pleurothallis cordifolia* y *Pleurothallis sp.* (Figura 36.). Por su parte, *Elleanthus aureus* no presentó diferencias entre sus individuos epífitos y terrestres para ninguno de los dos

componentes, diferenciándose significativamente de las otras especies en el valor del primer componente y agrupándose con las otras especies de *Elleanthus* por el segundo componente. El primer componente principal representa mucho mejor la variación que se presenta dentro y entre las especies, mientras el segundo componente parece representar la diferencia entre los tipos de hojas, plicadas y coriáceas

6. DISCUSIÓN

Al observar los resultados en conjunto, se podría afirmar que solo *Pleurothallis* sp. y *Elleanthus purpureus*, fueron las únicas especies cuyas hojas de los individuos terrestres y epífitos se diferenciaron a todo nivel: anatómico, morfo-fisiológico y estructural. Sin embargo, al tener en cuenta a todas las especies juntas se observan tendencias en algunas características foliares que diferencian y caracterizan a las orquídeas terrestres de las epífitas.

Las variación en el grosor de las hojas de *Pleurothallis* sp., entre los individuos epífitos y los terrestres, se vio reflejada primordialmente en el grosor de la cutícula e hipodermis adaxial. Teniendo en cuenta que la irradiación solar es mayor en los taludes de la carretera en que se encontraban enraizadas las plantas terrestres, puesto que están más expuestas a los rayos del sol, era de esperarse que las variaciones en el grosor de las hojas se mostrara a nivel de la superficie adaxial (Pridgeon 1982, Oliveira & Sajo 1999). Aunque también hubo diferencias significativas en el grosor de las hojas de los individuos de *Elleanthus purpureus*, esta diferencia no fue igual de significativa en el grosor de la cutícula adaxial. La variación en el grosor de las hojas de estas dos especies, particularmente en *Pleurothallis* sp., demuestran su capacidad de variar el grosor, a nivel de cutícula e hipodermis, en respuesta a la exposición solar, a diferencia de las otras especies. Por otra parte, la ocurrencia de una hipodermis adaxial más gruesa en los individuos terrestres de *Pleurothallis* sp. implica una mayor cantidad de tejido de almacenamiento de agua, que podría estar relacionado con un abastecimiento más irregular de agua.

En cuanto a la succulencia y esclerofilia de sus hojas, *Pleurothallis* sp. y *Elleanthus purpureus* también presentaron diferencias significativas entre sus individuos epífitos y terrestres. Los individuos terrestres presentaron hojas más succulentas y esclerofilas que los epífitos, pero sólo en *Pleurothallis* sp. el contenido relativo de agua en sus hojas después de 24 horas fue mayor en los individuos terrestres que en los epífitos. En las otras especies, las plantas terrestres también fueron más esclerofilas que las epífitas,

aunque estas diferencias no fueron significativas. Puesto que la succulencia y la esclerofilia están relacionadas con la resistencia a la escasez de agua (Sinclair 1990, Larcher 2003), se podría deducir que existe una mayor escasez de agua en los taludes de la carretera, que en el propio biotopo epífito del bosque.

Para los caracteres estructurales de las hojas, las mismas tres especies que presentaron diferencias significativas entre sus individuos terrestres y epífitos en SLA, también se diferenciaron en LDMC. Esto implica que las tres especies—*Elleanthus oliganthus*, *E. purpureus* y *Pleurothallis* sp.—pueden presentar comportamientos ecológicos diferentes en relación con su forma de crecimiento, ya sea terrestre o epífito. Los individuos terrestres presentaron SLA más pequeños y LDMC más grandes que los epífitos, tendencia que se observó en todas las especies. El hecho de que las plantas terrestres hayan presentado hojas con SLA más pequeños corrobora que fueron desarrolladas bajo condiciones de menor suministro de agua (Larcher 2003), mientras que las hojas de las epífitas con LDMC más bajos están asociadas con ambientes más productivos (Garnier et al 2001a).

La variación en la estructura de las hojas está reflejando diferencias en el medioambiente en el que se desarrollan las plantas. Las epífitas, con mayor SLA y menor LDMC, parecen estar desarrollándose en ambientes más ricos en recursos; mientras que las terrestres, con una SLA menor y mayor LDMC, parecen proceder de ambientes con menos recursos. Estas últimas estarían utilizando y conservando más eficientemente los recursos que les brinda el medio, lo que se vería reflejado en un crecimiento lento y un mayor tiempo de vida de sus hojas. Por su parte, las epífitas podrían estar presentando un crecimiento asociado a ambientes productivos, que se vería reflejado en una producción rápida de biomasa.

El análisis de componentes principales (PCA) confirma la relación positiva que existe entre el grado de esclerofilia de las hojas y el grosor de sus cutículas, y la relación inversa de estas dos características con SLA. También se corrobora la relación positiva entre el grosor de la lámina y su succulencia, y como ambas características están inversamente relacionadas a LDMC. Podríamos afirmar que el primer componente describe el grado de esclerofilia de las hojas, mientras el segundo componente describe su succulencia. Cabe anotar que el PCA también reveló diferencias significativas entre los individuos terrestres

y epífitos de *Pleurothallis cordifolia*, no obstante las diferencias anatómicas, morfo-fisiológicas y estructurales de las hojas entre los dos formas de vida de esta especie no hayan registrado diferencias significativas.

Las características anatómicas, morfo-fisiológicas y estructurales de las hojas, también caracterizan a los diferentes tipos ecológicos de orquídeas. En el caso de las especies de *Pleurothallis*, la presencia de hipodermis y hojas suculentas es propio de orquídeas epífitas, mientras las hojas plicadas y la ausencia de tejidos de almacenamiento en las *Elleanthus*, son características de orquídeas terrestres. Si consideramos que las especies de *Pleurothallis* son originariamente epífitas y las de *Elleanthus* terrestres, encontramos que las especies estudiadas pueden adoptar otra forma de vida, sin necesidad de cambiar substancialmente sus características vegetativas.

Al tener en cuenta todas las características anatómicas, morfo-fisiológicas y estructurales, y su variación intra- e interespecífica, se podría afirmar que *Pleurothallis* sp. y muy probablemente *Pleurothallis cordifolia*, son especies adaptadas a capturar y utilizar eficientemente los recursos que provee el biotopo epífito, pero que tienen la capacidad de cambiar su estrategia de vida y adaptarse a crecer como plantas terrestres, aunque capturen y utilicen de manera menos eficiente los recursos que provee un hábitat como los taludes de la carretera.

7. CONCLUSIONES

Se encontraron cinco especies de orquídeas desarrollándose como plantas epífitas (dentro del dosel de los árboles) y como plantas terrestres (enraizadas en taludes de carretera). De éstas cinco, tres especies mostraron diferencias anatómicas, morfo-fisiológicas o estructurales a nivel de la hoja con respecto al medio en el que se desarrollaban.

En dos de las cinco especies, *Elleanthus purpureus* y *Pleurothallis* sp., las características anatómicas de las hojas variaron con respecto a la forma de crecimiento. Las hojas de las plantas terrestres fueron más gruesas, con una cutícula adaxial más gruesa, y con una hipodermis adaxial más gruesa en el caso de *Pleurothallis* sp..

Las mismas dos especies que presentaron variaciones anatómicas, también mostraron diferencias en las características morfo-fisiológicas de sus hojas. Las plantas terrestres exhibieron hojas más suculentas y esclerofilas que las plantas epífitas; sin embargo, la variación en el contenido relativo de agua después de 24 h, sólo fue significativa en *Pleurothallis* sp..

Las características estructurales de las hojas fueron diferentes para todas las especies y se obtuvieron diferencias entre las plantas terrestres y las epífitas para tres de las cinco especies (*Elleanthus oliganthus*, *E. purpureus* y *Pleurothallis* sp.). En las tres especies los individuos terrestres presentaron una menor área específica de la hoja (SLA) y mayor contenido de materia seca en la hoja (LDMC), que los individuos epífitos.

El grosor de las cutículas está correlacionado positivamente con el grado de esclerofilia de las hojas, y ambas son inversamente proporcionales al área específica de las hojas. Así mismo, el grosor de la lámina está correlacionado positivamente con la suculencia de la hoja, y ambas son inversamente proporcionales al contenido de materia seca de la hoja.

Aunque en *E. purpureus* y *Pleurothallis* sp., las variaciones en las características anatómicas de las hojas, parecen estar relacionadas con las variaciones morfo-fisiológicas y estructurales de las mismas, en el análisis de componente principales, *Pleurothallis*

cordifolia y *Pleurothallis* sp. son las únicas especies que presentan diferencias significativas entre sus individuos terrestres y epífitos para los componentes principales.

Parece haber menor disponibilidad de agua y recursos en el ambiente terrestre que en el epífito. Por lo tanto, el agua no es una limitante para el desarrollo de epífitas en estos bosques húmedos de montaña.

Al parecer, *Elleanthus oliganthus*, *E. purpureus* y *Pleurothallis* sp, están en capacidad de variar su estrategia de crecimiento de acuerdo al medio, ya sea epífito o terrestre, en el que se desarrollan. No obstante, existe un limitante filogenético que impone restricciones, y aunque puedan desarrollarse como epífitas o terrestres, no alteran su forma originaria. Las especies de *Elleanthus*, pueden crecer como epífitas pero sin alterar su anatomía básica, sin llegar a poseer las adaptaciones propias de orquídeas epífitas. De la misma manera, las especies de *Pleurothallis* también pueden desarrollarse como terrestres, pero sin prescindir de sus adaptaciones propias del hábito epífito.

Al exhibir una flexibilidad para desarrollarse de una forma u otra dependiendo de las circunstancias que encuentran, plantas como *Elleanthus oliganthus*, *E. purpureus*, *Pleurothallis* sp y probablemente *Pleurothallis cordifolia*, están mostrando un comportamiento adaptativo. Esta plasticidad, puede considerarse como otra de las adaptaciones que les ha permitido a las orquídeas colonizar el biotopo epífito, y que en la actualidad, también les permite desarrollarse en un ambiente terrestre.

8. LITERATURA CITADA

- Araus, J.L., A. Febrero & P. Vendrell. 1991. Epidermal conductance in different parts of durum wheat grown under Mediterranean conditions: the role of epicuticular waxes and stomata. *Plant, Cell and Environment* 14: 545–558.
- Atwood, J. T. 1986. The size of the Orchidaceae and the systematic distribution of epiphytic orchids. *Selbyana* 9: 171–186.
- Bennet, B.C. 1986. Patchiness, diversity, and abundance relationships of vascular epiphytes. *Selbyana* 9: 70–75.
- Benzing, D.H. 1986. The genesis of orchid diversity: emphasis on floral biology leads to misconceptions. *Lindleyana* 1(2): 73–89.
- Benzing, D.H. 1989. The evolution of epiphytism. *En*: U. Lüttge, editor. *Vascular plants as epiphytes: evolution and ecophysiology*. Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin. p 15–40.
- Benzing, D.H. 1990. *Vascular Epiphytes*. Cambridge University Press, Cambridge, USA.
- Benzing, D.H. & D.W. Ott. 1981. Vegetative reduction in epiphytic Bromeliaceae and Orchidaceae: Its Origin and significance. *Biotropica* 13: 131–140.
- Benzing, D.H. & A.M. Pridgeon. 1983. Foliar trichomes of Pleurothallidinae (Orchidaceae): Functional significance. *American Journal of Botany* 70(2): 173–180.
- Benzing, D.H., W.E Friedman, G. Peterson & A. Renfrow. 1983. Shootlessness, velamentous roots, and the pre-eminence of Orchidaceae in the epiphytic biotope. *American Journal of Botany* 70(1): 121–133.
- Benzing, D.H. & J.T. Atwood. 1984. Orchidaceae: ancestral habitats and current status in forest canopies. *Systematic Botany* 9: 155–165.
- Bøgh, A. 1992. Composition and distribution of the vascular epiphyte flora of an Ecuadorian montane rain forest. *Selbyana* 13: 25–34.

- Castaño Uribe, C. & M. Cano Correa. 1998. El sistema de Parques Nacionales Naturales de Colombia. UAESPNN, Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá.
- Catchpole, D. 2004. The ecology of vascular epiphytes on a *Ficus* L. host (Moraceae) in a Peruvian cloud forest. Honours Degree thesis, University of Tasmania.
- Carlswald, B.S., W.L. Stern & B. Bytebier. 2006. Comparative vegetative anatomy and systematics of the angraecoids (Vandaeae, Orchidaceae) with an emphasis on the leafless habit. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 151: 165–218.
- Cornelissen, J.H.C., S. Lavorel, E. Garnier, S. Diaz, N. Buchmann, D.E. Gurvich, P.B. Reich, H. ter Steege, H.D. Morgan, M.G.A. van der Heijden, J.G. Pausas & H. Poorter. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51: 335–380.
- Cribb, P.J., S.P. Kell, K.W. Dixon & R.L. Barrett. 2003. Orchid conservation: a global perspective. En: K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barrett and P.J. Cribb, editors. *Orchid conservation*. Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabalu, Sabah. p 1–24.
- Choong, M.F., P.W. Lucas, J.S.Y Ong, B. Pereira, H.T.W. Tan & I.M. Turner. 1992. Leaf fracture toughness and sclerophylly: their correlations and ecological implications. *The New Phytologist* 121: 597–610.
- Dressler, R.L. 1981. *The orchids: Natural History and Classification*. Harvard University Press, Cambridge, USA.
- Dressler, R.L. 1993. *Phylogeny and classification of the orchid family*. Dioscoroides Press, Portland, Oregon.
- Fahn, A. 1990. *Plant Anatomy*. 4th ed. Pergamon Press, Inc., New York, U.S.A
- Florez, A. 2005. Temperatura del aire y del suelo en el transecto Tatamá. En: T. van der Hammen, J.O. Rangel & A.M. Cleef, editores. *La Cordillera Occidental Colombiana Transecto Tatama*. Volumen 6. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Germany. p 105–116.
- Font Quer, P. 1985. *Diccionario de botánica*. Editorial Labor, Barcelona, España.
- Fu, C.F. & C.S. Hew. Crassulacean acid metabolism in orchids under water stress. *Botanical Gazette* 143(3): 294–297.

- Garnier E. & Laurent G. 1994. Leaf anatomy, specific mass and water content in congeneric annual and perennial grass species. *The New Phytologist* 128: 725–736.
- Garnier, E., J.-L. Salager, G. Laurent & L. Sonié. 1999. Relationships between photosynthesis, nitrogen and leaf structure in 14 grass species and their dependence on the basis of expression. *The New Phytologist* 143:119–129.
- Garnier, E., G. Laurent, A. Bellmann, S. Debain, P. Berthelier, B. Ducout, C. Roumet & M.-L. Navas. 2001a. Consistency of species ranking based on functional leaf traits. *The New Phytologist* 152: 69–83.
- Garnier, E., B. Shipley, C. Roumet & G. Laurent. 2001b. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology* 15: 688–695.
- Gentry, A.H., & C.H. Dodson. 1987a. Diversity and biogeography of neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74: 205–233.
- Gentry, A.H. & C.H. Dodson 1987b. Contribution of nontree to species richness of a tropical rain forest. *Biotropica* 19 (2): 149–156.
- Goh, C.J. & M. Kluge. 1989. Gas exchange and water relations in epiphytic orchids. *En: Lüttge, editor. Vascular plants as epiphytes: evolution and ecophysiology. Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin. p 139–163.*
- Govaerts, R., M.A. Campacci, D.H. Baptista, P. Cribb, A. George, K. Kreuz & J. Wood 2006. World Checklist of Orchidaceae. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://www.kew.org/wcsp/> accessed 15 May 2006; 19:30 GM.
- Herr, J.M.jr. 1993. Clearing technichs for the study of vascular plant tissues in whole structures and thick sections. *En: C.A. Goldman, P.L. Hauta, M.A. O'Donnell, S.E. Andrewa and R. Vna der Heiden, editores. Tested studies for laboratory teaching, Volume 5, Proceedings of the 5th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE). p. 63–84.*
- Holbrook, N.M. & T.R. Sinclair. 1992. Water balance in the arborescent palm, *Sabal palmetto*. I. Stem structure, tissue water release properties and leaf epidermal conductance. *Plant, Cell and Environment* 15: 393–399.

- Kluge M, Ting IP 1978. Crassulacean Acid Metabolism: Analysis of an Ecological Adaptation. Berlin. Springer-Verlag
- Kress, W.J. 1986. The systematic distribution of vascular epiphytes: an update. *Selbyana* 9: 2–22.
- Kress, W.J. 1989. The systematic occurrence of vascular epiphytes. *En*: Lüttge U, editor. Vascular plants as epiphytes: evolution and ecophysiology. Ecological Studies. Springer-Verlag, Berlin. p 234–261.
- Küper, W, H. Kreft, J. Nieder, N. Köster & W. Barthlott. 2004. Large-scale diversity patterns of vascular epiphytes in Neotropical montane rain forests. *Journal of Biogeography* 31: 1477–1487.
- Larcher, W. 2003. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. Springer-Verlag, Berlin.
- Laube, S. & G. Zotz. 2006. Neither host-specific nor random: Vascular epiphytes on three tree species in a Panamanian lowland forest. *Annals of Botany* 97: 1103–1114.
- Lavorel, S., S. McIntyre, J. Landsberg & T.D.A. Forbes. 1997. Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends in Ecology and Evolution* 12, 474–478.
- Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Annals of Botany* 93:629–652.
- Mantovani, A. 1999. Leaf morpho-physiology and distribution of epiphytic aroids along a vertical gradient in a Brazilian rain forest. *Selbyana* 20(2): 241–249.
- Mauseth, J.D. 1988. *Plant Anatomy*. The Benjamín/Cummings Publishing Company, Inc. Menlo Park, California.
- Muchow, R.C. & T.R. Sinclair. 1989. Epidermal conductance, stomatal density and stomatal size among genotypes of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Plant, Cell and Environment* 12: 425–431.
- Olatunji, O.A. & Nengim, R.O. 1980. Occurrence and distribution of tracheoidal elements in the Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 80:357-370

- Oliveira, V.C. & M.G. Sajo. 1999. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 22(3): 365–374.
- Pridgeon, A.M. 1981. Absorbing trichomes in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 68(1): 64–71.
- Pridgeon, A.M. 1982. Diagnostic anatomical characters in the Pleurothallidinae (Orchidaceae). *American Journal of Botany* 69(6): 921–938.
- Pridgeon, A.M., W.L. Stern & D. Benzing. 1983. Tilosomes in roots of Orchidaceae: morphology and systematic occurrence. *American Journal of Botany* 70(9): 1365–1377.
- Pridgeon, A.M. 1986. Anatomical adaptations in Orchidaceae. *Lindleyana* 1: 90–101.
- Rangel Ch., J.O., M. Aguilar-P. & A. Florez. 2005a. Clima en el área del transecto Tatamá. *En: T. van der Hammen, J.O. Rangel & A.M. Cleef, editores. La Cordillera Occidental Colombiana Transecto Tatama. Volumen 6. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Germany. p 47–104.*
- Rangel Ch., J.O., A.M. Cleef, S. Salamanca & C. Ariza N. 2005b. La vegetación de los bosques y selvas del Tatamá. *En: T. van der Hammen, J.O. Rangel & A.M. Cleef, editores. La Cordillera Occidental Colombiana Transecto Tatama. Volumen 6. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Germany. p. 469–644.*
- Rasband, R. 2002. ImageJ: Image Processing and analysis in Java. National Institutes of Health, U.S.A. URL: <http://rsb.info.nih.gov/ij>
- Rasmussen, H. 1997. Orchid stomata —Structure, differentiation, function and phylogeny. *En: J. Arditti, editor. Orchid biology: Reviews and perspectives, Volume IV. Cornell University Press, Ithaca, NY. p 106–138.*
- Read, J. & G.D. Sanson. 2003. Characterizing sclerophylly: the mechanical properties of a diverse range of leafs types. *The New Phytologist* 160: 81–99.
- Reich, P.B. 1993. Reconciling apparent discrepancies among studies relating life span, structure and function of leaves in contrasting plant life forms and climates: ‘the blind men and the elephant retold’. *Functional Ecology* 7(6): 721–725.
- Reich, P.B., C. Uhl, M.B. Walters & D.S. Ellsworth. 1991. Leaf lifespan as a determinant of leaf structure and function among 23 tree species in Amazonian forest communities. *Oecologia* 86: 16–24.

- Reich P.B., M.B. Walters & D.S. Ellsworth. 1992. Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs* 62: 365–392.
- Reich, P.B. & M.B. Walters. 1994. Photosynthesis–nitrogen relations in Amazonian tree species. II. Variation in nitrogen vis-a-vis specific leaf area influences mass and area-based expressions. *Oecologia* 97: 73–81.
- Reich, P.B., M.B. Walters, & D.S. Ellsworth. 1997. From tropics to tundra: global convergence in plant functioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 94: 13730–13734.
- Reich, P.B., D.S. Ellsworth & M.B. Walters. 1998. Leaf structure (specific leaf area) modulates photosynthesis-nitrogen relations: evidence from within and across species and functional groups. *Functional Ecology* 12: 948–958.
- Reich P.B., D.S. Ellsworth, M.B. Walters, J.M. Vose, C. Gresham, J.C. Volin & W.D. Bowman. 1999. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology* 80(6): 1955–1969.
- Ryser P. 1996. The importance of tissue density for growth and life span of leaves and roots: a comparison of five ecologically contrasting grasses. *Functional Ecology* 10: 717–723.
- Salisbury, F.B. & C.W. Ross. 1991. *Plant physiology*. Wadsworth Publishing Company. Belmont, California.
- Sinclair, R. 1990. Water relations in orchids. *En: J. Arditti, editor. Orchid biology: Reviews and perspectives, Volume V*. Timber Press, Portland, OR.
- Shipley, B. 1995. Structured interspecific determinants of specific leaf area in 34 species of herbaceous angiosperms. *Functional Ecology* 9: 312–319.
- Shipley B. & T. Vu. 2001. Dry matter content as a measure of dry matter concentration in plants and their parts. *The New Phytologist* 153: 359–364.
- Stern, W.L., W.S. Judd & B.S. Carlswald. 2004. Systematic and comparative anatomy of Maxillarieae (Orchidaceae), *sans* Oncidiinae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 144: 251–274.
- Turner, I.M. 1994. Sclerophylly: primarily protective? *Functional Ecology* 8(6): 669–675.

- Westoby, M., D.S. Falster, A.T. Moles, P.A. Vesik & I.J. Wright. 2002. Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species, *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 125–159.
- Withner, C.L. 1974. *The orchids, scientific studies*. Wiley-Interscience, New York.
- Wilde, A.J. de. 2000. Las orquídeas de Tatamá. Informe final del inventario de las especies de orquídeas del Parque Nacional Natural Tatamá y su zona de amortiguación. UAESPNN, Dirección Regional Noroccidental.
- Wilson, P., K. Thompson & J.G. Hodgson. 1999. Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *The New Phytologist* 143:155–162.
- Winter, K. & J.A.C. Smith. 1996. An introduction to crassulacean acid metabolism: biochemical principles and ecological diversity. *En*: K. Winter & J.A.C. Smith, editors. *Crassulacean acid metabolism*. Springer-Verlag, Berlin. p 1–13.
- Yukawa T. & W.L. Stern. 2002. Comparative vegetative anatomy and systematics of *Cymbidium* (Cymbidiaceae: Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 138: 383–419.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, USA.
- Zanenga-Godoy, R. & C. Gonçalves. 2003. Anatomía foliar de cuatro especies do género *Cattleya* Lindl. (Orchidaceae) do planalto central brasileiro. *Acta Botanica Brasilica* 17(1): 101–118.
- Zotz G. & P. Hietz. 2001. The physiological ecology of vascular epiphytes: current knowledge, open questions. *Journal of Experimental Botany* 52(364): 2067–2078.